



**Asociación Argentina de
Veterinarios de Laboratorio de
Diagnóstico
I Congreso Nacional
XXIV Reunión Científico
Técnica**

**10 al 13 de septiembre de 2024
Mar del Plata, Buenos Aires, República
Argentina**

DOI: <https://doi.org/10.24215/15142590e089>

Comité científico organizador

Altamira Erika	Gorchs Carolina
Arndt Ana Laura	Llorente Patricia
Benitez Daniel Francisco	Macías Analía
Brihuega Bibiana Felicitas	Malacari Darío
Catena María	Marcellino Romanela
Chiapparrone María Laura	Martínez Diana
Eirin María Emilia	Mas Javier
Elena Sebastián	Muñoz Alejandra
Estein Silvia	Paolicchi Fernando Alberto
Fiorentino Andrea	Rumi Valeria
Fort Marcelo	Savignone César
Galdonovo Sabrina	Traversa María Julia
Garbaccio Sergio	Vissani Aldana
García Mabel	

Comité científico evaluador

Alonso Bernardo	Gutiérrez Silvina
Barandiarán Soledad	Langellotti Cecilia
Barrandeguy María	Macías Analía
Benítez Daniel	Magnano Gabriel
Bernardelli Amelia	Malacari Dario
Bok Marina	Mesplet María
Brihuega Bibiana	Muñoz Alejandra
Cantón Germán	Olguín Cecilia
Cardoso Nancy	Parreño Viviana
Chiapparrone María Laura	Pérez Sandra
Cicuttin Gabriel	Pintos María Eugenia
Dus Santos María José	Quattrocchi Valeria
Ferrara Muñiz Ximena	Rambeaud Magdalena
Echaide Ignacio	Romera Alejandra
Eirin María Emilia	Rumi Valeria
Estein Silvia	Solana María Elisa
Fiorentino Andrea	Soto Pedro
Galdo Novo Sabrina	Traversa María Julia
Garbaccio Sergio	Zumárraga Martín
González Altamiranda Erika	

INDICE DE RESÚMENES CLASIFICADOS POR EJES TEMÁTICOS

Bacteriología

- B-001-24.** Botulismo en aves acuáticas: reporte de caso en la provincia de Buenos Aires
- B-002-24.** Histofilosis bovina en terneros de recría: descripción de un foco
- B-003-24.** Identificación de ADN de *Mycoplasma* spp. en tejidos de animales silvestres provenientes del Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre de la Universidad San Sebastián
- B-004-24.** Estudios de virulencia de *Campylobacter fetus*: modelos in vitro y técnicas diagnósticas
- B-005-24.** Calidad microbiológica de semen bovino criopreservado: resultados 2021-2023
- B-006-24.** Genotipificación de *Brucella canis* empleando MLVA_16
- B-007-24.** Evaluación de una PCR LigBct para la detección de ADN de *Leptospira* spp. en suero bovino de casos clínicamente sospechosos
- B-010-24.** Diagnóstico de microorganismos cultivables y no cultivables en semen bovino comercial
- B-011-24.** Detección de genes de virulencia en *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis
- B-012-24.** Leptospirosis bovina: estudio retrospectivo en Argentina
- B-013-24.** Detección de microorganismos pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis* en rodeos bubalinos del NEA: desafíos diagnósticos para el control de la tuberculosis bovina en Argentina
- B-014-24.** Diseño de un algoritmo diagnóstico en casos compatibles con tuberculosis y micobacteriosis en animales de compañía
- B-015-24.** *Mycobacterium intracellulare*: otro agente productor de micobacteriosis diseminada en Schnauzer miniatura
- B-016-24.** *Mycobacterium avium* y otra posible predisposición racial en caninos
- B-017-24.** Frecuencia de aislamientos bacterianos en hisopados uterinos de yeguas
- B-018-24.** Aislamiento y caracterización de *Pseudomonas* grupos *putida* y *fluorescens* en una mortandad en un criadero de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de la Patagonia Argentina

B-019-24. Estudio de polimorfismos de los antígenos ESAT-6, CFP-10 y EspC de aislamientos de *Mycobacterium bovis* provenientes de bovinos falso-negativos a la prueba de la tuberculina

B-020-24. Detección molecular de *Mycoplasma* spp. e identificación de otros microorganismos en el aparato respiratorio de perros y gatos

B-023-24. Identificación de *Malassezia pachydermatis* aislados de caninos mediante la técnica de MALDI-TOF

Enfermedades metabólicas y carenciales

EMTC-001-24. Concentración de cobre y zinc en hígados fetales bovinos

EMTC-002-24. Hemorragia intestinal y muerte aguda asociada a hipomagnesemia en vacas de tambo

EMTC-003-24. Distocias y mortalidad perinatal en vacas y vaquillonas de tambo asociadas a deficiencias minerales

EMTC-004-24. Desarrollo de una metodología para la detección de L-canavanina utilizando cromatografía líquida de ultra-alta-performance acoplada a espectrometría de masas triplecuadrupolo

Epidemiología

E-001-24. Hemoglobinuria bacilar bovina: descripción de un foco en ausencia de *Fasciola hepática*

E-002-24. Control de paratuberculosis bovina en tres rodeos lecheros

E-003-24. Detección de anticuerpos contra *Leptospira* en porcinos con diferentes estatus vacunales

E-005-24. Aplicación de una estrategia diagnóstica para definir el control de la brucellosis ovina a nivel predial en Patagonia

E-006-24. Evolución de la prevalencia de brucellosis y análisis témporo-espacial de zonas de riesgo en rodeos lecheros de la provincia de Santa Fe desde 2014 hasta 2023

E-007-24. Factores de riesgo asociados a la campilobacteriosis genital bovina en rodeos de la provincia de Formosa

E-008-24. Brucellosis en establecimientos mixtos de Formosa: identificación de factores de riesgo

E-009-24. Diagnóstico y epidemiología de la tripanosomiasis bovina en Argentina

E-010-24. Estudio serológico de *Leptospira* spp. en animales silvestres de ambientes acuáticos en Argentina

- E-011-24. Pérdidas productivas y reproductivas en ganado bovino lechero reaccionante a la prueba de tuberculina**
- E-012-24. Detección de anticuerpos específicos contra *Leptospira* spp. en fauna silvestre de Argentina**
- E-013-24. Momificación fetal en bovinos: análisis retrospectivo de casos registrados en INTA Balcarce (1994-2024)**
- E-014-24. Leptospirosis en perros del Área Metropolitana de Buenos Aires. Año 2023**
- E-016-24. Ensayo de xenointoxicación de *Triatoma infestans* susceptibles y resistentes a insecticidas piretroides usando gallinas como hospedador tratado**
- E-017-24. Clamidiosis aviar en aves de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Período 2022-2023**
- E-018-24. Gen *iam*, asociado a invasión, como posible marcador de detección de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* aislados de pollos de engorde de crianza industrial y familiar**
- E-019-24. La prueba de la tuberculina aplicada en el pliegue anocaudal externo incrementa la detección de positivos a tuberculosis bovina**
- E-020-24. Tuberculosis en vacas de engorde a corral**

Informes técnicos

- IT-001-24. Brotes de tripanosomosis y anaplasmosis en tambos bovinos de la zona centro-oeste de la provincia de Santa Fe**
- IT-002-24. Cambios químicos y sensoriales en calamar *Illex argentinus* durante el almacenamiento en frío**
- IT-003-24. Detección serológica de la infección por *Varicellovirus equid alpha 1* en equinos de un establecimiento de la provincia de Buenos Aires**
- IT-004-24. Prevalencia de la campylobacteriosis genital bovina: un análisis de las muestras procesadas por PRC real time en el laboratorio 9 de julio durante el periodo 2022-2023**
- IT-005-24. Bioensayos para determinar la eficacia de acaricidas químicos comerciales sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en establecimientos del NEA**
- IT-006-24. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) aplicada al diagnóstico de tricomonosis y campilobacteriosis bovina en la provincia de Salta**
- IT-007-24. Recopilación casuística sobre etiologías causantes de diarreas en terneros de crianzas artificiales de tambos y rodeos de cría**

IT-008-24. Optimización de métodos moleculares para la detección e identificación del genotipo 1 del virus de la cabeza amarilla (VECA1) en crustáceos del Mar Argentino y en productos pesqueros destinados a exportación

IT-009-24. Análisis de los resultados de diagnóstico serológico de brucelosis ovina de la Red Regional de Laboratorios en Patagonia

IT-010-24. Extracción de ADN adecuado para realizar análisis genómicos a partir de coágulos sanguíneos bovinos congelados

IT-011-24. Diagnóstico de ETS bovina: integración de qPCR y métodos tradicionales

IT-012-24. PCR en tiempo real múltiple para detección de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma*, aplicada al diagnóstico en perros

IT-013-24. Detección de ADN de *Leptospira* spp. mediante la técnica LAMP en un caso de leptospirosis canina

IT-014-24. Detección por biología molecular de patógenos asociados a infertilidad en los bovinos, a partir de ADN extraído de muestras prepuciales derivadas al laboratorio en medios de cultivo del protozoario *Tritrichomonas foetus*

IT-015-24. Casuística de reaccionantes positivos a brucelosis bovina período enero-mayo 2024 en Diagnóstico Veterinario Ameghino

IT-016-24. Muerte perinatal por co-infección de *Brucella abortus* con el virus de la diarrea viral bovina: importancia de la complementariedad de las técnicas para un diagnóstico exitoso

IT-018-24. El diagnóstico serológico y el mantenimiento del estatus sanitario de zona libre de brucelosis bovina en Tierra del Fuego

IT-019-24. Análisis parasitológico de materia fecal en caninos y felinos de la Ciudad de Buenos Aires y conurbano bonaerense

IT-020-24. Evaluación del desempeño de las técnicas de BPA, ELISAi y FPA sobre sueros de caprinos del Impenetrable chaqueño infectados naturalmente con *Brucella melitensis*

Inmunología

I-001-24. Estudio serológico de brucelosis en la especie equina. SENASA, 2020-2024

I-002-24. Brucelosis canina: evaluación de la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Resultados preliminares

I-003-24. Evaluación comparativa del perfil de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica de cerdos y esplenocitos de ratón tras el estímulo con diferentes clases de CpG-ODN a través de RT-qPCR

- I-004-24. Desarrollo y evaluación de un ELISA de competición para la detección de anticuerpos anti-*Brucella* en suero y leche de rumiantes
- I-005-24. Evaluación preliminar de la polarización fluorescente como prueba DIVA en caprinos vacunados a distintas edades con la cepa Rev.1 de *B. melitensis*
- I-007-24. Desempeño de la técnica de FPA versus test de Coggins para el diagnóstico de anemia infecciosa equina
- I-008-24. Caracterización patológica e inmunofenotípica de tejidos de bovinos intoxicados naturalmente con *Vicia villosa*
- I-009-24. Desarrollo de un ELISA de inhibición competitivo para el diagnóstico serológico de la brucellosis caprina y comparación de sus resultados con los de BPA, FPA y fijación de complemento
- I-010-24. Desarrollo y evaluación de un ELISA indirecto para la medición de anticuerpos contra el virus de la bronquitis infecciosa aviar
- I-011-24. Evaluación de un ELISA sándwich para la detección de anticuerpos contra *Babesia bovis*
- I-014-24. Detección de anticuerpos contra un antígeno recombinante de *Mycobacterium bovis* por ELISA en muestras de suero bovino
- I-015-24. Evaluación de la expresión génica de TLRs y citoquinas en esmegma de toros con infección genital por *Leptospira* spp.
- I-016-24. Comparación entre un ELISA y la prueba de aglutinación microscópica para la detección de anticuerpos post-vacunales contra *Leptospira* spp. en bovinos
- I-017-24. Respuesta inmune humoral y severidad de lesiones compatibles con tuberculosis en bovinos negativos a la intradermorreacción
- I-018-24. Tuberculosis bovina: relación entre pruebas serológicas y características de las lesiones macroscópicas
- I-019-24. Estandarización y evaluación preliminar de un ELISA competitivo para el diagnóstico de la brucellosis en porcinos
- I-020-24. Efecto de la administración simultánea de *Brucella abortus* cepa 19 y tilmicosina en terneras de tambo
- I-021-24. Tuberculosis bovina: hallazgos de lesiones compatibles en glándula mamaria de bovinos falsos negativos a la intradermorreacción
- I-022-24. Inmunorreactividad de sonicados bacterianos vs. extractos proteicos de *Leptospira* spp.: resultados preliminares
- I-023-24. Optimización de un ELISA para el diagnóstico de leptospirosis en porcinos

Parasitología

- P-001-24.** Tricomonosis en toros de cría: evaluación de técnicas tradicionales y moleculares
- P-002-24.** Efecto antihelmíntico de taninos condensados e hidrolizables suministrados en la dieta de ovinos parasitados experimentalmente con *Haemonchus contortus*
- P-003-24.** Rangeliosis canina en Paraná, Entre Ríos (Argentina): a propósito de un caso
- P-004-24.** Correlación entre las lesiones pancreáticas, la presencia de huevos en materia fecal (HPG) y la cantidad de parásitos en páncreas de bovinos infestados naturalmente por *Eurytrema coelomaticum*
- P-005-24** Una estrategia multimetodológica para el diagnóstico preciso de la leishmaniosis canina
- P-006-24.** Antígeno de superficie de merozoito-2c de *Babesia bovis* como blanco para el diagnóstico serológico
- P-007-24.** Seroprevalencia de *Neospora caninum* en un rodeo de cría de la zona norte de la Provincia de La Pampa y su asociación con pérdidas reproductivas
- P-008-24.** Filariasis canina en el Área Metropolitana de Buenos Aires: ¿*Dirofilaria immitis* o *Acanthocheilonema reconditum*?
- P-009-24.** Epidemiología de la euritrematosis bovina en el centro y norte de la provincia de Misiones
- P-010-24.** Transmisión transestadial de *Anaplasma marginale* por la garrapata *Amblyomma neumannii*. Resultados preliminares
- P-011-24.** Detección molecular de *Theileria equi* y *Babesia caballi* causantes de la piroplasmosis equina en animales de trabajo en una localidad de Corrientes, Argentina
- P-012-24.** Desarrollo y evaluación de un test rápido para el diagnóstico de la tripanosomiasis bovina
- P-013-24.** Serología fetal para *Neospora caninum*: limitaciones del uso de un ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas indirecto comercial
- P-014-24.** Presencia de coccidiosis aviar en granjas de agricultura familiar de Argentina y Chile. Técnicas tradicionales para su diagnóstico
- P-015-24.** Desarrollo de un test de ELISA para la detección de anticuerpos anti *Cryptosporidium parvum*
- P-016-24.** Estudio de la prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en perros provenientes de las provincias de Río Negro y San Luis

- P-017-24.** Desarrollo de una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real específica y altamente sensible para la detección y cuantificación de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*
- P-018-24.** Evaluación antihelmíntica *in vitro* del fruto de *Gleditsia amorphoides* y *Gleditsia triacanthos* contra *Haemonchus contortus*
- P-019-24.** Métodos alternativos para la conservación de muestras de tejido muscular animal destinadas al diagnóstico directo y molecular de *Trichinella spp.*
- P-020-24.** Genotipificación de *Tritrichomonas foetus* y su relación con la patogenicidad *in vitro* en aislamientos de la provincia de Buenos Aires
- P-021-24.** Síntomas, diagnóstico de laboratorio y tratamiento de criptosporidiosis en un oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*) bajo programa de reintroducción en el Parque Nacional Iberá, Corrientes
- P-022-24.** Identificación molecular de especies de *Trypanosoma* en diferentes sistemas productivos de la provincia de Formosa
- P-023-24.** Evaluación de esquemas alternativos de tratamientos con lactonas macrocíclicas para el control de *Psoroptes ovis*
- P-024-24.** Concordancia entre una prueba de inmunofluorescencia indirecta “*in house*” y una prueba rápida para la detección de anticuerpos frente a *Leishmania infantum* en perros
- P-025-24.** Tipificación molecular de *Eimeria* sp. en sistemas de producción familiar avícola peri-urbanos en dos países de América del Sur
- P-026-24.** 20 años de estudios coproparasitológicos en reptiles: un análisis de lo observado

Patología clínica

- PC-001-24.** Enfermedades con signología neurológica en bovinos de la región central de Argentina: análisis retrospectivo de INTA Balcarce (2000-2023)
- PC-002-24** Utilidad del proteinograma en el control evolutivo de leishmaniasis
- PC-003-24.** Parámetros sanguíneos de hembras de vizcacha de llanura (*Lagostomus maximus*) de la estación de cría de animales silvestres de la provincia de Buenos Aires

PC-004-24. Efecto del reemplazo del buffer de recuperación antigénica para la detección de la glicoproteína G del virus rábico

PC-005-24. Validación de ImageJ como herramienta para la cuantificación de proteinogramas en caninos con ehrlichiosis monocítica

PC-006-24. Tumores intracraneales en bovinos: presentación de dos casos en un rodeo de cría de la provincia de Buenos Aires

Resistencia antimicrobiana

RAM-001-24. Vigilancia de la sensibilidad a antimicrobianos en *Staphylococcus aureus* aislados de bovinos en Argentina

RAM-002-24. Resistencia de *Fasciola hepatica* al albendazol diagnosticada *in vitro* mediante el test de eclosión de huevos (TEH) en la Patagonia Argentina

RAM-003-24. Evaluación de la actividad antiviral de dos nuevos péptidos antimicrobianos sintéticos y annabidiol contra *Alphaherpesvirus bovino 1*

RAM-004-24. Concentraciones de tilmicosina y gamitromicina en pulmones de bovinos muertos por enfermedad respiratoria bovina

RAM-005-24. Susceptibilidad antibiótica de aislamientos de *Mycoplasma bovis* y *Mycoplasma spp.* de diferentes muestras de bovinos

RAM-006-24. Sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos en bacterias aisladas de animales de compañía en Casilda, Santa Fe

RAM-007-24. Prevalencia y niveles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada de urocultivos caninos durante el año 2023

RAM-008-24. Resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada de urocultivos felinos provenientes del área metropolitana de Buenos Aires durante el año 2023

RAM-009-24. *Actinobacillus pleuropneumoniae*: sensibilidad a antimicrobianos en cepas aisladas en el período 2021-2024

RAM-010-24. Estudio de resistencia a los antimicrobianos a partir de patógenos bacterianos aislados en porcinos

RAM-011-24. Caracterización de aislamientos de *Escherichia coli* portadores del gen *mcr-1* provenientes de pollos enfermos de producción intensiva

RAM-012-24. Reporte de *Staphylococcus spp.* meticilino resistentes a partir de muestras clínicas de caninos y felinos

Virología

V-001-24. Brote de conjuntivitis y rinitis por alfaherpesvirus bovino en terneros de recría

V-002-24. Desarrollo de un kit diagnóstico nacional de ELISA para influenza A porcina

V-003-24. Desarrollo de un test de ELISA para el diagnóstico de bovinos persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina basado en nanoanticuerpos

V-004-24. Optimización de cebadores para el desarrollo de una multiplex RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2 y coronavirus en animales domésticos

V-005-24. Desarrollo de protocolo *two step* RT-PCR *in house* para el diagnóstico de virus rábico. Resultados preliminares

V-006-24. Puesta a punto de una PCR en tiempo real “dúplex” para la detección y diferenciación de rotavirus equino A y B en materias fecales de potrillos con diarrea en Argentina

V-007-24. Estandarización de un método para la detección del virus de lengua azul a partir de muestras tomadas en papel de filtro

V-008-24. ELISA IBR cobayos: prueba de potencia para vacunas contra la rinotraqueítis infecciosa bovina

V-009-24. Primer estudio de la circulación del virus de la leucosis bovina en búfalos de Argentina

V-010-24. Capacidad de replicación *in vitro* de miembros de la familia *Orthoherpesviridae* en presencia de plasma rico en plaquetas y suero fetal bovino

V-011-24. Detección de norovirus bovino en terneros de tambos de Argentina mediante PCR en tiempo real

V-012-24. Primer reporte de diarrea viral bovina en Ecuador por medio de RT-qPCR a partir de muestras tomadas en tarjetas de colección de ácidos nucleicos

V-013-24. Detección del virus de la diarrea viral bovina como contaminante de bancos celulares

V-014-24. Detección molecular de *Pestivirus* y *Mycoplasma spp.* en muestras de suero fetal bovino: importancia del diagnóstico integral en sustratos para la producción de biológicos

V-015-24. Virus de distemper canino en 5 zorros grises pampeanos (*Lycalopex gymnocercus*) en la provincia de Buenos Aires

V-016-24. Estudio filogenético del virus de la inmunodeficiencia felina en muestras de sangre de felinos de la ciudad de La Plata, Buenos Aires

V-017-24. La importancia del diagnóstico molecular en la vigilancia epidemiológica y el control de brotes de enfermedades virales en equinos

V-018-24. Desarrollo de un ensayo de amplificación isotérmica mediada por loop para la detección del virus de la lengua azul

V-019-24. Evaluación *in vitro* del efecto del plasma rico en plaquetas en la cinética de replicación del virus de la diarrea viral bovina

V-020-24. Detección del virus de alas deformadas en abejas nativas sin aguijón, en la provincia de Buenos Aires

V-021-24. Evaluación de los anticuerpos contra virus de influenza equina, herpesvirus equino 1, virus del Oeste del Nilo y virus de arteritis viral equina, en burras de tambo

B-001-24. Botulismo en aves acuáticas: reporte de caso en la provincia de Buenos Aires

Ovelar MF¹, Cantón GJ¹, Rodríguez A², Farace MI², Alvarez I^{3*}

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

2. Servicio de Bacteriología Sanitaria, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) ANLIS Dr. Carlos Malbrán, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

3. Laboratorio Alvarez, Bahía Blanca, Argentina

* ignacio.alvarez@slu.se

El botulismo es una enfermedad causada por la ingestión de una neurotoxina (toxina botulínica) producida por la bacteria anaerobia grampositiva *Clostridium botulinum*. Se han identificado 8 toxinas botulínicas permitiendo clasificar ocho serotipos de *C. botulinum* (A, B, C1, C2, D, E, F y G), cada uno produciendo diferentes niveles de una o dos de estas toxinas. El botulismo tipo C es el más frecuentemente detectado tanto en aves domésticas (gallinas, faisanes y pavos) como silvestres, siendo las especies acuáticas filtradoras y herbívoras, las más susceptibles. El objetivo de este trabajo es describir un brote natural de botulismo en aves acuáticas en la provincia de Buenos Aires.

El brote ocurrió en el mes de enero 2021 en un establecimiento rural ubicado en el partido de Saavedra, provincia de Buenos Aires. En el transcurso de 15 días, se contabilizaron aproximadamente 300 aves muertas en las costas de una laguna natural. La mayoría de estas aves fueron identificadas como "cuervillo de cañada" (*Plegadis chihi*), "cisne de cuello negro" (*Cygnus melancoryphus*), "gallaretas" (*Fulica* sp.) y patos "maicero y barcino" (*Anas* sp.). En la evaluación clínica de las aves afectadas se observaron signos de debilidad progresiva, paresia y parálisis flácida de los músculos esqueléticos. Estos signos se caracterizaron por un déficit general de locomoción, dificultades para caminar, nadar, cuello caído y protrusión de membranas nictitantes. En el momento de la visita, se seleccionaron aves identificadas como patos "maiceros/barcino" para la eutanasia, autopsia y recolección de muestras debido a que presentaban claros signos clínicos y estaban en un estado agonizante, lo que las hacía más adecuadas para el diagnóstico. Además, una gran cantidad de cadáveres de otras especies ya se encontraba en proceso de descomposición, lo que podía limitar la posibilidad de un diagnóstico certero. Tanto en el examen macroscópico como microscópicamente, no se encontraron lesiones de relevancia patológica. Se detectó la presencia de esporas de *C. botulinum* y toxina botulínica tipo C en muestras de suero y materia fecal de las aves afectadas, así como esporas de *C. botulinum* tipo C en muestras de agua de la laguna problema.

El diagnóstico rápido de esta toxiinfección es esencial para implementar rápidamente medidas de control. La remoción e incineración de las carcasas de aves muertas es una de las acciones más efectivas de control en este tipo de brote.

Aunque la toxina tipo C no afecta al humano, representa un gran riesgo para la fauna silvestre y los animales de producción.

Espelund M, Klaveness D. 2014. Botulism outbreaks in natural environments - an update. *Frontiers in Microbiology*. 5(1):1-7.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00287>

B-002-24. Histofilosis bovina en terneros de recría: descripción de un foco

Vilatuña E¹, Fiorentino AM¹, Ovelar MF¹, Azaldegui I¹, Barale J¹, García JA^{1,*}

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

* garcia.juanagustin@inta.gob.ar

Histophilus somni es una bacteria pleomórfica, gramnegativa, comensal del tracto respiratorio y urogenital del bovino que actúa como patógeno oportunita asociados a varios cuadros clínicos. Las presentaciones más comunes son neumonías, seguido de miocarditis, encefalitis, septicemia y raramente conjuntivitis, abortos y artritis, entre otros. El clima, el estrés, los cambios en la dieta y la mezcla de ganado son probablemente los principales desencadenantes de los brotes, presentándose los brotes principalmente en sistemas intensivos como los *feedlot*. El objetivo de este trabajo es describir un foco inusual de histofilosis en terneros machos de recría pastoril en el partido de Gral. Lamadrid, Buenos Aires. En mayo de 2024 se asistió a un establecimiento agrícola-ganadero por la muerte de tres terneros de un rodeo de 250 terneros Aberdeen Angus, machos, de 8 meses de edad, destetados un mes antes, que se encontraban pastoreando un verdeo de avena. Los animales presentaron previamente letargia, con decúbito esternal y muerte en 24h. Se realizó la autopsia de un animal muerto y se recolectaron muestras de tejidos en formol bufferado al 10% para análisis histopatológico de rutina y órganos estériles (corazón, cerebro, riñón) para el cultivo y aislamiento bacteriológico. Macroscópicamente había pericarditis fibrinosa, el riñón izquierdo aumentado de tamaño pálido que iba en profundidad de forma lineal entremezclado con áreas rojas y edema perirrenal, el prepucio tenía sedimento amarillento granular y mucosa congestiva. Las meninges estaban marcadamente engrosadas a nivel del tronco encefálico con material fibrinopurulento, y en corteza cerebral había áreas submenígeas aleatorias asimétricas de material purulento. Microscópicamente se observó epi y pericarditis fibrinosa, meningoencefalitis necrosupurativa con vasculitis necrofibrinoide y trombosis, y nefritis necrosupurativa ascendente. El análisis bacteriológico identificó con confirmación por PCR específica para *H. somni* el agente en los 3 órganos analizados (cerebro, corazón y riñón). La identificación de *H. somni* en 3 órganos permite concluir que se trató de un cuadro septicémico. Se destaca particularmente en el presente brote las lesiones ascendentes renales junto al aislamiento en dicho órgano, sugiriendo un posible origen del aparato genito-urinario, teniendo en cuenta que los terneros machos pueden ser portadores genitales. Además, la ausencia de lesiones pulmonares sugiere no estar asociado a vía de entrada aerógena. Esto indica que ocasionalmente pueden presentarse brotes de baja morbilidad, en machos bajo cría pastoril, mostrando la importancia del tracto genital masculino como nicho ecológico de esta bacteria.

De Yaniz MG, Fiorentino MA, García JP, Viviani F, Schofs L, Bence AR, Paolicchi FA, Bruni SS. 2023. Clinical-pathological findings induced by *Histophilus somni* isolated in subacute cardiac death in feedlot cattle. Veterinary Research Communications. 47(2):683-91.

<https://doi.org/10.1007/s11259-022-10028-3>

Margineda CA, O'Toole D, Prieto M, Uzal FA, Zielinski G. 2019. *Histophilus somni* myocarditis and leptomeningitis in feedlot cattle: case report and occurrence in South America. Journal of Veterinary Diagnostic Investigations. 31(6):893-8.

<https://doi.org/10.1177/1040638719876302>

O'Toole D, Sondgeroth KS. 2016. Histophilosis as a natural disease. Current Topics in Microbiology and Immunology. 396:15-48.

https://doi.org/10.1007/82_2015_5008

B-003-24. Identificación de ADN de *Mycoplasma spp.* en tejidos de animales silvestres provenientes del Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre de la Universidad San Sebastián

Cartes Venegas DA¹, Aguilera González CJ¹, Echeverry Berrió DM^{1,*}

1. Universidad San Sebastián, Facultad de Ciencias de la Naturaleza, Escuela de Medicina Veterinaria, Sede Concepción, Chile

*diana.echeverry@uss.cl

La mycoplasmosis es una enfermedad emergente que se ha detectado en múltiples especies de animales tanto domésticos como silvestres, generada por el agente *Mycoplasma spp.* del cual se conocen alrededor de cien especies diferentes, tanto comensales, como patógenas, pudiéndose expresar con o sin signología clínica, o bien, de forma simultánea.

La mycoplasmosis ha sido diagnosticada en elefantes, reptiles, roedores, mamíferos marinos, carnívoros y aves silvestres. En la actualidad se siguen identificando nuevos hospederos para *Mycoplasma spp.* ampliando su rango de distribución, su prevalencia y diversidad genética. En Chile, *Mycoplasma spp.* se ha detectado en varias especies, principalmente carnívoros silvestres como la güiña (*Leopardus guigna*) con una posibilidad de transmisión desde animales domésticos, como los gatos domésticos (*Felis catus*) *Mycoplasma haemofelis*, con felinos silvestres (Echeverry et al., 2021). Adicionalmente, el contacto entre especies silvestres y domésticas podría ser un mecanismo mediante el cual la infección por *Mycoplasma spp.* persista en la naturaleza.

Actualmente, se ha destacado como método diagnóstico la reacción en cadena de la polimerasa, debido a su alta especificidad y sensibilidad. En Chile, se desconoce la circulación de esta bacteria en ciertas especies, tales como, mamíferos marinos, reptiles o géneros específicos de aves, por lo que es de relevancia su investigación y detección. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue identificar *Mycoplasma spp.* en tejidos provenientes de pacientes que ingresaron al Centro de Rehabilitación de Fauna Silvestre – Cerefas - de la Universidad San Sebastián.

Para el análisis se consideraron muestras de tejidos como hígado, bazo, pulmón, corazón, riñón, músculos y sangre, provenientes de animales que ingresaron muertos al Cerefas o que fallecieron durante su proceso de rehabilitación. Estas muestras fueron tomadas entre los años 2022 y 2023 y correspondían a: 19 muestras de aves, 28 muestras de mamíferos (18 para carnívoros y 10 para ungulados) y 5 muestras de reptiles, sumando un total de 52 muestras. Estas muestras fueron almacenadas a -20°C hasta la extracción de ADN. Para la obtención total de ADN genómico desde los tejidos, se empleó un kit comercial de columnas. Posteriormente se analizaron las muestras en un equipo EPOCH para determinar concentración y pureza, para que la muestra fuese totalmente pura, se consideró como parámetro de calidad la relación 260nm / 280nm, esto oscila entre 1.8 y 2.0. Finalmente, se descartaron 22 muestras y se analizaron 30, entre ellas: 2 muestras de pudú, 4 muestras de lobo marino, 4 de puma, 3 de gorrión, 2 de gaviota dominicana, 1 de pelícano, 4 de tortuga olivácea, 1 de tucúquere, 1 de tiuque, 1 de choroy, 1 de guiña, 1 de chuncho, 1 de zorzal y 4 de lechuza.

Como control, se realizó una PCR del gen referencial GAPDH empleando los cebadores reportados por Birkenheuer et al., (2003) GAPDH-F (5'CCTTCATTGACCTCAACTACAT-3'); GAPDH-R (5'CCAAAGTTGTCATGGATGACC-3') con un amplicon de 300 pb. Para el análisis de *Mycoplasma*, se emplearon los cebadores reportados por Criado-Fornelio (2003) HBT-F (5'-ATACGGGCCATATTCCCTACG-3'); HBT-R (5'TGCTCCACCACTTGTCA-3') con un amplicon esperado de 618 pb, en un volumen de reacción 20 μ l con las siguientes concentraciones: 0,4 μ l de dNTPs (10 mM), 4 μ l de 5x GoTaq, 1 μ l de partidor, 0,25 μ l Platinum Taq DNA polimerasa de Invitrogen (1,25 U), 12,4 μ l de agua ultrapura y 2 μ l de ADN. El perfil térmico de la reacción en cadena de la polimerasa consiste en una desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 min, seguida de 35-40 ciclos a 95 °C (30 s), 52-58 °C (30 s), 72 °C (1 min) y una extensión final de 72 °C durante 10 min. Posteriormente, los amplificados fueron visualizados en un gel de agarosa al 2% con tinción SafeView a través de electroforesis a 70 volts y 300 mA durante 2 horas en un sistema runView (Cleaver Scientific®). De las muestras analizadas se identificó una ocurrencia del 26%, de este porcentaje, 50% fueron muestras de aves y el otro 50% de mamíferos. En el caso de las aves se identificó positividad en sangre y en los mamíferos amplificaron muestras de riñón, bazo, pulmón y corazón para *Mycoplasma spp.* Se destaca que en este estudio se reporta por primera vez en Chile la presencia de *Mycoplasma spp.* en el puma (*Puma concolor*). En el caso de los mamíferos marinos, se reporta por primera vez en Chile la presencia de *Mycoplasma spp.* en distintos tejidos de un lobo marino (*Otaria flavescens*). Se concluye que la identificación de *Mycoplasma spp.* es indicativo su circulación en especies silvestres de forma regular y debe considerarse entre diagnósticos presuntivos siendo de relevancia para la detección de una posible enfermedad, además, considerarlo en protocolos de manejo de fauna silvestre que ingresan al Cerefas como prevención, para evitar transmisión entre especies y propagación.

Criado-Fornelio A, Martínez-Marcos A, Buling-Saraña A, Barba-Carretero JC. 2003. Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from southern Europe: a molecular study. Veterinary Microbiology. 93(4):307-17.

[https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(03\)00044-0](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(03)00044-0)

Echeverry D, Llanos-Soto S, Palma C, Castillo L, Casanova T, Troncoso I, Valdés M, Castro OF, González- Acuña D. 2021. Mycoplasmal infection in a guigna (*Leopardus guigna*) from central Chile. Austral Journal of Veterinary Sciences. 53(3):169-72. <https://doi.org/10.4067/s0719-81322021000300169>

B-004-24. Estudios de virulencia de *Campylobacter fetus*: modelos *in vitro* y técnicas diagnósticas

Cagnoli CI^{1,*}, Chiapparrone ML¹, Cacciato CS^{1,2}, Aller JF³, Catena M¹

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

3. Biotecnología de la Reproducción, Departamento de Producción Animal, EEA INTA Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

* ccagnoli@vet.unicen.edu.ar

La campylobacteriosis bovina es una enfermedad infecciosa causada por *Campylobacter fetus fetus* (Cff) y *Campylobacter fetus venerealis* (Cfv), caracterizada por generar fallas reproductivas en los bovinos. Desde el reporte de los primeros casos hasta la actualidad, esta enfermedad ha sido objeto de numerosos estudios, justificados por las grandes pérdidas económicas que ocasiona tanto a nivel mundial como regional, principalmente donde se practica la cría bovina con servicio natural. En relación con el estudio de la patogénesis de la enfermedad, se han empleado diversos modelos experimentales. La dificultad para investigar la etapa de preñez temprana en modelos *in vivo* en el hospedador natural ha llevado a una búsqueda constante de modelos *in vitro* alternativos. En nuestro equipo de investigación se ha evaluado la virulencia de numerosas cepas de *C. fetus* aisladas de casos de fallas reproductivas mediante diferentes modelos *in vitro*. El objetivo del trabajo es presentar los modelos *in vitro* aplicados en los estudios de virulencia de cepas de *C. fetus* y cómo los resultados obtenidos pueden contribuir a mejorar las herramientas diagnósticas de rutina para esta enfermedad.

Para el estudio de la virulencia de ambas subespecies de *C. fetus* se plantearon diferentes modelos *in vitro*, utilizando células consideradas blanco del microorganismo: espermatozoides, embriones, células uterinas y oviductales. A continuación, se describe brevemente cada modelo con los resultados más relevantes.

Para evaluar la virulencia en espermatozoides bovinos, se desarrolló un modelo basado en semen obtenido de pajuelas comerciales y en técnicas utilizadas de rutina en la evaluación de calidad seminal: coloración vital eosina/nigrosina, test hipo-osmótico (HOST), tinción trypan blue/Giemsa y test de dispersión de la cromatina (SCD). Estas técnicas permitieron evaluar parámetros que fueron en este caso utilizados como indicadores de daño causado por el microorganismo. Los resultados demostraron que ambas subespecies tienen la capacidad de afectar la calidad seminal. Además, mediante coloración Giemsa, inmunofluorescencia directa e inmunocitoquímica se logró poner en evidencia la capacidad de *C. fetus* de adherirse a los espermatozoides. Por otro lado, se estandarizó el protocolo de extracción y purificación de ADN y posterior PCR, para la detección de *C. fetus* en

pajuelas de semen bovino criopreservado. A partir de los resultados obtenidos en este modelo, se sugiere que el toro no sólo actuaría como reservorio y diseminador de *C. fetus* en los rodeos, sino que también puede verse afectada su capacidad reproductiva.

El modelo de fertilización *in vitro* (FIV) y cultivo embrionario se utilizó para evaluar el efecto de ambas subespecies sobre la fertilización y el desarrollo temprano del embrión. En este modelo, se aplicó un protocolo de FIV tradicional, a partir de ovarios recolectados en un frigorífico para la extracción de los ovocitos, y semen procedente de pajuelas de un toro con fertilidad comprobada. Se evaluó tanto el efecto directo de ambas subespecies, como de filtrados libres de células (FLC) obtenidos de sus respectivos cultivos. La infección se realizó al momento de la fertilización. Inicialmente se aplicó video-microscopía para observar la interacción entre *C. fetus*, los espermatozoides y los complejos cúmulus-ovocito. Posteriormente, mediante coloración Giemsa e inmunofluorescencia, se comprobó la adherencia de los microorganismos a las células de la granulosa y los embriones. Se estableció un nuevo protocolo de extracción y purificación de ADN, y posterior PCR para la detección de *C. fetus* en los embriones. Se logró demostrar tanto el efecto directo de ambas subespecies como el de los FLC sobre el desarrollo embrionario. Se presume que el principal componente en los FLC es la toxina de distensión letal (CDT), dado que una de sus funciones conocidas es la inhibición de la división celular. Se postula que este hallazgo podría ser considerado para el desarrollo de técnicas diagnósticas basadas en la detección de esta toxina o de los genes que la codifican, ya que tendría un rol crucial en el desarrollo de la patogenia de la enfermedad. Con respecto a los estudios de virulencia llevados a cabo en modelos basados en útero y oviducto bovinos, se establecieron cultivos primarios oviductales en monocapa y en flotación, cultivos primarios uterinos en monocapa y explantes de útero. En estos modelos, la caracterización de la interacción entre los agentes y las células blanco se realizó mediante diferentes técnicas: inmunofluorescencia, tinción Giemsa, inmunocitoquímica y microscopía electrónica. En los explantes uterinos se aplicó inmunohistoquímica para identificar *C. fetus* adherido al tejido uterino e histopatología para caracterizar las lesiones. Además, se realizó inmunohistoquímica con un anticuerpo anti-IL 1 para evaluar la respuesta del tejido a la infección. Se comprobó la adhesión y efecto citopático de ambas subespecies en todos los modelos aplicados. Uno de los hallazgos más destacados entre las técnicas utilizadas fue a través de la microscopía electrónica, la cual permitió demostrar la invasión de ambas subespecies en las células oviductales. A partir de esta observación, se puede inferir que esta capacidad de invasión podría estar relacionada con el estado de portador en la hembra bovina, considerando la permanencia de *C. fetus* a nivel oviductal y la dificultad en su diagnóstico.

En conclusión, se destaca la importancia de los modelos *in vitro* y la aplicabilidad de las técnicas de diagnóstico convencionales en estudios de virulencia microbiana. Estos contribuyen a una mejor comprensión de la interacción patógeno-hospedador y aportan conocimientos que pueden ser de utilidad para mejorar el diagnóstico de esta enfermedad.

Cagnoli CI, Chiapparrone ML, Cacciato CS, Rodríguez MG, Catena MDC, Aller JF. 2024. Effect of *Campylobacter fetus* on *in vitro* fertilization and embryonic development of preimplantation bovine embryos. Veterinary Microbiology. 288:109925. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2023.109925>

Cagnoli CI, Chiapparrone ML, Cacciato CS, Rodríguez MG, Catena MDC. 2022. Modelo de cultivo primario oviductal bovino para el estudio de la patogenicidad de *Campylobacter fetus fetus* y *Campylobacter fetus venerealis*. Jornada de Investigación y Posgrado: el desafío de visibilizar la ciencia. Tandil, Argentina, p. 82.

B-005-24. Calidad microbiológica de semen bovino criopreservado: resultados 2021-2023

Cagnoli CI^{1,*}, Cacciato CS^{1,2}, Cantón J¹, Simonetti I³, Cabodevila J³, Chiapparrone ML¹

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

* ccagnoli@vet.unicen.edu.ar

La inseminación artificial (IA) con semen criopreservado está ampliamente instaurada desde hace décadas en reproducción bovina. La técnica ha aportado enormes beneficios a la producción bovina y tiene impacto en el mejoramiento genético, los índices productivos y la prevención de enfermedades. Es importante remarcar que, además de controlar a los sementales para certificar que se encuentren libres de enfermedades reproductivas, hay que considerar que el semen puede verse contaminado por otros agentes presentes en el prepucio y piel del toro, utensilios, superficies de trabajo o del operador. Frecuentemente se reportan aislamientos de bacterias, virus y hongos oportunistas tanto para los animales como para el hombre, que son capaces de sobrevivir a los antibióticos y a la congelación. Es por esto que para garantizar la calidad del semen criopreservado, este debe ser extraído, procesado y almacenado higiénicamente. Para verificar que las pajuelas cumplan con los estándares requeridos para su comercialización se deben realizar evaluaciones de calidad seminal y calidad microbiológica. Para determinar si una partida es microbiológicamente apta se tienen en cuenta normas de la OMSA que establecen que el semen debe estar libre de patógenos de la reproducción y recomiendan que no supere las 500 Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/dosis inseminante (DI) de microorganismos oportunistas. Aquellas partidas que superen este valor pueden, además, clasificarse como de calidad bacteriológica media (hasta 5000 UFC/DI) o baja (>5000 UFC/DI). Para asegurar que se cumplan estas características, la evaluación microbiológica constituye una herramienta fundamental. En el Servicio de Evaluación de Semen (SES) de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, se realiza tanto la evaluación de calidad seminal y como de calidad microbiológica. En el presente trabajo, se presentan los resultados del análisis de calidad microbiológica del período 2021-2023.

El procesamiento consta de la descongelación y dilución de la pajuela (1/20 y 1/80). La dilución 1/20 se siembra en medios líquidos (caldo infusión cerebro corazón, caldo Brucella y caldo tioglicolato) y ambas diluciones en placas de agar tripteína soya para el conteo de UFC. Luego de 72 h de incubación, se observa el

crecimiento en los medios líquidos y se realiza el conteo de las colonias en las placas, para determinar las UFC/DI. Durante el periodo 2021-2023, se analizaron un total de 331 pajuelas, de las cuales el 34,4% provenían de toros reproductores para leche y el 65,6% de toros para carne. Los resultados demostraron que un 47,7% de pajuelas calificaron como aptas, por presentar conteos hasta 500 UFC/DI, las cuales 54,4% pertenecían a toros para leche y 45,6% a reproductores para carne. Dentro de las partidas consideradas no aptas, el 54,3% fueron clasificadas como de calidad media y 45,7% como de calidad baja.

Si bien la mayoría de las pajuelas consideradas no aptas presentaron cultivos polimicrobianos, en algunas se aislaron microorganismos tales como: *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Proteus* spp. y en otras pajuelas se detectaron hongos y levaduras.

Aunque existen controversias sobre la interferencia de las bacterias saprófitas en la calidad del semen y su capacidad fecundante, algunos autores han reportado que la contaminación bacteriana competiría con los espermatozoides por el uso de nutrientes del semen e incluso podrían infectar a las hembras, resultando en bajas tasas de concepción y altas tasas de mortalidad embrionaria o abortos. En este sentido, se ha observado que la presencia de bacterias puede afectar a la fecundación en forma directa o por la inducción de la reacción acrosómica, lo que genera una reducción en la viabilidad espermática. Otro tema de interés respecto a los microorganismos aislados de las pajuelas, es la resistencia a los antimicrobianos, ya que hay numerosos reportes, e incluso algunos pertenecientes a nuestro SES, en el cual se hallaron microorganismos multirresistentes.

Como conclusión, consideramos relevante remarcar la importancia de realizar controles en la calidad microbiológica del semen, no solo por los efectos negativos que pudiera tener en la reproducción sino también por el impacto potencial en la salud animal, humana y ambiental debido a la transmisión y dispersión de genes de resistencia antimicrobiana.

Abro SH, Abro R, Tunio M, Rind R, Bughio S. 2015. Evidence of bacterial contamination in the frozen bovine semen. *Pakistan Journal of Agriculture, Agricultural Engineering and Veterinary Sciences*. 31(1): 102-8.

<https://pjaaevs.sau.edu.pk/index.php/ojs/article/view/138>

B-006-24. Genotipificación de *Brucella canis* empleando MLVA_16

Boeri EJ^{1,*}, Ruybal P², Escobar GI³, Elena S⁴, Domínguez ML¹, Becker P¹, Trangoni MD⁵

1. Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Sección Serología y Pruebas Biológicas. Ministerio de Salud de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
2. Instituto de Medicina Traslacional e Ingeniería Biomédica, CONICET - Universidad Hospital Italiano de Buenos Aires, Argentina
3. Laboratorio de Brucelosis, Laboratorio Nacional de Referencia INEI-ANLIS Dr. Carlos Malbrán, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
4. Laboratorio de Referencia para Brucelosis, Organización Mundial de Sanidad Animal. Dirección general de Laboratorio y Control Técnico (Dilab), Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Buenos Aires, Argentina
5. Laboratorio de Brucella, Campylobacter y Microbiota del rumen, Instituto de Biotecnología e Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IB/IABIMO), UEDD INTA-CONICET, Centro de Investigación de Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CNA), INTA, Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina

* eduardoboeri@gmail.com

La brucelosis canina es una enfermedad que afecta a caninos domésticos y salvajes como perros, zorros, lobos y coyotes, presentando como síntomas principales el aborto tardío en hembras y la epididimitis en machos. El agente etiológico es *Brucella canis* (*B. canis*), aunque los perros también pueden ser afectados por otras especies de *Brucella* lisas, generalmente mostrando síntomas inespecíficos. El diagnóstico de la brucelosis canina se realiza mediante métodos serológicos, bacteriológicos y moleculares.

El análisis de repeticiones en tandem de número variable (MLVA) ha demostrado ser un método sencillo y robusto para genotipificar diferentes especies de *Brucella*. Sin embargo, existen pocos estudios que utilizan el esquema MLVA_16 para *B. canis*. Recientemente, se publicó un estudio con el esquema MLVA_13, que mostró un alto poder discriminatorio entre cepas de distintas regiones de América. En la región sudamericana, y específicamente en Argentina, solo hay un reporte preliminar utilizando cuatro marcadores del esquema MLVA_16.

El objetivo de este estudio fue caracterizar la variabilidad genética de *B. canis* en América Latina utilizando el esquema MLVA_16. Se analizaron 112 cepas aisladas entre 2006 y 2022 en Argentina, Venezuela, Colombia, Bolivia y Chile. El ADN de cada aislado se obtuvo usando el kit ROCHE High Pure PCR Template Preparation y se siguió el protocolo de Le Fleche et al. (2006) para el panel de 16 marcadores. Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis en geles de agarosa al 2%, y las bandas se analizaron con Gel Analyzer. El análisis filogenético y de complejos clonales (CCs) se realizó con el programa Phyloviz usando el algoritmo goeBURST y el árbol de expansión mínima (MST). Los datos genotípicos se compararon con la base de datos *Brucella* MLVA, incluyendo 29 cepas de China y 55 de Corea del Sur. El índice de Diversidad Hunter-Gastón (IDHG) fue de 0,97

para el esquema de 16 marcadores, con BRUCE09 presentando el mayor índice de diversidad.

La topología del árbol mostró una clara diferencia entre las cepas latinas y asiáticas, con las cepas coreanas agrupadas en clusters bien definidos, excepto dos genotipos coreanos que se unieron a cepas latinas y chinas. Las cepas latinas mostraron una agrupación diferenciada, excepto en algunos nodos cercanos a cepas chinas. El análisis mediante *Triple locus variant* (TLV) y *Double locus variant* (DLV) confirmó la formación de CCs diferenciados por regiones geográficas.

Este estudio, el segundo realizado en Argentina sobre la genotipificación de *B. canis* usando MLVA, sugiere que el esquema MLVA_16 es útil para establecer asociaciones geográficas definidas y podría simplificarse utilizando solo los nueve marcadores más diversos.

El esquema MLVA_16 es útil para el genotipado de *B. canis*, permitiendo establecer asociaciones geográficas definidas al compararlo con datos ya publicados, y podría ser optimizado para una mayor eficiencia en el análisis.

Boeri EJ, Ruybal P, Domínguez ML, Fernández NM, Becker P, Elena S, Escobar GI, Ayala SM, Hasan DB, Trangoni MD. 2023. Higher diversity of *Brucella canis* in Latin America, according to an MLVA_13 Bc analysis. *Acta Tropica*. 243:106914. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2023.106914>

Boeri EJ, Madariaga MJ, Domínguez ML, Teijeiro ML, Fernández NM, Elena SA, Trangoni MD. 2020. *Brucella canis* Group 2 isolated in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 53(2):98-103.

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.06.012>

Le Flèche P, Jacques I, Grayon M, Al Dahouk S, Bouchon P, Denoeud F, Nöckler K, Neubauer H, Guilloteau LA, Vergnaud G. 2006. Evaluation and selection of tandem repeat loci for a *Brucella* MLVA typing assay. *BMC Microbiology*. 9:6. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-6-9>

B-007-24. Evaluación de una PCR LigBct para la detección de ADN de *Leptospira* spp. en suero bovino de casos clínicamente sospechosos

Saraullo V^{1*}, Hamer M^{1,2}, Esteban M¹, Sánchez¹, Brihuega B^{1,3}, Martínez M^{1,3}

1. Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET) (UEDD INTA-CONICET), Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

* saraullo.vanina@inta.gob.ar

La leptospirosis tiene un impacto económico significativo en la producción pecuaria, causando fallas reproductivas, disminución de la producción láctea y nacimiento de animales débiles. Según Canton y col. (2022), *Leptospira* spp. fue identificada como el segundo patógeno abortígeno más común, responsable de importantes pérdidas en la industria ganadera y láctea. Herramientas moleculares como la PCR, son recomendables para la detección y control de esta enfermedad. Este estudio tuvo como objetivo detectar ADN leptospiral mediante PCR del gen ligB (PCR LigBct) en suero de bovinos con sospecha clínica de leptospirosis y comparar los resultados con la prueba de aglutinación microscópica (MAT). La PCR LigBct diseñada por Saraullo y col. (2021), amplifica una región de 756 pb del extremo C-terminal de la adhesina LigB de leptospirosis patógenas, adhesina importante para la patogenia. Se analizaron 134 sueros bovinos clasificados por MAT como positivos (n:89) o negativos (n:45). La PCR LigBct detectó ADN leptospiral en 78,65% de los sueros positivos por MAT y en 42,22% de los negativos. La respuesta humoral moviliza a las leptospirosis desde el torrente sanguíneo hacia los órganos después de 5-7 días, y la PCR LigBct puede detectar el remanente de ADN leptospiral en suero, aun cuando el nivel de anticuerpos no es detectado por MAT. La PCR LigBct podría ser una herramienta complementaria importante para detectar ADN leptospiral en suero bovino. El desarrollo de nuevos métodos diagnósticos es crucial para un adecuado diagnóstico de leptospirosis en Argentina y para reducir las grandes pérdidas económicas asociadas a esta enfermedad zoonótica.

Cantón GJ, Moreno F, Fiorentino MA, Hecker YP, Spetter M, Fiorani F, Monterubbiano MG, García JA, Altamiranda EG, Cirone KM, Louge Uriarte EL, Verna AE, Marin M, Chequepán F, Malena R, Morsella C, Paolicchi FA, Morrell EL, Moore D P. 2022. Spatial-temporal trends and economic losses associated with bovine abortifacients in central Argentina. Tropical Animal Health and Production. 54(4):242.

<https://doi.org/10.1007/s11250-022-03237-0>

Saraullo V, Grune Loffler S, Florin-Christensen M, Watanabe O, Hamer M, Martinez M, Brihuega B. 2021. Use of the *Leptospira* sp. ligB C-terminus coding region as a diagnostic tool of animal leptospirosis. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases. 30(78):101689.

<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101689>

B-010-24. Diagnóstico de microorganismos cultivables y no cultivables en semen bovino comercial

Pedraza ML^{1,*}, Forcadell M¹, Londra T¹, Morales L¹, Bessone F¹, Manes J¹, Alustiza F¹

1. Grupo de Sanidad Animal, Estación Experimental Marcos Juárez -INTA, provincia de Córdoba, Argentina

* lujanpedraza29@gmail.com

La criopreservación de semen permite la conservación y transporte de gametas (Gillan, L, et al, 2004). Pese a estas ventajas existe riesgo de contaminación microbiana del semen durante su obtención que puede tener un origen animal (heces, fluidos prepuciales, secreciones respiratorias, piel y pelo) o no animal (colecta y manipulación) (Eanglesome M., et al, 1997; Ronald B., et al, 2001). El objetivo del trabajo fue diagnosticar la presencia de microorganismos en semen bovino criopreservado comercial. La caracterización de microorganismos fue evaluada en 100 pajuelas de semen bovino de origen comercial, se realizó mediante un pre-enriquecimiento en caldo BHI durante 24 h y la posterior siembra en agar sangre equina, agar Mc Conkey, agar TSA y agar HyL. La incubación fue en estufa a 37°C y 28 °C para hongos y levaduras, seguidas de tipificación bioquímica y evaluación de la resistencia a antimicrobianos mediante el método de Kirby Bauer (CLSI, 2023). El diagnóstico de los agentes de difícil cultivo (*Chlamydias*, *Micoplasmas* y *Ureaplasmas*) se realizó mediante PCR. Se encontró una prevalencia del 28% de aislamiento de microorganismos cultivables, de los cuales todos resultaron resistentes a, al menos, uno de los antibióticos que se emplean frecuentemente en los diluyentes comerciales de semen. Se encontraron bacterias Gram negativas, Gram positivas, hongos filamentosos y levaduras, resistentes a antibióticos tales como: gentamicina, penicilina, estreptomicina, azitromicina, tetraciclina y norfloxacina. Entre los géneros bacterianos detectados mediante PCR se encontraron *Mycoplasma californicum* en 41% de las muestras, *Mycoplasma bovigenitalium* en 22%, *Ureaplasma diversum* en 11%, *Chlamydia* spp 23S en 47% y *Chlamydia* spp. 16S en 7%.

En conclusión, las técnicas de PCR permiten detectar la presencia de genes correspondientes a agentes de difícil cultivo a partir de muestras de semen. Se han podido aislar y determinar los perfiles de susceptibilidad a antimicrobianos microorganismos en muestras de semen de bovino criopreservado de origen comercial. Estos microorganismos pueden generar efectos negativos en los parámetros cinéticos del esperma.

Gillan L, Maxwell W, Evans G. 2004. Preservation and evaluation of semen for artificial insemination. *Reproduction, Fertility and Development*. 16 (4):447-54.

<https://doi.org/10.1071/RD04034>

B-011-24. Detección de genes de virulencia en *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar *ovis*

Marcellino R¹, Mignaqui AC¹, Pappalardo JS¹, Alvarez L², Bequer Urbano S³, Diaz L⁴, Paolicchi F^{5,6}, Gallardo AA^{2,*}

1. Grupo de Nanomedicina Veterinaria, EEA Bariloche, Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias de Bariloche (IFAB) (INTA - CONICET), Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina

2. Cátedra de Microbiología Clínica, Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud (FCNyCS), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), Argentina

3. Cátedra de Toxicología, Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud (FCNyCS), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), Argentina

4. Instituto Multidisciplinario para la Investigación y el Desarrollo Productivo y Social de la cuenca del Golfo San Jorge (IIDEPyS-GSJ), CONICET, Comodoro Rivadavia, provincia de Chubut, Argentina

5. Laboratorio de Bacteriología, Departamento de Producción Animal, Unidad Integrada INTA EEA Balcarce-Facultad de Ciencias Agrarias Universidad Nacional de Mar del Plata (UIB), provincia de Buenos Aires, Argentina

6. Cátedra Sanidad Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

* adryarg@yahoo.com.ar

Corynebacterium pseudotuberculosis es un patógeno intracelular grampositivo y agente etiológico de linfadenitis caseosa (LC). La LC es una enfermedad infecto-contagiosa de evolución crónica, que afecta principalmente a ovejas y cabras, entre otros animales de producción y silvestres. Es considerada una zoonosis ocupacional, principalmente en países con ganadería de pequeños rumiantes. La enfermedad se caracteriza por la formación de abscesos en linfonódulos subcutáneos e internos de la cavidad torácica, además de órganos como hígado, pulmón y riñón, entre otros. Produce pérdidas económicas significativas debido al deterioro progresivo del estado general del animal, que implica: disminución de la producción de lana, carne, leche, desórdenes reproductivos y decomiso de carcasas y vísceras. Por otro lado, el tratamiento con antibióticos es poco eficaz debido a la ubicación intracelular de la bacteria, el acantonamiento del agente dentro de los abscesos y a la formación en algunos casos de biopelículas. El avance en el campo de la biología molecular ha permitido determinar la presencia de genes que codifican para proteínas involucradas en la virulencia de *C. pseudotuberculosis*, como por ejemplo *PLD*, *CP40*, y *Fag A, B, C y D*. Los genes *PLD* y *CP40* sintetizan toxinas que son secretadas por la bacteria y permiten el ingreso y la diseminación de la misma dentro del hospedador. Los genes *Fag A-D* están organizados en un operón involucrado en la absorción de hierro, que contribuyen a la persistencia de *C. pseudotuberculosis* en el hospedador. Dada la dificultad en el tratamiento de esta zoonosis, es de gran importancia profundizar en el conocimiento de los factores de virulencia, ya que pueden resultar útiles en la selección de nuevos

antígenos para el desarrollo de futuras vacunas, herramientas imprescindibles para el desarrollo de programas de prevención, control y erradicación de esta enfermedad endémica en la Patagonia Argentina. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de genes involucrados en la virulencia (*PLD*, *CP40*, *FagA*, *FagB*, *FagC* y *FagD*) en cepas de *C. pseudotuberculosis* biovar *ovis* aislados de linfonódulos superficiales y vísceras de pequeños rumiantes de la Patagonia Argentina (Santa Cruz, Chubut y Río Negro).

Los aislamientos seleccionados para el estudio fueron previamente caracterizados morfológica y bioquímicamente; además, mostraron un resultado positivo para la prueba de CAMP inversa, poniendo en evidencia la expresión de la Fosfolipasa D (*PLD*). Los mismos se sembraron en placas de agar sangre (5%) y se incubaron por 48 h a 37°C en atmósfera aeróbica. Posteriormente, colonias aisladas se pasaron a medio líquido BHI y se incubaron en agitación constante (180 rpm) overnight a 37°C. Para la extracción de ADN se utilizó el kit comercial BP-L PURO Bacteria SA0701 siguiendo instrucciones del fabricante con algunas modificaciones (doble concentración de lisozima y doble tiempo de incubación). Se cuantificó la concentración de ADN mediante un espectrofotómetro (nanodrop). Se realizó PCR según protocolos descritos en Pacheco y col. (2007) y Aquino de Sá y col. (2013). Los cebadores usados para cada gen fueron obtenidos de publicaciones previas o desarrollados por el grupo de Nanomedicina Veterinaria (INTA-Bariloche). El volumen final de reacción fue de 25 ul y el tiempo de ciclado fue de 95°C, 2 min (94°C 1 min, 53°C 1 min, 72°C 1 min) x 35 ciclos. 72°C 10 min y 15°C de mantenimiento final para los genes *PLD*, *FagA*, *FagB*, *FagC* y *CP40*. Para el gen *FagD* el esquema de ciclado fue 95°C, 2 min (94°C 1 min, 61°C 1 min, 72°C 1 min) x 35 ciclos. 72°C 10 min y 15°C de mantenimiento final. Los productos obtenidos de las PCR se revelaron en geles de agarosa al 1% con GelRed y luz UV.

El estudio confirmó la presencia de los genes asociados a factores de virulencia: *PLD*, *CP40*, *FagA-FagD* en el 100% de las cepas estudiadas. Estos resultados, conforme a lo observado por Aquino de Sá y col. (2013), sugieren un alto potencial patogénico de los aislamientos. Así mismo, cabe destacar que la presencia de estos genes fue independiente de la especie hospedadora y de la ubicación de la lesión, ya sea en linfonódulos o vísceras. Además, se corroboró que los cebadores utilizados y diseñados fueron óptimos para detectar los genes de virulencias en las cepas analizadas.

Poder contar con esta información nos permite predecir la capacidad de la bacteria de generar infección en pequeños rumiantes de la Patagonia. Así mismo, es útil para evaluar posibles antígenos para el desarrollo de una estrategia vacunal.

Aquino de Sá MdC, Gouveia GV, Krewer CdC, Veschi JLA, de Mattos-Guaraldi AL, da Costa MM. 2013. Distribution of *PLD* and *FagA*, *B*, *C* and *D* genes in *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats with caseous lymphadenitis. *Genetics and Molecular Biology*. 36(2):265-8.

<https://doi.org/10.1590/S1415-47572013005000013>

Pacheco LG, Pena RR, Castro TL, Dorella FA, Bahia RC, Carminati R, Frota MN, Oliveira SC, Meyer R, Alves FS. 2007. Multiplex PCR assay for identification of

Corynebacterium pseudotuberculosis from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples. Journal of Medical Microbiology. 56(4):480-6.

<https://doi.org/10.1099/jmm.0.46997-0>

B-012-24. Leptospirosis bovina: estudio retrospectivo en Argentina

Martin PL^{1,2,*} Vidal DA¹, Warley G¹, Zegarra Borlando K¹, Pintos ME¹

1. Servicio Central de Laboratorio, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Laboratorio de Bacteriología y Antimicrobianos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

* plmartin@fcv.unlp.edu.ar

La leptospirosis es una zoonosis emergente de distribución mundial causada por bacterias del género *Leptospira*. En los animales, la enfermedad constituye un problema para la salud pública debido al riesgo laboral al que se exponen los trabajadores. Asimismo, el impacto económico negativo que ocasiona la convierte en una importante enfermedad para la producción agropecuaria. En Argentina, las formas agudas y severas de leptospirosis bovina se asocian con mortalidad, ictericia y hemoglobinuria en animales jóvenes y abortos en hembras gestantes, siendo generalmente *L. interrogans* Pomona el serovar responsable. Por otra parte, *L. borgpetersenii* Hardjobovis se ha aislado de casos de abortos y también se lo relaciona con infertilidad, mortalidad embrionaria temprana, mastitis con caída en la producción láctea y nacimiento de terneros débiles. Con respecto a la prevalencia de leptospirosis en bovinos, diferentes autores mencionan altas tasas de positividad y en relación con la frecuencia de serovares se han reportado valores de 33% y 25,9% para aquellos considerados adaptados al bovino, tales como Hardjo y Wolffi y de 15,4% para los no adaptados como Pomona (Canton y col., 2018). No obstante, la positividad a leptospirosis varía de acuerdo con la región estudiada y al tipo de explotación en la que se encuentren los animales. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la tasa de seropositividad a distintos serovares de *Leptospira* spp. y evaluar diferencias en cuanto a la procedencia y tipo de muestra. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal a partir de los resultados serológicos obtenidos de muestras de bovinos, remitidas al Servicio Central de Laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, durante el periodo 2015-2024. Se incluyeron todos los resultados provenientes de las áreas en las que se ubican los laboratorios que derivan muestras y la información respecto a la procedencia (Buenos Aires/La Pampa/Corrientes) y tipo de muestra remitida (suero/líquido pleuropertitoneal). El diagnóstico se realizó mediante la prueba de microaglutinación (MAT), de acuerdo con el método estándar, utilizando un panel de antígenos de 9 cepas de *Leptospira*: *L. borgpetersenii* serovar Castellonis y Tarassovi; *L. interrogans* serovar Canicola, Copenhageni, Pomona, Pyrogenes, Hardjo y Wolffi, *L. kirschneri* serovar Grippotyphosa. Los sueros se analizaron inicialmente en una dilución de 1:200 y los líquidos pleuropertitoneales en una dilución 1:10. En caso de positividad se diluyeron hasta el título final. La frecuencia de positividad se expresó en porcentaje y con un intervalo de confianza del 95% (IC95%). La prueba de chi-cuadrado fue utilizada para determinar diferencias significativas ($p < 0,05$) entre la procedencia y la seropositividad en la prueba de MAT, y el valor de *Odss ratio*

(OR) para estimar la asociación entre seropositividad y la procedencia de las muestras. Entre febrero del 2015 y mayo del 2024 se recibieron 1706 muestras de bovinos, correspondientes a 1676 sueros y 30 muestras de líquido pleural/peritoneal de fetos. En relación con las muestras de suero, 1145 provenían de Buenos Aires, 517 de La Pampa y 14 de Corrientes. Para este tipo de muestra la seropositividad global fue de 46,54% (IC95%: 44,15%-48,93%). Los serovares predominantes fueron Hardjo (68,85%), Wolffi (55,13%) con títulos entre 1:200 hasta 1:3200, seguidos de Pomona (39,62%) con títulos entre 1:200 hasta 1:6400. Serovares como Pyrogenes (6,67%), Canicola (3,72%), Tarassovi (1,67%), Copenhageni (1,15%) y Grippotyphosa (0,26%) se presentaron en menor frecuencia y con títulos menores. Respecto a la seropositividad por regiones, se observó un valor de 49,17% (IC95%: 46,27%-52,07%) para Buenos Aires y de 40,23% (IC95%: 36,01%, 44,46%) para La Pampa, con diferencias significativas entre las variables procedencia y seropositividad ($p = 0,0013$). El OR fue de 1,4371 indicando que aquellas muestras provenientes de Buenos Aires presentan entre 1,16 y 1,77 más probabilidades de ser seropositivas que las provenientes de La Pampa. La seropositividad para la provincia de Corrientes fue de 64,29% (IC95%: 39,19%, 89,39%); no obstante, dado el bajo número de muestras provenientes de esta zona no se tuvo en cuenta para el análisis de riesgo. De las 30 muestras de líquidos fetales provenientes de casos de abortos, remitidas todas desde laboratorios ubicados en provincia de Buenos Aires, se observó positividad en una sola con títulos de 1:320 al serovar Hardjo y Wolffi. La seropositividad global hallada demuestra que los bovinos de estas zonas se encuentran expuestos a *Leptospira* spp., y que la frecuencia de serovares reaccionantes coincide con los hallazgos de trabajos previos en la zona. Con respecto a la diferencia entre regiones pueden, por un lado, ser explicadas dada las características agroecológicas que se presentan en las diferentes zonas de cada provincia. En este sentido, a medida que el clima se convierte en semiárido y se acentúa la escasez hídrica, la transmisión de leptospirosis no se vería tan favorecida como en las regiones húmedas de nuestro país. Por otro lado, el estado sanitario de los rodeos, vigilancia de animales de reposición y control de factores de riesgo en cada establecimiento constituyen variables importantes que no fueron contempladas en este análisis. Finalmente, en relación al diagnóstico de leptospirosis en casos de abortos, aunque la ausencia de anticuerpos en líquidos fetales no puede utilizarse para descartar un caso sospechoso, la presencia de los mismos, es evidencia de infección prenatal. Por lo expuesto, siempre que se disponga de la muestra, sería conveniente remitir junto con suero de la madre si la opción es el diagnóstico serológico y realizar la interpretación de los resultados en conjunto con los hallazgos epidemiológicos y clínicos (Kirkbride y Johnson, 1989). Este trabajo corrobora los datos de otros estudios que han reportado una alta prevalencia de anticuerpos contra leptospirosis en rodeos bovinos de nuestro país. Asimismo, las tasas de seropositividad registradas en dos de las principales provincias donde se concentra la producción constituyen un aporte relevante al conocimiento sobre la epidemiología de la leptospirosis en Argentina.

Cantón G, Alvarez I, Llada I, Morrell E, Odriozola E, Brihuega B. 2018. Leptospirosis bovina: análisis retrospectivo de seroprevalencia en hembras bovinas en el periodo 2005-2017. XXII Reunión Científica Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. Córdoba, Argentina, p.75.

Kirkbride CA, Johnson MW. 1989. Serologic examination of aborted ovine and bovine fetal fluids for the diagnosis of border disease, bluetongue, bovine viral diarrhea, and leptospiral infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1(2):132-8. <https://doi.org/10.1177/104063878900100208>

B-013-24. Detección de microorganismos pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis* en rodeos bupalinos del NEA: desafíos diagnósticos para el control de la tuberculosis bovina en Argentina

Ponce L^{1,2}, Piras I², Marfil JM^{1,2}, Cipolini MF³, Spontón B³, Barandiaran S^{1,2},

Martínez DE^{3*}, Martínez EI^{3,4}

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

2. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina

3. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Corrientes Capital, Argentina

4. EEA “El Sombbrero”, INTA Corrientes, Argentina

* demartinez@vet.unne.edu.ar

Los búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) constituyen una fuente importante de alimentos para la creciente población humana mundial. Esta especie, adaptada a condiciones de sequía, proporciona componentes valiosos para la industria alimentaria como carne y leche, especialmente en regiones de Argentina con recursos hídricos y forrajeros limitados. Existen desafíos significativos debido a la falta de conocimientos fundamentales sobre rasgos económicamente importantes en la cría de esta especie, como la susceptibilidad a las enfermedades y su correcto control, entre otros. La tuberculosis bovina (TBb) afecta predominantemente al ganado bovino, pero puede infectar a otras especies de mamíferos, incluidos los bupalinos y los humanos, lo que representa un problema tanto en la sanidad animal como para la salud pública. Esta enfermedad infectocontagiosa es producida por miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT), principalmente *M. bovis*. En Argentina, según la normativa vigente establecida (SENASA 128/12) se dispone la eliminación de todos los bovinos reaccionantes positivos para la prueba de intradermorreacción (IDR) como parte del plan de control y erradicación de TBb. Además, el búfalo ha sido incluido en el Plan Nacional de Control y Erradicación (SENASA 38/15) desde 2015. Sin embargo, persisten controversias sobre el comportamiento de la IDR en esta especie, ya que diversos estudios han demostrado resultados variables en búfalos, a diferencia de los resultados observados en bovinos. El objetivo del presente trabajo fue detectar la presencia de CMT en tejidos de 10 búfalos faenados provenientes de establecimientos de la región norte de la provincia de Corrientes mediante cultivo bacteriano, y comparar los resultados obtenidos con los de la IDR realizada antemortem. Se realizó la observación macroscópica en búsqueda de lesiones compatibles con tuberculosis (LCT) en los animales faenados y se recogieron y remitieron muestras congeladas, con y sin lesión, de linfonódulos (Lns) de la cabeza (retrofaríngeo, maxilar), mediastínicos, mesentéricos, crurales, pulmón e hígado. Posteriormente las muestras fueron sembradas en medios enriquecidos de Stonebrink y Lowenstein-Jensen, previa descontaminación por Petroff, en el laboratorio de micobacterias (FCV, UBA). Los cultivos se incubaron a 37°C por 12 semanas, con observaciones semanales. Siete de los diez bupalinos analizados

resultaron reaccionantes a IDR con PPD bovina, mientras que los restantes no reaccionaron. Además, se observaron LCT en cuatro de los diez animales. Se logró aislar e identificar al CMT a partir de LCT de tres animales, de los cuales sólo dos habían reaccionado a la IDR. La identificación del CMT a partir de lesiones del animal no reaccionante podría explicarse por un posible estado de anergia del individuo. Además, se identificó al género *Mycobacterium* en LNs mediastínicos de un animal reaccionante, aunque no presentaba lesión macroscópica observable, lo que podría interpretarse como una reacción inespecífica de la IDR debida a micobacterias ambientales, como indican estudios previos que han demostrado una alta proporción de resultados falsos positivos en búfalos. Esto podría significar el sacrificio innecesario de animales. El conocimiento de la distribución de enfermedades zoonóticas como la tuberculosis en rebaños bubalinos, junto con el desarrollo de herramientas diagnósticas eficientes de esta importante zoonosis en esta especie, resulta fundamental para garantizar la calidad de los productos animales destinados al consumo humano y para respaldar las estrategias de los programas nacionales de control y erradicación de la tuberculosis dentro de nuestro territorio.

Martucciello A, Vitale N, Mazzone P, Dondo A, Archetti I, Chiavacci L, Cerrone A, Gamberale F, Schiavo L, Pacciarini ML, Boniotti MB, De Carlo E. 2020. Field evaluation of the interferon gamma assay for diagnosis of tuberculosis in water buffalo (*Bubalus bubalis*). Comparing four interpretative criteria. *Frontiers in Veterinary Science*. 7:563792.

<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.563792>

B-014-24. Diseño de un algoritmo diagnóstico en casos compatibles con tuberculosis y micobacteriosis en animales de compañía

Piras I^{1,*}, Barandiaran S^{1,3}, Borrás P², Marfil MJ¹

1. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad autónoma de Buenos Aires, Argentina

2. Clínica Veterinaria Wellvet, Unidad Escuela Universidad Maimónides (UMAI), Buenos Aires, Argentina

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

* ipiras@fvet.uba.ar

Las micobacteriosis son enfermedades producidas por bacterias del género *Mycobacterium* y, en algunos casos, son consideradas zoonosis. Los animales de compañía, como el perro y el gato, son susceptibles a estos agentes y pueden desarrollar una gran variedad de signos. Dependiendo de su patogenicidad, producirán cuadros clínicos de mayor o menor gravedad. Uno de los puntos críticos al momento de su sospecha, es la inespecificidad de los signos. Comúnmente se sospecha de una micobacteriosis luego de varios meses de tratamiento, donde no se observaron mejoras clínicas pese al mismo, o ante diagnósticos negativos a enfermedades diferenciales, como son las neoplasias o las micosis. A pesar de esta dificultad en su sospecha, los casos confirmados de micobacteriosis en la clínica diaria de perros y gatos han incrementado en el último tiempo en nuestro país. Sin embargo, la desinformación acerca de qué muestras tomar y cómo remitirlas, además del desconocimiento sobre los distintos diagnósticos disponibles en cada caso, han dificultado un diagnóstico confirmatorio. Es por ello que resulta fundamental para los veterinarios clínicos contar con información necesaria para conocer más las enfermedades producidas por este género bacteriano y las posibles muestras a remitir, teniendo en cuenta los diagnósticos disponibles. En este trabajo, presentamos un algoritmo diagnóstico destinado a los veterinarios, que guíe en la sospecha de la enfermedad y también brinde información sobre la toma de muestra y diagnósticos frente a casos compatibles o sospechosos de tuberculosis y otras micobacteriosis en animales de compañía. Adicionalmente, se acompaña de información sobre las características de las distintas micobacteriosis asociadas a animales de compañía, predisposición por especie y racial, epidemiología asociada, posibles signos clínicos, toma y remisión de la muestra, y diagnósticos disponibles. Para desarrollar este algoritmo y guía se utilizaron los datos obtenidos sobre prevalencia en perros y gatos del Laboratorio Diagnóstico de Tuberculosis de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires, donde se realiza el diagnóstico bacteriológico y molecular de tuberculosis y otras micobacteriosis. Una vez desarrollado el algoritmo y la guía, se generó un código QR que ha sido compartido a veterinarios para que puedan tener acceso a esta información. Desde que se implementó el uso de la guía, las muestras recibidas para diagnóstico de micobacteriosis han sido remitidas en mejores condiciones y, en la mayoría de los casos, se ha logrado un adecuado diagnóstico específico a partir de la mejora en la calidad de las muestras

recibidas. Brindar información a la comunidad veterinaria resulta fundamental para comprender el riesgo de contagio y las características de cada enfermedad en los pacientes, logrando una correcta sospecha. El uso de muestras correctas y en buenas condiciones, así como realizar la técnica diagnóstica adecuada, es imprescindible para lograr un resultado rápido con un diagnóstico certero y comenzar un tratamiento de manera temprana.

Borrás P, Marfil MJ, Tellado M, Hernández D, Osacar JM, Piras I, Martínez Vivot M, Barandiaran S. 2022. *Mycobacterium Avium* in Miniature Schnauzer from Argentina: A Series of cases. Topics in Companion Animal Medicine. 51:100698.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tcam.2022.100698>.

O'Halloran C, Gunn-Moore D. 2017. Mycobacteria in cats: an update. In Practice. 39:399-406.

<https://doi.org/10.1136/inp.j4155>

B-015-24. *Mycobacterium intracellulare*: otro agente productor de micobacteriosis diseminada en Schnauzer miniatura

Piras I^{1,*}, Borrás P², Rosso Coppola P¹, Barandiaran S^{1,3}, Marfil MJ¹

1. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad autónoma de Buenos Aires, Argentina

2. Clínica Veterinaria Wellvet, Unidad Escuela Universidad Maimónides (UMAI). Buenos Aires, Argentina

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

* ipiras@fvet.uba.ar

Las micobacterias del Complejo *Mycobacterium avium-intracellulare* son consideradas patógenos primarios en aves y bovinos, y en otras especies actúan como agentes oportunistas generando cuadros clínicos variables en pacientes inmunocomprometidos. Dentro de este complejo se encuentran *Mycobacterium avium* y sus subespecies, y *Mycobacterium intracellulare*, entre otras. Se ha reportado que en los caninos hay cierta predisposición racial a la infección con *Mycobacterium avium*. Debido a una variación en el gen recesivo que codifica para la proteína CARD9, los animales homocigotas para este gen de la raza Schnauzer miniatura tienen predisposición a contraer enfermedad por esta micobacteria. Como consecuencia de esta deficiencia inmunológica, la micobacteria logra diseminarse por el organismo provocando cuadros agudos con signología gastrointestinal, linfoadenopatía generalizada, esplenomegalia y signología inespecífica, como letargia y pérdida de peso. Para el diagnóstico de estos cuadros, habitualmente se realiza el cultivo bacteriológico e identificación por PCR de la secuencia de inserción 1245 (IS1245), que identifica a *Mycobacterium avium*. Sin embargo, *Mycobacterium intracellulare* no presenta esta secuencia de inserción en su genoma, por lo tanto, escapa a la identificación por esta PCR. Esta característica ha resultado en una dificultad en el diagnóstico de caninos de la raza Schnauzer miniatura con signología compatible con *M. avium* y que a la PCR IS1245 resultan negativos, quedando un diagnóstico inconcluso. El objetivo de este trabajo es reportar la presencia de *M. intracellulare* en cuadros compatibles con *M. avium*, pero negativos a la PCR IS1245. En el Laboratorio de Diagnóstico de Tuberculosis de la Facultad de Ciencias Veterinarias UBA, se recibieron tres muestras de caninos de la raza Schnauzer miniatura con sospecha de infección por micobacterias aviares. Los mismos presentaban un cuadro generalizado de linfoadenopatías superficiales y profundas asociado a decaimiento y anorexia, con una evolución rápida de los signos. En uno de los casos, se presentó una poliartritis inmunomediada no erosiva. Se realizó el cultivo bacteriológico en medios especiales para micobacterias. Para el diagnóstico molecular se realizó la amplificación por PCR de IS1245. En aquellas que resultaron negativas a IS1245, se amplificó una secuencia específica de *M. intracellulare*. A su vez, se enviaron muestras de ADN de los animales al laboratorio Laboklin (Alemania) para investigar la presencia de la mutación del gen *CARD9*. En los tres casos se obtuvo crecimiento bacteriológico en pocas

semanas y resultaron negativos a IS1245 y positivos a *M. intracellulare* por PCR. En uno de ellos se identificó la mutación del gen *CARD9*.

La susceptibilidad de la raza Schnauzer miniatura a la infección por micobacterias aviares ha sido reportada recientemente y es una de las principales sospechas frente a casos clínicos compatibles en esta raza. De hecho, en algunos criaderos de esta raza se entrega a los animales con un certificado de ausencia de la mutación. Sin embargo, al momento de la toma de muestras y solicitud de estudios, se solicita únicamente el diagnóstico para *Mycobacterium avium*. Estos nuevos reportes de infección con *Mycobacterium intracellulare* en esta raza, nos indica que podría haber una susceptibilidad genética en ellos. Al ser similares los cuadros clínicos producidos por estos dos tipos de micobacterias, no influye en la sospecha clínica pero sí en las técnicas a realizar en el laboratorio. Aún no ha sido asociada la mutación del gen *CARD9* con la susceptibilidad a la infección por *M. intracellulare* en los caninos Schnauzer miniatura. Esta infección podría deberse a una mutación en otro gen o podría demostrar la capacidad de *M. intracellulare* de desarrollar cuadros diseminados en animales que no necesariamente están inmunocomprometidos. Resulta fundamental tener en cuenta esta micobacteria al momento de la sospecha en casos clínicos compatibles en esta raza, ya que esto resultaría en un diagnóstico más eficaz y rápido.

Ghielmetti G, Giger U. 2020. *Mycobacterium avium*: an emerging pathogen for dog breeds with hereditary immunodeficiencies. Current Clinical Microbiology Reports. 7(3):67-80.

<https://doi.org/10.1007/s40588-020-00145-5>

Borrás P, Marfil MJ, Tellado P, Hernández D, Osacar JM, Piras I, Martínez Vivot M, Barandiaran S. 2022. *Mycobacterium avium* in Miniature Schnauzer from Argentina: a series of cases. Topics in Companion Animal Medicine. 51:100698. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcam.2022.100698>.

B-016-24. *Mycobacterium avium* y otra posible predisposición racial en caninos

Marfil MJ^{1,2,*}, Piras I¹, Eisenacht MM^{3,4}, Borrás PJ⁵, Barandiaran S⁶

1. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA); Buenos Aires, Argentina
2. Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos, Argentina
3. Práctica privada, veterinaria “Curupayti”, Villa Adelina, Buenos Aires, Argentina
4. Laboratorio Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad autónoma de Buenos Aires, Argentina
5. Clínica Veterinaria Wellvet, Unidad Escuela Universidad Maimónides (UMAI). Buenos Aires, Argentina.
6. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Universidad de Buenos Aires – CONICET, Buenos Aires, Argentina

* jmarfil@fvet.uba.ar

Mycobacterium avium es el agente responsable de la tuberculosis aviar. En otras especies, puede generar infecciones oportunistas y en los bovinos, una de sus subespecies, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, causa paratuberculosis. En caninos, y particularmente en la raza Schnauzer miniatura, está comprobado que producen una enfermedad diseminada, con linfoadenomegalia generalizada y diarreas. En esta raza, una mutación homocigota del gen *CARD9* sería el responsable de la susceptibilidad a este microorganismo. Esta mutación está solo comprobada para esta raza. Aunque hay bibliografía de algunos casos de *Mycobacterium avium* afectando Basset Hound y Yorkshire terrier, no hay reportes de la mutación en el genoma de estas razas. En todos los casos, el animal presenta un mal pronóstico a pesar de que se intente el tratamiento, ya que *Mycobacterium avium* está en el ambiente y la reinfección es siempre posible. El objetivo de este trabajo es evidenciar la manifestación de este cuadro clínico diseminado producido en perros de la raza Dachshund, hermanos de la misma camada. Los tres casos se presentaron en un lapso de 9 meses (06/2023-03/2024). Los perros tenían distintos tutores por lo que no convivían ni tenían contacto entre ellos desde que fueron entregados. El primero de ellos tenía 11 meses cuando presentó el cuadro. En todos los casos se realizó punción aspiración de linfonódulos aumentados de tamaño, seguida de una tinción de Ziehl Neelsen y cultivo bacteriológico. El cultivo bacteriológico fue analizado por PCR IS1245 que permite identificar el Complejo *Mycobacterium avium* y luego se realizó IS901 que permite diferenciar entre las subespecies *avium* y *hominis*, siendo esta última negativa para IS901. En los tres casos se logró aislar y caracterizar *Mycobacterium avium* subsp. *hominis* (MAH). Muestras de ADN de 2 de estos perros fue enviada a Laboklin (Alemania), donde se estudió la presencia de la mutación en el gen *CARD9* y fueron caracterizados como *wild type* para este gen, descartando que comparten la mutación con los caninos de raza Schnauzers. MAH es el agente que con mayor frecuencia se aísla en caninos de la raza Schnauzer y es una micobacteria ambiental, presente en la ciudad de Buenos

Aires. Esta es una micobacteria no patógena y ambiental. Sin embargo, en estos animales, la gravedad de los signos y su diseminación se deba posiblemente a una mutación relacionada con la inmunidad. A pesar de no haber podido comprobar la presencia de la mutación en el gen *CARD9*, cabe destacar que estos casos reforzarían la idea de que, la aumentada susceptibilidad de algunas razas se debe a mutaciones en el genoma, quizás en alguna otra parte de éste. Se debe estar alerta ante la presencia de signos similares en otros caninos además que aquellos de la raza Schnauzer y, ante la presencia de linfadenitis generalizada, solicitar una tinción de Ziehl Neelsen para poder abordar rápidamente este cuadro.

Ghielmetti G, Giger U. 2020. *Mycobacterium avium*: an emerging pathogen for dog breeds with hereditary immunodeficiencies. Current Clinical Microbiology Reports. Sep;7(3):67–80.

<https://doi.org/10.1007/s40588-020-00145-5>

Haist V, Seehusen F, Moser I, Hotzel H, Deschl U, Baumgärtner W, Wohlsein P. 2008. *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* infection in 2 pet dogs, Germany. Emerging Infectious Diseases. 14(6):988-90.

<https://doi.org/10.3201/eid1406.071463>

Kontos V, Papadogiannakis EI, Mantziaras G, Styliara M, Kanavaki S. 2014. A case of disseminated *Mycobacterium avium* infection in a dog in Greece. Case Reports in Veterinary Medicine. July (1):1-3.

<https://doi.org/10.1155/2014/597847>

B-017-24. Frecuencia de aislamientos bacterianos en hisopados uterinos de yeguas

Fiorentino MA^{1,*}, Bonillo C², Mendez L¹, Mendez MA¹, Lomonaco J¹, Coronel JM³, Reinoso F³, Nicolai M³

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

2. Laboratorio de Análisis Clínicos y Medioambientales (CEDEAC), Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Veterinario de actividad privada

* fiorentino.maría@inta.gob.ar

Durante la temporada de cría, se debe evaluar la aptitud reproductiva de todas las yeguas destinadas a la reproducción. Además del examen ginecológico, esto incluye un examen microbiológico de muestras uterinas. Se recomienda tomar muestras también de aquellas yeguas que no presenten signos, ya que incluso las yeguas sin síntomas clínicos pueden estar infectadas con agentes patógenos. Las infecciones uterinas bacterianas se asocian a problemas de fertilidad y son una causa importante de pérdidas económicas en la producción equina. El presente trabajo describe la frecuencia de aislamientos bacterianos a partir de hisopados uterinos de yeguas recibidos en el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado del INTA Balcarce, Argentina, entre junio de 2023 y mayo de 2024. Se evaluaron 41 hisopados. Para la toma de muestras se realizó lavaje de la zona vulvar con una solución de iodopovidona al 10%. Utilizando una sonda estéril se realizó un lavaje uterino con 1000 mL de solución fisiológica estéril. Se dejó decantar el líquido obtenido y se volcó el sobrenadante lentamente para no perder el sedimento. Los 5 mL finales de líquido conteniendo el sedimento se colocaron en un tubo estéril y se centrifugaron durante 5 min a 5000 rpm. Posteriormente, se descartaron 3 mL del sobrenadante y en los 2 mL restantes (que contenían el sedimento) se introdujo un hisopo estéril. En medio Stuart y refrigerados, se remitieron los hisopos al laboratorio. Se cultivaron en placas con agar McConkey (MC) y agar sangre Columbia con 7% de sangre bovina (ASC), y se incubaron en aerobiosis y en atmósfera con 5% de CO₂, respectivamente. Los cultivos se examinaron a las 24 h (MC y ASC) y a las 48 h (ASC). Todos los crecimientos bacterianos fueron clasificados mediante pruebas bioquímicas clásicas, ocasionalmente cuando esto no fue posible se utilizó la técnica de espectrofotometría de masas MALDI-TOF para su clasificación (VITEK® MS, bioMérieux). Al menos una bacteria fue aislada en 27/41 (66%) hisopados uterinos, siendo el aislamiento más frecuente *Streptococcus equi zooepidemicus* (11/27) seguido por *Escherichia coli* (6/27). El 78% (21/27) fueron cultivos monobacterianos, mientras que en los restantes hisopados desarrollaron 2 o 3 bacterias diferentes. Nuestros resultados coinciden con los de otros autores que han reportado a los streptococos beta-hemolíticos y *E. coli* como las bacterias más frecuentes aisladas de muestras cervicales y endometriales de yeguas. La correcta identificación bacteriana es crucial para la posterior realización de antibiograma y

la recomendación de una terapia antibiótica en animales con problemas reproductivos.

Malaluang P, Wilén E, Frosth S, Lindahl J, Hansson I, Morrell JM. 2022. Vaginal bacteria in mares and the occurrence of antimicrobial resistance. *Microorganisms*. 10(11):2204. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112204>

Mouncey R, Arango-Sabogal J, Rathbone P, Scott C, de Mestre A. 2024. Prevalence of microbial isolates cultured from endometrial swab samples collected from United Kingdom thoroughbred mares from 2014 to 2020. *Veterinary Sciences*. 11(2):82. <https://doi.org/10.3390/vetsci11020082>

B-018-24. Aislamiento y caracterización de *Pseudomonas* grupos *putida* y *fluorescens* en una mortandad en un criadero de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de la Patagonia Argentina

Marcellino R¹, Ghersa F^{1,2,3}, Mignaqui AC^{1,3}, Paredero E¹, Prieto M⁴, Pappalardo JS¹, Rauque CA^{2,3,*}

1. Grupo de Nanomedicina Veterinaria, Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias Bariloche (IFAB), INTA Bariloche-CONICET, provincia de Río Negro, Argentina

2. Laboratorio de Parasitología, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medioambiente (INIBIOMA)-Universidad Nacional Del Comahue (UNCo)-CONICET, Argentina

3. CCT Patagonia Norte - CONICET, Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina

4. Servicio de Bacteriología Especial Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) ANLIS Dr. Carlos Malbrán, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* carlosalejandroraque@gmail.com

Pseudomonas es un género de bacterias flageladas Gram negativas con forma de bastón. Las especies del género *Pseudomonas* muestran una gran diversidad metabólica y son las especies bacterianas más prevalentes distribuidas a nivel mundial en suelos forestales, ambientes acuáticos, terrestres y piel humana o animal. Muchas especies de *Pseudomonas* se consideran patógenos oportunistas y se conocen varias especies patógenas para peces que provocan graves pérdidas económicas en la industria de la acuicultura (*P. putida*, *P. plecoglossicida*, *P. aeruginosa* y *P. fluorescens*), siendo *P. fluorescens* y *P. putida* las que causan graves pérdidas en el cultivo de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). La enfermedad septicémica por *Pseudomonas* se manifiesta con un curso agudo o crónico, con lesiones hemorrágicas sobre la piel (úlceras) y tejidos internos. Además, se presenta oscurecimiento de la piel, descamación, ascitis y exoftalmia. El objetivo del presente estudio es reportar la presencia de *P. putida* y *P. fluorescens* en una mortandad de truchas arcoíris en el Centro de Salmonicultura de la Universidad Nacional del Comahue en Bariloche, Patagonia, Argentina.

Durante noviembre de 2019 se reportó una mortandad de alevines y juveniles de trucha arcoíris en el Centro de Salmonicultura Bariloche. Las truchas enfermas mostraron signos clínicos de actividad letárgica, oscurecimiento de la piel, pérdida de apetito y comportamiento errático de natación circular, incluida la flotación de lado. Presentaban lesiones ulcerosas en la piel en diferentes zonas (cuerpo, aleta dorsal y caudal). Se seleccionaron 10 truchas afectadas, 8 de 3 cm y 2 de 20 cm. En el laboratorio se tomaron muestras de las lesiones externas con hisopos estériles para cultivo microbiológico y se revisaron órganos internos (riñón, hígado, bazo y tracto digestivo) para detectar lesiones. Los hisopos se sumergieron en tubos caldo BHI y se dejaron a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 7 días. Luego, de cada tubo, se sembró un inóculo de 20 uL en placas de agar BHI que se incubaron a temperatura ambiente por 48 horas. Las colonias que desarrollaron se repicaron para aislarlas en pureza y se conservaron a -80°C en glicerol al 25% para su

posterior estudio. Los aislamientos se caracterizaron por pruebas bioquímicas convencionales, por secuenciación parcial del gen 16SrARN y por espectrometría de masas MALDI-TOF utilizando el software Bruker Biotyper 3.1 (Billerica, MA, USA). El estudio fenotípico incluyó la descripción de la colonia, tinción de Gram y pruebas bioquímicas (catalasa, oxidasa, movilidad en tubo, nitrato, óxido/fermentación, gelatina a 22°C, lecitinasa, desarrollo en agar MacConkey, Kligler, sacarosa/trehalosa).

Se amplificó por PCR un fragmento de 618 pb del gen 16S rRNA utilizando cebadores previamente reportados específicos para *Pseudomonas* spp. Los fragmentos de PCR amplificados se purificaron y se enviaron a la unidad genómica del INTA, CICVyA para ser secuenciados mediante electroforesis capilar automatizada. Las secuencias obtenidas se compararon con las secuencias disponibles en la base de datos GenBank.

En el 100% de las truchas muestreadas se observaron lesiones ulcerosas en el cuerpo y las aletas, no se observaron lesiones en órganos internos, en un animal se observó ascitis. Se obtuvieron 19 aislamientos de las 10 truchas (95% de lesiones externas del cuerpo y aletas, 5% de líquido peritoneal). Todos los aislamientos fueron identificados como *Pseudomonas putida* por métodos fenotípicos convencionales. Por MALDI-TOF 16 aislamientos fueron identificados como *Pseudomonas* grupo fluorescens, 1 como *Pseudomonas* grupo pseudoalcaligenes, 1 como *Pseudomonas putida* y 1 como *Pseudomonas* sp. Por PCR los 19 aislamientos fueron positivos para *Pseudomonas* spp. y se lograron secuenciar 17 de los 19 aislamientos que fueron identificados como *P. putida* (6) y *P. fluorescens* (11).

Los resultados obtenidos nos indican que la mortandad de trucha arcoíris observada en el criadero está relacionada con *Pseudomonas* grupos *putida* y *fluorescens*. Las discordancias obtenidas entre los tres métodos de identificación ponen en evidencia que los grupos *P. putida* y *P. fluorescens* y sus especies son genéticamente muy similares, por lo que se requiere evaluar otras dianas genéticas para establecer inequívocamente por estas técnicas la especie prevalente responsable de la morbi-mortalidad en las producciones acuícolas y conocer la epidemiología local. Teniendo en cuenta que, en los últimos años, Argentina ha experimentado un notable aumento en la producción acuícola es necesario investigar y conocer los potenciales patógenos que pueden desarrollarse y afectar la salud en las producciones acuícolas Patagónicas.

Franzetti L, Scarpeluni M. 2007. Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. Annals of Microbiology. 57:39-47.

<https://doi.org/10.1007/BF03175048>

Eissa NME, El-Ghiet EA, Shaheen AA, Abbass A. 2010. Characterization of *Pseudomonas* species isolated from tilapia "Oreochromis niloticus" in Qaroun and Wadi-El-Rayyan lakes, Egypt. Global Veterinaria. 5 (2):116-21.
<https://doi.org/10.13140/2.1.5002.4961>

B-019-24. Estudio de polimorfismos de los antígenos ESAT-6, CFP-10 y EspC de aislamientos de *Mycobacterium bovis* provenientes de bovinos falso-negativos a la prueba de la tuberculina

Encinas M^{1,*}, Ferrara Muñiz X¹, Garbaccio S², Marfil MJ^{3,4}, Sammarruco A², Ruiz Menna V², Garro C², Delgado F², Zumárraga M¹, Eirin ME^{1,5}

1. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) CONICET-INTA, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA) - Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CNIA), provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVet), INTA-CONICET, Argentina

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

4. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

5. Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, provincia de Buenos Aires, Argentina

* encinas.micaela@inta.gob.ar

Mycobacterium bovis, agente causal de la tuberculosis bovina (TBB) afecta a numerosas especies pecuarias, silvestres y al ser humano. En el bovino, la prueba de la tuberculina (PT) se emplea como herramienta diagnóstica *ante-mortem*. La PT presenta limitaciones asociadas a su sensibilidad (~82%), lo que conlleva a la ocurrencia de animales que no reaccionan (falso-negativos), representando un desafío para el control de la enfermedad. Las proteínas ESAT-6, CFP-10 y EspC de *M. bovis* constituyen antígenos específicos e inductores de la inmunidad mediada por células. Se demostró que mutaciones no sinónimas de ESAT-6 se asocian con variabilidad en la respuesta inmune. Si bien un estudio realizado en aislamientos de *M. bovis* en animales con lesiones en frigorífico sugiere que los tres antígenos son conservados, no se ha abordado su caracterización en bovinos falso-negativos a la PT. Dada la relevancia de estas proteínas, se investigó la presencia de mutaciones en las secuencias codificantes de los genes *esxA* (ESAT-6), *esxB* (CFP-10) y *mb3645c* (EspC) en cepas de *M. bovis* aisladas de bovinos falso-negativos a la PT. Se estudiaron diez aislamientos de *M. bovis*, tipificados por spoligotipado, obtenidos de bovinos lecheros infectados, no reactores a la PT. Se amplificaron por PCR las secuencias codificantes de los genes *esxA*, *esxB* y *mb3645c* empleando los oligonucleótidos *esxAfLM/esxArLM*, *esxBf/esxBr* y *mb3645cf/mb3645cr*, respectivamente. Se obtuvieron las secuencias nucleotídicas por electroforesis capilar abarcando doble marco de lectura (BigDye ® v3.1, Applied Biosystems Inc). Se realizó su optimización manual (*Sequencher 4.8*) y analizó la presencia de polimorfismos (cepa de referencia *M. bovis* AF2122/97). Se detectó variabilidad por spoligotipo, siendo el predominante el SB01406 en 6 de los aislamientos, seguido por el SB0267 en dos aislamientos y el SB0120 y SB0145, identificados en un solo aislamiento cada uno. Sin embargo, los aislamientos de *M. bovis*, no presentaron polimorfismos en las secuencias deducidas de las proteínas ESAT-6,

CFP-10 y EspC. Si bien estos hallazgos son preliminares, sugieren que el resultado falso-negativo de la PT no estaría relacionado con la variabilidad en la secuencia de los antígenos ESAT-6, CFP-10 y EspC, descriptos como antígenos inductores de una fuerte respuesta inmune mediada por células. A su vez, se confirma la conservación de los antígenos estudiados en bovinos falso-negativos a la PT. Finalmente, si bien no constituye una prueba oficial de diagnóstico en nuestro país, sería interesante sumar a estos resultados la prueba de liberación de IFN-gamma, con el fin de determinar si la falta de respuesta observada en la PT se puede atribuir a una característica del sistema inmune de los bovinos analizados o a una limitación en la detección de sensibilización de la prueba empleada en el estudio.

Garbaccio SG, Garro CJ, Delgado F, Tejada GA, Eirin ME, Huertas PS, Leon EA, Zumárraga MJ. 2019. Enzyme-linked immunosorbent assay as complement of intradermal skin test for the detection of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Tuberculosis*. 117: 56-61.

<https://doi.org/10.1016/j.tube.2019.05.006>

B-020-24. Detección molecular de *Mycoplasma* spp. e identificación de otros microorganismos en el aparato respiratorio de perros y gatos

Maito J^{1,*}, Ricart MC^{2,3}, Mora B⁴, Tamiozzo P^{4,5}

1. Laboratorio BIO Diagnóstico Veterinario, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

2. Cátedra de Clínica Médica de Pequeños Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

3. EndoVete, Endoscopia Veterinaria

4. Laboratorio ACERCA- “Las Higueras”, provincia de Córdoba

5. Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, provincia de Córdoba, Argentina

* biodiagnosticoveterinario@gmail.com

Los agentes etiológicos más prevalentes asociados al complejo respiratorio felino (CRF) son: Herpesvirus felino, Calicivirus felino, *Chlamydophila felis*, *Bordetella bronchiseptica* (*B. bronchiseptica*) y *Mycoplasma* spp.; los agentes más prevalentes asociados al complejo infeccioso respiratorio canino (CIRC) son *B. bronchiseptica*, Adenovirus canino tipo 2, distemper canino, virus de la parainfluenza, virus de la influenza canina, coronavirus respiratorio canino, Pneumovirus y *Mycoplasma cynos*. De los agentes involucrados, tanto en el CRF como CIRC, *Mycoplasma* spp. es el más controvertido, ya que puede encontrarse en animales sanos y enfermos. A nivel global los antecedentes acerca de la presencia de micoplasmas en ambos complejos son escasos y más aún en Argentina. Conocer la frecuencia en que los micoplasmas se presentan en infecciones respiratorias de perros y gatos, así como también identificar co-infecciones con otros agentes etiológicos es importante no solo para arribar al diagnóstico de certeza, sino también para el mejor abordaje terapéutico. Además, se asume que las infecciones asociadas con micoplasmas son subdiagnosticadas. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Detectar *Mycoplasma* spp. a partir de muestras del tracto respiratorio de perros y gatos con afecciones respiratorias y 2) Identificar las co-infecciones bacterianas o fúngicas más frecuentes en dichos pacientes.

Se realizó un estudio prospectivo entre mayo de 2018 y mayo de 2021. Se procesaron muestras de lavados nasales y lavados broncoalveolares de 27 perros y 36 gatos de la zona de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y Gran Buenos Aires, cuyo rango etario era de 1 a 15 años de edad. Todos los pacientes habían sido derivados para endoscopía por signos clínicos respiratorios, con diagnósticos presuntivos de rinitis alérgica, bronquitis crónica, asma, disquinesia ciliar y neoplasias, entre otros. Algunos pacientes ya habían recibido tratamiento antibiótico prolongado previo a la endoscopía. A todas las muestras, en el laboratorio se les realizó cultivo bacteriológico convencional (agar sangre, incubadas a 37°C por 24-48h), cultivo micológico (agar Sabouraud y agar lactrimel, incubados a 30°C durante 30 días). Solo se realizó cultivo para *Mycoplasma* spp (agar Hayflick, incubadas 10 días a 37°C a una atmósfera con 5%

CO₂) en 6 muestras de perros y 21 muestras de gatos. Ninguna muestra fue testeada en busca de ningún virus. Todas las muestras, además, fueron analizadas por una PCR anidada género-específica que amplifica la región intergénica 16S-23S ARNr de micoplasmas asociado a mucosa previa extracción del ADN con kit comercial (Puriprep-S®, Inbio Highway, Argentina), siguiendo las instrucciones del fabricante.

En ninguna de las 27 muestras de perros (17 lavados nasales, 3 lavados traqueobronquiales y 7 lavados broncoalveolares) se aislaron colonias de *Mycoplasma spp.*, pero el 44% (12/27) -IC 95%- 23,8% - 65%- fueron positivas a la PCR con amplímeros entre 400 y 200 pb aproximadamente (9 lavados nasales, 1 lavado traqueobronquial y 2 lavados broncoalveolares). Las co-infecciones más frecuentes fueron: *Staphylococcus pseudintermedius*, *Bordetella bronchiseptica*, *Acinetobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Candida spp.* Con respecto a las 36 muestras obtenidas de los gatos (25 lavados nasales y 11 lavados broncoalveolares) solo en 2 de ellas (5,5%) se logró aislar colonias de *Mycoplasma spp.*, confirmadas por la PCR. El 55% de las muestras (20/36 - IC 95%- 37,9% - 67,7%) fueron positivas a la PCR (14 lavados nasales y 6 lavados broncoalveolares) con tamaños de amplímeros observados en las muestras de perros. Las co-infecciones más frecuentes fueron: *Pseudomonas aeruginosa*, *Bordetella spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Moraxella spp.*, enterobacterias y *Cryptococcus neoformans*.

En este trabajo se demostró la co-infección de varios agentes etiológicos del CRF y CIRC, entre ellos *Mycoplasma spp.* en ambas especies estudiadas. La identificación de los agentes etiológicos involucrados en la patogenia respiratoria u oportunistas complicando la enfermedad de base, es fundamental para indicar un tratamiento adecuado al animal. En trabajos futuros, deberá considerarse la relevancia clínica de estos hallazgos y los tratamientos previos de antibioticoterapia vinculados con las cepas detectadas o los aislamientos negativos.

Chandler JC, Lappin M R. 2002. Mycoplasmal respiratory infections in small animals: 17 cases (1988-1999). Journal of the American Animal Hospital Association. 38(2):111-19.

<https://doi.org/10.5326/0380111>

Tang J, Hu M, Lee S, Roblin R. 2000. A polymerase chain reaction based method for detecting Mycoplasma/Acholeplasma contaminants in cell culture. Journal of Microbiological Methods. 39(2):121-26. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(99\)00107-4](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(99)00107-4)

B-023-24. Identificación de *Malassezia pachydermatis* aislados de caninos mediante la técnica de MALDI-TOF

Smith V¹, Girgenti D¹, Taverna C², Vivot M², Arias B², Bentancor A¹, Colombatti Olivier MA¹, Rumi MV^{1,*}

1. Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina

2. Laboratorio de Levaduras, Departamento de Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina

* mvrumi@fvet.uba.ar

Las especies del género *Malassezia* forman parte de la microbiota normal en piel y conducto auditivo externo de humanos y animales, pero bajo ciertas condiciones pueden actuar como patógenos oportunistas. *M. pachydermatis* es la especie predominante en caninos. El objetivo del presente trabajo fue aislar e identificar a *M. pachydermatis* provenientes de caninos. Se realizó el aislamiento en Agar Dixon y Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) con cloranfenicol y cicloheximida a 35°C durante 5 días. La identificación fenotípica se realizó por su morfología con Gram, su capacidad de desarrollo en ASD y la producción de ureasa. La identificación genotípica se realizó por RFLP-PCR del gen D1D2 y digestión con la enzima *CfoI*. Luego se realizó la identificación proteómica mediante la técnica MALDI-TOF. Se obtuvieron 60 aislamientos provenientes de 53 caninos enfermos y 67 aislamientos provenientes de 45 animales sanos. Los aislamientos de caninos enfermos fueron un 80% provenientes de otitis. Los aislamientos de caninos sanos fueron 37,3% de conducto auditivo externo, 22,4% de espacio interdigital y 40,3% de zona perianal. En los resultados de MALDI-TOF se observó que había tres grupos según la identificación con diferentes espectros presentes en la base de datos. Mediante secuenciación de la región ITSs se determinó que había tres genotipos que podían ser identificados por su grupo de MALDI-TOF. Como conclusión, los aislamientos de *Malassezia pachydermatis* en nuestro estudio muestran 3 grandes genotipos que pueden diferenciarse con la técnica MALDI-TOF, observándose una concordancia del 96%.

Denis J, Machouart M, Morio F, Sabou M, Kauffmann-LaCroix C, Contet-Audonneau N, Letscher-Bru V. 2017. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identifying clinical *Malassezia* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 55(1):90-6.

<https://doi.org/10.1128/jcm.01763-16>

Dworecka-Kaszak B, Biegańska MJ, Dąbrowska I. 2020. Occurrence of various pathogenic and opportunistic fungi in skin diseases of domestic animals: a retrospective study. *BMC Veterinary Research*. 16(1):248.

<https://doi.org/10.1186/s12917-020-02460-x>

Zia M, Mirhendi H, Toghyani M. 2015. Detection and identification of *Malassezia* species in domestic animals and aquatic birds by PCR-RFLP. *Iranian Journal of Veterinary Research*. 16(1):36-41

EMTC-001-24. Concentración de cobre y zinc en hígados fetales bovinos

Marrón Y^{1,2}, de Yaniz G³, Indart M³, Sosa E¹, Miqueo E¹, Rodríguez P², Fernández E¹, Morrell E¹, García JA¹, Moore DP¹, Cantón G^{1*}

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

2. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa, La Pampa, Argentina

3. Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Centro de Investigación Veterinaria Tandil (CIVETAN), CONICET- Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

* canton.german@inta.gob.ar

El cobre (Cu) y el zinc (Zn) son microminerales esenciales para el normal funcionamiento de diferentes sistemas, incluyendo el sistema inmune. Los bovinos con normocupremia y normozinquiemia suelen ser más resistentes a infecciones durante la gestación que pueden dañar el *conceptus*, ocasionando infertilidad, mortalidad embrionaria, abortos y natimortos. Existen escasos reportes que evalúen el *estatus* de microminerales en hígados de fetos bovinos y no se han realizado estos estudios en Argentina. El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración de Cu y Zn en hígados de fetos bovinos abortados espontáneamente que arribaron al Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado de INTA Balcarce durante 2020-2023. Se realizó la autopsia a 60 fetos bovinos entre el segundo y tercer tercio de gestación. Se extrajeron tejidos frescos y en formol, así como fluidos fetales (líquido de cavidad y abomaso) para identificar diversos agentes infecciosos (bacterias, virus, protozoos) e histopatológicos, para determinar la etiología de los abortos. Se recolectaron muestras de hígado fetal que se preservaron a -80°C hasta su posterior procesamiento. Estas se secaron en estufa hasta obtener un peso constante, se molieron y digirieron con ácido nítrico y ácido perclórico. Se realizó la cuantificación de Cu y Zn mediante espectroscopía de absorción atómica. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de ANOVA de un factor para comparación de medias aplicando pruebas *post-hoc* de Bonferroni y la prueba t que compara medias de muestras independientes (Programa IBM-SPSS statistics, versión 27). Se declararon diferencias significativas en $p < 0,05$ y se estableció una tendencia cuando el nivel de significancia fue de $0,05 < p < 0,10$. De los 60 fetos, en 42 se detectaron lesiones inflamatorias, por lo que se consideró que fueron abortados por una causa infecciosa. En el 43% (18/42) de estos abortos se confirmó una etiología infecciosa (“abortos infecciosos”): neosporosis (n=12), campilobacteriosis (n=2), bacterias oportunistas (n=2), brucellosis (n=1) y virus de la diarrea viral bovina (n=1). En el 57% (24/42) restante de los fetos abortados con lesiones inflamatorias, no se pudo confirmar una etiología (“probables abortos infecciosos”). En los 18 fetos restantes no se observaron lesiones inflamatorias y no se estableció la etiología (“aborto no infeccioso”). La concentración de Cu hepática fue significativamente más alta en “abortos no infecciosos” (n=18) ($291,0 \pm 161,9$

$\mu\text{g}/\text{ml}$) que en “abortos infecciosos” (n=18) ($184,9 \pm 67,9 \mu\text{g}/\text{ml}$) y “probables abortos infecciosos” (n=24) ($190,1 \pm 116,7 \mu\text{g}/\text{ml}$) ($p=0,01$). No se observaron diferencias en las concentraciones de Zn en hígados de “abortos infecciosos” ($396,0 \pm 178,5 \mu\text{g}/\text{ml}$), “probables abortos infecciosos” ($377,6 \pm 197,7 \mu\text{g}/\text{ml}$) y “abortos no infecciosos” ($348,7 \pm 172,5 \mu\text{g}/\text{ml}$) ($p=0,78$). Este estudio, respaldado por los hallazgos de otros investigadores, establece una base sólida que subraya la importancia de investigaciones adicionales sobre las variaciones en la concentración hepática de Cu en los fetos bovinos. Los interrogantes que surgen son los siguientes: ¿Existe una disminución en la transferencia de Cu al feto durante estados patológicos? ¿Se observa un agotamiento de Cu durante el proceso inmune desencadenado para controlar infecciones? ¿Podría la baja concentración de Cu comprometer la resistencia inmune del feto, aumentando así la susceptibilidad a agentes infecciosos?

Abdelrahman M, Kincaid R. 1993. Deposition of copper, manganese, zinc, and selenium in bovine fetal tissue at different stages of gestation. *Journal of Dairy Science* 76:3588-93
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77698-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77698-5)

EMTC-002-24. Hemorragia intestinal y muerte aguda asociada a hipomagnesemia en vacas de tambo

García JP ^{1*}, Riccio MB ¹, Cantón J ^{2,4}, Cacciato CS ^{2,3,4}, Chiapparrone ML ^{2,4}

1. Servicio de Diagnóstico Veterinario de Tandil, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), (FCV - UNCPBA), provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC PBA), Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

4. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, CIC, Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina.

* jorge@vet.unicen.edu.ar

La hipomagnesemia es un trastorno metabólico común en bovinos de carne que consumen pasto verde, manifestándose en tres formas: subclínica, clínica (con síntomas como agresividad, marcha tambaleante, temblores musculares y convulsiones) y sobreaguda, que causa muerte rápida. Puede ser primaria por deficiencia de magnesio en la dieta o secundaria por mala absorción. Este estudio describe un caso de hipomagnesemia sobreaguda en vacas lecheras con hemorragias intestinales inusuales. Se investigó en un tambo con 330 vacas de alta producción y 132 de baja producción. Las vacas de alta producción recibían alimento balanceado, silo de maíz y pastura de alfalfa, rye grass y avena. En 17 días, murieron 14 vacas de alta producción de forma sobreaguda. Las necropsias revelaron hemorragias intestinales difusas severas. Para confirmar el diagnóstico, se realizaron necropsias en tres vacas y se tomaron muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR), alimento balanceado y sangre de vacas sin signos para el laboratorio de bioquímica, además de muestras estériles para el laboratorio de bacteriología y órganos en formol al 10% para histopatología. El magnesio en el LCR fue 1,08 mg/dL (\pm 0,025) y en el suero de cinco vacas, 1,67 mg/dL (valor de referencia $>$ 1,8 a 2,5 mg/dL). La bacteriología resultó negativa y las lesiones histológicas incluyeron congestión y hemorragia intestinal severa, degeneración grasa en el hígado y edema pulmonar. Se concluyó que la causa fue la deficiencia de magnesio en el alimento balanceado, sugiriendo que la hemorragia intestinal pudo ser resultado de una mayor fragilidad capilar en la mucosa intestinal.

Goff JP. 2014. Calcium and magnesium disorders. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 30(2):359-81.

<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.04.003>

Hindman MS. 2023. Metabolic diseases in beef cattle. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 39(2):337-53.

<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2023.02.011>

EMTC-003-24. Distocias y mortalidad perinatal en vacas y vaquillonas de tambo asociado a deficiencias minerales

Vilatuña E¹, Lauro A¹, Poo J¹, Pachiani M¹, Fiorentino MA¹, Verna A¹, García JA¹, Sosa E¹, Moore DP¹, Cantón G^{1*}

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

* canton.german@inta.gob.ar

El periparto de las vacas lecheras de alta producción, especialmente el período conocido como “vaca en transición” (3 semanas preparto a 3 semanas posparto), se caracteriza por cambios nutricionales repentinos que provocan una redistribución de nutrientes mediante la activación de sistemas homeostáticos, incluyendo también el mantenimiento de la concentración sanguínea de diversos minerales, especialmente los macrominerales Ca, P y Mg. Cuando estos mecanismos reguladores se ven afectados, por falta de control nutricional durante el preparto, aumenta la prevalencia de las llamadas “enfermedades de producción”, como la hipocalcemia clínica y subclínica, con la posibilidad de ocurrencia de problemas al parto y retención placentaria, entre otras. El objetivo de este trabajo es describir la ocurrencia de distocias asociadas a deficiencia de Ca y Mg en vacas y vaquillonas de dos tambos comerciales de la provincia de Buenos Aires.

En mayo de 2024, el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado del INTA Balcarce asistió a dos tambos, uno ubicado en el partido de Escobar (tambo A) y otro en Carmen de Areco (tambo B), con un manejo similar, con 130 y 1000 vacas/vaquillonas Jersey en ordeñe, respectivamente. Se registraron altos índices de atención de partos (alrededor del 25% de las vacas/vaquillonas en preparto), distocias leves y la ocurrencia de natimortos. Los pesos al nacer de los terneros eran normales, y con una correcta presentación al parto, tanto en vacas como vaquillonas. Ambos tambos son libres de brucelosis y tuberculosis. En la visita se recolectaron muestras de sangre por punción coccígea para la extracción de suero, de animales en preparto del tambo A y B ($n= 12$ y 7 , respectivamente), así como vientres que habían tenido partos asistidos y mortalidad perinatal ($n= 6$ y 8 , respectivamente). Se evaluó la concentración sérica de Ca, P, Mg y Cu mediante espectrofotometría de absorción atómica (EAA). Se realizó la necropsia de un natimorto hembra, Jersey, que pesó 14 kg, recuperado en el tambo B, donde se recolectaron muestras de tejidos en formol bufferado al 10% para análisis histopatológico. Además, se recolectaron muestras de tejidos (cerebro, bazo, pulmón) y fluidos (contenido abomasal y líquido de cavidades) para aislamiento bacteriológico, viral y detección de anticuerpos contra patógenos abortigénicos.

Se encontraron concentraciones bajas de Ca en bovinos de los tambos A y B: $6,78 \pm 1,00$ y $7,11 \pm 1,00$ mg/100 ml, respectivamente (valores de referencia 9,5-12,5 mg/100 ml). En el tambo B la concentración de Mg se encontró baja ($1,42 \pm 0,28$ mg/100 ml), a diferencia del tambo A que fueron normales ($1,84 \pm 0,49$ mg/100 ml) (valores de referencia 1,8 a 3,2 mg/100 ml). Ambos tambos tuvieron valores bajos de Cu sérico: $0,46 \pm 0,12$ y $0,58 \pm 0,14$ ppm, respectivamente (valores de referencia

0,6 a 1,5 ppm), mientras que el P sérico fue normal en ambos tambos: $7,94\pm1,74$ y $7,54\pm0,81$ mg/100 ml, respectivamente (valores de referencia 3,5 a 7,5 mg/100 ml). En la necropsia del natimorto se observó abundante líquido en cavidad torácica, congestión pulmonar generalizada y se constató que no había respirado. En el análisis histopatológico no se observaron lesiones en los tejidos fetales recolectados, ni presencia de agentes abortigénicos en los estudios realizados.

En el natimorto se pudo corroborar un bajo peso al nacer, ausencia de agentes causales de pérdida perinatal y de lesiones inflamatorias que sugriesen que esta muerte fue producida por la acción de un agente infeccioso abortigénico. Por otro lado, el cuadro de hipocalcemia y/o hipomagnesemia podría estar asociado con baja contractibilidad uterina, lo que conlleva al desarrollo de un parto lánguido y la consiguiente mortalidad perinatal. Se sugirió realizar ajustes en el aporte mineral durante el preparto para tratar de evitar este tipo de presentaciones.

Kovács L, Pajor F, Bakony M, Febel H, Edwards J. 2023. Prepartum magnesium butyrate supplementation of dairy cows improves colostrum yield, calving ease, fertility, early lactation performance and neonatal vitality. *Animals*. 13:1319. <https://doi.org/10.3390/ani13081319>

Lean I, LeBlanc S, Sheedy D, Duffield T, Santos JE, Golder HM. 2023. Associations of parity with health disorders and blood metabolite concentrations in Holstein cows in different production systems. *Journal of Dairy Science*. 106:500-18. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21673>

EMTC-004-24. Desarrollo de una metodología para la detección de L-canavanina utilizando cromatografía líquida de ultra-alta-performance acoplada a espectrometría de masas triple cuadrupolo

De Gerónimo E^{1*}, Rustichelli G¹, Castelli MV², Lopez SN², Poo JI^{1*}

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

2. Área Farmacognosia, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario – CONICET, Rosario, provincia de Santa Fe, Argentina

* degeronimo.eduardo@inta.gob.ar poo.juan@inta.gob.ar

La L-canavanina es un aminoácido no proteico derivado de la arginina que está presente en *Vicia villosa*, entre otras leguminosas. Tiene función de reserva de nitrógeno no proteico en semilla y funciones insecticidas. En los últimos años adquirió relevancia por su asociación en casos de toxicidad en bovinos pastoreando *V. villosa*. Castelli et al (2023) desarrollaron una metodología utilizando cromatografía de capa delgada de alta eficiencia (HPTLC) para la detección de L-canavanina. La cromatografía líquida de ultra-alta-performance acoplada a espectrometría de masas en tandem (UHPLC-MS/MS) es una técnica exacta y precisa empleada para determinar la presencia de compuestos específicos. El objetivo de este trabajo fue desarrollar una metodología analítica robusta para la determinación de L-canavanina en muestras de material vegetal mediante UHPLC-MS/MS. Optimización del proceso de extracción de canavanina: se evaluaron distintos extractantes sobre muestras fortificadas a diferentes niveles. Luego se evaluó la eficiencia de dilución del extracto y el empleo de carbón activado. Se evaluó el uso del derivatizante (cloruro de fluorenilmetiloxicarbonil; FMOC-Cl), empleado en la determinación de aminoácidos, para su análisis por cromatografía en fase reversa. Se evaluó el proceso determinando tasas de recuperación, efectos de matriz, reproducibilidad y límites de detección y cuantificación. La metodología desarrollada presenta un límite de detección de 1,5 mg/kg y un límite de cuantificación de 2 mg/kg. El método seleccionado demostró ser robusto para la determinación de L-canavanina en muestras de material vegetal, aunque en una próxima etapa se probarán distintos derivatizantes para lograr una mejor sensibilidad en el método.

Castelli MV, Poo JI, Canton GJ, Sosa E, Lopez SN. 2023. Desarrollo de un método cromatográfico por HPTLC para la detección y cuantificación de L-canavanina en muestras vegetales. XVIII Jornadas de Ciencias, Tecnologías e Innovación. Rosario, Argentina, p. 328.

E-001-24. Hemoglobinuria bacilar bovina: descripción de un foco en ausencia de *Fasciola hepatica*

Ovelar MF¹, Lloberas M¹, Sciolí V¹, Cantón GJ¹, García JA^{1*}

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

* lloberas.maria@inta.gob.ar

La hemoglobinuria bacilar (HB) es una enfermedad infecciosa toxémica de curso agudo o subagudo, letal, causada por *Clostridium haemolyticum* (*C. novy* tipoD), que afecta principalmente al ganado bovino y en menor medida al ovino. Es una enfermedad endógena en la que la bacteria ingerida por el animal persiste en macrófagos tisulares hasta que se den las condiciones de anaerobiosis necesarias para su multiplicación, más comúnmente asociada la migración de larvas de *Fasciola hepatica*. El objetivo de este trabajo es describir un foco de HB en bovinos en ausencia de *F. hepatica*. El foco ocurrió en mayo de 2024, cuando se afectaron y murieron 4 de 250 vaquillonas Angus en gestación avanzada (6 a 8 meses). Macroscópicamente, en 2 necropsias se constató necrosis hepática focal extensa en cara diafragmática del lóbulo derecho y cara visceral del lóbulo izquierdo, respectivamente, ictericia generalizada y hemoglobinuria. Microscópicamente se confirmó una hepatitis necrotizante focalmente extensa con trombosis y bacterias intralesionales. Mediante tinción de Gram se identificaron como bacilos gramnegativos con esporas subterminales. En materia fecal de 6 animales del mismo rodeo el análisis parasitológico resultó negativo a *F. hepatica*. Esto corroboró el diagnóstico de HB no asociada a *F. hepatica*, como fue previamente descripto en estudios en Argentina, donde solo en un 15% de los cuadros de HB se identificó *F. hepatica*, estando más asociado a animales con gestación avanzada como pudo ser observado en este foco. Por otro lado, en estudios realizados en Uruguay, tampoco se encontró asociación entre la parasitosis y HB, sugiriendo que suelos bajos inundables son propicios a la sobrevivencia y proliferación de *Clostridium*, siendo la ingesta directa de gran cantidad de bacterias suficiente para generar el cuadro clínico sin injuria hepática anóxica previa. En el foco en estudio los casos se produjeron luego de entrar a un potrero bajo inundable, donde ya se habían registrado otros episodios. Esto remarca la importancia de conocer los factores predisponentes para poder tomar medidas preventivas evitando la exposición o aumentando la capacidad inmunitaria con vacunación previo al ingreso de áreas de riesgo.

Navarro MA, Dutra F, Briano C. 2017. Pathology of naturally occurring bacillary hemoglobinuria in cattle. Veterinary Pathology. 54(3):457-66.
<https://doi.org/10.1177/0300985816688945>

Micheloud JF, Späth EJA, García JA, Cantón GJ, Moreira AR, Odriozola ER. 2018. Estudio retrospectivo de casos de hemoglobinuria bacilar diagnosticados en bovinos de la provincia de Buenos Aires (Argentina). FAVE Ciencias Veterinarias 17(1):30-5. <https://doi.org/10.14409/favecv.v17i1.7553>

E-002-24. Control de paratuberculosis bovina en tres rodeos lecheros

Smulovitz A¹, Molineri A², Abdala A^{2*}

1. Asociación Cooperadora INTA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina
2. Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IDICaL), CONICET- INTA EEA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

* abdala.alejandro@inta.gob.ar

La paratuberculosis (PTB) o enfermedad de Johne es causada por el *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP). La enfermedad es contagiosa, crónica, progresiva, sin tratamiento y su vía de transmisión es fecal-oral e intrauterina. Afecta rodeos bovinos de carne y leche de Argentina, produciendo pérdidas de producción, descarte de animales y muerte. El control se logra evitando que los animales adultos infectados y eliminadores de MAP por materia fecal, contagien a los terneros por contaminación del calostro, leche, alimentos, agua, suelo. El objetivo del trabajo fue evaluar la efectividad del control de PTB en tres rodeos lecheros con presencia de casos clínicos, aplicando medidas de higiene y de manejo y una prueba de ELISA comercial para detectar reaccionantes positivos y efectuar su descarte. Los rodeos A y B tuvieron un período de nueve años bajo control y el rodeo C durante siete. Se realizaron 2809 evaluaciones serológicas comprendiendo los tres rodeos, de las cuales 194 resultaron positivas (6,9%). La disminución de la prevalencia fue significativa en el rodeo A pasando del 20,1% en el primer año al 6,4 % en el noveno ($p=0,002$) y el rodeo B del 25,8% al 6,8% ($p<0,001$). En el rodeo C fue del 10% al inicio y de 5,7% ($p=0,516$) al séptimo año, no siendo significativa la diferencia. Deficiencias en la aplicación de las medidas de higiene y de manejo y demora en el descarte de reactores positivos pueden explicar estas diferencias entre rodeos. Se discute el uso de otras técnicas como PCR en materia fecal y mayor frecuencia de muestreo serológico para aumentar la detección de infectados.

Collins MT, Eggleston V, Manning EJ. 2010. Successful control of Johne's disease in nine dairy herds: results of a six-year field trial. *J. Dairy Science*. 93(4):1638-43.
<https://doi.org/10.3168/jds.2009-2664>

Fichtelová V, Králová A, Babák V, Kovařčík K. 2022. Effective control of Johne's disease in large Czech dairy herds. *J. Vet. Res.* 66(1):61-7.
<https://doi.org/10.2478/jvetres-2022-0001>

Scarpellini R, Giacometti F, Savini F, Arrigoni N, Garbarino CA, Carnevale G, Mondo E, Piva S. 2023. Bovine paratuberculosis: results of a control plan in 64 dairy farms in a 4-year period. *Prev. Vet. Med.* 215:105923.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2023.105923>

E-003-24. Detección de anticuerpos contra *Leptospira* en porcinos con diferentes estatus vacunales

Francois S E^{1*}, Ascaini V¹, Cane V¹, Poli G¹, Anthony L², Pereyra N¹

1. Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Casilda, provincia de Santa Fe, Argentina

2. Cátedra de Patología General Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Casilda, provincia de Santa Fe, Argentina

* silvinafrancois@fcv.unr.edu.ar

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa contagiosa, zoonótica, de distribución mundial, con un impacto significativo en Una Salud. Es causada por especies patógenas del género *Leptospira*, que incluyen más de 260 serovares agrupados dentro de serogrupos de acuerdo con similitudes antigenicas. La leptospirosis es endémica en las granjas porcinas y la forma más frecuente de la enfermedad es la subclínica que únicamente tiene evidencia serológica. De esta manera, los cerdos aparentemente sanos se convierten en portadores de la bacteria y la eliminan al ambiente, siendo fuente de infección para hospedadores susceptibles. Si bien el cerdo puede infectarse con diferentes serovares, los más frecuentemente detectados en esta especie pertenecen a los serogrupos: Pomona, Icterohaemorrhagiae y Australis. La prueba de aglutinación microscópica (MAT) es considerada de referencia para el diagnóstico serológico de la leptospirosis, debido a que permite la detección de varios serovares representativos de diferentes serogrupos, de ahí su utilidad para realizar estudios epidemiológicos en granjas porcinas. En rodeos donde la infección es endémica, los animales portadores pueden presentar títulos bajos de anticuerpos detectables mediante la MAT. La interrupción de la transmisión de leptospirosis de cerdos infectados a hospedadores susceptibles es un factor crítico en el control, y es necesaria la utilización de medidas complementarias entre sí, como la vacunación y la profilaxis higiénico-sanitaria, para evitar las pérdidas económicas producidas por la enfermedad en una explotación. Estudios previos indican que los títulos de anticuerpos observables mediante la MAT, inducidos por bacterinas comerciales, suelen ser bajos y de corta duración. Sin embargo, existen otros que sugieren que el uso de vacunas para el control de la infección puede inducir títulos elevados de anticuerpos y dificultar la interpretación de los resultados serológicos. Por dichas razones, al elaborar un diagnóstico a nivel de rodeo, se debería realizar un muestreo de al menos el 10% de los animales y considerar el historial de vacunación para mejorar la sensibilidad de la técnica diagnóstica. Los objetivos fueron: Estimar el porcentaje de porcinos serorreactivos a *Leptospira* spp. en diferentes regiones de Argentina y detectar anticuerpos específicos en porcinos vacunados y no vacunados. Durante el período agosto de 2023 a junio 2024, se analizaron 310 sueros sanguíneos de porcinos (*Sus scrofa domesticus*) adultos, de distintas razas y sexo, provenientes de granjas intensivas de Argentina. De ellos, 260 habían sido inmunizados con vacunas comerciales contra *Leptospira* spp.: de Buenos Aires (95), de Santa Fe (52), de Córdoba (37), de Corrientes (12) y de San Juan (64) y 50 no estaban vacunados: de Santa Fe (40) y de Córdoba (10). Las

muestras de sangre fueron extraídas por los veterinarios y los sueros sanguíneos remitidos se conservaron a -20°C. Para la MAT se emplearon las cepas de referencia de: *L. interrogans*: Pomona (Pomona); Icterohaemorrhagiae (Copenhageni, M 20), Canicola (Hond Utrecht IV), Australis (Jez Bratislava), Pyrogenes (Salinem), Sejroe (serovar Wolff, cepa 3705), Sejroe (Hardjo, Hardoprajitno), Autumnalis (Akiyami A), Bataviae (Swart), *L. kirschneri*: Grippotyphosa (Moskva V), y *L. borgpetersenii*: Ballum (Castellón 3) y Tarassovi Tarassovi (perepelitsin). El punto de corte fue 1:100. Del total de porcinos analizados, 170 (54,83%) (95% IC: 49.30%-60.38%) fueron serorreactivos a *Leptospira* spp., dentro de éstos, 152 (89,41%) (95% IC: 84.79%-94.04%) habían sido vacunados y 18 (10,59%) (95% IC: 5.96%-15.21%) no. De los vacunados, se hallaron: de Buenos Aires: 65 (42,76%) serorreactivos, 22 (33,84%) a 1 serovar: Autumnalis (15), Copenhageni (3), Pomona (2), Wolff (1) y Castellonis (1), con títulos de 1:100 a 1:200 y 43 (66,15%) reacciones cruzadas, de las cuales, la detectada mayoritariamente fue Pomona-Castellonis (10), el título más elevado fue 1:400 para el segundo; de Santa Fe: 28 (18,42%) serorreactivos; 7 (25%) a 1 serovar: Autumnalis (3), Castellonis (2), Australis y Cynopteri (1) y 21 (75%) con reacciones múltiples, en las que se hallaron los títulos más altos de 1:3200 para Pomona y 1:800 para Copenhageni; de Córdoba: 25 (16,44%), 2 (8%) reactivos a 1 serovar: Pomona 1:200 y Autumnalis 1:100 y 23 (92%) reacciones cruzadas, en las que los títulos más elevados fueron de 1:3200 para Wolff y 1:800 para Pomona; de Corrientes: 6 (3,94%) serorreactivos, 4 a Castellonis 1:200 y 2 reacciones cruzadas y de San Juan: 28 (18,42%), 24 a 1 serovar: Copenhageni (19), Pomona (2), Bratislava (2) y Australis (1) y 4 reacciones cruzadas, siempre con 1:100. Dentro de los no vacunados, se hallaron 17 (94,44%) serorreactivos de Santa Fe: Autumnalis (10) y Castellonis (7), con título de 1:100 y de Córdoba: 1 (5,55%) con reacción cruzada a tres serovares con 1:100. Un alto porcentaje de serorreactivos fue hallado en la población de porcinos vacunados. El porcentaje más alto de serorreactivos con títulos <1:400, se detectó en muestras de porcinos provenientes de Buenos Aires. En tres provincias de la Pampa húmeda, la principal serorreactividad fue en forma de reacciones cruzadas, en las cuales se apreciaron títulos \geq 1:800 para Pomona, Copenhageni y Wolff, en sueros de cerdas con antecedentes de problemas reproductivos. En los porcinos no vacunados, la serorreactividad observada con títulos bajos, sugiere infecciones con serovares no incidentales, probablemente diseminados por hospedadores de mantenimiento que suelen contaminar las explotaciones porcinas. Se detectó serorreactividad a Autumnalis, Australis y Cynopterien porcinos de Argentina. Estos resultados, además de contribuir al conocimiento global de la epidemiología de la leptospirosis porcina, pueden ser de utilidad para establecer medidas de manejo adecuadas para el control de las infecciones por *Leptospira* spp. en las granjas porcinas, lo cual es crucial para Una Salud.

Gomes de Araújo H, Limeira CH, Ferreira de Aquino VV, Longo Ribeiro Vilela V, José Alves C, dos Santos Higino SS, de Sousa Américo Batista Santos C, Santos de

Azevedo S. 2023. Global seropositivity of swine leptospirosis: systematic review and meta-analysis. Tropical Medicine and Infectious Disease. 8(158):1-14.

<https://doi.org/10.3390/tropicalmed8030158>

Schommer SK, Harrison N, Linville M, Samuel MS, Hammond SL, Wells KD, Prather RS. 2021. Serologic titers to *Leptospira* in vaccinated pigs and interpretation for surveillance. PLoS ONE. 16 (11):1-10.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260052>

E-005-24. Aplicación de una estrategia diagnóstica para definir el control de la brucelosis ovina a nivel predial en Patagonia

Martinez A^{1*}, Robles C², Pinto V³, Chodilef M¹, Lauroua C¹, Abdala A¹, Herrera R¹, Gallardo M¹, Cabrera R¹, Gauna M⁴, Cornelio D⁵, Fusswinkel J⁶

1. SIRSA - Grupo Salud Animal INTA Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina

2. Consultor privado, Investigador Asociado Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina

3. Residencia Estudiantil Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires, INTA, Argentina

4. SIRSA-Veterinario de Actividad Privada, Gral Roca, provincia de Río Negro, Argentina

5. SIRSA-Veterinario de Actividad Privada, Maquinchao, provincia de Río Negro, Argentina

6. SIRSA-Veterinario de Actividad Privada, Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina

* martinez.agustín@inta.gob.ar

La brucelosis ovina producida por *Brucella ovis* es una enfermedad ampliamente difundida en la Patagonia. Se ha estimado que el 60% de los establecimientos poseen al menos un animal positivo a ELISA, mientras que la prevalencia promedio en carneros es del 5,8%. Para controlar la dispersión de la enfermedad, la Resolución 545/15 del SENASA exige un análisis serológico negativo para poder transportar machos ovinos mayores de 6 meses con destino a una exposición o venta a otros establecimientos. Esta estrategia, pone en foco al animal, garantizando que los carneros transportados no sean reaccionantes a pruebas serológicas como inmunodifusión en gel de agarosa o enzimoinmuno-ensayo indirecto (ELISAi). Sin embargo, no se tiene en cuenta el estatus real del establecimiento de origen. En Argentina, el control intrapredial de la enfermedad es voluntario y no hay una estrategia efectiva reglamentada. Actualmente los establecimientos que implementan un plan de control, es mediante el diagnóstico clínico y serológico, con posterior descarte de los animales positivos. Las técnicas serológicas son pruebas indirectas de diagnóstico, con valores de sensibilidad y especificidad variable, pero que usualmente no llegan al 100% y por ello no son suficientes para definir el estatus real de la enfermedad a nivel predial. La OMSA recomienda la aplicación en serie de pruebas diagnósticas directas, como cultivo bacteriológico y/o análisis molecular (PCR) para confirmar un diagnóstico presuntivo clínico-serológico. En este trabajo se exponen los resultados obtenidos aplicando esta estrategia diagnóstica para definir el estatus real de la brucelosis ovina en establecimientos de Río Negro, Argentina. Se trabajó en 6 establecimientos (Eo) interesados en diagnosticar, controlar y/o realizar una vigilancia activa de brucelosis ovina en su majada. Inicialmente se realizó la revisación clínica y sangrado de todos los machos enteros del Eo, con el fin de detectar lesiones testiculares y/o epididimarias compatibles con la infección de *Brucella ovis* y detectar reaccionantes positivos con el test de ELISAi. Los animales

que resultaron positivos al ELISAi se mantuvieron aislados por 90 días, tomando muestras de sangre y semen mediante electroeyaculación cada 30 días o hasta definir el estatus real del Eo. Las muestras de semen se analizaron mediante PCR para detectar el ADN bacteriano, y cultivo bacteriológico en agar Thayer-Martin modificado para el aislamiento de *Brucella ovis*. Los Eo fueron categorizados de alto o mínimo riesgo epidemiológico para brucelosis ovina, según la confirmación o no de la presencia de *Brucella ovis* en sus animales. Nuestros resultados demuestran que en los Eo categorizados de alto riesgo, la prevalencia serológica inicial varió entre el 16 y el 25% de los carneros, teniendo similares porcentajes de lesiones detectadas en la revisación clínica. En el post-aislamiento se confirmó la presencia de *Brucella ovis* en el 64 al 100% de los animales mediante la aplicación de técnicas directas como PCR y cultivo microbiológico. En cambio, en los Eo categorizados de mínimo riesgo, la prevalencia serológica inicial varió entre el 4 y el 23% de los carneros, sin detectarse animales con lesiones clínicas. En el post-aislamiento, todos los animales resultaron negativos al ELISAi y en ningún animal se logró detectar *Brucella ovis* por medio de técnicas directas como PCR y cultivo luego de 3 muestreos de semen separados por 30 días. La aplicación de la estrategia diagnóstica propuesta permitió definir el estatus real de brucelosis ovina en cada establecimiento. Es así como, según la categoría de cada Eo y con mayor grado de certeza diagnóstica, se puede asesorar si es necesario o no el control de la enfermedad. Los Eo con riesgo alto se definieron al confirmar el aislamiento de *Brucella ovis* en el primer muestreo de semen de los carneros positivos a ELISAi. A partir de esta confirmación se logró implementar un plan de control eficiente de la enfermedad a nivel predial que contempla la revisación clínica y serología con ELISAi, con intervalo de 80 días y la eliminación de todos los carneros positivos a las pruebas diagnósticas indirectas. Los Eo con riesgo mínimo se definieron al no lograr la detección de la bacteria tanto en cultivo como por PCR en hasta 3 muestreos de semen. Además, los animales negativizaron en los siguientes análisis serológicos y ninguno presentaba lesiones detectables clínicamente. A modo de ejemplo, en Australia cada Estado ovejero posee un plan que implementa la estrategia de mínimo riesgo, para garantizar el estatus de los establecimientos inscriptos en un registro nacional de Eo de riesgo mínimo. En Argentina no existe ningún plan provincial superador que implemente dicho esquema de diagnóstico. Un caso interesante, fue el *Eo 6* que es una cabaña libre de brucelosis ovina, que en el sangrado pre-servicio se detectó el 23% de sus animales positivos a ELISAi. A los 30 días post-aislamiento de los animales, la totalidad de ellos negativizaron serológicamente, hipotetizando que se debió a una reacción inmunológica cruzada debido a alguna vacunación anticlostrídial en las semanas anteriores al muestreo serológico. Actualmente este tema se encuentra en estudio en el grupo de trabajo. Si bien existen estudios que demuestran que infecciones bacterianas como *Yersinia sp*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, y otras bacterias Gram negativas podrían generar reacciones inmunológicas cruzadas con *Brucella ovis*, llama la atención el alto porcentaje de reaccionantes falsos positivos en estos Eo. Ante estos resultados, se concluye que un análisis serológico de los carneros no sería suficiente para determinar el estatus real de la brucelosis ovina a nivel

predial. Es por ello por lo que se sugiere implementar esta estrategia de diagnóstico, al menos en aquellos establecimientos vendedores de carneros a fin de poder garantizar la venta de animales libres de *Brucella ovis*.

Organización Mundial de Sanidad Animal. 2024. Manual Terrestre. Capítulo: epididimitis ovina (*Brucella ovis*). [En línea] Disponible en:
<https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-manual-terrestre/> [Consultado 05/04/2024]

E-006-24. Evolución de la prevalencia de brucelosis y análisis témporo-espacial de zonas de riesgo en rodeos lecheros de la provincia de Santa Fe desde 2014 hasta 2023

Novoa MB^{1*}, Aguirre N², Ugarte E¹, Molineri AI¹, Foster CN¹, Vanzini VR¹

1. Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IDICaL), CONICET- INTA EEA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

2. Laboratorio Biovet LRS 0693, Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

* novoa.maría@inta.gob.ar

La brucelosis bovina, causada por *Brucella abortus*, produce trastornos reproductivos en los animales y es una enfermedad zoonótica grave. Genera pérdidas en la producción pecuaria debido a los abortos y menor precio de la leche de los rodeos infectados. La enfermedad es endémica en Argentina. En la provincia de Santa Fe, la prevalencia de brucelosis en bovinos de leche fue de 2,2% en el año 2013. En esta provincia, en el año 2002 se implementó el “Plan superador de control y erradicación de la brucelosis bovina” según la Res 497/02 de SENASA y se subdividió en tres regiones según la prevalencia de brucelosis: Zona 1 (Z1), Zona 2 (Z2) y Zona 3 (Z3). La prevalencia de brucelosis en las diferentes zonas en el año 2013 fue de 4,2%, 0,2% y 7,0%, respectivamente. La provincia de Santa Fe aloja el 34,5% de los tambos y el 32,6% de los bovinos de leche del país. Los departamentos Castellanos, Las Colonias y San Cristóbal concentran el 70% de los bovinos de leche y la producción láctea. En el laboratorio de red de brucelosis LRS 0331 de INTA Rafaela, desde el año 2000 se realiza el análisis de muestras de leche de tanque para detección de brucelosis en rodeos lecheros de aproximadamente el 70% de los tambos de la provincia. El objetivo del presente trabajo es analizar la prevalencia de brucelosis a través del tiempo, desde el año 2014 hasta el año 2023 en la provincia de Santa Fe, utilizando los datos generados por el LRS 0331. Rutinariamente, las industrias lácteas envían muestras de leche de tanque de cada uno de los tambos que le remiten leche cada 90 días según reglamentación de SENASA. Las muestras están compuestas por la leche total de un ordeño de un tambo. Se envían refrigeradas sin el agregado de conservantes. En el LRS 0331, se analizan mediante la prueba de ELISA indirecto. Los resultados se obtienen en porcentaje de positividad (%P) y las muestras con un %P \geq 23% se consideran positivas. En el presente trabajo, se tomaron los resultados de todos los tambos localizados en la provincia de Santa Fe analizados en el LRS 0331 desde 2014 hasta 2023. Se consideraron positivos los tambos que obtuvieron un resultado positivo en por lo menos dos de los muestreos anuales. Todos los tambos de los que se recibieron muestras se geo-referenciaron según las coordenadas de su localidad más cercana. Además, se agruparon los datos por departamentos de la provincia a través de los años. Se evaluó la presencia de *clusters* témporo-espaciales con alto riesgo de presentar tambos positivos a brucelosis utilizando el software SatScan, asumiendo una distribución de Bernoulli. Durante los años 2014 a 2023 se analizaron en promedio 2223 (DE = 361) muestras de leche de tanque por año. Se obtuvieron muestras de 17 departamentos de la provincia. La prevalencia de brucelosis en la provincia de Santa Fe fue de 1,8% en 2014, observándose luego un

decrecimiento hasta llegar a una prevalencia de 0,9% en 2018. En el año 2019 la prevalencia ascendió a 2,8% para volver a descender progresivamente hasta 1,6% en el año 2023. Los datos de prevalencia por departamento mostraron el mismo comportamiento, con una disminución hasta el año 2018 y luego un aumento en el año 2019 manteniéndose hasta la actualidad. Los departamentos con mayor prevalencia de brucelosis fueron 9 de Julio (Z3), Rosario, San Martín, San Jerónimo, Belgrano y San Lorenzo (Z1) con una prevalencia promedio durante los años analizados de 7,5% (DE = 7,4). Los departamentos Castellanos, Las Colonias y San Cristóbal, que concentran la mayor cantidad de tambos de la provincia, tuvieron una prevalencia de brucelosis promedio durante los años analizados de 1,4% (DE = 0,8). En el año 2023 estos departamentos tuvieron una prevalencia de brucelosis de 1,1%, 1,2% y 1,2%, respectivamente. En el análisis témporo-espacial se identificaron 4 *clusters* (C) significativos ($P < 0,001$) con alto riesgo de presencia de rodeos positivos: El C1 en el centro sur de Santa Fe, desde el año 2019 hasta el año 2023. En este *cluster* se obtuvo un Riesgo Relativo (RR) = 3,4, es decir que los tambos en esa área tienen 3,4 veces más riesgo de ser positivos a brucelosis en esa ventana temporal, que los de afuera. El C2 incluye el departamento 9 de Julio desde el año 2016 hasta el año 2020 con RR = 9,6. El C3 se encuentra en el centro oeste del departamento Castellanos, durante el año 2019 con RR = 16,2. El C4 se encuentra en el sur del departamento San Cristóbal, en el límite con el departamento Castellanos, durante los años 2016 a 2019 con RR = 6,8. En el presente análisis, se evidencia una disminución de la prevalencia de brucelosis desde el año 2014 hasta el año 2018, y luego un aumento en el año 2019, tanto en la provincia de Santa Fe en general, como en los distintos departamentos en particular. El año 2019 coincide con el año en que el plan superador de la provincia de Santa Fe dejó de tener efecto, al implementarse la Resolución 67/2019 y no presentar la provincia un plan superador. El análisis témporo-espacial es concordante con estos datos, ya que el C1 incluye a los departamentos de la Z1 durante los años 2019 a la actualidad. Los C3 y C4 se ubican entre los departamentos de Castellanos y San Cristóbal, departamentos con mayor cantidad de tambos de la provincia, durante el año 2019. El departamento de San Cristóbal históricamente tuvo una prevalencia muy alta de brucelosis que disminuyó luego de la implementación del plan superador. Para los departamentos de Castellanos y Las Colonias el objetivo del plan superador fue erradicar la brucelosis. De todos modos, desde 2019 las prevalencias en estos tres departamentos aumentaron y no se han vuelto a obtener prevalencias por debajo del 1%. Este análisis demuestra que la provincia de Santa Fe posee una prevalencia general baja de brucelosis en los rodeos de bovinos de leche. Algunos departamentos aun poseen prevalencias altas y los departamentos con prevalencia históricamente baja tuvieron un aumento desde el año 2019. Por esta razón, sería beneficioso que, bajo los lineamientos de la actual legislación sanitaria, se pueda volver a implementar un plan para el control y erradicación específico para la provincia de Santa Fe. En los departamentos centrales (Castellanos y Las Colonias) la prevalencia es aún baja y en estos departamentos predominan los rodeos de bovinos de leche respecto a los de cría, factores que facilitarían llegar a erradicar la enfermedad en esta zona. Por

otra parte, al menos el 70% de los tambos ya están incorporados al sistema de vigilancia epidemiológica del LRS 0331 de INTA Rafaela. Concentrar el análisis de muestras de todos los tambos de la provincia en un solo laboratorio regional oficial permitiría que los resultados estén disponibles para su análisis e implementación de medidas o modificaciones necesarias en el programa de control, según información epidemiológica actualizada.

SENASA. 2002. Resolución 497/2002 Plan superador de control y erradicación de la brucelosis bovina de la provincia de Santa Fe. [En línea] Disponible en: <https://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/verNorma.do;jsessionid=A63C374FD635E416D967A779164793BB?id=75009> [Consultado 01/04/2024]

E-007-24. Factores de riesgo asociados a la campilobacteriosis genital bovina en rodeos de la provincia de Formosa

Viola MN^{1-4*}, Elías IC¹, Signorini M², Russo AM¹, García JA³

1. Laboratorio de bacteriología, Centro de Investigación y Transferencia (CIT) provincia de Formosa, Argentina

2. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IDICaL), EEA Rafaela INTA-CONICET, provincia de Santa Fe, Argentina

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

4. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Formosa, provincia de Formosa, Argentina

* nair82viola@gmail.com

La campilobacteriosis genital bovina (CGB) es una enfermedad de transmisión sexual que afecta al rodeo de cría bovina provocando fallas reproductivas. El agente causal es *Campylobacter fetus*, que comprende las subespecies *C. fetus* subsp. *fetus* y *C. fetus* subsp. *venerealis*, incluyendo esta última el biovar *intermedius*. El toro actúa como portador crónico asintomático alojándose el agente, en la cavidad prepucial, mientras en la hembra, se presentan ciclos estrales largos, repetición de celo, bajos porcentajes de preñez y abortos esporádicos. La enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo especialmente donde se practica la ganadería extensiva con monta natural, como ocurre en Argentina donde es considerada endémica. Particularmente en la provincia de Formosa la prevalencia de CGB inter rodeo es de 29,6%, con 2,1% de animales positivos.

El objetivo de este estudio fue identificar los factores de riesgo asociados a la presencia de CGB en toros de los establecimientos ganaderos del centro y este de la provincia de Formosa. Se estudiaron 4.902 toros, pertenecientes a 101 establecimientos de la región objetivo, seleccionados aleatoriamente. Para el diagnóstico de *C. fetus* se realizó inmunofluorescencia directa (IFD) a partir de muestras de esmegma prepucial de toros. También se recolectaron los datos relevantes de manejo productivo y reproductivo, mediante una encuesta cerrada dirigida a los veterinarios responsables de cada establecimiento incluyendo información general del rodeo, manejo de los servicios, signos clínicos reproductivos, porcentaje de preñez, medidas de prevención y control de la enfermedad. Para identificar los factores de riesgo asociados a la presentación de *C. fetus* en los rodeos estudiados, se realizó una aproximación en dos etapas: una selección inicial de variables independientes mediante análisis univariados empleando Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGzM) con distribución binomial y función de enlace logarítmico (establecimiento como factor aleatorio), y luego aquellas variables asociadas con un $P < 0,05$ fueron incluidos en un MLGzM con establecimiento como factor aleatorio.

Se identificaron tres variables significativamente asociadas con la presencia de *C. fetus* en toros. Aquellos establecimientos que tratan a los machos positivos contra la enfermedad presentaron 2,3 veces (*Odds ratio* –OR-) más riesgo de presentar CGB con respecto a aquellos que eliminan los animales infectados. Esto podría

deberse a la falta de eficacia de los tratamientos y que no se realicen los análisis posteriores necesarios para determinar negatividad, dejando toros portadores en el rodeo. Los establecimientos que no realizan el diagnóstico anual de CGB tuvieron 2,3 veces más riesgo de presentar la enfermedad que aquellos que lo hacen regularmente. Los establecimientos que realizan uno o dos raspados presentaron 3,5 y 2,4 veces menos riesgo de presentar la enfermedad en comparación con los que realizan 3 raspados. Esta tendencia puede explicarse por los inconvenientes en la toma de muestra y el hecho de que la IFD tiene una sensibilidad media del 70%, siendo necesario aumentar el número de raspados, para mejorar la sensibilidad diagnóstica y así reducir la probabilidad de falsos negativos. A mayor número de raspajes, mayor es la probabilidad de detectar como positivo a un animal padeciendo la enfermedad.

La detección de los factores de riesgo asociados a la CGB ayuda a dilucidar el papel que desempeñan los factores epidemiológicos en la aparición y propagación de la enfermedad, permitiendo diseñar programas eficaces de control y prevención en establecimientos.

Viola MN, Elías, IC, Signorini M, Molineri AI, Russo AM, Zimmer PA, Lozina LA, Gimenez JN. 2023. Prevalencia y distribución geográfica de las enfermedades de transmisión sexual de los bovinos en la provincia de Formosa, Argentina. Revista Argentina de Microbiología. 56(2):147-52.

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.07.004>

E-008-24. Brucelosis en establecimientos mixtos de Formosa: identificación de factores de riesgo

Elías IC^{1*}, Viola MN¹, Russo AM¹, Signorini M²

1. Centro de Investigación y Transferencia (CIT), provincia de Formosa, Argentina
2. Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IDICAL), CONICET- INTA EEA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

* iriscarolinae@hotmail.com

Brucelosis es una antropozoonosis de distribución mundial, que continúa siendo un problema sanitario y económico de envergadura. Esta enfermedad infecto-contagiosa es producida por bacterias del género *Brucella* spp. En los animales, las principales vías de transmisión son la placenta, los líquidos fetales y las secreciones vaginales expulsadas por las hembras infectadas, ya sea al abortar o varios meses después del aborto o el parto.

El objetivo de este trabajo fue identificar aquellos factores de riesgo asociados a la presencia de brucelosis en explotaciones mixtas (bovinos/caprinos) en la región centro-oeste de la provincia de Formosa. Se realizó un estudio observacional transversal en los departamentos Patiño y Bermejo de la provincia de Formosa. Se muestrearon de manera aleatoria 67 establecimientos, con un total de 7855 animales (2943 bovinos y 4912 caprinos) durante el año 2022 y primer semestre del año 2023. Las muestras fueron analizadas serológicamente (BPA + FPA) para determinar aquellos animales positivos. En cada establecimiento se realizó una encuesta confidencial al productor a fin de evaluar potenciales variables asociadas. El análisis estadístico se realizó empleando Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM) con distribución binomial, función de enlace logarítmico y rodeo como variable aleatoria.

La prevalencia estimada de brucelosis en establecimientos mixtos fue del 9% y por animal del 2,75% de manera conjunta (caprinos - bovinos). La prevalencia de brucelosis en bovinos y caprinos estuvo explicada por la presencia de animales con sintomatología reproductiva ("Odds Ratio" OR= 40), presencia de abortos grandes o nacimiento de crías débiles (OR= 5,3), el tratamiento incorrecto de los abortos (OR= 8), el ingreso de animales desde otras explotaciones (OR= 5,9) y sin certificado negativo de brucelosis (OR= 9,6).

A través de este estudio fue posible identificar factores involucrados en la permanencia de la enfermedad en los rodeos, siendo estos esenciales para la elaboración de estrategias de manejo del riesgo basadas en ciencia. Es necesario reforzar el compromiso constante de los entes sanitarios nacionales y provinciales para incentivar el control de la brucelosis, ya que existe un gran desconocimiento por parte de los productores, debido a la falta de información y asesoramiento.

Dohoo I, Martin W, Stryhn H. 2003. Veterinary Epidemiology Research. Charlottetown, AVC Inc.

Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA). 2022. Manual terrestre. Capítulo 3.1.4 Brucelosis (*Brucella abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*). [En línea] Disponible en: <https://www.woah.org/es/que-hacemos/sanidad-y-bienestar-animal/recopilacion-de-datos-sobre-enfermedades/> [Consultado 30/05/2024]

E-009-24. Diagnóstico y epidemiología de la tripanosomiasis bovina en Argentina

Allassia M¹, Farias A², Rossini L², Díaz G², Marcipar I², Lozina L³, Arias D⁴, Bontempi I^{2*}

1. Hospital de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, provincia de Santa Fe, Argentina
2. Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, provincia de Santa Fe, Argentina
3. Centro de Investigaciones y Transferencia (CIT), CONICET Nordeste, provincia de Formosa, Argentina
4. Laboratorio de Enzimología Molecular, Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL), Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, provincia de Santa Fe, Argentina

* iabontempi@gmail.com

La tripanosomiasis bovina (TB) es una enfermedad que afecta al ganado bovino, manifestándose con fiebre intermitente, anemia, aborto, pérdida de peso y muerte. En América del Sur, es causada principalmente por el protozoo *Trypanosoma vivax* (Osório y col. 2008). Anteriormente, nuestro grupo desarrolló un ensayo de ELISA indirecto (TvISG-ELISA) utilizando dos proteínas de superficie de *T. vivax*, la Tv45 y la ISGAM12 (Bontempi y col. 2024). El objetivo de este trabajo fue validar el TvISG-ELISA empleando una quimera compuesta por ambos antígenos. Para la evaluación del TvISG-ELISA empleamos 210 sueros de bovinos positivos y negativos de TB y para el análisis epidemiológico se evaluaron 1290 muestras de bovinos en 50 rodeos de Formosa, Santa Fe y Córdoba entre enero de 2022 y febrero de 2024. El TvISG-ELISA empleando la quimera mostró una sensibilidad del 87% y una especificidad del 94. La seropositividad global de las muestras evaluadas fue del 58%. Los mayores porcentajes de positividad se observaron en el centro de Santa Fe (72%), seguido de Córdoba (64%) y el norte de Santa Fe (63%). Formosa presentó una positividad del 49%, siendo similar en los cuatro departamentos evaluados. Concluimos que la gran presencia de *T. vivax* en rodeos en toda la región evaluada representa un riesgo potencial de futuros brotes. Estos hallazgos destacan la importancia de un diagnóstico preciso y una vigilancia epidemiológica continua para mejorar la gestión de la TB en Argentina, siendo crucial implementar medidas preventivas de contención y control para evitar la propagación de la enfermedad.

Bontempi IA, Arias DG, Castro GV, Peverengo LM, Díaz GF, Allassia M, Greif G, Marcipar I. 2024. Improved serodiagnosis of *Trypanosoma vivax* infections in cattle reveals high infection rates in the livestock regions of Argentina. PLoS Neglected Tropical Diseases. 18(6):e0012020.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012020>

Osório AL, Madruga CR, Desquesnes M, Soares CO, Ribeiro LR, Costa SC. 2008. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World. A review. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 103(1):1-13. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762008000100001>

E-010-24. Estudio serológico de *Leptospira* spp. en animales silvestres de ambientes acuáticos en Argentina

Brihuega B^{1,3*}, Sarullo V¹, Hamer M^{1,2}, Esteban M¹, Sánchez C¹, Samartino L³, Martínez M^{1,3}

1. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), INTA- Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA) INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Instituto de Investigación en Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

* brihuega.bibiana@inta.gob.ar

Las zoonosis se definen como enfermedades de los animales que se transmiten de forma natural a los humanos, ya sea de manera directa o indirecta. La transmisión indirecta puede manifestarse a través de la presencia de estos patógenos en el medio ambiente. El vehículo de las leptospirosis es el agua. Nuestro objetivo fue detectar el contacto de leptospirosis patógenas con animales silvestres que viven en ambientes acuáticos, en agua salada y en ambientes de agua dulce (ríos, estuarios y humedales) en Argentina. Se analizaron 141 muestras de suero de *Eubalaena australis* ($n=3$), *Otaria flavescens* ($n=19$), *Arctocephalus australis* ($n=18$), *Mirounga leonina* ($n=15$), *Eunectes notaeus* ($n=20$), *Myocastor coypus* ($n=33$), *Caimán yacaré* ($n=15$) y *Blastocerus dichotomus* ($n=18$) provenientes del Laboratorio de Leptospirosis del Instituto de Patobiología del INTA. Las muestras se examinaron mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT) utilizando cultivos vivos de Leptospira crecidos en medio líquido EMJH (Difco) como antígeno. Cada uno de los sueros fue enfrentado a 23 serogrupos de *Leptospira*, con un punto de corte 1:25 (Ballum, Canicola; Grippotyphosa; Icterohaemorrhagiae; Pomona; Pyrogenes; Sejroe; Tarassovi; Australis; Autumnalis; Bataviae; Celledoni; Cynopteri; Djasiman; Hebdomadis; Javanica; Louisiana; Mini; Manaho; Panama; Ranarum; Sarmin; Shermani). Las muestras fueron incubadas durante 2h a 30°C, y se consideraron positivas aquellas con al menos un 50% de aglutinación de leptospirosis respecto al control. El 66,6% (2/3) de las ballenas francas australes (*Eubalaena australis*) fueron positivas con títulos de 1/50 (*L. weillii* serogrupo Celledoni y *L. kirschneri* serogrupo Grippotyphosa); un 11,1% (2/18) de los lobos marinos de dos pelos (*Arctocephalus australis*) fueron positivos con títulos de 1/50-1/100 (*L. santarosai* serogrupo Mini); un 36,3% (12/33) de los coipos (*Myocastor coypus*) fueron positivos con títulos de 1/100-1/800 (*L. interrogans* serogrupo Icterohaemorrhagiae, *L. borgpetersenii* serogrupo Ballum); un 20% (3/15) de los caimanes (*Caimán yacaré*) fueron positivos con títulos de 1/100-1/1600 (*L. interrogans* serogrupo Pomona, *L. weillii* serogrupo Sarmin); y un 33% (6/18) de los ciervos de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*) fueron positivos con títulos de 1/100-1/800 (*L. borgpetersenii* serogrupo Ballum, *L. interrogans* serogrupo Pomona y *L. kirschneri* serogrupo Grippotyphosa). Todas las muestras de lobos marinos de un pelo (*Otaria flavescens*), boas (*Eunectes notaeus*) y elefantes marinos (*Mirounga leonina*) fueron negativas. Este estudio describe el contacto entre las leptospirosis patógenas

y los animales que habitan en los mares, ríos, estuarios y humedales de Argentina. El conocimiento es esencial para tomar medidas preventivas adecuadas.

Zamora J, Riedemann S. 1999. Animales silvestres como reservorios de leptospirosis en Chile: una revisión de los estudios efectuados en el país. Archivos de Medicina Veterinaria. 31(2): 151-56.

<https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1999000200001>

E-011-24. Pérdidas productivas y reproductivas en ganado bovino lechero reaccionante a la prueba de tuberculina

Maas A¹, Passucci JA², Mihura HE¹, Traversa MJ^{2*}

1. Profesional dedicado a la actividad privada

2. Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CICPBA), CONICET, Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

* mjt@vet.unicen.edu.ar maria.julia.traversa@gmail.com

La tuberculosis de los mamíferos es una enfermedad infecciosa granulomatosa crónica causada por miembros del complejo *Mycobacterium tuberculosis* que afecta al ganado y a una amplia gama de especies de animales, incluidos los seres humanos. Dentro de este complejo, *Mycobacterium bovis* es el principal agente causal de la tuberculosis bovina (TB). La TB representa una amenaza para la salud pública debido a su naturaleza zoonótica y se reporta en más de 176 países en el ganado bovino generando pérdidas. Asimismo, en muchos países existen programas de control que han reducido la morbilidad de la TB. Estos programas de control poseen como principal estrategia la detección temprana de la enfermedad con la prueba intradérmica y la consiguiente eliminación de los reaccionantes positivos. En Argentina, en 1999, el Servicio Nacional de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria (SENASA) puso en vigencia el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina basado en el diagnóstico mediante la prueba intradérmica y el sacrificio posterior de los bovinos positivos. En 2012 el plan mencionado se amplió incorporando a otras especies domésticas a este esquema de tareas de saneamiento. Según este plan en bovinos se realiza la aplicación intradérmica de 0,1 mL de derivado proteico purificado de *M. bovis* en el pliegue anocaudal interno izquierdo del animal o en la tabla del cuello y el sitio de inyección es examinado a las 72±6 horas en busca de induración y aumento de espesor de la dermis. La TB está ampliamente distribuida y es una de las enfermedades del ganado bovino que más pérdidas económicas causa debido a: la implementación de los planes de control y eliminación, los problemas en la salud pública, la dificultad para la comercialización del ganado y sus productos, la reducción en la producción de leche, la eliminación prematura de animales, la permanencia en los rodeos de animales falsos negativos y el sacrificio de individuos falsos positivos, los problemas en la reproducción y los decomisos en faena. En bovinos tuberculino-positivos de tambos de EEUU, México, Bangladesh, Irlanda y Argentina se detectaron mermas en la producción láctea del 4%, 17%, 17,8%, 10% y 6,25%, respectivamente. Respecto de las pérdidas reproductivas en México se publicó un trabajo donde las vacas tuberculino-positivas debieron recibir un mayor número de inseminaciones artificiales para lograr la preñez que las tuberculino-negativas y el intervalo parto-concepción fue mayor para las vacas tuberculino-positivas. Es por esto que el objetivo de este estudio es analizar comparativamente la producción de leche y el desempeño reproductivo de vacas

Holando Argentino y cruza con Jersey positivas a la prueba de la tuberculina con el de vacas negativas. Para ello se compararon los registros productivos y reproductivos de 32 vacas reaccionantes y de 30 vacas no reaccionantes a la prueba de tuberculina. Las vacas pertenecían a un tambo de la cuenca oeste de la provincia de Buenos Aires y fueron diagnosticadas conforme a la normativa de SENASA. El tambo poseía 520 vacas en ordeñe durante los picos de producción, realizaba servicio doble estacionado mediante inseminación artificial y disponía de reposición propia, además como se encontraba en fase de crecimiento intentaba criar la totalidad de las hembras nacidas. La información obtenida a partir de los registros de las vacas tuberculino-positivas y negativas acerca de días en lactancia, litros de leche/lactancia, intervalo parto-parto, número de servicios/lactancia, número de partos en la vida productiva y número de crías fue sistematizada en planillas de cálculo computarizadas donde se calcularon datos promedio y porcentuales. Las variables continuas se compararon con la prueba t de student y las proporciones con Chi². Respecto de la producción láctea las vacas tuberculino-positivas produjeron un 13,4% menos que las negativas dado que las primeras produjeron 4158 L de leche/lactancia mientras que las segundas 4800 L/lactancia; además las positivas presentaron lactancias más cortas (286 días) en comparación con las negativas (299 días). En cuanto a los datos reproductivos el intervalo parto-parto fue mayor en las vacas tuberculino-positivas (14,24 meses) que en las negativas (13,7 meses) y la cantidad de servicios por lactancia fue mayor en las positivas donde fueron necesarios dos servicios/lactancia mientras que en las negativas 1,74. Además, las vacas tuberculino-positivas tuvieron 1,91 partos en su vida productiva en tanto que las negativas casi duplicaron este número con 3,9 partos. Los datos promedio descritos se compararon con la prueba de t de student y si bien las vacas tuberculino-positivas tuvieron desventajas productivas y reproductivas las diferencias no fueron estadísticamente significativas. En las 32 vacas tuberculino-positivas se registraron 59 terneros nacidos vivos de los cuales 25 fueron terneras y en las 30 negativas estos valores fueron 123 y 60, respectivamente. De las hijas nacidas de madres tuberculino positivas murieron 15 (60%) y de las negativas 19 (31,6%). Las proporciones de hijas muertas respecto del total de hijas nacidas para cada grupo de madres se compararon estadísticamente encontrándose una asociación entre el estado sanitario de las madres tuberculino-positivas y la mayor mortandad de sus hijas ($p=0,0149$). Estos hallazgos indican que las hijas de madres tuberculino-positivas registran mayor mortandad, dificultando la reposición y la expansión de un establecimiento lechero en crecimiento, sumado a las mermas productivas y reproductivas de las madres positivas que son acordes a las reportadas.

Mellado M, Reséndiz D, Martínez AM, de Santiago MA, Véliz FG, García JE. 2015. Milk yield and reproductive performance of Holstein cows testing positive for bovine tuberculosis. Tropical Animal Health and Production. 47:1061–66.

<https://doi.org/10.1007/s11250-015-0828-1>

Mellado M, Treviño N, Véliz FG, Macías-Cruz U, Avendaño-Reyes L, de Santiago A, García JE. 2021. Effect of co-positivity for brucellosis and tuberculosis on milk

yield and fertility of Holstein cows. Tropical Animal Health and Production. 53(5):504. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02952-4>

E-012-24. Detección de anticuerpos específicos contra *Leptospira* spp. en fauna silvestre de Argentina

Sánchez C¹, Lois F², Saraujo V¹, Esteban M¹, Hamer M^{1,3}, Brihuega B^{1,4}, Martínez M^{1,4*}

1. Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA) INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Fundación Temaikén, Belén de Escobar, Buenos Aires, Argentina

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

4. Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

* martinez.mara@inta.gob.ar

La leptospirosis es un problema de salud pública a nivel mundial. Diversos animales silvestres son portadores del patógeno y contaminan los recursos naturales, actuando como fuente de infección humana y otras especies animales (Ellis 2015). 61 muestras de suero provenientes de diferentes especies animales del bioparque Temaikén (Bs. As) fueron analizadas por la prueba de aglutinación microscópica (MAT), para la detección de anticuerpos anti-leptospira. Las mismas fueron de cinco coipos, cinco peludos, un armadillo de 9 bandas, quince zorros grises, tres yagüaretés, siete carpinchos, una mulita, tres zorrinos, una corzuela, cuatro agutíes, siete vizcachas, un tapir, un aguará pope, cuatro aguarás guazú, un oso melero, una mara y un tatú bola. Cada uno de los sueros fue enfrentado a 23 serovares de *Leptospira*, con un punto de corte 1:25. Las muestras fueron incubadas durante 2h a 30°C, y se consideraron positivas aquellas con al menos un 50% de aglutinación de leptospirosis respecto al control. De los 61 sueros analizados, 88,5% (54) fueron negativos y 11,5% (7) fueron positivos con títulos entre 1:25 y 1:25600 para: *Leptospira interrogans* serovares: Copenhageni cepa M20, Pyrogenes cepa Salinem, Canicola cepa Hond Utrecht IV y Pomona cepa Pomona; *L. weilli* serovares: Sarmin cepa Sarmin y Celledoni cepa Celledoni; *L. borgpetersenii* serovar Castellonis cepa Castellon III y *L. kirschneri* serovar Grippotyphosa cepa Moskva V. Los animales reaccionantes fueron cuatro zorros, un coipo, un zorrino y un peludo. La vigilancia epidemiológica en animales silvestres es importante para conocer la distribución y prevalencia de la enfermedad. Esto ayudará para tomar medidas preventivas adecuadas tanto para animales como para seres humanos

Zamora J, Riedemann S. 1999. Animales silvestres como reservorios de leptospirosis en Chile: una revisión de los estudios efectuados en el país. Archivos de Medicina Veterinaria. 31(2): 151-6.

<https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1999000200001>

E-013-24. Momificación fetal en bovinos: análisis retrospectivo de casos registrados en INTA Balcarce (1994-2024)

Sosa E¹, Moore DP^{1,2}, Campero LM¹, Verna A¹, González Altamiranda E¹, Fiorentino MA^{1,2}, García JA¹, Morrell E¹, Cantón G^{1(*)}

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

2. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

* canton.german@inta.gob.ar

La momificación fetal es una condición poco común en la mayoría de las especies domésticas y se presenta con mayor frecuencia en especies multíparas. También ocurre en especies uníparas cuando el feto muere y es retenido *in utero* durante un tiempo. En el bovino tiene una incidencia menor al 2%, presentándose a partir del día 70 de gestación cuando comienza el proceso de osificación. La momificación es un evento que se desarrolla sin luteólisis concomitante ni apertura del cuello uterino, siendo generalmente un proceso aséptico en condiciones anaeróbicas uterinas. El objetivo de este trabajo fue analizar retrospectivamente los casos de momificación fetal bovina registrados por el Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado del INTA Balcarce, Argentina, entre 1994 y 2024. De un total de 1289 fetos analizados entre 1994 y 2024, se registró que 1000 provenían de sistemas de carne, 269 de sistemas lecheros y en 20 casos no se determinó su origen. Se corroboró la momificación fetal en 38 casos, de los cuales 23 provenían de sistemas de producción de leche, 12 de rodeos para carne y en 3 casos no se identificó el origen. En la necropsia de los especímenes se extrajeron muestras de tejidos en formol al 10% para estudios histopatológicos (25/38), líquido de abomaso, pulmón, hígado y/o placenta para cultivo y aislamiento bacteriano (19/38), cerebro, bazo y/o pulmón para aislamiento viral (17/38), fluidos corporales para detección de anticuerpos contra *Neospora caninum* (17/38), alfaherpesvirus bovino tipo 1 (HVB-1) y virus de la diarrea viral bovina (VDVB) (6/38) y para identificar el VDVB por PCR (1/38). Además, se extrajo contenido de abomaso para cultivo de *Tritrichomonas foetus* (13/38), cerebro para PCR de *N. caninum* (8/38) e inmunohistoquímica (IHQ) (3/38), e improntas de tejidos fetales para inmunofluorescencia directa (IFD) contra *Leptospira* spp. (4/38).

Las momificaciones fueron más frecuentes en sistemas lecheros (OR= 7,12; IC 3,5-14,5; *p*=0,0001). Asimismo, se corroboró en 12/38 casos que las momificaciones ocurrieron entre el 4^{to} y el 7^{mo} mes de gestación. Las momias presentaron lesiones histológicas en 16 casos, incluyendo meningitis (6/16), miocarditis y miositis (4/16), pericarditis, neumonía intersticial y glositis (3/16), placentitis y poliserositis (2/16), encefalitis y hepatitis necrotizante (1/16). En 9 casos no pudieron observarse lesiones debido al avanzado grado de autólisis. Se aisló *Escherichia coli* (2/19) y *Streptococcus faecalis* (1/19). En ningún caso se aislaron agentes virales, se detectaron anticuerpos neutralizantes contra HVB-1 y VDVB, o se aisló *T. foetus*. Se detectó infección de *N. caninum* mediante la identificación de

anticuerpos (10/17) y por PCR (3/8). En uno de los 3 casos analizados por IHQ se corroboró inmunomarcación positiva a *N. caninum*. En 1/4 casos la IFD para *Leptospira* resultó positiva y la PCR contra VDVB (1/1) resultó positiva. En base a los resultados obtenidos y la presencia de lesiones compatibles, en 4 casos se pudo asociar la momificación fetal a *N. caninum*. En otro caso, se pudo identificar coinfección de *N. caninum* y *Leptospira*, en un feto que presentaba meningitis, serositis y neumonía intersticial. Por último, se pudo identificar coinfección de *E. coli*, *S. faecalis* y VDVB en un feto que presentaba glositis no supurativa.

La momificación es un proceso de deshidratación progresiva de un feto muerto *in utero*, que puede durar varios meses, estar acompañado de autólisis severa y pérdida de viabilidad de microorganismos. Aunque este proceso ha sido relacionado a infecciones intrauterinas con *N. caninum*, *T. foetus* y VDVB, otros procesos no infecciosos como compresión/torsión umbilical, torsión uterina, placentación defectuosa, alteraciones hormonales y anomalías genéticas están descriptos en la bibliografía. Es difícil detectar agentes infecciosos en las condiciones en las que se encuentran los especímenes por la momificación, razón por la cual puede ser baja la eficacia de detección etiológica en estos casos. Asimismo, el grado de autólisis que presentan posiblemente enmascaren lesiones inflamatorias que permitirían inferir una etiología infecciosa. Al corroborar una mayor frecuencia de casos de momificación fetal en sistemas lecheros y siendo que *N. caninum* es un agente que representa un mayor riesgo de aborto en estos sistemas, es entendible que este agente haya estado frecuentemente implicado. La aparición de estos eventos es esporádica y nuestros hallazgos remarcan las limitaciones de las pruebas diagnósticas rutinarias para identificar agentes infecciosos causales en este tipo de pérdidas reproductivas. Este desafío destaca la necesidad de avanzar en el conocimiento científico. En conclusión, es necesario un abordaje integral de estos casos para mejorar la eficiencia diagnóstica para abordar esta problemática de manera efectiva.

Baumgartner W. 2021. Fetal Disease and Abortion: Diagnosis and Causes. En: Bovine Reproduction. 684-685. <https://doi.org/10.1002/9781119602484.ch56>. Ed: Richard M. Hopper. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119602484.ch56>

[Consultado 01/07/2024]

Lefebvre RC. 2015. Fetal mummification in the major domestic species: current perspectives on causes and management. Veterinary Medicine (Auckland, N.Z.). 6:233-44. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S59520>

E-014-24. Leptospirosis en perros del Área Metropolitana de Buenos Aires. Año 2023

Leguizamón C¹, Gentile A¹, Zalabardo G¹, Furfaro A¹, Beltrán F¹, Cicuttin G^{1*}

1. Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Ministerio de Salud, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* gcicuttin@gmail.com

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, aguda y febril causada por bacterias del género *Leptospira*, que afecta sobre todo a los animales silvestres y domésticos, que sirven como fuente de infección para el ser humano. Los roedores actúan como reservorios de muchas serovariedades en todo el mundo. La enfermedad en perros puede presentarse tanto de manera subclínica como en formas severas (con falla renal y hepática) pudiendo causar la muerte. Los casos en perros son definidos como sospechosos, probables y confirmados, sobre la base de signos clínicos, epidemiología compatible y título de la prueba de microaglutinación (MAT). Se define como animal sospechoso aquel con síndrome febril agudo, nefropatía, mialgias, hemorragias, astenia, y epidemiología compatible con leptospirosis, que haya estado expuesto a inundaciones, temporada de lluvias, barro, basurales o contacto con aguas estancadas y/o con animales enfermos o roedores. Un caso probable es un caso sospechoso con un resultado reactivo para la MAT con título menor o igual a 1/400 (en una única muestra), ya sea a uno o más serogrupos, sin antecedentes de vacunación vigente. Se considera un caso confirmado de leptospirosis canina, a un animal sospechoso o probable con una única muestra reactivo para la MAT con título mayor o igual a 1/800 (frente a uno o más serogrupos, sin antecedentes de vacunación vigente), o con seroconversión a la MAT con al menos dos títulos de diferencia entre ellas (intervalo de 15 días), ó aislamiento bacteriano / PCR positivos. El objetivo de este trabajo fue describir los casos probables y confirmados de leptospirosis canina en muestras de animales sospechosos del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA) derivadas a nuestro laboratorio durante el año 2023. El diagnóstico se realizó mediante MAT contra 5 antígenos de *Leptospira* representativos de los serogrupos Ballum, Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona y Pyrogenes. Se recibieron 366 sueros de perros sospechosos (249 de Ciudad Autónoma de Buenos Aires-CABA- y 117 del Gran Buenos Aires-GBA-), resultando reactivos 30/366 (8,1%) sueros (título mayor a 1/200), 6 de CABA y 24 del GBA. El 40,0% (12/30) de los reactivos tuvieron un título entre 1/200 y 1/400 clasificándose como casos probables (4 de CABA y 8 del GBA); mientras que 18/30 (60,0%) sueros presentaron un título mayor o igual a 1/800 clasificándose como casos confirmados (2 de CABA y 16 del GBA). Los serogrupos que predominaron en orden decreciente fueron Icterohaemorrhagiae, Canicola y Pyrogenes. Estudios previos en el AMBA, mostraron variables niveles de positividad (13-21%), algo más elevados a los obtenidos en el presente estudio; sin embargo, se deben tener en cuenta las diferentes metodologías utilizadas (estudios poblacionales, perros con/sin signos compatibles, títulos de corte y/o seroconversión, entre otras variables). Se debe considerar que la leptospirosis es una enfermedad

subnotificada, especialmente en áreas urbanas-suburbanas en constante crecimiento, que presentan deficiente saneamiento ambiental, sumado a inundaciones por períodos de lluvias intensas, todos factores determinantes para la aparición de casos.

Ministerio de Salud de la Nación. 2022. Eventos de Notificación Obligatoria. [En línea] Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/salud/epidemiologia/eventos-de-notificacion-obligatoria> [Consultado 10/06/2024]

Ministerio de Salud de la Nación. 2014. Manuales y Guías Técnicas. [En línea] Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/salud/anlis/iner/documentos-cientificos-y-tecnicos-iner/manuales-y-guias-tecnicas> [Consultado 10/06/2024]

Tealdo MS. Capítulo 25: Importancia zoonótica de la leptospirosis canina en Argentina y Latinoamérica. En: R.A. Cacchione, R. Durlach y P. Marino. 2008. Tema de Zoonosis IV. Buenos Aires, Asociación Argentina de Zoonosis, pp237-47.

E-016-24. Ensayo de xenointoxicación de *Triatoma infestans* susceptibles y resistentes a insecticidas piretroides usando gallinas como hospedador tratado

Rocha-Bazán M¹, Alvedro A¹, Vázquez-Cañas C¹, Piñeiro S¹, Trezza-Neumayer D¹, Vassena CV,² Enríquez GF¹, Gaspe MS¹, Cardinal MV^{1*}

1. Laboratorio de Eco-Epidemiología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires (UBA), Departamento de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEBA)-CONICET, provincia de Buenos Aires, Argentina.

2. CIPEIN (Centro de Investigación en Plagas e Insecticidas)- UNIDEF-CONICET.

* mvcardinal@ege.fcen.uba.ar

El protozoo *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, es principalmente transmitido de forma vectorial, en áreas endémicas, por insectos triatomínos. Los rociados masivos con insecticidas piretroides son la principal estrategia empleada para prevenir su transmisión desde los '80s. La aparición de resistencia a estos insecticidas en poblaciones de *Triatoma infestans*, el principal vector, provoca fallas en el control y enfatiza la necesidad de estudiar nuevas herramientas alternativas frente a esta problemática como la xenointoxicación (i.e.: intoxicación del vector mediante la ingesta sanguínea). Nuestro objetivo fue evaluar la eficacia y la duración del efecto triatomicida del ectoparasiticida fluralaner en poblaciones de *T. infestans* susceptibles y con resistencia a insecticidas piretroides, utilizando gallinas como hospedador tratado en condiciones semi-experimentales con un diseño tratado-control. Tres gallinas formaron parte del grupo control y tres recibieron una dosis de 0,5 mg/kg de Bravecto® (fluralaner, MSD Animal) vía oral. Ninfas de estadios III a V fueron expuestas a las gallinas en 5 puntos temporales: 0, 3, 7, 14 y 28 DPT (días post-tratamiento). Registramos el grado de alimentación de los triatomínos tras cada exposición y la supervivencia. Se analizaron los datos mediante regresión logística y curvas de Kaplan-Meier. Se observó una mortalidad significativamente mayor (entre 72 y 85%) en los triatomínos que se alimentaron de gallinas tratadas respecto a los controles entre los 3 y 14 DPT. Estos resultados indican que es posible la incorporación de gallinas a un plan de manejo de triatomínos resistentes mediante la xenointoxicación simultánea de diversos hospedadores utilizando fluralaner.

Gorla D, Hashimoto K. Capítulo 10: Control strategies against Triatominae. En: Telleria J, Tibayrenc M. 2017. American Trypanosomiasis-Chagas Disease, One hundred years of research. 2da edición. Amsterdam, Elsevier, pp223–42.

Gurevitz JM, Gaspe MS, Enríquez GF, Vassena CV, Alvarado-Otegui JA, Provecho YM, Mougabure-Cueto G, Picollo MI, Kitron U, Görtler RE, 2012. Unexpected failures to control Chagas disease vectors with pyrethroid spraying in northern Argentina. Journal of Medical Entomology. 49: 1379–86. <https://doi.org/10.1603/ME11157>

E-017-24. Clamidiosis aviar en aves de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Período 2022-2023

Teijeiro ML^{1*}, Ramírez SE¹, Cicuttin GL¹, Madariaga MJ¹

1. Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Ministerio de Salud, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* mariateijeiro80@gmail.com

La clamidiosis aviar es una infección causada por especies del género *Chlamydia* (familia *Chlamydiaceae*) en aves; es una afección principalmente respiratoria, generalmente sistémica y ocasionalmente fatal, que puede transmitirse a las personas causando la enfermedad denominada psitacosis. El principal agente causal es *C. psittaci*, aunque también otras especies tienen potencial zoonótico, como *C. avium*, *C. gallinacea* y *C. abortus*. En las aves, la sintomatología clínica y la mortalidad son variables. *C. psittaci* ha sido descripta en más de 465 especies de aves. Las aves Psitaciformes son el principal reservorio de la bacteria, seguidas por las Columbiformes. El objetivo de este trabajo fue describir la situación de clamidiosis aviar en aves de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) en el período 2022-2023. Las muestras (hisopado cloacal y órganos) provenientes de aves (sintomáticas y asintomáticas) de CABA fueron remitidas al laboratorio del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur para su diagnóstico. Se realizó una PCR en tiempo real que amplifica un fragmento del gen ARNr 23S para familia *Chlamydiaceae*. El análisis estadístico se hizo mediante el programa Epidat v3.1. Se utilizó la prueba χ^2 para determinar la significancia de las diferencias en la frecuencia de familia *Chlamydiaceae* en aves psitácidas y no psitácidas, y en Columbiformes y otros órdenes de aves no psitácidas, considerándose significativo un valor de $p<0,05$. Se utilizó el programa QGIS 3.8 Zanzíbar para localizar los barrios con muestras positivas. En total se recibieron 1161 muestras de aves (500 correspondieron a psitácidos y 661 a no psitácidos) en el período 2022-2023. El 7,2 % (84/1161) resultaron positivas para familia *Chlamydiaceae*. La frecuencia de ADN de familia *Chlamydiaceae* detectado en aves psitácidas fue de 12,6% (63/500) y en no psitácidas de 3,2% (21/661), diferencia que resultó ser significativamente mayor en las primeras ($p<0,05$). Por otro lado, dentro del grupo de no psitácidos, se encontró que la frecuencia en aves del orden Columbiformes fue significativamente mayor que en el otro que incluye a los órdenes Falconiformes, Accipitriformes, Strigiformes, Anseriformes y Passeriformes ($p<0,05$), con valores de 10,6% (5/47) y 2,6% (16/614), respectivamente. Los barrios con mayor representación de muestras positivas fueron Puerto Madero, donde se localiza la Reserva Ecológica Costanera Sur (RECS), Flores y Palermo, donde se encuentra el Ecoparque de CABA. La frecuencia de ADN de familia *Chlamydiaceae* encontrada en aves psitácidas fue mayor que en no psitácidas, dado que las mismas constituyen su principal reservorio, con el riesgo zoonótico que esto implica, principalmente de *C. psittaci*. Como segundo reservorio se destacan las aves Columbiformes. Los muestreos en aves no psitácidas fueron principalmente en centros de rescate y rehabilitación de fauna silvestre (RECS). La frecuencia encontrada en esas especies es relativamente baja. Sin embargo, es

relevante dado el estrecho contacto humano animal que se genera en los mencionados centros, así como también la importancia que las aves rescatadas estén libres de clamidias antes de ser liberadas a su hábitat natural. Es de importancia continuar estudiando la circulación de bacterias del género *Chlamydia* para ampliar el análisis ecoepidemiológico de las mismas en aves de CABA, tanto en ámbito domiciliario como en centros de rehabilitación y rescate de fauna silvestre.

- Ehricht R, Slickers P, Goellner S, Hotzel H, Sachse K. 2006. Optimized DNA microarray assay allows detection and genotyping of single PCR-amplifiable target copies. *Molecular and Cellular Probes*. 20(1):60-3.
<https://doi.org/10.1016/j.mcp.2005.09.003>
- Spickler, Anna Rovid. 2009. Psitacosis/Clamidiosis aviar. [En línea] Disponible en: <https://www.cfsph.iastate.edu/es/enfermedades/factsheets/> [Consultado 10/06/2024]

E-018-24. Gen *iam*, asociado a invasión, como posible marcador de detección de *Campylobacter coli* y *Campylobacter jejuni* aislados de pollos de engorde de crianza industrial y familiar

Velilla AV^{1*}, Méndez MA¹, Terzolo HR¹

1. Laboratorio de Bacteriología, Área de Producción Animal, INTA EEA Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

* velilla.alejandra@inta.gob.ar

Campylobacter (C.) jejuni y *Campylobacter coli* son importantes patógenos causantes de infecciones alimentarias en seres humanos, las cuales se adquieren fundamentalmente mediante el consumo de carne aviar y de sus productos derivados. Diferentes cepas de *Campylobacter* spp. pueden poseer diferentes capacidades para la invasión y la adherencia celular, las cuales pueden ser atribuidas a la presencia, ausencia o adquisición de ciertos determinantes genéticos que participan en la patobiología de esta bacteria. El marcador asociado a la invasión denominado *iam* ha sido estudiado y significativamente asociado con la capacidad de invasión de *Campylobacter* spp. Termotolerantes. El objetivo del estudio fue evaluar la presencia del gen *iam* en cepas de *C. jejuni* y *C. coli* aisladas de lavado de carcasas de pollos de engorde de crianza industrial y de pollos de engorde de crianza familiar de la Argentina para su posible uso como marcador génico en la detección e identificación de *Campylobacter* spp. en muestras de origen aviar. Se analizaron 57 cepas de *Campylobacter* spp. Termotolerantes, de las cuales 46 son cepas de *C. coli*: 11 aisladas de ciegos de pollos camperos de crianza familiar y 35 de hígados y contenido cecal de aves de crianza industrial. Las 11 cepas restantes fueron identificadas como *C. jejuni*. Todos estos aislamientos se identificaron a nivel de especie mediante la prueba fenotípica de la hidrólisis del hipurato de sodio. Se empleó la técnica de PCR para la determinación de la presencia del marcador *iam*. Los productos obtenidos se sembraron en geles de agarosa al 1% con el agregado del colorante SyberSafe® para su visualización. De las 57 cepas analizadas, en 53 (92,98%) de ellas se detectó, mediante PCR, el marcador *iam* mientras que en las 4 (7,01%) restantes no se detectó. De estas cepas, el 95,65% de las cepas de *C. coli* y el 81,81% de las cepas de *C. jejuni* fueron positivas a la presencia del gen *iam*. Diferentes estudios de PCR realizados demostraron que el gen *iam* se encuentra entre el 80 al 90% de las cepas aisladas de aves y en el 63% de las cepas de *C. jejuni* invasivas aisladas de niños con diarrea. Sin embargo, se encuentran pocos trabajos publicados en los cuales se detecta la presencia de este marcador en cepas de *C. coli* de origen aviar; lo mismo ocurre para el caso de los aislamientos de origen humano debido, fundamentalmente, a que estas cepas sólo son identificadas a nivel de Género, pero no de especie y a que *C. jejuni* se aísla con más frecuencia de muestras humanas. Aunque este trabajo es preliminar y requiere ampliar el número de cepas analizadas, la detección del marcador *iam* en gran porcentaje de las cepas aviares estudiadas evidencia su importancia como potencial involucrado en la invasión de las células del ave. Asimismo, la identificación de este marcador en aislamientos

de *C. coli* de origen humano permitiría relacionar su presencia con la invasión a las células humanas.

Moreira Lima L, Perdoncini G, Apellanis Borges K, Quedi Furian T, Pippi Salle CT, De Souza Moraes HL, Pinheiro do Nascimento V. 2022. Prevalence and distribution of pathogenic genes in *Campylobacter jejuni* isolated from poultry and human sources. The Journal of Infection in Developing Countries. 16(9):1466-72.

<https://doi.org/10.3855/jidc.16485>

E-019-24. La prueba de la tuberculina aplicada en el pliegue anocaudal externo incrementa la detección de positivos a tuberculosis bovina

Garro C^{1*}

1. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA) INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

* garro.carlos@inta.gob.ar

La tuberculosis bovina (TB) es una infección bacteriana crónica y contagiosa que afecta al ganado. La prueba de la tuberculina (PT) es el método estándar para la detección de TB. En Argentina, la normativa indica aplicar el diagnóstico de situación de TB utilizando el pliegue anocaudal (PAC) interno (Resolución SENASA 128/2012–Art.17). Sin embargo, en otros países con importantes avances en el control de TB (EUA, Canadá, Australia, entre otros), la PT se aplica en el PAC externo. Se desconoce a nivel local, el desempeño de la PT aplicada en el PAC externo en rodeos bovinos en saneamiento. El objetivo de este trabajo es evaluar en tres unidades productivas (UP) la detección de TB utilizando la PT aplicada en el PAC interno y, posteriormente, aplicando la PT en el PAC externo. Adicionalmente, se reportan los hallazgos patológicos de necropsia a un bovino positivo a la PT aplicada en el PAC externo. Tres UP (A, B y C) con TB endémica de la provincia de Buenos Aires fueron evaluados. Los criterios de inclusión al estudio fueron: 1) rodeos lecheros sin ingresos de bovinos a la UP, 2) con antecedentes de TB en los cinco años precedentes al estudio, 3) que apliquen dos o más PT por año a todo el rodeo y 4) que realicen una estricta segregación, separación y eliminación de los positivos. Tres veterinarios acreditados (uno por cada UP), aplicaron las PTs y realizaron la interpretación de los resultados. Las PTs aplicadas en el PAC interno se realizaron siguiendo las instrucciones de la normativa local vigente. Las PTs aplicada en el PAC externo se realizaron siguiendo las guías de referencia del programa de Estados Unidos (Uniform Methods and Rules, USDA, EUA). Brevemente, se sujetó el PAC externo entre el pulgar y los dedos índice y medio para estabilizarlo y con la otra mano, se insertó la aguja entre las capas superficiales de la piel. Al inyectar la tuberculina, se constató la formación de una pequeña elevación en la piel en el sitio de la punta de la aguja. En todos los casos, la interpretación de los resultados se realizó por observación y palpación. Fue positivo todo bovino que presentó a las 72 horas cualquier aumento del espesor de la piel palpable en el sitio de inyección. Si existían dudas sobre la respuesta producida, se palpaba el PAC opuesto para determinar si había un cambio con respecto a lo normal. Para el análisis de los datos, el efecto de anidamiento de los resultados dentro de cada UP fue considerado. El resultado a la PT (positivo/negativo) fue modelado utilizando el pliegue como factor predictor (PAC externo vs PAC interno), ajustando los resultados por UP (efecto aleatorio). Se aplicó un modelo lineal generalizado mixto empleando la función glmmPQL del paquete MASS, bajo entorno de RStudio (versión 4.4.0). Este estudio epidemiológico evalúa un total de 10.301 PTs aplicadas en 3 UP independientes. En el PAC interno se realizaron 5.255 PTs, obteniendo un total de 119 positivos

(2,2%). En el PAC externo, se realizaron 5.046 PTs, obteniendo un total de 530 positivos (10,5%). En la UP A la proporción de positivos al PAC interno fue de 3,5% (25/713) y, 4 meses después, la proporción de positivos al PAC externo fue de 6,4% (52/808). En la UP B la proporción de positivos PAC interno fue de 3,2% (76/2365) y, 4 meses después, la proporción de positivos al PAC externo fue de 16,2% (377/2323). En la UP C la proporción de positivos al PAC interno fue de 0,8% (18/2177) y, 6 meses después, la proporción de positivos al PAC externo fue de 5,2% (101/1921). Controlando por el efecto de la UP, la chance de obtener un resultado positivo a la PT aplicada en el PAC externo fue 5 veces superior (OR = 5,1; IC95% = 4,1 – 6,2; $p<0,01$) a la chance de detectar un animal como positivo en el PAC interno. En la vaca sometida a necropsia en la UP B, se detectaron lesiones compatibles con TB en linfonódulos retrofaríngeos, traqueobronquiales y mediastínicos. Este estudio observacional demuestra un incremento significativo en la detección de TB utilizando el PAC externo en 3 UP independientes. Los factores que explican el mayor riesgo de detección de positivos no fueron evaluados en este estudio. Si bien podría haber ocurrido una mayor transmisión de TB durante el intervalo entre pruebas, no es razonable suponer que lo mismo hubiera acontecido en las tres UP evaluadas. Otro estudio local reporta, en bovinos con TB, que el tamaño de la reacción a la tuberculina (72 horas post inyección simultanea) es menor en el PAC interno en comparación con el PAC externo. Esto sugiere, quizás, que la palpación de las reacciones no sería una metodología suficiente para discernir correctamente a los animales positivos en el PAC interno. En tal caso, el uso de un cutímetro podría ser de importancia primordial. Otros factores del PAC interno podrían estar asociados a la menor detección de TB. El PAC interno es fino (~2mm), y en condiciones de trabajo a campo, podrían ocurrir inyecciones subcutáneas accidentales lo que podría reducir la sensibilidad diagnóstica. Por otro lado, al retirar la aguja desde el PAC interno, puede observarse en algunos casos la salida de tuberculina desde el sitio de inyección. Esto podría reducir la dosis de tuberculina y con ello, su sensibilidad diagnóstica. En contraposición, la PT aplicada en el PAC externo tiene algunas ventajas operativas para ser destacadas. No es necesario levantar la cola del animal al aplicar la PT, ya que el PAC externo es visible y fácil de manipular en su posición natural. Este detalle podría ser importante en rodeos grandes y/o, cuando no se cuenta con un colaborador. La posición anatómica del PAC externo es más horizontal que la posición del PAC interno con la cola levantada, lo cual facilita la maniobra de inserción de la aguja en el ángulo adecuado (10-15 grados). El PAC externo tiene un mayor grosor (~6 mm) lo que permite introducir la cánula de la aguja en toda su longitud dentro del espesor de la dermis, reduciendo la probabilidad de que el reactivo retroceda a través del canal formado por la aguja. En experiencia del autor, levantar levemente la cola (~25 grados) tensa el PAC externo mejorando la sensibilidad al tacto de las reacciones positivas. Finalmente, las reacciones positivas a la PT en el PAC externo son más grandes y, por lo tanto, más fáciles de detectar por palpación. No se descartan potenciales fallas en la especificidad de la prueba aplicada en el PAC externo. Sin embargo, la experiencia de otros países que aplican la PT en el PAC externo brinda confianza en los

resultados positivos obtenidos. Los resultados de este estudio muestran que aplicar la PT en el PAC externo produce un incremento significativo en la detección de TB. Futuros estudios epidemiológicos prospectivos podrán esclarecer si esta metodología de aplicación de la PT en el PAC externo logra controlar y/o erradicar la TB en rodeos endémicos.

U.S. Department of Agriculture (USDA). 2024. National Veterinary Accreditation Program. Reference Guide: Tuberculosis. [En línea]. Disponible en: <https://www.aphis.usda.gov/nvap/reference-guide/control-eradication/tuberculosis> [Consultado 21/06/2024].

E-020-24. Tuberculosis en vacas de engorde a corral

Garro C^{1*}, Molina M², Ydiart P²

1. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA) INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. SENASA Oficina local Adelia Maria, provincia de Córdoba, Argentina

* garro.carlos@inta.gob.ar

La tuberculosis bovina (TB) es una infección bacteriana crónica endémica en Argentina. Se ha reportado la ocurrencia de TB en novillitos, pero es escasa la información de TB en vacas de sistemas de engorde a corral (EC). El objetivo de este estudio es detectar la presencia de TB en la categoría vacas de EC. El estudio se realizó en un EC del sur de la provincia de Córdoba con 459 bovinos en engorde. Se seleccionó, aleatoriamente, uno de los corrales de engorde con 66 vacas de razas criollas, cruzas y británicas provenientes de 24 orígenes distintos. Las mismas, llevaban 60 días de encierro. El diagnóstico se realizó con la prueba de la tuberculina (PT). La información de procedencia se obtuvo a través del sistema de gestión sanitaria de SENASA. El análisis espacial se realizó con SatScan v10.1.2. La prevalencia de tuberculosis fue del 3%. Los animales con TB provenían de 2 orígenes. El análisis espacial detectó un agrupamiento de los orígenes de positivos centrado en las coordenadas -33.56 S, -63.40 O, con un radio de 70 km. Los resultados sugieren que la transmisión intra-corral en vacas de EC es limitada. La presencia de TB puede producir pérdidas productivas debido al decomiso en faena y representa un potencial riesgo para la salud pública. El control sanitario de TB permite identificar por trazabilidad el origen que impulsen maniobras de saneamiento. Asimismo, la aplicación del diagnóstico podría limitar el impacto de la TB en sistemas de EC.

Garro C, Ydiart P, Molina M, Garbaccio S. 2021. Vigilancia epidemiológica de tuberculosis: ¿puede el engorde a corral brindar información adicional? XXIII Reunión Científico Técnica AAVLD. Modalidad virtual, p.76.

IT-001-24. Brotes de tripanosomosis y anaplasmosis en tambos bovinos de la zona centro-oeste de la provincia de Santa Fe

García ME*

Veterinaria Santa Fe, Laboratorio de Diagnóstico LR0574 provincia de Santa Fe

* vetsfejosefina@gmail.com

La tripanosomosis es causada por parásitos unicelulares flagelados de la familia *Tripanosomatidae*, miden 20 a 26 μ y se localizan en la sangre, de manera extracelular. *Tripanosoma vivax* es el agente causal más importante detectado en animales ungulados silvestres y domésticos. Esta parasitemia fue diagnosticada por primera vez en Argentina en el año 2006 en bovinos y búfalos de la provincia de Formosa, provocando numerosas muertes. En el año 2017 se reportó el primer caso de esta enfermedad en un tambo del departamento Castellanos (Santa Fe).

La anaplasmosis, cuyo agente etiológico -responsable de casi todos los brotes de enfermedad clínica- es el *Anaplasma marginale* (microorganismo intracelular obligado, del orden Rickettsiales, familia Anaplasmataceae), infecta a los eritrocitos de los rumiantes, es una enfermedad anemizante que provoca importantes pérdidas económicas asociadas a la disminución de la producción láctea, la ganancia de peso, costos de tratamientos y a la mortandad de animales. Es una enfermedad enzoótica en zonas infestadas por garrapatas (junto con babesiosis son causantes de la “tristeza bovina” en climas tropicales y subtropicales) y es epizoótica en zonas libres de garrapata bovina *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Ambas parasitosis se pueden transmitir por vectores Dípteros hematófagos y de manera iatrogénica durante la extracción de sangre, vacunaciones masivas, instrumental quirúrgico, castraciones, descorne y tacto rectal.

La babesiosis es producida por un protozoo del género *Babesia* (familia Babesiidae, orden Piroplasmida). Las especies prevalentes en Argentina, *Babesia bovis* y *Babesia bigemina*, parasitan los glóbulos rojos causando un síndrome hemolítico. Se transmiten por la picadura de la garrapata común del bovino (*Rhipicephalus microplus*). Sin la presencia de este ectoparásito no hay babesiosis.

Durante el período abril del 2019 a septiembre del 2023, se analizaron 150 muestras de sangre procedentes de 20 establecimientos de la zona de la localidad de Josefina para el diagnóstico de hemoparásitos en bovinos lecheros, que fueron enviadas al laboratorio debido a la presencia de uno o más signos compatibles con infestación por éstos. Dichos establecimientos productivos pertenecen al departamento Castellanos, ubicado en el centro-oeste de la provincia de Santa Fe, en el límite con la provincia de Córdoba, representando el 2,5 % del total de tambos registrados en este departamento (zona libre de garrapata bovina). Las muestras de sangre con anticoagulante y de frotis de sangre capilar periférica, fueron procesadas dentro de las 6 horas de recibidas. Se utilizó la coloración de Giemsa al 10% durante 30 minutos, tras fijarse durante un minuto con metanol³ y posterior observación microscópica en 40 y 100 X.

Se hallaron tripanosomas en dos (10%) de los establecimientos lecheros de vacas Holando argentino, un caso positivo a tripanosomas en abril del 2019 y el otro en

mayo del 2021. *Anaplasma marginale* se observó en 7 (35%) de los 20 establecimientos que enviaron muestras en distintos momentos, en los meses de verano y otoño durante el período mencionado. El porcentaje de eritrocitos infectados es alto durante la fase aguda de enfermedad clínica e indetectable en infección latente. Dos establecimientos, positivos a Anaplasmas, enviaron muestras de sueros de sus bovinos, a INTA Rafaela, para conocer la endemidad de sus rodeos. Nunca se hallaron Babesias, coincidente con la ausencia de la garrapata que las transmite; tampoco se hallaron coinfecciones. Los resultados positivos a los hemoparásitos hallados se correspondieron con los signos clínicos de los rodeos infectados: palidez de mucosas, anemia severa, dificultad respiratoria, animal aislado, anoréxico, disminución de la producción láctea, adinamia, tambaleos, pelo hirsuto, hipertermia, edema submandibular, algunas muertes (3 a 4%) y abortos. A la necropsia (informadas en 5 de los establecimientos confirmados) se observó esplenomegalia e ictericia (muy marcada en los casos de anaplasmosis). Para los establecimientos con resultados negativos se sugirió repetir el muestreo, enviar sueros a INTA y/o analizar posibles diagnósticos diferenciales (golpe de calor, leucosis bovina -endémica en la zona-, leptospirosis, intoxicaciones y otras). En los rebaños con tripanosomas se realizaron dos tratamientos con diamenaceno aceturato. Los animales infectados con *Anaplasma* fueron tratados con oxitetraciclina o imidocarb. Los signos, los resultados de laboratorio junto con las respuestas favorables a los quimioterápicos, permitieron confirmar los diagnósticos de los casos clínicos. Se conjectura que ambas enfermedades parasitarias, con manifestaciones externas similares, se podrían estar expandiendo desde zonas endémicas del norte hacia la zona pampeana, donde se observa la presencia de vectores (tábanos, mosca brava -*Stomoxys calcitrans*- y mosca de los cuernos -*Haematobia irritans*-) que se incrementan en los meses de calor y humedad ambiente.

Es necesario alertar e implementar medidas preventivas para controlar la propagación del *Tripanosoma vivax* y *Anaplasma marginale*. Para esta última, hay vacunas vivas con *Anaplasma centrale*, de baja virulencia, que brinda inmunidad cruzada parcial contra *Anaplasma marginale* -para uso exclusivo de bovinos de 4 a 10 meses de edad-, la que se aplicaría cuando hay riesgos de brotes epizoóticos (previa determinación del porcentaje de prevalencia de animales con anticuerpos en sangre).

Para ambos hemoparásitos es imperante observar las medidas de higiene y desinfección de instrumentales utilizados durante las maniobras y manejo con bovinos, además de tratar de controlar la población de vectores con medidas como la gestión integral de plagas. Se necesitan más estudios para determinar la situación epidemiológica actual en las diferentes zonas de Argentina.

Rejf PK, Sánchez A, Canal AM, Mariño B, Eidmuller L. 2017. Reporte de un caso de tripanosomosis bovina en un campo de la provincia de Santa Fe. V Jornada de difusión de la investigación y extensión. Esperanza, Argentina. Área Temática: Salud Animal. [En línea] Disponible en:

<https://www.fcv.unl.edu.ar/investigacion/jornadas-2017-salud-animal/> [Consultado 02/06/2024]

Trabattoni E. 2017. Diagnóstico de anaplasmosis, babesiosis y tripanosomosis en bovinos. Recopilación Bibliográfica. [En Línea] Disponible en: https://esperanzadistri.com.ar/wp-content/uploads/2017/09/Anaplasmosis_y_Babesiosis.pdf [Consultado el 29/05/2024]

Manual Terrestre de la OIE. 2015. Anaplasmosis bovina. Capítulos 3.4.1 [En Línea] Disponible en:

https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.04.01_A_naplasmosis_bovina.pdf [Consultado 29/05/24]

IT-002-24. Cambios químicos y sensoriales en calamar *Illex argentinus* durante el almacenamiento en frío

Burkhard I^{1,*}, Aon A, Bonavigna R¹, Villarreal P¹

1. Departamento de Físico Química, Laboratorio Regional SENASA Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

* iburkhard@senasa.gob.ar

El calamar argentino es una de las especies comerciales más importantes para nuestro país. Se exporta a China, Unión Europea, Japón y Estados Unidos, entre otros destinos. Se comercializa entero, en tubo, anillas, tentáculos y aletas. Para evaluar la frescura del calamar los ensayos más utilizados son determinación de Nitrógeno Básico Volátil (NBV), evaluación de los caracteres sensoriales y pH. La determinación del NBV es un indicador químico que permite cuantificar las bases nitrogenadas que son producidas en el deterioro post mortem del molusco. El pH es un ensayo muy utilizado en la práctica para evaluar la frescura en los productos pesqueros y posee la ventaja de ser un método rápido y sencillo. La evaluación sensorial consiste en describir las características de un alimento percibidas mediante los sentidos y debe ser realizada por un panel de analistas entrenados. Los parámetros que se describen son el aspecto, el color, la textura, la adherencia, el desgarramiento de los tentáculos, el olor y, a la cocción, olor y sabor.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los cambios químicos en los parámetros de Nitrógeno Básico Volátil (NBV), pH y los cambios sensoriales en muestras de calamar *Illex argentinus* almacenados refrigerados hasta llegar a su descomposición.

El estudio fue realizado en el Departamento de Físico Química del Laboratorio Regional SENASA Mar del Plata. La muestra de 36 ejemplares de calamar *Illex argentinus* fue fraccionada y almacenada en la heladera durante 5 días. Se realizaron durante los días: 1, 2, 3, 4 y 5 los ensayos de NBV por Antonacopoulus, pH por método potenciométrico y evaluación de los caracteres sensoriales describiendo: aspecto, color, textura, adherencia de la carne, tentáculos si son resistentes al desgarramiento, olor y sabor y olor a la cocción por el panel evaluador entrenado para estos ensayos.

Los valores iniciales de la muestra utilizada fueron:

NBV: 19,04 mg/100 g, pH: 6,53 y evaluación de caracteres sensoriales:

Aspecto: piel brillante, color: marrón chocolate, textura: firme, carne adherida, tentáculos resistentes al desgarramiento y olor: neutro (en fresco y a la cocción).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- Al día 1 de almacenamiento refrigerado: en la evaluación de caracteres sensoriales el olor a la cocción y el sabor se percibe agrio. El valor de NBV fue 16,38 mg/100 g y el pH: 6,5.
- A los 2 días de almacenamiento refrigerado: el color cambia de marrón chocolate a rosáceo, el olor en fresco: pasado y olor a la cocción: rancio. El NBV: 30,94 mg/100 g y el pH 6,21.
- A los 3 días de almacenamiento refrigerado: la evaluación de los caracteres sensoriales es similar al día 2. El NBV: 37,95 mg/100 g y el pH 6,15.

- A los 5 días de almacenamiento refrigerado: en la evaluación sensorial el color cambia a rosa violáceo, la textura: blanda, la carne fácilmente separable, olor: agrio y a la cocción: olor y sabor: descompuesto. El NBV: 154,70 mg/100 g y el pH 6,6.

Sobre la base de los resultados obtenidos se observa una relación entre la variación de los caracteres sensoriales: textura y olor y los valores de NBV para las muestras de calamares a partir de los 2 días de almacenamiento refrigerados.

Durante los primeros días de almacenamiento se produjoun leve descenso de pH debido al rigor mortis, luego un aumento lento del pH que superó el valor de 7 para el día 6 de almacenamiento refrigerado.

Se concluye que:

- Existe una relación exponencial entre el aumento del NBV en función del tiempo para calamar *Illex argentinus* almacenado refrigerado.
- Hay una correlación entre el valor de NBV y los caracteres sensoriales en función del tiempo para calamar *Illex argentinus* almacenado refrigerado.
- No existe relación directa entre el pH y los cambios en los caracteres sensoriales en función del tiempo para calamar *Illex argentinus* almacenado refrigerado.
- El ensayo de evaluación de los caracteres sensoriales resulta muy útil para definir estadíos tempranos de deterioro que no se perciben a nivel de los valores obtenidos del ensayo de NBV.
- Los ensayos en conjunto de NBV y evaluación de los caracteres sensoriales resultan la opción más conveniente para evaluar la frescura y la calidad en calamar *Illex argentinus*.

Pariona-Velarde D, Barriga-Sánchez M. 2022. Cambios sensoriales, químicos y microbiológicos durante el almacenamiento de manto de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) a 0 y 5 °C. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 33(5): e23307. <https://doi.org/10.15381/rivep.v33i5.23307>

IT-003-24. Detección serológica de la infección por *Varicellovirus equidalpha 1* en equinos de un establecimiento de la provincia de Buenos Aires

Fuentealba NA^{1,2,*}, Bravi ME^{1,2}, Brasso N^{2,3}, Echeverría MG^{1,2}, Panei CJ^{1,2}.

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

2. Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

3. Universidad Nacional de La Plata

* nadiafuentealba@fcv.unlp.edu.ar

El *Varicellovirus equidalpha 1* (EqAHV1) produce signos respiratorios, nerviosos, muerte embrionaria, aborto y síndrome neonatal en equinos. Produce infecciones latentes y ante determinadas situaciones de estrés se reactiva. La infección produce anticuerpos de corta duración al igual que las vacunas. En Argentina solo se permite el uso de vacunas inactivadas.

En un establecimiento con 27 yeguas preñadas, potrancas y potrillos, se produjeron 3 casos de abortos y un potrillo presentó signos nerviosos. Dos de las yeguas tenían una dosis de vacuna, mientras que la tercera abortó antes de ser vacunada.

El objetivo de este trabajo fue demostrar la presencia de inmunidad humoral contra el EqAHV1.

Se tomaron muestras de sangre sin anticoagulante de 51 animales que se analizaron por virusneutralización. A los 15 y 50 días se repitió el muestreo. Además, se tomó una muestra de sangre con anticoagulante al potrillo con signos nerviosos. Dos de las yeguas que abortaron (una vacunada y otra sin vacunación), resultaron positivas, mostrando seroconversión entre 2 de las muestras obtenidas, mientras que la tercera generó anticuerpos sin aumento significativo en el título. El potrillo con signos nerviosos resultó negativo a la detección viral por PCR, pero fue positivo por virusneutralización. De los animales restantes, 11 resultaron positivos por virusneutralización y en 8 animales el título de anticuerpos descendió en el tercer muestreo.

Los resultados obtenidos permiten demostrar la seroconversión en animales con signología clínica compatible con EqAHV1.

Balasuriya UB, Crossley BM, Timoney PJ. 2015. A review of traditional and contemporary assays for direct and indirect detection of Equid herpesvirus 1 in clinical samples. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 27(6),673-687.
<https://doi.org/10.1177/1040638715605558>

Dunowska M. 2014. A review of equid herpesvirus 1 for the veterinary practitioner. Part A: clinical presentation, diagnosis and treatment. New Zealand Veterinary Journal. 62(4):171-178.

<https://doi.org/10.1080/00480169.2014.899945>

IT-004-24. Prevalencia de la campylobacteriosis genital bovina: un análisis de las muestras procesadas por PRC real time en el laboratorio 9 de julio durante el periodo 2022-2023.

Caione JC^{1,*}, Andreoli DN¹, Provensal CM¹, Addamo P¹

1. Laboratorio 9 de Julio, provincia de Buenos Aires, Argentina

* juliocaione@lab9dejulio.com.ar

La campylobacteriosis genital bovina (CGB) es una enfermedad de transmisión venérea del ganado, causada por la bacteria *Campylobacter fetus*. En el bovino produce infertilidad, abortos y muerte embrionaria temprana, provocando pérdidas económicas (OMSA).

La especie *C. fetus* presenta dos subespecies en bovinos, *Campylobacter fetus subsp. Fetus* (*Cff*) y *Campylobacter fetus subsp. venerealis* (*Cfv*), la cual posee, además, una variante, *Campylobacter fetus subsp. venerealis bv intermedius* (*Cfvi*).

La CGB está frecuentemente asociada a la subespecie *Cfv* y su variante *Cfvi*, mientras que *Cff* está más vinculada a cuadros de abortos esporádicos (OMSA).

Si bien los toros no presentan síntomas, son portadores crónicos de la bacteria, transmitiéndola a las hembras en el servicio.

Laboratorio 9 de Julio realiza el diagnóstico de campylobacteriosis por biología molecular, detectando en primera instancia la presencia de la especie y, posteriormente, diferenciando las subespecies mediante PCR en tiempo real (qPCR).

El objetivo del presente trabajo es comunicar los hallazgos de los datos recolectados de las muestras prepuciales remitidas por los médicos veterinarios de diferentes cuencas ganaderas del país durante los años 2022 y 2023, y poder así establecer la prevalencia de la enfermedad en los individuos y en los rodeos muestreados. Con la información suministrada se pretende mejorar el conocimiento sobre la prevalencia de la CGB y comparar los resultados con los informados en otros trabajos.

Para este trabajo se utilizaron los datos de 21.361 muestras prepuciales, (7.953 muestras de 397 rodeos en el año 2022 y 13.408 obtenidas de 866 rodeos en el año 2023).

El diagnóstico de campylobacteriosis se efectuó a través de dos ensayos de qPCR. En primer lugar, se buscó la presencia de un gen característico de la especie *C. fetus* (*nahE*) y, luego, las que resultaron positivas se corrieron en una segunda qPCR, para detectar un gen específico de *Cfv* (ISCe-1). La amplificación y lectura se realizó con el equipo CFX Connect de Bio-Rad. Se consideraron positivas las muestras que amplificaron con un Cq menor a 37 ciclos.

Las muestras procesadas en el año 2022 fueron 7.953, de las cuales 154 (1,94%) resultaron positivas para *C. fetus*, siendo 54 (0,68%) identificadas como *Cff* y 100 (1,26 %) como *Cfv*.

En el año 2023 se analizaron 13.408 muestras prepuciales, de las cuales 129 (0,96%) resultaron positivas para *C. fetus*, siendo 66 (0,49%) identificadas como *Cff* y 63 (0,47%) como *Cfv*.

De igual manera se obtuvieron los datos de la prevalencia en los rodeos. En el año 2022 los muestreos correspondieron a 397 rodeos, de los cuales en 65 (16,37%) se detectó, al menos, un positivo a *C. fetus*. En el año 2023 se analizaron 866 establecimientos (incluidos los del año 2022), resultando 62 (7,16%) positivos.

Si se comparan los datos de prevalencia del presente trabajo se observa una disminución entre el año 2022 y el 2023. Dicha circunstancia podría atribuirse al aumento (68,5%) en las cantidades de muestras procesadas, lo cual aportaría mejor precisión al aumentar la población en cuestión, mejorando la performance de los datos estadísticos.

La Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD) dio a conocer en su boletín informativo del año 2019 los resultados de una encuesta realizada a laboratorios veterinarios. En la misma se informó una tasa de positividad de campylobacteriosis de un 9,2% para establecimientos, y del 0,6% en toros (AAVLD 2019), aunque no hace mención a las técnicas de diagnóstico utilizadas.

Los resultados del presente trabajo son coincidentes con los obtenidos previamente por Laboratorio 9 de Julio mediante la técnica de inmunofluorescencia directa (IFD), en el período analizado de los años 2005-2023, resultando una prevalencia de rodeos positivos del 7% y 0,8% de toros infectados. Para lograr esta prevalencia se realizaron varios raspajes, llegando, en algunos casos, hasta el cuarto.

Con la metodología de qPCR utilizada, un solo raspaje aporta información de interés coincidiendo en parte con los valores de prevalencia obtenidos mediante la técnica de IFD, la cual requiere dos raspajes negativos consecutivos, con todos los inconvenientes prácticos y económicos que ello implica, al tener que realizar varios encierres para los raspajes sucesivos.

La qPCR resulta muy práctica a la hora de obtener y enviar las muestras, debido a que se utiliza el mismo medio de transporte para el diagnóstico de *Campylobacter fetus* y *Tritrichomonas foetus*. Las muestras se pueden refrigerar y/o congelar para el transporte, una ventaja relevante considerando las condiciones de distancia y traslado de las mismas para su procesamiento en el laboratorio.

Comisión Científica enfermedades venéreas y neosporosis. 2019. Informe de resultados de encuesta a laboratorios de diagnóstico veterinario 2019 por la C.C. venéreas y neosporosis. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD) 1º Boletín informativo junio 2019.

Wagenaar JA, van der Graaf-van Bloois L. Capítulo 3.4.4. *Campylobacter* genital bovina. En: Organización Mundial de la Sanidad Animal (OMSA).2023. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. 12º edición. París, OMSA, pp. 1-14.

Véron M, Chatelain R. 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. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.23(2):122-34.

<https://doi.org/10.1099/00207713-23-2-12>

IT-005-24. Bioensayos para determinar la eficacia de acaricidas químicos comerciales sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en establecimientos del NEA

Gómez VD¹, Cabaña NE¹, Segovia-Stefani LE¹, Malvicini M¹, Rossner MV^{1,*}

1. Laboratorio de Bioensayos y Garrapatas, EEA Colonia Benítez, provincia del Chaco, Argentina

* rossner.mariav@inta.gob.ar

Los bioensayos son métodos que utilizan materiales vivos para detectar sustancias y/o determinar la toxicidad potencial de sustancias químicas. Se utilizan en varias áreas para conocer las reacciones de algún organismo ante la presencia controlada de una o varias sustancias. Para determinar la resistencia a acaricidas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* se aplican dos tipos de bioensayos, la prueba de inmersión de larvas (LIT) y la prueba de inmersión de adultos (AIT). Estas pruebas tienen una sensibilidad que permite detectar individuos dentro de una misma especie capaces de resistir dosis que han probado ser letales para el resto de los individuos de la misma población. El uso de técnicas basadas en larvas tiene como principal ventaja la posibilidad de trabajar con un mayor número de individuos y evaluar cantidades importantes de principios activos y concentraciones de productos. Para el control de la garrapata común del bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, el método más utilizado es el empleo de acaricidas químicos sintéticos, dando lugar al surgimiento de poblaciones de garrapatas resistentes a estos garrapaticidas. En Argentina ya se han detectado casos de resistencia a casi todos los compuestos químicos utilizados como garrapaticidas. El laboratorio de bioensayos y garrapatas de INTA Colonia Benítez forma parte de la Red de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario de INTA, relacionándose con laboratorios especializados de todo el país.

Con el objetivo de formalizar una metodología estandarizada para evaluar la eficacia de los acaricidas disponibles, incluyendo organofosforados, piretroides, formamidinas, fenilpirazoles y lactonas se describe la metodología aplicada y los resultados obtenidos en las provincias de Chaco, Corrientes y Formosa.

La evaluación incluyó ensayos utilizando protocolos estandarizados para cada tipo de acaricida, con pruebas de eficacia bajo condiciones controladas de laboratorio. Los resultados obtenidos se presentan en términos de eficacia comparativa de cada clase de acaricida, en siete establecimientos ganaderos de las distintas provincias. Las muestras de teleginas provenían tres de Chaco, tres de Corrientes y uno de Formosa, donde se recolectaron de manera manual y fueron enviadas siguiendo el protocolo al laboratorio de bioensayos y garrapatas de INTA EEA Colonia Benítez. La técnica de inmersión de adultos (AIT) consiste en realizar grupos homogéneos por peso de 10 a 15 teleginas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Uno de los grupos se sumerge durante dos minutos en constante agitación en cincuenta mililitros de solución acuosa, como control y los otros, también durante dos minutos y en constante agitación en disoluciones (solución acuosa más acaricida) con distintos acaricidas, un grupo por principio activo. Luego de la inmersión, las teleginas se incuban en placas de Petri (una por grupo) en condiciones

controladas (27-28°C de temperatura y 80-85% de humedad). Se registra la mortalidad diaria y a los 14 días del bioensayo, se registra el número de hembras en oviposición y se pesan los aoves. De estos últimos se trasvaza una alícuota de homogénea de 48 μ g a tubos transparentes con tapa perforada para controlar la eclosión treinta y cuatro días después de realizadas las inmersiones. Se determinan: porcentaje de mortalidad, la inhibición de oviposición (<95% susceptible, >90% resistente y entre 90% y 95% resistente incipiente) e inhibición de eclosión. En la prueba de inmersión de larvas (LIT) se exponen larvas de edad conocida (14-21 días) a las diluciones de distintas concentraciones acaricidas, se incuban en sobres de papel y se recuentan vivas y muertas a las 24h. En el programa POLO-PLUS se calcula DL50, DL90, DL95 y DL99.9 y los valores de RR (>1,1 susceptible, <2 resistente y entre 1,1 y 2 resistente incipiente). Aquí se analizaron los resultados de AIT y LIT realizados de 2022 a 2024 en el laboratorio de bioensayos y garrapatas de INTA Colonia Benítez. Los resultados obtenidos, muestran en seis de los siete establecimientos ganaderos evaluados una eficacia del 100% para los productos mezcla (piretroide con órganofosforado). Sin embargo, en un establecimiento de Corrientes (muestra Goya) se determinó resistencia, con un valor del 32% de inhibición de la oviposición.

En otro establecimiento también de Corrientes (muestra Perugorría) obtuvimos eficacia del 100% para la piretroides y resistencia para amitráz y lactonas (ivermectina). En dos establecimientos de Chaco (muestras Makallé e Isla del Cerrito), se obtuvo 100% de eficacia para lactonas (ivermectina). Para el resto de los productos en estas localidades observamos resistencia incipiente o resistencia. En Formosa (muestra Clorinda), obtuvimos 100% de eficacia para piretroides y resistencia a amitráz.

Con la aplicación de bioensayos es posible generar conocimiento técnico que permita desarrollar técnicas de proceso aplicadas al diseño de estrategias eficaces y sustentables para el control de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Los problemas de resistencia surgen por el uso intensivo de los acaricidas químicos sin planificación y pueden ser enfrentados incorporando estrategias de control sustentables, por ejemplo, concentrando un número mínimo de tratamientos entre el final del invierno y el final de la primavera. La reducción de la frecuencia de tratamientos conlleva una menor presión de selección sobre las poblaciones de garrapatas, previniendo un cambio en las frecuencias génicas que aumente el número de individuos resistentes. La aplicación de bioensayos in vitro y pruebas de campo estandarizadas son insumos indispensables para la gestión del problema de la resistencia a acaricidas y de la elección de drogas en los tratamientos antiparasitarios en cada establecimiento. Los datos recopilados ofrecen una visión integral sobre la efectividad de los tratamientos, permitiendo la identificación de los productos acaricidas más efectivos y la evaluación de su desempeño en diferentes condiciones ambientales.

Cutullé C, Lovis L, D'Agostino BI, Balbiani GG, Morici G, Citroni D, Reggi J, Caracos-tangolo JL. 2013. In vitro diagnosis of the first case of amitraz resistance

in *Rhipicephalus microplus* in Santo Tomé (Corrientes), Argentina. Veterinary Parasitology 192 (1-3): 296-300.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.10.014>

Torrents J, Sarli M, Sarmiento NF, Rossner MV, Morel N, Guglielmone AA, Nava S. 2022. Resistance of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to fluazuron in Argentina. Experimental and Applied Acarology. 86:599-606.

<https://doi.org/10.1007/s10493-022-00713-y>

IT-006-24. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) aplicada al diagnóstico de tricomonosis y campilobacteriosis bovina en la provincia de Salta

Díaz JP^{1,*}, Copa GN^{1,2}, Neumann R¹, Salatin A¹, García JA³, Enriquez CA⁵ Micheloud JF^{1,2,4}

1 Área de Salud Animal Salta, Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido, Centro de Investigaciones Agropecuarias, INTA, Argentina

2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

3 Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS), CONICET- INTA Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

4 Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta, Argentina

5 Cátedra de Química Biológica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Argentina

* diaz.juanpablo@inta.gob.ar

Campylobacter fetus se divide en dos subespecies, *C. fetus* subsp. *fetus* (Cff) y *C. fetus* subsp. *venerealis* (Cfv). Si bien ambas subespecies están asociadas a la enfermedad, Cfv es exclusivo del tracto reproductivo y es el agente causal de la campilobacteriosis genital bovina. Dentro de los tricomonádidos (Tc), *Tritrichomonas foetus* (Tf) es el agente causal de la tricomonosis bovina. Cfv y Tf pueden ocasionar problemas reproductivos, como infertilidad y aborto en bovinos. Ambas enfermedades se transmiten por vía sexual y el toro cumple un rol fundamental en la mantención y diseminación de estas enfermedades en el rodeo. El diagnóstico en bovinos es a partir de esmegma prepucial (EP) y/o moco cérvicovaginal (MCV), efectuando inmunofluorescencia directa (IFD) para el diagnóstico de *C. fetus*, y cultivo y observación microscópica directa en el caso de Tf. Presentamos resultados del empleo de PCR como metodología complementaria a las técnicas convencionales del diagnóstico de estas enfermedades en la provincia de Salta, a partir de 5910 IFD (5909 EP y 1 MCV) y 4053 cultivos de EP para Tf, con el fin de mejorar la especificidad en la discriminación de subespecies mediante targets específicos ya reportados. Para todas las muestras se extrajo ADN con kit comercial de extracción. Veintitrés muestras de EP resultaron positivas a *Tritrichomonas* mediante cultivo, de las cuales 21 fueron positivas para Tc mediante PCR, resultando 18 de esas positivas a Tf. De 22 muestras positivas a IFD para *C. fetus* de EP, 15 resultaron positivas para *C. fetus*, y solo 2 de esas fueron positivas para Cfv. La única muestra de MCV resultó positiva a IFD para *C. fetus*, negativa para Cfv mediante PCR. Estos resultados indican que la técnica PCR puede resultar de utilidad en combinación con las prácticas convencionales para confirmar con mayor especificidad la presencia de estos patógenos en muestras de EP y MCV. Para mejorar también la sensibilidad diagnóstica, se deberían aplicar las técnicas convencionales correspondientes y PCR a todas las muestras.

Felleisen RS, Lambelet N, Bachmann P, Nicolet J, Müller N, Gottstein B. 1998. Detection of *Tritrichomonas foetus* by PCR and DNA enzyme immunoassay based on rRNA gene unit sequences. *Journal of Clinical Microbiology*. 36(2):513-19. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.2.513-519.1998>

McGoldrick A, Chanter J, Gale S, Parr J, Toszeghy M, Line K. 2013. Real Time PCR to detect and differentiate *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* and *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis*. *Journal of Microbiological Methods*. 94(3):199-204. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.06.014>

García JA, Farace PD, Gioffre AK, Romeo F, Verna A, Méndez MA, Paolicchi FA. 2024. Bovine campylobacteriosis in heifer: pathogenesis study and insights in the conventional and molecular diagnosis in an experimental bovine model and field cases. *Veterinary Research Communications*. 48(1):113-24. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10193-z>

IT-007-24. Recopilación casuística sobre etiologías causantes de diarreas en terneros de crianzas artificiales de tambos y rodeos de cría

Moiso N^{1, 2,*}, Di Cola G^{1, 2}, Lando D¹ y Giraudo J^{1,*}

1. Laboratorio de Salud Animal (LASA), Río Cuarto, provincia de Córdoba

2. Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Rio Cuarto, provincia de Córdoba, Argentina

* laboratoriodesaludanimal@gmail.com

Los cuadros de diarrea en los primeros 60 días de vida conforman un complejo multifactorial que representa la principal causa de mortalidad en esta etapa. Se caracteriza por la interacción de diversos factores como el ambiente, el manejo y los agentes etiológicos transmisibles que actúan. En el centro sur de Córdoba, tanto en sistemas de tambos como en cría, este síndrome afecta significativamente, siendo responsable del 50 al 70% de las muertes. La mortalidad es variable y muy influenciada por la calidad de la atención clínica que reciben. El objetivo de este trabajo fue recopilar y analizar la casuística de un Laboratorio de Diagnóstico Regional sobre etiologías causantes de diarreas en terneros de crianzas artificiales de tambos y rodeos de cría, recibidas en los años 2019 al 2023. El laboratorio de Salud Animal (LASA), está ubicado en la ciudad de Río Cuarto, provincia a de Córdoba. La casuística que recibe, en su gran mayoría, pertenece a establecimientos ganaderos ubicados en el centro sur de esta provincia. Los casos de diarreas de terneros jóvenes representan el 15% del total de casos bovinos ingresados al laboratorio. Un total de 143 casos de diarrea fueron recibidos, de los cuales 118 pertenecían a rodeos de cría y 25 a crianzas de tambos. Del total, 87 de estos eran órganos digestivos y materias fecales de animales con síntomas; los 56 casos restantes ingresaron como materias fecales diarreicas. Las muestras de diarrea fueron analizadas con el Rapid Test Kit (BoviD-5 Ag Test Kit. Laboratorio BIONOTE). Dicho kit, indica presencia de *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Cryptosporidium*, *Escherichia coli K99* y *Giardia*. Además, se realizó bacteriología en medios de cultivo selectivos (TBX, XLD, MC) con temperatura controlada, en busca de patógenos bacterianos. En caso de obtener aislamiento de patógenos, se completó el estudio con un antibiograma. Para la finalización del estudio, a las muestras de materia fecal se les realizó una técnica de flotación en busca de ooquistes de coccidias. Los órganos y/o cadáveres, recibidos para la investigación de causas de diarrea, fueron observados en busca de alteraciones macroscópicas, luego se procedió a la toma de muestras (órganos: hígado, linfonódulos y contenido intestinal), para continuar con el correspondiente test inmunocromatográfico, cultivos y flotación. De los 143 casos ingresados al laboratorio, en 128 se arribó a una conclusión diagnóstica. En 10 de estos casos no se llegó a un diagnóstico y en 5 casos se diagnosticó otra afección (colibacilosis septicémica, timpanismo y onfalitis). El total de casos recibidos tuvo su origen en 105 establecimientos ganaderos, en su mayoría ubicados en el centro sur de la provincia de Córdoba (84%). La edad de los terneros con diarrea fue la siguiente: de 1 a 7 días un total de 42 casos; de 8 a 14 días 37 casos; de 15 a 21 días 51 casos y más de 22 días 13 casos.

En cuanto a los agentes etiológicos identificados en un total de 143 casos ingresados al laboratorio en los años 2019 al 2023, fue el siguiente: *Echerichia coli* enteropatógena 33 casos, *Cryptosporidium spp* 20 casos., *Salmonella spp* 14 casos, *Rotavirus* 5 casos, *Coronavirus* 3 casos, *Coccidias* 3 casos, *Rotavirus + Cryptosporidium spp* 25 casos, *Cryptosporidium spp + E. coli* enteropatógena 10 casos, *Rotavirus + E. coli* enteropatógena 7 casos, *Cryptosporidium spp + Coronavirus* 3 casos, *Rotavirus + Coronavirus* 1 caso, *Rotavirus + Cryptosporidium spp + Coronavirus* 1 caso.

No hay información regional sobre el tipo y la frecuencia de los agentes que producen diarreas en los rodeos de cría y en tambos. La información generada en este estudio será muy útil para los profesionales sanitarios. La relación entre tipo de agente y edad de aparición de síntomas clínicos y la asociación de agentes es coincidente con la bibliografía (García *et al.* 2014; Cho *et al.* 2013, Campero *et al.* 2017), también observada en nuestros resultados. La tasa de letalidad en la mayoría de los casos recibidos fue muy influenciada por la calidad de la atención clínica que recibieron los animales. Si bien es frecuente el diagnóstico de salmonelosis en rodeos lecheros, nuestros resultados indican que en varios rodeos de cría existen endemismos de esta enfermedad, lo cual es necesario abordar para mitigar su impacto económico. Sobre los casos sin una conclusión diagnóstica, especulamos que deben considerarse un inadecuado manejo nutricional y/o una mala calidad de los alimentos recibidos. En los rodeos y crianzas de terneros las medidas preventivas son fundamentales para evitar la propagación de la diarrea neonatal. Esto incluye la administración de vacunas durante el preparto, con aplicaciones a los 60 y 30 días previos al parto. Por otro lado, es fundamental manejar y controlar el ambiente donde se crían los terneros. Observando la atención clínica, es importante la rápida y adecuada hidratación de los teneros.

Cho Y, Yoon K. 2014. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. Journal of Veterinary Science. 15(1): 1-17.

<https://doi.org/10.4142/jvs.2014.15.1.1>

García J, Pempek J, Hengy M, Hinds A, Díaz-Campos D, Habing G. J. 2014. Prevalence and predictors of bacteremia in dairy calves with diarrhea. Journal of Dairy Science. 105:807-17.

<https://doi.org/10.3168/jds.2020-19819>

IT-008-24. Optimización de métodos moleculares para la detección e identificación del genotipo 1 del virus de la cabeza amarilla (VECA1) en crustáceos del Mar Argentino y en productos pesqueros destinados a exportación

Jurquiza V^{1,*}, Giustina S², Ponde A³, Bonastre P³, Quintana S^{4,5}

1. Gabinete de Biología Molecular y Microbiología, Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP), Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Laboratorio de Biología Molecular Fares Taie, Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Área de Biología Molecular, SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria), Argentina

4. Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM) CONICET-UNMdP. Centro de asociación simple CIC-PBA, Mar del Plata, Argentina

5. Instituto de Biología Molecular Aplicada, Mar del Plata, Argentina

* jurquiza@inidep.edu.ar

El genotipo 1 del virus de la cabeza amarilla (VECA1), es uno de los ocho genotipos del complejo y es el único agente causal de la enfermedad de la cabeza amarilla, infección sistémica de notificación obligatoria que afecta a los crustáceos y que registra elevada mortalidad e importantes pérdidas económicas en las granjas de cultivo (OMSA, 2021). En Argentina, no se ha reportado el virus, ni se han detectado casos de enfermedad; sin embargo, debido a la importancia de la pesquería del langostino patagónico (*Pleoticus muelleri*), que en su mayoría se destina a exportación, se considera necesario reforzar la calidad sanitaria de este recurso (Roccamo *et al.*, 2010, Zenobi *et al.*, 2012). El objetivo de este trabajo fue desarrollar y optimizar un método de qPCR para la detección del VECA1, de acuerdo a las recomendaciones de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA, 2021). Se evaluaron diferentes combinaciones de cebadores y se utilizó ARN purificado de VECA1 como control positivo (provisto por SENASA). Se realizó la puesta a punto y optimización de una RT-qPCR para la detección específica del VECA1 y otra para todos los genotipos de VECA; además se optimizó una RT-qPCR *anidada* para la detección de todos los genotipos del complejo VECA. Para cada protocolo se probaron diferentes temperaturas de hibridación, resultando óptimas 50, 57 y 60°C, que generaron productos de PCR de 135 pb, 147pb, 358 pb y 146pb, respectivamente. Se determinó la sensibilidad en función de una curva estándar utilizando diluciones seriadas, y con la misma se calcularon las eficiencias de reacción. Luego de las amplificaciones el genotipo fue confirmado por secuenciación Sanger. Se logró generar y transferir una herramienta de diagnóstico rápido, sensible y de utilidad en el ámbito científico e industrial con el fin de asegurar la calidad sanitaria de los crustáceos destinados a exportación.

Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA). 2021. Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. Parte 2. Sección 2.2 Capítulo 2.2.9.

Infección por el genotipo 1 del virus de la cabeza amarilla [En línea] Disponible en: https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/temporary_esp/2022/2.2.09_YHD_ESP.pdf [Consulta 12 febrero 2024]

Zenobi C, Raibenberg FC, Balette CI, Álvarez M, De la Garza J, Bottino D, Ferreyra Armas MC, Balzano R, Sanguinetti R, Romano LA. 2012. First survey of notifiable viral diseases of crustaceans in wild red shrimp *Pleoticus muelleri* in the San Jorge Gulf, Argentina. The 45th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology 2012 International Congress on Invertebrate Pathology and Microbial Control, Buenos Aires, Argentina. p. 125.

IT-009-24. Análisis de los resultados de diagnóstico serológico de brucelosis ovina de la Red Regional de Laboratorios en Patagonia

Martínez A^{1,*}, Chodilef M¹, Lauroua C¹; Disalvo V², Beltritti G³, Turno J³, Peralta C⁴, Salinas R⁴, Monca I⁵, Chaar-Letourneau F⁵, Oszust G⁵, Robles C¹

1. SIRSA - Grupo Salud Animal INTA Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina
2. Laboratorio de Sanidad Animal Provincial “Dr. Raúl Chifflet”, Río Grande, provincia de Tierra del Fuego, Argentina

3. Laboratorio de Sanidad Animal del Consejo Agrario Provincial, Río Gallegos, provincia de Santa Cruz, Argentina

4. Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA), Comodoro Rivadavia, provincia de Chubut, Argentina

5. Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA), Esquel, provincia de Chubut, Argentina

* martinez.agustin@inta.gob.ar

La brucelosis ovina producida por *Brucella ovis* es una enfermedad presente en nuestro país. Desde el año 1961 que se aisló la bacteria a partir de testículos y epidídimos de carneros clínicamente afectados, se ha generado un vasto conocimiento en diferentes aspectos de la enfermedad permitiendo mejorar su diagnóstico clínico, bacteriológico, epidemiológico, molecular y serológico. En un estudio previo se determinó que el 60% de los establecimientos ovinos patagónicos muestreados poseían al menos un animal serorreactor, con una prevalencia promedio en carneros del 5,8%. Debido a la alta distribución e impacto en la producción que tiene la brucelosis ovina en las majadas patagónicas, el primer laboratorio en implementar el diagnóstico serológico y bacteriológico de *B. ovis* fue el Grupo Salud Animal del INTA Bariloche, el cual comenzó a fomentar la puesta en marcha de laboratorios provinciales que realicen el diagnóstico serológico. Es así como se inauguró el Laboratorio de Río Grande, luego el Laboratorio de Río Gallegos, y por último se asesoró la incorporación de la técnica de ELISAi en los Laboratorios de Comodoro Rivadavia y Esquel. En el 2015 se implementó la Resolución 545/15 del SENASA la cual exige un análisis serológico negativo para poder transportar machos ovinos mayores de 6 meses. A 10 años de su implementación y con el fin de evaluar la evolución de la brucelosis ovina en la región, se exponen los resultados del diagnóstico serológico de los 5 laboratorios patagónicos antes mencionados. Los sueros fueron remitidos por veterinarios acreditados para el análisis serológico de *B. ovis*. Según la capacidad técnica-operativa de cada laboratorio las muestras fueron analizadas por IDGA o ELISAi, técnicas estandarizadas y validadas por SENASA. En los cinco laboratorios patagónicos se analizaron un total de 223440 sueros de carneros distribuidos en 242 establecimientos. El porcentaje promedio de establecimientos positivos a nivel regional fue del 60 %, con rango desde el 30 al 90 % según provincia, siendo la prevalencia animal promedio el 3,4 %, con un rango del 1,3 al 9,1 %. La evolución de la enfermedad, a partir de la implementación de la Resolución 545/15 – SENASA, se pudo evaluar anualmente y se observó una diminución de la prevalencia animal a nivel regional desde el 5,5 % en el año 2016 hasta una

prevalencia del 1,6 % en el año 2023. Los datos obtenidos permiten confirmar, que luego de 10 años de haber implementado la Resolución 545/15, se continúa detectando serológicamente reactores positivos a *B. ovis* en establecimientos vendedores de carneros de Patagonia. Comparativamente con los datos de prevalencias previas a la implementación, se observa que Neuquén, Chubut y Santa Cruz han mantenido los niveles de reaccionantes. En Río Negro la prevalencia prácticamente se duplicó, mientras que en Tierra del Fuego se evidencia una franca disminución. El comportamiento dispar entre provincias se podría adjudicar a la ausencia de planes de control a niveles prediales y/o provinciales, al manejo interno de cada establecimiento y a la compraventa o préstamo de animales entre establecimientos sin medidas preventivas. La disminución de la prevalencia en Tierra del Fuego se asocia a la aplicación del Plan de Control Voluntario a nivel provincial desde el año 2006. Tanto la distribución de la enfermedad a nivel establecimientos (de 60 a 40%), como la prevalencia promedio animal (de 5,5 a 1,6%) fueron disminuyendo en la región en el transcurso de los años de implementación de la Resolución. Sin embargo, hay que ser cautelosos en la interpretación de estas tendencias, ya que las mismas podrían deberse a un sesgo generado por la aplicación de la Resolución que incrementó el diagnóstico en categorías de animales vírgenes (DL-2D). En estudios previos se ha determinado que esta categoría posee menor riesgo de estar infectadas ya que nunca entraron a servicio y en su mayoría no han tenido contacto con carneros adultos. Es de hacer notar que el 42% de los establecimientos vendedores de carneros aún presentan prevalencias mayores al 10%. Esta alta prevalencia indicaría una alta tasa de contagio por falta de un manejo adecuado intrapredio predisponiendo al mantenimiento y dispersión de la enfermedad, siendo imprescindible aplicar medidas de diagnóstico confirmatorio y control. Se recomienda determinar el estatus del establecimiento mediante pruebas directas, como cultivo bacteriológico y/o análisis molecular (PCR) para confirmar el diagnóstico presuntivo clínico-serológico.

Robles C, Martínez A, Chodilef M. 2012. Brucellosis ovina en Patagonia: análisis de 15 años de diagnóstico en el laboratorio del INTA Bariloche. XIX Reunión Científico Técnica AAVLD. Buenos Aires, Argentina.

IT-010-24. Extracción de ADN adecuado para realizar análisis genómicos a partir de coágulos sanguíneos bovinos congelados

Forneris FR^{1,*}, Campero LM², Khalloub P³, Fiorani F¹, Moore DP^{1, 2}, Corva PM¹

1. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Veterinario de actividad privada

* florenciaforneris@mdp.edu.ar

Las muestras de sangre utilizadas en estudios serológicos dejan como remanente un coágulo, que generalmente suele ser descartado. Sin embargo, el mismo es una excelente fuente de ADN que puede ser utilizado en estudios genómicos, evitando muestreos adicionales. Además, permite ser conservado a -20°C hasta su procesamiento. Existen muchos kits comerciales para la extracción de ADN, pero son costosos y por lo tanto poco convenientes ante un alto número de muestras. Asimismo, algunos métodos tradicionales como el fenol-cloroformo resultan riesgosos por su toxicidad. Los antecedentes bibliográficos respecto a la estandarización de métodos caseros para extraer ADN de calidad y buen rendimiento a partir de coágulos de sangre congelados son muy escasos. Por ello, se justifica optimizar protocolos propios (*in-house*). Se describen dos variantes del clásico método de extracción *Salting out*, adaptado de Miller *et al.*, (1988), evaluado respectivamente con un único buffer de lisis celular (Shaik *et al.*, 2016) y con 3 buffers: (buffer de lisis de glóbulos rojos, buffer de lisis de glóbulos blancos y solución de digestión). Se realizó la extracción de ADN de 20 coágulos de sangre bovina previamente conservados a -20°C con un período de conservación de 7 meses. Los coágulos fueron degradados físicamente con un homogeneizador portátil (D-160, Dlab, dos pulsos de 10 segundos a 15000 rpm). El coágulo disgregado se distribuyó en 2 alícuotas (~500 µL), con el fin de procesar cada muestra con las dos variantes del método de extracción. Ambos tratamientos de lisis (uno o tres buffers) fueron seguidos de una incubación *overnight* con la enzima proteinasa K (Promega, 10 mg/mL) a 56°C. Luego se añadieron 250 µL de una solución saturada de cloruro de sodio (5M) y se centrifugó a 20000×g por 5 minutos para lograr la precipitación de la fase proteica. Finalmente se precipitó el ADN con la adición de 1000 µL de etanol absoluto (Biopack), seguido de una centrifugación a 20000×g de 2 minutos. Se repitió el mismo procedimiento con etanol 70% y una vez obtenido el pellet resultante correspondiente al ADN precipitado se dejó secar el microtubo sobre papel absorbente a temperatura ambiente hasta lograr la evaporación total del alcohol. Por último, se resuspendió el pellet en 100 µL buffer TE 1X (InbioHigway). Se cuantificó el rendimiento total (ng/µL) y la calidad (lectura A260/280nm) del ADN extraído con un espectrofotómetro (Epoch, BioTek). El valor esperable para ADN de buena calidad es de ~1,8- 2,0 (Lucena-Aguilar *et al.*, 2016). La integridad del ADN extraído con ambos métodos se corroboró mediante electroforesis en geles de agarosa al 0,8%.

En un segundo ensayo, se evaluó el efecto del período de conservación de muestras congeladas, utilizando solamente el método de extracción *Salting out* con la variante de tres buffers de lisis y un número mayor de muestras. Se realizó la extracción de ADN a partir de dos grupos de coágulos sanguíneos conservados a –20°C: un grupo (A) de 76 muestras con un período de conservación de 1 mes y el otro grupo (B) de 91 muestras con un período de conservación de 9 meses. En el caso del protocolo que utilizó un único buffer de lisis celular, el valor promedio del rendimiento fue 551,4 ng/µL (239,4 - 863,4) y la calidad fue 1,206 (1,072 - 1,339). Se evidenció una reducida lisis celular y, consecuentemente, una escasa precipitación de proteínas. De este modo, con este protocolo se logró cuantificar sólo el 35% de las muestras, siendo nula la disgregación del coágulo en el resto. En las muestras en las que fue posible la cuantificación, si bien el rendimiento pareciera óptimo, al observar el bajo valor de la lectura A260/280nm, sugiere un alto grado de contaminación con proteínas, afectando considerablemente la pureza del ADN extraído. El protocolo que utilizó tres buffers obtuvo un valor promedio de rendimiento de 188,0 ng/µL (128,5 - 247,4) y un valor promedio de calidad de 1,724 (1,680 - 1,766). Con este protocolo se logró cuantificar el rendimiento y calidad del procesamiento del 100% de las muestras. La electroforesis en geles de agarosa reveló la presencia de bandas nítidas y proporcionales al rendimiento de cada muestra, confirmando la obtención de ADN de buena integridad y alto peso molecular. En la prueba del efecto del período de conservación, la estimación promedio de calidad (lectura A260/280 nm) fue 1,816 (1,801 - 1,831) para el grupo A y 1,766 (1,743- 1,776) para el grupo B, respectivamente, mientras que el rendimiento promedio fue 271,3 ng/µL (231,4- 311,3) para el grupo A y 210,8 ng/µL (174,9- 246,6) para el grupo B, respectivamente. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ($p < 0,05$) para ambas determinaciones. Estas diferencias indican que el período de almacenamiento tiene un impacto significativo en la calidad y rendimiento del ADN extraído, disminuyendo los valores cuanto mayor es el período. No obstante, a pesar de las diferencias registradas, los parámetros obtenidos garantizan un ADN de calidad adecuada.

De acuerdo con la puesta a punto y caracterización de ADN extraído a partir de coágulos sanguíneos bovinos congelados previamente, se puede concluir que el método de extracción *Salting out* con la utilización de tres buffers de lisis celular, además de ser una opción económica, no tóxica y sencilla, garantiza ADN de calidad y rendimiento requeridos para la realización de estudios genómicos. También se debe tener en cuenta que la conservación prolongada de los coágulos a -20°C afecta negativamente el rendimiento y calidad del ADN; sin embargo, no fue una limitante en los períodos de conservación evaluados en este caso.

Lucena-Aguilar G, Sánchez-López AM, Barberán-Aceituno C, Carrillo-Ávila JA, López-Guerrero JA, Aguilar-Quesada R. 2016. DNA source selection for downstream applications based on DNA quality indicators analysis. *Biopreservation and Biobanking*. 14(4):264-70.

<https://doi.org/10.1089/bio.2015.0064>

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research. 16(3):1215. <https://doi.org/10.1093/nar/16.3.1215>

Shaik M, Shivanna DK, Kamate M, Ab V, Tp KV. 2016. Single lysis-salting out method of genomic DNA extraction from dried blood spots. Journal of Clinical Laboratory Analysis. 30(6):1009-12. <https://doi.org/10.1002/jcla.21972>

IT-011-24. Diagnóstico de ETS bovinas: integración de qPCR y métodos tradicionales

Storani L^{1,*}, Sciolí A¹, Boullon MC¹

1. Laboratorio Serivet, Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

* area.molecular@labserivet.com

Campylobacter fetus (*C. fetus*) y *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*) son microorganismos que afectan el tracto genital bovino, causando infertilidad, muerte embrionaria y aborto en hembras. Las técnicas tradicionales (inmunofluorescencia directa y cultivo) permiten la identificación de animales infectados. Según datos del Laboratorio Serivet, casi la mitad de los establecimientos han presentado, al menos, un caso positivo de alguna de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) en los últimos 10 años.

Desde el 2020, el laboratorio ha integrado de forma estratégica la técnica de PCR en tiempo real (*qPCR*) junto al diagnóstico tradicional para mejorar la precisión diagnóstica de las ETS. Con el fin de recomendar a los veterinarios y productores de cuándo incorporar las técnicas moleculares, armamos un “Triángulo de Riesgo”, estratificando a los establecimientos según su riesgo de exposición a estas enfermedades.

Respecto a la *qPCR*, desarrollamos un protocolo que permite la identificación específica de ambos patógenos, utilizando genes que fueron descriptos por diversos autores. En el año 2023, se analizaron muestras de distintos establecimientos para *C. fetus* (1660) y para *T. foetus* (1281) mediante *qPCR* identificándose 10 y 15 muestras positivas, respectivamente. Comparativamente, las técnicas tradicionales identificaron 7 y 12 muestras positivas, con concordancia casi perfecta entre los dos métodos de diagnóstico (Índice Kappa de Cohen de 0.82 para *C. fetus* y 0.89 para *T. foetus*). En conclusión, la combinación de la *qPCR* con técnicas tradicionales mejora significativamente la detección de *C. fetus* y *T. foetus*, con el objetivo de resguardar la salud reproductiva y optimizar la rentabilidad económica de la producción bovina.

Iraola G, Pérez R, Naya H, Paolicchi F, Harris D, Lawley TD, Rego N, Hernández M, Calleros L, Carretto L, Velilla A, Morsella C, Méndez A, Gioffre A. 2013. Complete genome sequence of *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* biovar *Intermedius*, isolated from the prepuce of a bull. Genome Announcements. 1(4): e00526-13. <http://doi.org/10.1128/genomeA.00526-13>

McGoldrick A, Chanter J, Gale S, Parr J, Toszeghy M, Line K. 2013. Real Time PCR to detect and differentiate *Campylobacter fetus* subspecies *fetus* and *Campylobacter fetus* subspecies *venerealis*. Journal of Microbiological Methods 94 (3): 199-204. <http://doi.org/10.1016/j.mimet.2013.06.014>

Laboratorio Serivet. 2024. Introducción al diagnóstico molecular de enfermedades venéreas [en línea]. Disponible en: <https://labserivet.com/blog/desarrollo-en-area-molecular-qpcr-3/post/introduccion-al-diagnostico-molecular-de-enfermedades-veneras-4> [consultado 07/08/2024]

IT-012-24. PCR en tiempo real múltiple para detección de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma*, aplicada al diagnóstico en perros

De Salvo MN^{1*}, Díaz Pérez PM¹, De Seta MP¹, Giménez CS¹, Cicuttin GL¹

1. Instituto de Zoonosis Luis Pasteur, Ministerio de Salud, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* marianazarenadesalvo@gmail.com

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), es una técnica de diagnóstico molecular muy utilizada, es sensible, específica y rápida. La PCR en tiempo real (qPCR), además, ahorra tiempo al no requerir de electroforesis en gel, y también minimiza la posibilidad de contaminación con productos amplificados. El objetivo de este trabajo es presentar la puesta a punto de una qPCR múltiple para la detección de un fragmento del gen *groEL* de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* (familia Anaplasmataceae), en conjunto con un fragmento del gen de la betactina (presente en mamíferos y aves) utilizado como control interno endógeno para comprobar la correcta extracción del ADN y la ausencia de inhibidores en la muestra. Se utilizaron cebadores y sondas desarrollados por Benevenute y col., con modificación del fluoróforo de la sonda para *Ehrlichia* sp., y una mezcla de reacción iTaq Universal Probes Supermix (BIO-RAD®), en un termociclador ABI 7500 (Applied Biosystems). Entre octubre de 2022 y junio de 2023 se procesaron 455 muestras de sangre canina con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) que fueron derivadas desde consultorios externos del Instituto de Zoonosis Luis Pasteur y de veterinarias privadas, con sospecha clínica. Se realizó la extracción de ADN con kit comercial de columnas High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche®) según indicaciones del fabricante y se realizó una PCR dúplex de punto final para un fragmento del ARNr 16S para diagnóstico de rutina de la familia Anaplasmataceae, resultado en 26 muestras detectables. En paralelo se probó la qPCR con la totalidad de las muestras, y con muestras confirmadas mediante PCR específicas para *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*. Se probaron también diluciones de los controles positivos (*Anaplasma centrale* y *E. canis*), así como ADN de otras bacterias y parásitos. Los resultados de la qPCR fueron: 31 detectables para *Ehrlichia* sp., 3 para *Anaplasma* sp y una co-infección. La qPCR demostró ser más sensible que la PCR de punto final al detectar concentraciones más bajas del ADN blanco. Como ventaja adicional discrimina entre los dos géneros bacterianos, detectando incluso co-infecciones, con lo cual presenta ventajas para su uso en el diagnóstico de rutina.

Benevenute JL, Dumler JS, Ogrzewalska M, Roque ALR, Mello VVC, de Sousa KCM, Gonçalves LR, D'Andrea PS, de Sampaio Lemos ER, Machado RZ, André MR. 2017. Assessment of a quantitative 5' nuclease real-time polymerase chain reaction using *groEL* gene for *Ehrlichia* and *Anaplasma* species in rodents in Brazil. Ticks and Tick-borne Diseases. 8(4):646-656.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.04.011>

De Salvo MN, Díaz Pérez PM, Martin PL, Cicuttin GL. 2023. Ehrlichiosis monocítica canina en el Área Metropolitana de Buenos Aires. Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ciencias Veterinarias; Fave. Sección Ciencias Veterinarias. (22):1-6. <https://doi.org/10.14409/favecv.2023.22.e0027>

IT-013-24. Detección de ADN de *Leptospira* spp. mediante la técnica LAMP en un caso de leptospirosis canina

Hamer M^{1,2,*}, Saraullo V¹, Esteban M¹, Sánchez MC¹, Quispe T¹, Bottitta S¹, Liguori E³, Luciani ME³, Gorordo ML³, Adrién Rüegger MJ³, Margineda C^{3,4}, Brihuega BF^{1,5}, Martínez ML^{1,5}

1. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), CONICET, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA) INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Casilda, provincia de Santa Fe, Argentina

4. Sanidad Animal, INTA Marcos Juárez, provincia de Córdoba, Argentina

5. Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

*hamer.micaela@inta.gob.ar

La leptospirosis canina, causada por cepas patógenas del género *Leptospira*, se presenta con signos clínicos que varían desde una infección leve y subclínica hasta una lesión renal aguda, hepatopatía, enfermedad respiratoria o muerte. El diagnóstico incluye pruebas serológicas, la identificación de leptospirosis o la detección del ADN leptospiral en tejidos, sangre u orina (Ellis, 2015).

Muestras de hígado, bazo, riñón y orina provenientes de un canino cachorro (45 días de vida aproximadamente) que murió de forma aguda con signos de ictericia, no vacunado contra leptospirosis y oriundo de la ciudad de Rosario (Santa Fe, Argentina) fueron remitidas al Laboratorio de Leptospirosis del Instituto de Patobiología, CICVYA, INTA. Se extrajo el ADN de cada una de las muestras con un kit comercial y se realizó la técnica de amplificación isotérmica mediada por bucles (LAMP), que amplifica un fragmento del gen *rrs* de leptospirosis patógenas e intermedias (Lepto-LAMP). Todas las muestras resultaron positivas a Lepto-LAMP. Estos resultados fueron corroborados con la técnica diagnóstica PCR *lipL32*, que amplifica un fragmento de la lipoproteína de membrana *LipL32* de cepas patógenas de *Leptospira* spp., mostrando que Lepto-LAMP fue análoga a la PCR *lipL32* para la detección de este caso en particular. Esto concuerda con lo trabajado previamente con Lepto-LAMP (Hamer *et al.*, 2024). Además, Lepto-LAMP tiene la ventaja de ser accesible para laboratorios de baja complejidad ya que no requiere equipamiento costoso ni personal altamente capacitado para su realización, pudiendo ser una buena herramienta para el diagnóstico de leptospirosis en animales de compañía.

Ellis W A. Animal Leptospirosis. En: B. Adler. 2015. *Leptospira and Leptospirosis. Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol 387. Berlin, Springer, pp. 99-137. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8_6

Hamer M, Watanabe O, Saraullo V, Ortega F, Sánchez C, Martínez M, Brihuega B, Grune Loffler S. 2024. Optimization and comparative analysis of LAMP and PCR techniques for the detection of leptospiral DNA in Golden Syrian hamsters. *Veterinary Research Communications*. 48(1):103-111.

<https://doi.org/10.1007/s11259-023-10183-1>

IT-014-24. Detección por biología molecular de patógenos asociados a infertilidad en los bovinos, a partir de ADN extraído de muestras prepuciales derivadas al laboratorio en medios de cultivo del protozoario *Tritrichomonas foetus*

Videla YP^{1,2}, Scialfa E^{1,3}, Soto P⁴, Quintana S^{5,6,*}

1. Centro Regional de Estudio Sistémico de las Cadenas Agroalimentarias (CRESCA), Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Azul, Buenos Aires, Argentina
2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina (CONICET)
3. Departamento de Zoonosis Rurales, Ministerio de Salud de la provincia de Buenos Aires, Azul, provincia de Buenos Aires, Argentina
4. Laboratorio Biológico Tandil, Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina
5. Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM-CONICET-Universidad Nacional de Mar del Plata -UNMDP-), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UNMDP, Centro Científico Tecnológico Mar del Plata-CONICET, Centro de Asociación Simple CIC-PBA, Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina
6. Instituto de Biología Molecular Aplicada, Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

* silvinaquintana.bm@gmail.com

Los problemas reproductivos en bovinos son una de las principales causas de pérdidas económicas en sistemas ganaderos. El diagnóstico es complejo por ser multicausal, implicando agentes físicos, químicos y biológicos. Entre los agentes posibles en este estudio hemos priorizado *Campylobacter fetus*, *Tritrichomonas foetus* y *Leptospira* sp. La optimización de métodos diagnósticos es necesario para tomar las medidas sanitarias adecuadas previo al servicio. El objetivo de este trabajo fue extraer material genético óptimo a partir de muestras de esmegma prepucial de toros cultivadas en medio específico para *T. foetus* durante 15 días, a fin de realizar la detección molecular de agentes abortigénicos. Se analizaron 43 muestras de toros pertenecientes a establecimientos de la Provincia de Buenos Aires, cultivadas en medio Diamond. Se optimizó un protocolo de extracción de ADN utilizando kit comercial, realizando modificaciones específicas para el procesamiento de muestras en este medio. Se amplificó por qPCR el gen GAPDH de *Bos taurus* como control interno de extracción y para determinar la ausencia de inhibidores. Se amplificaron genes específicos de los patógenos por qPCR. El protocolo utilizado permitió obtener ADN en cantidad y calidad óptima para realizar los estudios moleculares. Se detectó ADN de *Leptospira* spp. en el 12% de las muestras y de *C. fetus* en el 9%. No se detectó *T. foetus*, coincidente con lo obtenido por cultivo, ni coinfecciones. Los resultados sugieren que la muestra derivada para diagnóstico de tricomoniasis bovina puede ser utilizada para detectar, por biología molecular, patógenos asociados a infertilidad y/o abortos en rodeos de cría.

Cantón GJ, Moreno F, Fiorentino MA. 2022. Spatial–temporal trends and economic losses associated with bovine abortifacients in central Argentina. *Tropical Animal Health and Production*. 54: 242.

<https://doi.org/10.1007/s11250-022-03237-0>

IT-015-24. Casuística de reaccionantes positivos a brucelosis bovina período enero–mayo 2024 en Diagnóstico Veterinario Ameghino

Simonetti MA^{1,*}, Simonetti JE¹, Sosa LS², Fernández MD¹, Vivas I², Sosa MA¹

1. Diagnóstico Veterinario Ameghino, Florentino Ameghino, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Diagnóstico Veterinario Ameghino Sucursal Villegas, General Villegas, provincia de Buenos Aires, Argentina

* diagvet@hotmail.com

El siguiente informe tiene como objetivo presentar la casuística relacionada con la brucelosis bovina en el transcurso del período enero-mayo 2024 en el laboratorio Diagnóstico Veterinario Ameghino. Este informe formará parte de un trabajo más extenso que tendrá como finalidad evaluar la evolución de la prevalencia de esta enfermedad en los establecimientos que remiten muestras al laboratorio a partir de la implementación de las Resoluciones 67/2019 y 77/2021 de SENASA.

Estas muestras provienen de establecimientos ubicados en un 80% en los partidos de Florentino Ameghino y General Villegas, repartiéndose el 20% restante principalmente en los partidos de Carlos Tejedor, General Pinto, Lincoln, Rivadavia y el sur de la Provincia de Córdoba. Desde el 1 de enero hasta el 31 de mayo de 2024 se analizaron 25927 muestras de suero bovino mediante la técnica tamiz de antígeno tamponado en placa (BPA) y la prueba confirmatoria de polarización fluorescente (FPA) arrojando resultados positivos 0,94% de las mismas (246 muestras). En principio, esto reflejaría una prevalencia relativamente baja de la enfermedad si lo comparamos con la bibliografía consultada, pero el panorama cambia si vemos en cuántos establecimientos está repartida esta cantidad de reaccionantes. Es así que encontramos 31,28% (51 rodeos) con reaccionantes positivos, superior a lo citado en las referencias bibliográficas. Si a esto sumamos que muchos escaparían a los controles actuales, se presenta un panorama desalentador en lo que concierne a la disminución de la prevalencia de esta enfermedad. Veremos cómo evoluciona la misma a medida que más establecimientos se sometan a controles sanitarios.

Martínez DE, Cipolini MF, Storani CA, Russo AM, Martínez EI. 2018. Brucelosis: prevalencia y factores de riesgo asociados en bovinos, bubalinos, caprinos y ovinos de Formosa, Argentina. Revista Veterinaria. 29(1).

<https://dx.doi.org/10.30972/vet.2912789>

IT-016-24. Muerte perinatal por co-infección de *Brucella abortus* con el virus de la diarrea viral bovina: importancia de la complementariedad de las técnicas para un diagnóstico exitoso

Chiapparrone ML^{1,5,*}, Cacciato CS^{1,2,5}, Cantón J^{1,5}, Riccio MB³, García J³, Nieto Farías MV^{4,5}, Pérez SE^{4,5}; Estein SM^{1,5}

1. Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA)

2. Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CICPBA)

3. Servicio de Diagnóstico Veterinario de Tandil (FCV-UNCPBA)

4. Laboratorio de Virología (SAMP-FCV-UNCPBA)

5. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) (UNCPBA-CICPBA-CONICET) Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

* mlchiapp@vet.unicen.edu.ar

El diagnóstico de las pérdidas reproductivas en bovinos es un desafío para los médicos veterinarios de campo y laboratoristas. En la actualidad y aun disponiendo de herramientas moleculares, el éxito en el diagnóstico final no supera el 50% de los casos. Esto se debe a una multiplicidad de factores relacionados, tales como la pérdida embrionaria, el aborto y la muerte alrededor del parto, la escasa sobrevida de los agentes etiológicos involucrados, el proceso de toma de muestras en tiempo y forma, las técnicas diagnósticas implementadas y el criterio en la interpretación de los resultados, entre otros. Es importante destacar que el diagnóstico de las pérdidas reproductivas en los diferentes momentos de la gestación permite diseñar planes de control y prevención de las enfermedades infecciosas involucradas. El objetivo del presente trabajo es reportar un caso de muerte perinatal por co-infección de *Brucella abortus* con el virus de la diarrea viral bovina (VDVB), haciendo énfasis en la importancia de la complementariedad de técnicas para confirmar el diagnóstico.

El 4/6/2024, el Servicio de Diagnóstico Veterinario recibió un feto bovino de 8 meses de edad proveniente de un rodeo de 100 vacas cruzas Aberdeen Angus y Hereford de un establecimiento de 200 ha ubicado en el partido de Tandil. Las vacas se encontraban consumiendo alfalfa y raigrás y en los últimos 10 días habían tenido acceso a un silo de planta entera. El servicio natural se realizó desde septiembre a noviembre de 2023 utilizando 3 toros con raspajes pre-servicio negativos para enfermedades venéreas. En cuanto a la sanidad, se realizaba la vacunación obligatoria contra brucellosis y fiebre aftosa según plan vigente (SENASA). Si bien el establecimiento no presentaba antecedentes de problemas reproductivos, a fines de diciembre habían ingresado al rodeo problema 12 vacas paridas, 2 de las cuales fueron positivas y 3 sospechosas a brucellosis, siendo las 5 eliminadas del rodeo. El 25/5 se realizó otro muestreo y 2 hembras fueron positivas a brucellosis. Aproximadamente, 20 días previos a la fecha de recepción del feto en estudio, se registró el nacimiento de un ternero débil que murió a las pocas horas de vida.

En la necropsia del feto se observó hemorragia en las arterias umbilicales, indicando que el animal nació vivo. Las muestras de pulmón, bazo y líquido de abomoso fueron derivadas al Laboratorio de Microbiología para el diagnóstico microbiológico y un *pool* de hígado, bazo, riñón, pulmón y sistema nervioso central, se envió al Laboratorio de Virología para el diagnóstico de *Varicellovirus bovinealpha* (BoAHV) (*ex-alfaherpesvirus bovino*) y VDVB. Los órganos se colocaron en formol al 10% y fueron procesados para histopatología.

En el Laboratorio de Microbiología, para el diagnóstico bacteriológico, las muestras fueron maceradas y cultivadas en caldo pre enriquecimiento a 37°C por 72 horas en microaerofilia. Posteriormente, una alícuota se cultivó en medio Skirrow y agar sangre en las condiciones mencionadas. En paralelo, para el diagnóstico de *Tritrichomonas foetus*, las muestras fueron sembradas en medio trypticasa- extracto de levadura- maltosa (TYM) y cultivadas en aerobiosis a 37°C con observaciones diarias durante 7 días.

En el cultivo de pulmón se observó desarrollo bacteriano en pureza compatible con *B. abortus*. La identificación se realizó por morfología de colonia, tinción de Gram y pruebas bioquímicas: oxidasa, catalasa, metabolismo de hidratos de carbono, utilización de urea, reducción de nitratos y producción de grupos sulfhidrilos. El diagnóstico de brucellosis se confirmó por inmunofluorescencia directa (IFD) y por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo fijo (PCR). La IFD se realizó de acuerdo con lo descripto por Estein y cols. (2014). Para la PCR se emplearon los *primers* publicados por Keid y col. (2007). Por IFD se detectó la presencia de brucelas y por PCR, una única banda de 214 pb específica de *Brucella* spp., confirmando el diagnóstico de la enfermedad. En el *pool* de órganos se detectó el genoma de VDVB mediante retrotranscripción seguida de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-qPCR) utilizando los *primers* HCV90 y HCV368. El diagnóstico morfológico fue neumonía intersticial linfoplasmocítica con congestión pulmonar y hepática leves. En este caso, se confirma que la causa de muerte fue una co-infección entre *B. abortus* y VDVB. Las lesiones histopatológicas observadas en el pulmón corroboran la infección bacteriana.

La complementariedad de técnicas diagnósticas, la interpretación de los resultados en contexto y en base a los antecedentes del rodeo, fueron fundamentales para la confirmación de la muerte por co-infección entre *B. abortus* y VDVB. Probablemente, el efecto inmunsupresor del virus haya favorecido la infección con *B. abortus*. De acuerdo con lo informado por veterinarios de actividad privada, en los últimos años se han incrementado las pérdidas reproductivas por brucellosis y los porcentajes de animales positivos a la infección. Esto indicaría que, a pesar de las modificaciones realizadas a la reglamentación en la que se sustenta el Plan Nacional de Control y Erradicación de la brucellosis bovina, podrían existir fallas en su implementación. El presente trabajo aporta diferentes estrategias para arribar al diagnóstico de esta enfermedad relevante para la salud animal, pública y ecosistémica.

Keid LB, Soares RM, Vieira NR, Megid J, Salgado VR, Vasconcellos SA, da Costa M, Gregori F, Richtzenhain LJ. 2007. Diagnosis of canine brucellosis: comparison

between serological and microbiological tests and a PCR based on primers to 16S-23S rDNA interspacer. Veterinary Research Communications. 31:951-65.
<https://doi.org/10.1007/s11259-006-0109-6>

Ridpath JF, Bolin SR. 1998. Differentiation of types 1a, 1b and 2 bovine viral diarrhea virus (BVDV) by PCR. Molecular and Cellular Probes. 12:101-106.
<https://doi.org/10.1006/mcpr.1998.0158>

IT-018-24. El diagnóstico serológico y el mantenimiento del estatus sanitario de Zona Libre de brucelosis bovina en Tierra del Fuego

Disalvo V^{1,*}

¹ Laboratorio de Sanidad Animal Provincial “Dr. Raúl Chifflet”, Río Grande, provincia de Tierra del Fuego, Argentina

* lab.diagnostico.tdf@gmail.com

La brucelosis bovina es una enfermedad infecciosa de transmisión al ser humano, que impacta en la producción del rodeo y en la salud pública. Es causada por *Brucella abortus* y se caracteriza por ocasionar abortos, nacimiento de terneros débiles, retención de placenta y disminución en la producción de leche. El diagnóstico se basa en la detección de los signos clínicos, en pruebas serológicas y en el cultivo del agente etiológico. Los establecimientos ganaderos pueden contraer la enfermedad ante el ingreso de animales infectados, por ende, es preciso conocer el estado sanitario del rodeo que provienen. El control y erradicación de la enfermedad se basa en la detección del ganado infectado. La distribución de la enfermedad es mundial, sólo algunos países en el norte y centro de Europa, Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda son libres de la enfermedad. En Argentina, la misma es declarada por Ley N° 24.696/1996, de interés nacional, en su control y erradicación. En el año 2011, la provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur, fue declarada Zona Libre de brucelosis bovina por el SENASA mediante Resolución N° 100. Su condición de insularidad sumado al bajo movimiento de animales, los antecedentes de resultados negativos y la prohibición de la vacunación, resultaron factores predisponentes para la declaración. Posteriormente, mediante la Resolución 366/2014 de SENASA se estableció un sistema de vigilancia epidemiológica para mantener el estatus adquirido y evidenciar la ausencia de la infección por *Brucella abortus* en los bovinos de la provincia. Esta condición es amparada por los procedimientos de control de la autoridad sanitaria nacional, en la aplicación del sistema cuarentenario para prevenir el ingreso de la enfermedad. A su vez, se ve beneficiada por el paso terrestre a través de Chile y la barrera sanitaria patagónica de fiebre aftosa (restricciones al tránsito, movimiento de animales con resultados negativos, entre otras). En referencia al diagnóstico, el laboratorio de Sanidad Animal Provincial “Dr. Raúl Chifflet” se incorporó a la Red de laboratorios reconocidos por el SENASA, y hasta el presente, se ha encargado de las pruebas asociadas al cumplimiento de la vigilancia epidemiológica, emitiendo resultados oficiales mediante el análisis serológico de muestras provenientes de establecimientos de faena, como así también, de aquellos seleccionados por la autoridad sanitaria para la extracción de muestras a campo según su nivel de riesgo. Los resultados serológicos presentados en este informe datan del inicio de la declaración de Zona Libre hasta el año 2023 inclusive. Las muestras fueron tomadas por veterinarios acreditados por la autoridad sanitaria nacional y remitidas al Laboratorio de Sanidad Animal Provincial “Dr. Raúl Chifflet” para su procesamiento, mediante la prueba de screening con antígeno tamponado en placa BPAT para la detección de anticuerpos contra *Brucella* spp. En estos 13 años, se

procesaron un total de 6.188 sueros bovinos pertenecientes a las categorías vaquillona, vaca y toro. La totalidad de las muestras resultaron negativas a la prueba mencionada. En promedio por año, se recibieron sueros de 17 establecimientos diferentes. En general, el número de muestras procesadas en el marco de la vigilancia epidemiológica va en aumento en los últimos años, en concordancia con el crecimiento del stock bovino de la provincia, según datos oficiales de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. La excepción fue el año 2020, cuando la operatoria estuvo seriamente afectada por la pandemia COVID 19. En los últimos tres años se verificaron aumentos considerables en el muestreo, especialmente el 2023, cuando se procesaron 2.112 sueros. El SENASA determina la elección del muestreo en cada caso (matadero, frigorífico y establecimientos) según la normativa expresada anteriormente y que satisface los requerimientos para el mantenimiento del estatus de Zona Libre. Lo alcanzado en estos años para conservar la condición preciada, denota un trabajo mancomunado de instituciones involucradas. Resulta importante recalcar la consecuencia indeseada que tendría el ingreso de la enfermedad a la provincia en materia de pérdidas productivas, además de constituir una limitante para el comercio nacional e internacional de animales y sus subproductos. El Laboratorio de Sanidad Animal Provincial “Dr. Raúl Chifflet” representa una pieza importante en el diagnóstico de la enfermedad, contribuyendo con ello, al logro de los objetivos propuestos. Sería conveniente apostar al fortalecimiento del sistema, en sinergia con la condición de insularidad de la provincia, no sólo con la enfermedad en cuestión, sino también con otras de importancia productiva y sanitaria que requieran un posicionamiento similar.

Samartino LE, Estein SM, Vanzini V, Elena MA, Escobar G. 2023. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico Jornada de brucelosis humana y animal [libro electrónico]. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, AAVLD. Disponible en:
<https://www.aavld.org.ar/publicaciones/LibroJornadasBrucelosis2023.pdf>
[Consultado 01/04/2024]

IT-019-24. Análisis parasitológico de materia fecal en caninos y felinos de la Ciudad de Buenos Aires y conurbano bonaerense

Mas J^{1,2,*}, Monti G², Lamazares G², Mas F²

1. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

2. Laboratorio Diagnotest SRL., provincia de Buenos Aires, Argentina

* javiermas@diagnotest.com.ar

El análisis parasitológico de materia fecal en caninos es una práctica esencial en medicina veterinaria, cuya finalidad es la detección e identificación de parásitos intestinales para el tratamiento adecuado. La detección temprana permite un tratamiento inmediato, mejorando la salud y el bienestar del animal. Conocer la prevalencia y tipos de parásitos en la población canina ayuda a diseñar y aplicar estrategias de control eficaces, incluyendo desparasitaciones periódicas y programas de educación para los tutores responsables de los mismos.

Se recibieron un total de 13.162 muestras para el análisis de materia fecal en la especie canina y felina desde el 1 de enero de 2023 hasta el 31 de diciembre del mismo año.

La recomendación para su recolección fue una muestra de materia fecal entre 2 a 3g por día, en un periodo de 3 a 5 días, conservada con formol al 5%. Las mismas fueron procesadas mediante la técnica de flotación de Sheather.

Resultados: En la especie canina con un total de 9.333 muestras procesadas, no se observaron huevos, quistes ni ooquistes en 7.150 muestras (76,62%) y se identificaron como positivas a 2.183 muestras (23,38%). De las muestras positivas se obtuvo la siguiente distribución: *Ancylostoma* spp. 29,33%, *Isospora ohioensis* 19,20%, *Giardia* spp. 18,88%, *Toxocara* spp. 12,14%, *Isospora canis* 7,01%, *Trichuris vulpis* 6,65%, *Dipylidium caninum* 2,7%, otros 4,09%.

En la especie felina, con un total de 3.829 muestras procesadas, no se observaron huevos, quistes ni ooquistes en 2.867 muestras (74,88%) y se identificaron como positivas a 962 muestras (25,12%). De las muestras positivas se obtuvo la siguiente distribución: *Giardia* spp. 23,91%, *Toxocara* spp. 23,39%, *Cystoisospora felis* 21,83%, *Cystoisospora rivolta* 11,02%, *Dipylidium caninum* 7,48%, *Ancylostoma* spp. 5,82%, *Aelurostrongylus abstrusus* 1,34%, otros 5,2%.

El análisis de materia fecal en caninos y felinos es una herramienta crucial para la salud veterinaria y la salud pública. El rol del médico veterinario como agente de salud pública es esencial. La educación y concientización de los tutores, junto al uso prudente de los antiparasitarios son necesarios para abordar los desafíos a este problema. La implementación de programas regulares de monitoreo y control parasitario pueden mejorar significativamente la calidad de vida de los caninos y felinos reduciendo los riesgos de zoonosis.

Perez Tort G, Iglesias MF, Mas J. 2008. Atlas de parasitología en pequeños animales. Buenos Aires, Inter-Médica.

IT-020-24. Evaluación del desempeño de las técnicas de BPA, ELISAi y FPA sobre sueros de caprinos del Impenetrable chaqueño infectados naturalmente con *Brucella melitensis*

Monzón N^{1*}, Espasandin A¹, Martínez D¹, Sandobal R¹, Cipolini F¹, Novoa B², Lozina J³, Arzú R³, Yulán V³, Robles C⁴

1. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), provincia de Corrientes

2. INTA EEA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

3. Ministerio de Producción Animal del Chaco, Argentina

4. Consultor privado, Investigador Asociado Grupo de Salud Animal, INTA Bariloche, Argentina

* nolly.monzon@comunidad.unne.edu.ar

La brucellosis caprina (por *Brucella melitensis*) constituye un severo problema de salud pública en poblaciones vulnerables como son las comunidades rurales dedicadas a la producción caprina para subsistencia. En el marco de “Una Salud” resulta indispensable la implementación de diagnósticos serológicos de calidad para detectar a los animales infectados con la mayor certeza posible. Se planteó como objetivo evaluar las diferentes técnicas serológicas disponibles para medir y discriminar anticuerpos en sangre de caprinos infectados naturalmente con *B. melitensis*. Para el estudio se seleccionaron 201 sueros de caprinos no vacunados provenientes de establecimientos de pequeños productores ubicados en 5 localidades del Departamento General Güemes, Chaco (El Espinillo, Miraflores, Fuerte Esperanza, Nueva Pompeya y Sauzalito). Las muestras obtenidas se procesaron mediante: la técnica de aglutinación en placa con antígeno bufferado (BPA), enzimoinmunoensayo indirecto (ELISAi) y fluorescencia polarizada (FPA). Se recurrió a la prueba de fijación de complemento (FC) como “Gold Standard” por ser la técnica de referencia internacional. Todas las pruebas se realizaron de acuerdo con los lineamientos establecidos por el Manual de Procedimientos del SENASA (2019). Se trabajó con el programa MedCalc para la obtención de las curvas ROC (Receiver Operator Characteristic), puntos de corte, sensibilidad (Se) y especificidad (Es) en cada técnica, así como también se procedió al cálculo del estadístico Chi² (2). Con el programa WinEpi2 se establecieron los índices de concordancia entre pruebas (índice Kappa, **k**). Los resultados serológicos iniciales, sobre 201 sueros analizados fueron para BPA: positivos (n) 97 (48,25%), ELISAi positivos (n) 75 (37,31%) y FPA positivos (n) 80 (39,80%). Los resultados comparativos de las pruebas evaluadas (BPA, ELISAi y FPA), en contraste con FC, fueron los siguientes: Verdaderos Positivos (VP): BPA 66 (32,83%), ELISAi 65 (32,33%) y FPA 65 (32,33%). Los Falsos Positivos fueron (FP): BPA 31 (15,42%), ELISAi 10 (4,97%) y FPA 15 (7,76%). Los Verdaderos Negativos (VN) BPA: 104 (51,74%), ELISAi 125 (62,18%) y FPA 120 (59,70%). En cuanto a los Falsos Negativos (FN) los resultados fueron: BPA 0, ELISAi 1 (0,49%) y FPA 1 (0,49%). Posteriormente se realizó el análisis del área bajo la curva ROC, lo cual demostró que el mejor rendimiento correspondió a la técnica de ELISAi (AUC: 0,996 – IC 95%: 0,974-1,000), seguida por la prueba de FPA (AUC: 0,960 – IC 95%: 0,922-

0,982) y por el último el BPA (AUC: 0,885 – IC 95%: 0,833-0,926). Todas las pruebas demostraron elevada *Se* (BPA: 100%, ELISAi y FPA: 98,5%). Respecto a los valores de *Es* el ELISAi (93,3%) superó al BPA (77,04%) y FPA (88,9%). En lo referente a la concordancia entre pruebas, la técnica de BPA evidenció una fuerza de asociación adecuada (***k***: 0,688), y las técnicas de FPA (***k***: 0,829) y ELISAi (***k***: 0,880) una asociación excelente respecto de FC. En cuanto a los índices de performance obtenidos, la técnica de ELISAi presentó el valor más elevado (191,8), seguido por el FPA (187,4) y BPA en último lugar (177,4). En relación a las estimaciones de χ^2 , se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre las técnicas de ELISAi y FPA respecto de la FC, siendo la más elevada la de ELISAi ($\chi^2_{157,20}$, p-valor <0.00001 versus FPA $\chi^2_{141,24}$, p-valor <0.00001). El BPA, por ser un diagnóstico cualitativo, no pudo ser procesado por este análisis estadístico. El BPA demostró elevada *Se*, lo cual valida su implementación como prueba diagnóstica tamiz (WOAH, 2022). ELISAi, fue la que mostró el mejor desempeño (*Se*: 98,5%, *Es*: 93,3% e IP: 191,8), y si bien puede utilizarse como prueba tamiz, estos resultados indicarían la posibilidad de uso como prueba única (tamiz y confirmatoria) para la brucellosis caprina (Robles *et al.*, 2020). Con relación al FPA si bien está descripta como una técnica de alta especificidad, en este estudio la *Es* fue baja, por lo que se recomienda reestandarizarla en el país para su uso como prueba confirmatoria en caprinos.

SENASA. 2019. Brucellosis (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*): Manual de diagnóstico serológico. SENASA. [En línea] Disponible en: <https://biblioteca.senasa.gov.ar/items/show/3907> [Consultado 20 de mayo de 2024]

World Organization for Animal Health (WOAH). 2022. Brucellosis (Infección por *Brucella abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*), Manual Terrestre de la OIE 2022. [En línea] Disponible en: [fmd with viaa test incl. \(woah.org\)](https://www.woah.org/fmd-with-viaa-test-incl/) [Consultado el 20 de mayo de 2024]

**I-001-24. Estudio serológico de brucelosis en la especie equina.
SENASA, 2020- 2024**

Franco C¹, Pérez M¹, Fernández V¹, Herrera M², Traverso E³, Maidana C³, Carballo M³, Elena S^{1*}

1. Departamento de brucelosis, Dirección General de Laboratorios y Control Técnico (DLA DGLYCT) Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Martínez, Buenos Aires, Argentina

2. Departamento de Salmonella, Dirección General de Laboratorios y Control Técnico (DLA DGLYCT) Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Martínez, Buenos Aires, Argentina

3. Departamento de equinos, Dirección General de Laboratorios y Control Técnico (DLA DGLYCT) Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Martínez, Buenos Aires, Argentina

* selena@senasa.gob.ar

La brucelosis es una zoonosis bacteriana con distribución mundial causada por microorganismos del género *Brucella* que afectan al ganado, animales salvajes y al hombre. La infección por *Brucella* spp. en equinos, así como en otras especies domésticas se observa en todo el mundo, pero la falta de estudios hace que en muchos países la presencia de la misma sea desconocida. En el único estudio realizado en Argentina en 1998 se analizaron 175 sueros equinos con la prueba de Rosa de Bengala (RBT) y se detectó un 0,8% de las muestras positivas.

Los equinos pueden infectarse por cohabitación o interacción con el ganado bovino, caprinos o porcinos infectados. Esta enfermedad en equinos se manifiesta por el llamado “mal de la cruz” debido a la inflamación de la bursa supraespinosa y tejido conectivo, formación de abscesos y fistulas en la región afectada. También la bacteria puede afectar articulaciones, vainas tendinosa y ocasionalmente causar abortos.

El diagnóstico de brucelosis se basa en la observación de la presencia de signos clínicos, de la realización del cultivo bacteriológico y/o pruebas indirectas, basadas en la detección de una respuesta inmune humoral (pruebas serológicas), siendo esta última la estrategia más utilizada para estimar la prevalencia aparente de la brucelosis.

Las pruebas serológicas utilizadas para el diagnóstico de brucelosis se basan principalmente en la detección de anticuerpos contra el antígeno inmunodominante de *Brucella* spp., lipopolisacárido (LPS) y la cadena O. Estas pruebas tienen la ventaja de ser rápidas, económicas, sensibles y con la posibilidad de aplicarse en un gran número de animales, pero han sido principalmente estandarizadas para el diagnóstico de brucelosis en bovinos, porcinos, cabras y ovinos.

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de anticuerpos de brucelosis sobre muestras de caballos ingresadas al laboratorio de SENASA durante el período de mayo 2020 a mayo 2024.

Se analizaron un total de 1874 muestras de suero equino las cuales ingresaron para el análisis de brucelosis, salmonelosis y anemia infecciosa equina (AIE),

provenientes de Buenos Aires (83,43%), Córdoba (2,24%), Corrientes (0,21%), Entre Ríos (12,11%), Jujuy (0,05 %), La Pampa (0,16%), Salta (0.05%), San Juan (1,6%), San Luis (0,1%) y Santa Fe (0,05%).

Las muestras fueron evaluadas mediante la prueba de RBT y aquellas que resultaron positivas se confirmaron mediante las pruebas de seroaglutinación lenta en tubo (SAT), 2-mercaptoetanol (2-ME), prueba de polarización fluorescente (FPA) y fijación de complemento (FCT). Los antígenos utilizados en las técnicas de diagnóstico fueron RBT y SAT, producidos en SENASA y para FPAT se utilizó un kit comercial del Laboratorio Biológico de Tandil, S.R.L., realizando la lectura en un polarímetro Sentry 201 (Ellie®).

En cuanto a la interpretación de los resultados de la técnica de RBT, se consideró positiva toda reacción visible de aglutinación. Para la prueba se SAT, teniendo en cuenta la interpretación de los resultados para animales no vacunados, se consideró positivo los títulos de 1:100 o más; sospechosos, títulos menores de 1:100 y mayores o iguales a 1:50; se consideraron negativos títulos menores de 1:50; para la prueba del 2-ME, cualquier título se consideró positivo, mientras que para FC a partir de 20 UIFC se consideró positivo. En el caso de FPAT se tomó como referencia el valor de corte utilizado en la especie bovina usando la dilución 1/100 de los sueros, muestras negativas valores menores de 94 mP, sospechosos valores entre 94 y 104 mP y positivos mayor de 104 mP.

Del total de muestras analizadas, 28 sueros reaccionaron a la prueba de RBT (1,5 %); de las muestras positivas a RBT, 2 muestras fueron positivas a SAT-2ME, en FPAT, 3 muestras dieron valores de por encima de 120 unidades de milipolarización y las mismas muestras dieron valores por encima de 100 UIFC, a FC.

Los resultados obtenidos en este estudio, demuestran la presencia de anticuerpos contra *Brucella* spp. en la especie equina. Los sueros positivos a las técnicas complementarias provenían de establecimientos con casos de AIE de la provincia de Buenos Aires.

Es importante destacar que el uso de estas pruebas serológicas para el diagnóstico de brucelosis en equinos sin un procedimiento de validación, especialmente limita su capacidad diagnóstica al desconocerse el valor de corte, siendo necesario realizar un estudio adecuado de validación.

Nicola A, Elena S, Franco C. 2019. Brucellosis (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*): Manual de diagnóstico serológico [En línea] Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/manual_tecnicas_serologicas-2019-v4_brucellosis.pdf/

[Consultado 31/07/2024]

Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres, OMSA (capítulo 3.1.4, Brucellosis, infección por *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*). [En línea] Disponible en:

https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.04_B_RUCELL.pdf

[Consultado 31/07/2024]

Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. 1976. Las técnicas de laboratorios en la brucelosis. Organización Mundial de la Salud. [En línea] Disponible en: <https://iris.who.int/handle/10665/38787> [Consultado 31/07/2024]

I-002-24. Brucelosis canina: evaluación de la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Resultados preliminares

Elena S¹*, Franco C¹, Pérez M¹, Fernández V¹, Koval A²

1. Departamento de Brucelosis, Dirección General de Laboratorios y Control Técnico (DLA DGLYCT), Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Martínez, Buenos Aires, Argentina

2. Biogénesis Bagó, Argentina

* selena@senasa.gob.ar

La brucelosis canina es una enfermedad zoonótica, cuyo agente etiológico es *Brucella canis*. Es relevante en la salud pública debido al estrecho contacto entre perros y humanos. La enfermedad en el canino se transmite principalmente por vía oro nasal, por contacto con fetos, fluidos fetales, placenta, flujo vaginal, por vía venérea e intrauterina.

El diagnóstico definitivo de la infección se basa en el aislamiento del agente asociado a pruebas bioquímicas, pero debido a la baja sensibilidad para detectar animales crónicamente infectados, tiempo que conlleva el aislamiento, además de requerir de un laboratorio con condiciones adecuadas de bioseguridad, hace que las pruebas serológicas sean mayormente utilizadas como rutina para el diagnóstico. Actualmente se encuentran disponibles la prueba rápida de aglutinación en portaobjetos (RSAT), inmunodifusión en gel de agar (IDGA), ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas indirecto (iELISA) e inmunoensayo de flujo lateral (LFIA). Como en cualquier prueba diagnóstica, pueden ocurrir resultados falsos positivos o falsos negativos, especialmente en las pruebas de aglutinación, por lo que se recomienda la combinación de más de una prueba de laboratorio (directa/indirecta) o la repetición de un nuevo muestreo para el arribo a un diagnóstico definitivo.

Las pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) han sido descriptas para el diagnóstico de esta enfermedad, existiendo kits comerciales actualmente no disponibles en nuestro país. El objetivo de este estudio fue evaluar la prueba de IFI preparada “in house”, como prueba alternativa para el diagnóstico serológico de brucelosis canina.

Un panel de 149 muestras de sueros, de perros divididos en tres grupos, fueron evaluados: *Grupo 1*: 61 muestras positivas a la técnica de iELISA; *Grupo 2*: 83 muestras negativas a iELISA y *Grupo 3*: 5 muestras con resultado indeterminado en la técnica de iELISA, teniendo en cuenta el valor de corte del kit. A todas las muestras se les realizó RSAT (antígeno SENASA), para la detección de anticuerpos IgG específicos contra el lipopolisacárido rugoso (LPSr). En la técnica de ELISA se utilizó el kit VETLIS® BrucellaiELISA Caninos.

Para preparar el antígeno se utilizó la cepa de *B. canis* RM6-66 cultivada en agar triptosa (DIFCO), inactivada y suspendida en solución salina fenolada 0,5%. Se recubrió con 10 µl de la suspensión de antígeno previamente titulada cada uno de los círculos de un portaobjetos para inmunofluorescencia. Se secaron a 37 °C y se fijaron durante 20 minutos en acetona a -20 °C.

Los sueros se diluyeron en base 2 desde 1/20 a 1/320 en buffer fosfato pH 7,2 (PBS), distribuyendo 10 µl de cada dilución en los círculos del portaobjetos con el antígeno fijado. Se incubaron durante 45 minutos a 37 °C en cámara húmeda. Se eliminó el suero mediante dos lavados en agitación de 5 minutos con PBS y, posteriormente, se distribuyeron en cada círculo 10 µl de solución previamente titulada de anti-inmunoglobulina G de canino, conjugada con isotiocianato de fluoresceína (SIGMA Product No. F-4012). Se incubaron 45 minutos a 37 °C en cámara húmeda. Se repitieron los pasos de lavado utilizando agua destilada y finalmente para la observación se agregó al portaobjetos glicerina bufferada pH 7,2 y un cubreobjetos. La observación se realizó en un microscopio de fluorescencia Zeiss con objetivo de inmersión de 100X. Se consideraron positivos los sueros que marcaron específicamente a los cocobacilos, con fluorescencia verde manzana, a partir de la dilución 1/40 del suero. En cada ensayo se incluyeron sueros controles positivos y negativos.

Se obtuvieron los siguientes resultados: *Grupo 1* (iELISA positivo), 58/61 muestras resultaron positivas a IFI (94,91%); *Grupo 2* (iELISA negativo), 82/83 muestras resultaron negativas a IFI (98,8%); *Grupo 3* (iELISA indeterminado) 5/5 muestras resultaron negativas a IFI.

Del total de tres muestras negativas a IFI del *Grupo 1*, dos muestras resultaron negativas a RSAT y una de ellas resultó positiva a RSAT; en el *Grupo 2* solo una muestra (negativa a iELISA y RSAT) fue positiva a IFI en la dilución 1/40, mientras que en el *Grupo 3* todas las muestras resultaron negativas a RSAT.

En el análisis de los *Grupos 1 y 2* se obtuvieron una sensibilidad de 95,1% y una especificidad de 98,8%, con una correlación como resultado de un valor de kappa de Cohen 0,942.

En este trabajo preliminar la técnica de IFI demostró una buena correlación con las técnicas de diagnóstico serológicas utilizadas como rutina a pesar del número limitado de muestras procesadas. La implementación de IFI para laboratorios equipados con inmunofluorescencia puede resultar una alternativa práctica, considerando la posibilidad de analizar muestras individuales, sin requerir tener una cantidad que justifique hacer ELISA.

Cortina M, Novak A, Melli L, Elena S, Corbera N, Romero J, Nicola A, Ugalde J, Comerci D, Ciocchini A. 2017. Development of improved enzyme-based and lateral flow immunoassays for rapid and accurate serodiagnosis of canine brucellosis. *Veterinary Microbiology*. 208:174-80.

<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.08.005>

Perletta F, Di Pancrazio C, Rodomonti D, Di Febo T, Luciani M, Krasteva I, Maggetti M, Profeta F, Salini R, De Massis F, Sacchini F, Tittarelli M. 2023. Evaluation of three serological tests for diagnosis of canine brucellosis. *Microorganisms*. 11(9):2162.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms11092162>

I-003-24. Evaluación comparativa del perfil de citoquinas en células mononucleares de sangre periférica de cerdos y esplenocitos de ratón tras el estímulo con diferentes clases de CpG-ODN a través de RT-qPCR

Vedelago G^{1, 2*}, Palacios ML^{1, 2}, Ruiz Moreno FN^{1, 2}, Marín C^{1, 2}, Castell S^{1, 2}, Palma S^{3, 4}, Morón G^{1, 2}, Bessone FA⁵, Alustiza FE⁵, Crespo MI^{1, 2}, Maletto BA^{1, 2}

1. Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, provincia de Córdoba, Argentina

2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI), provincia de Córdoba, Argentina

3. Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, provincia de Córdoba, Argentina

4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Unidad de Tecnología Farmacéutica (UNITEFA), provincia de Córdoba, Argentina

5. Grupo de Sanidad Animal, INTA Estación Experimental Marcos Juárez, provincia de Córdoba, Argentina

* guliana.vedelago@mi.unc.edu.ar

Hemos desarrollado una estrategia innovadora para componentes de vacunas, que implica la formulación de antígenos y un inmunoestimulante denominado CpG-ODN (oligodeoxinucleótido sintético con motivos CpG no metilados en un contexto particular de bases) con una nanoestructura formada mediante el autoensamblaje de 6-O-ascorbato de palmitato (Coa-ASC16). Según sus estructuras químicas y efectos inmunopotenciadores, los CpG-ODN se clasifican en tres clases: A, B y C, y su actividad varía entre especies. Nuestro objetivo principal fue evaluar diferentes CpG-ODN en dos especies: cerdos y ratones. Para identificar cuál CpG-ODN induce la mejor respuesta, obtuvimos células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de cerdo y una suspensión de células de bazo de ratón. Las células se incubaron durante 12 horas con diferentes CpG-ODN: 2395, 1826, 1018 y 2007 o con medio solo (basal). La expresión de ARNm de citocinas se evaluó mediante RT-qPCR (n: 4), como housekeeping se utilizó GAPDH en las células de cerdo y actina en las de ratón. Nuestros hallazgos indican que CpG-ODN 2395 induce una amplia gama de mediadores de la respuesta inmunológica innata, incluyendo IL-6, IL-12p40 e IFN β ($p < 0,05$), en ambas especies. En ratón, el CpG-ODN 1826 también induce una respuesta de estos mediadores. En contraste, los otros CpG-ODN evaluados no activaron las PBMC, o lo hicieron escasamente. En conclusión, nuestro estudio revela que el CpG-ODN 2395 estimula de forma más efectiva la respuesta inmune innata en las PBMC de cerdos, mientras que las células esplénicas de ratón son estimuladas tanto con CpG-ODN 2395 como con CpG-ODN 1826.

Sánchez Vallecillo MF, Ullio Gamboa G, Palma S, Harman MF, Chiodetti AL, Morón G, Allemandi DA, Pistoresi-Palencia MC, Maletto, BA. 2014. Adjuvant

activity of CpG-ODN formulated as a liquid crystal. *Biomaterials* 35(8): 2529-2542. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.12.002>

I-004-24. Desarrollo y evaluación de un ELISA de competición para la detección de anticuerpos anti-*Brucella* en suero y leche de rumiantes

Foster CN^{1,2}, Rossi UA^{1,2}, Saracino MP^{3,4}, Castaño Zubietta MR¹, Baldi PC^{3,4}, Rossetti CA^{1,2*}

1. Instituto de Patobiología, Instituto de Patobiología Veterinaria (IP-IPVet) INTA-CONICET, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y técnicas (CONICET) Argentina

3. Cátedra de Inmunología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

4. Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), CONICET-Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* rossetti.carlos@inta.gob.ar

La brucelosis es una enfermedad abortigénica, zoonótica causada por bacterias del género *Brucella*. El diagnóstico serológico es uno de los pilares sobre los que se sostienen los programas para el control y erradicación de la enfermedad en las especies de producción. Las pruebas serológicas para el diagnóstico de brucelosis se dividen en pruebas tamiz y pruebas complementarias o confirmatorias. Los ELISAs de competición (cELISA), junto con la prueba de polarización fluorescente (FPA) y la prueba de fijación del complemento (FC) son las técnicas que conforman este último grupo. Las pruebas de cELISA son altamente específicas, y sus resultados son objetivos, estables, repetibles y reproducibles en el tiempo. Dada la ausencia en el mercado local de esta valiosa herramienta recomendada como una técnica serológica confirmatoria, nos propusimos desarrollar un cELISA de origen nacional capaz de detectar anticuerpos anti-*Brucella* en suero y leche.

Para el desarrollo del cELISA se utilizó como antígeno (Ag) el LPS de *B. abortus* 1119-3 (Dr. Victor Vanzini, EEA-INTA Rafaela) adsorbido en placas de poliestireno de 96 pocillos fondo plano; y como competidor de los anticuerpos (Ac) presentes en la matriz, se utilizó el anticuerpo monoclonal BC68 dirigido contra un epítope de la fracción O del LPS de *B. abortus* conjugado con peroxidasa. Tras definirse las condiciones óptimas relacionadas al tipo de placa, concentración de antígeno adsorbido y anticuerpo competidor, temperaturas y tiempos de incubación, se optimizó el ensayo procesando 499 sueros caprinos por triplicado previamente clasificados como positivos o negativos por las técnicas oficiales de antígeno bufferado en placa (BPA) y fijación del complemento (FC) (236 positivos y 263 negativos). Los resultados obtenidos por el cELISA se analizaron a través de una curva ROC utilizando el programa Graphpad Prism 9.0.2. Se determinó el punto de corte y la sensibilidad (Se) y especificidad (Es) relativas a BPA/FC con un 95% de confianza (IC), y se evaluó la concordancia entre el cELISA y la combinación BPA/FC por el índice kappa (κ) de Cohen. Posteriormente se evaluó el comportamiento del cELISA frente a 593 sueros caprinos (288 positivos y 305 negativos) y 216 sueros bovinos (104 positivos y 112 negativos), por triplicado. Se utilizaron como controles del ensayo un pool de sueros caprinos positivos y negativos a BPA y FC, provenientes de una majada con aislamiento de *B.*

melitensis, o de una majada sin antecedentes de brucelosis, respectivamente, y como control de buffer la incubación del anticuerpo monoclonal conjugado. Para evaluar la capacidad del cELISA de identificar anticuerpos anti-*Brucella* en leche, se trabajó con 70 muestras de leche entera proveniente de caprinos serológicamente positivos (n=21) o negativos (n=49) a brucelosis por las pruebas oficiales (BPA y FC). Tanto las muestras de suero como de leche se mantuvieron congeladas a -20°C hasta el momento del procesamiento.

El análisis ROC estableció el punto de corte en 20,28%I (% inhibición) para las muestras de suero caprino, asociado a una sensibilidad (Se) y especificidad (Es) analítica del 94,49% (95% IC = 90,80%-96,75%) y 95,44% (95% IC = 92,20%-97,37%), respectivamente. En la evaluación posterior, al aumentarse el número de muestras procesadas, disminuyó la Se (90,28%; 86,31%-93,19%) pero aumentó la Es (98,34%; 96,17%- 99,29%) de la técnica para la detección de anticuerpos anti-*Brucella* en sueros caprinos, con un grado de concordancia casi perfecto con las técnicas de referencia ($k = 0,89$). Cuando se evaluó la Se y Es del cELISA en sueros bovinos utilizando el mismo punto de corte, este presentó un 96,15% (90,53%-98,49%) de Se y un 99,11% (95,12% - 99,95%) de Es, arrojando también un grado de concordancia casi perfecto con las pruebas de referencia ($k = 0,95$). Para las muestras de leche, el punto de corte fijado por curva ROC fue de 38,73%I, con una Se y Es asociadas de 71,43% (50,4%-86,19%) y 89,80% (78,24%-95,56%), respectivamente, y con un grado de concordancia substancial ($k = 0,62$) respecto a la detección de anticuerpos séricos.

Existen varias publicaciones en las que se evalúa la performance de un cELISA para la detección de anticuerpos anti-*Brucella* en sueros bovinos, pero son escasas aquellas en las que se estudió su comportamiento en sueros caprinos, y no hemos identificado ninguna publicación con muestras de leche. La especificidad mostrada por este cELISA para la detección de anticuerpos séricos anti-*Brucella* en caprinos y bovinos lo convierten en una técnica confirmatoria para el diagnóstico serológico de la brucelosis animal en Argentina. A futuro se aumentará el número de sueros procesados y se extenderá el estudio con suero de otras especies animales productivas como ovinos, cerdos y búfalos para evaluar su potencial multiespecie. Así mismo, de validarse los resultados preliminares, este cELISA podría ser utilizado para vigilancia epidemiológica en majadas caprinas mediante la detección de anticuerpos anti-*Brucella* en leche. Esto sería un beneficio adicional del cELISA, ya que la prueba de anillo en leche (o ring test) usada para vigilancia epidemiológica de brucelosis en bovinos, no está recomendada en leche caprina. En resumen, el cELISA aquí presentado mostró una muy buena performance diagnóstica, es versátil y multiespecie, ya que detecta anticuerpos anti-*Brucella* en distintas matrices y especies animales, y disminuye los tiempos de procesamiento al tener el anticuerpo monoclonal marcado.

Foster CN, Rossi UA, Saracino MP, Castaño Zubieta MR, Baldi PC, Rossetti CA. 2022. Desarrollo y optimización de un ELISA de competición para el diagnóstico de brucelosis caprina: resultados preliminares. XXII Jornadas de divulgación técnico-científicas, FCV-UNR. Casilda, Santa Fe, Argentina, p.349-50.

Goldbaum FA, Rubbi CP, Fossati C. 1994. Removal of LPS from a *Brucella* cytoplasmic fraction by affinity chromatography with an anti-LPS monoclonal antibody as immunosorbent. *Journal of Medical Microbiology*. 40(3):174-8.
<https://doi.org/10.1099/00222615-40-3-174>

I-005-24. Evaluación preliminar de la polarización fluorescente como prueba DIVA en caprinos vacunados a distintas edades con la cepa Rev.1 de *B. melitensis*

Rossetti CA^{1,2*}, Foster CN^{1,2}, Olmos LH³, Rossi UA^{1,2}, Castaño-Zubieta MR¹, Suarez V³

1. Instituto de Patobiología, Instituto de Patobiología Veterinaria (IP-IPVet) INTA-CONICET, provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido, EEA Salta INTA, Cerrillos, provincia de Salta

* rossetti.carlos@inta.gob.ar

La vacunación con la cepa Rev.1 de *B. melitensis* es una medida indicada para combatir la brucelosis en los pequeños rumiantes. La vacunación está indicada en las hembras entre los 3 y 6 meses de edad, lo que reduce los efectos adversos y provee una respuesta inmunológica potente y duradera. Sin embargo, cuando la enfermedad se presenta en forma endémica, una alternativa es la vacunación masiva de toda la majada. Entre otros inconvenientes, la vacunación de los animales adultos genera anticuerpos persistentes en suero que las pruebas diagnósticas no logran diferenciar de la respuesta inmune humoral producida por una infección natural (DIVA: *Differentiating Infected from Vaccinated Animals*). La prueba de polarización fluorescente (FPA) presenta una alta especificidad y sensibilidad para el diagnóstico serológico de la brucelosis caprina. Así mismo, mostró una alta especificidad diagnóstica para discriminar anticuerpos vacunales de infectivos en bovinos, característica que no fue suficientemente evaluada en caprinos, y que es el objetivo de este estudio.

Se trabajó con 34 cabras hembra Saanen distribuidas en 3 grupos: A) <6 meses (n=21); B) 12 a 16 meses (n=8), y C) >30 meses de edad (n=5). Todos los animales fueron vacunados con la cepa Rev.1 de *B. melitensis* por instilación ocular (OCUREV) en concentraciones de 1×10^8 a 5×10^8 UFC. Previo a la vacunación, al mes, 3, 5 y 6 meses p.v. se tomó sangre para suero por punción de la vena yugular. La presencia de anticuerpos anti-*Brucella* en suero fue evaluada por la prueba de aglutinación en placa (BPA) y FPA. Las pruebas se hicieron según el procedimiento indicado por SENASA con sus correspondientes controles positivo y negativo.

Todos los animales en experimentación resultaron serológicamente negativos a brucelosis previo a la vacunación, tornándose seropositivos por BPA a los 30 días p.v. Todos los animales del grupo A se volvieron seronegativos a brucelosis por BPA a los 5 meses p.v. Contrariamente, a los 6 meses p.v., todos los animales del grupo C y 2 animales del grupo B, permanecieron seropositivos a brucelosis por BPA. Por su parte, el análisis serológico por FPA de los animales del grupo A, mostró un 71% de positividad al mes p.v. (15/21), que se redujo a un 10% al tercer mes p.v. (2/21), y aumentó a un 21% (4/19) a los 6 meses p.v. Para el grupo B, el porcentaje de detección varió desde un 75% (6/8) al mes p.v. hasta un 25% (2/8) y

37% (3/8) a los 5 y 6 m.p.v., respectivamente. Todos los animales de grupo C permanecieron seropositivos a brucellosis por FPA durante toda la experiencia. Los resultados obtenidos muestran que la técnica de FPA presentó un comportamiento irregular con los sueros de los animales vacunados de los grupos A y B, en coincidencia con lo observado por Monzón y col. (2023), y no pudo discriminar los anticuerpos vacunales en las cabras adultas (grupo C) durante los primeros 6 m.p.v., a diferencia de lo observado por Robles y col (2020). Si bien el número de animales estudiados fue bajo, estos resultados sumados a los obtenidos en otras publicaciones indican que es necesario profundizar los estudios para definir la capacidad diagnóstica DIVA de la técnica de FPA frente a sueros de caprinos vacunados con la cepa Rev.1 de *B. melitensis*.

Monzón NM, Cipollini MF, Martínez DE, Espasandín AG, Sandobal R, Mellano JI, Robles CA. 2023. Desempeño de la técnica de fluorescencia polarizada (FPA) en caprinos vacunados experimentalmente con *B. melitensis* Rev.1 en Empedrado, Corrientes. Libro de resúmenes de las Jornadas de Jóvenes Investigadores, FCV-UNICEN. Tandil, Argentina. p131.

I-007-24. Desempeño de la técnica de FPA versus test de Coggins para el diagnóstico de anemia infecciosa equina

Espasandin AG¹, Monzón NM^{1*}, Soto J², Martínez DE¹, Storani CA¹, Soto P², Díaz S³, Lucchesi E², Cipolini MF¹

1. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), provincia de Corrientes, Argentina

2. Laboratorio Biológico de Tandil (BIOTANDIL), Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata (UNLP), provincia Buenos Aires, Argentina

* nolly.monzon@comunidad.unne.edu.ar

La polarización de la fluorescencia (FPA) es una de las técnicas que se encuentra en desarrollo para detección de anemia infecciosa equina (AIE). La misma permite estimar la interacción antígeno-anticuerpo en animales infectados. Si bien es utilizada para el diagnóstico de brucellosis bovina, su sencillez, rapidez y elevadas sensibilidad (Se) y especificidad (Es) podría habilitar su implementación como diagnóstico alternativo confirmatorio para AIE. El objetivo de este trabajo consistió en la valoración del rendimiento y el grado de acuerdo no debido al azar de la técnica del Test de Coggins versus la técnica de FPA con el kit de Laboratorio Biológico de Tandil (BIOTANDIL). Se trabajó con un total de 1079 muestras de sueros de equinos de las provincias de Corrientes, Chaco, Formosa y Misiones pertenecientes a establecimientos rurales, haras y complejos deportivos de estas provincias. Inicialmente las mismas fueron analizadas por un laboratorio de Red de SENASA mediante el Test de Coggins con el kit comercial VMRD® IDGA AIE (por razones de confidencialidad la identidad de las muestras negativas es reservada). Posteriormente fueron cedidas al laboratorio de Sanidad Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias UNNE, donde se realizó el ensayo de FPA por medio de un kit otorgado por BIOTANDIL para experimentación (Espasandin *et.al.*, 2021). Para el análisis estadístico se recurrió a la estimación de AUC- ROC (Área Under Curve-Receiver Operator Characteristic), también se obtuvo el índice de Youden, medida estadística que informa el rendimiento y la calidad de la prueba. Se estimó el Intervalo de Confianza (IC – 95%) y se analizaron la Se y Es diagnósticas. Con el programa Win Episcope 2.0 se estableció el grado de acuerdo y el valor Kappa entre las técnicas de Coggins y FPA, tomando como referencia el punto de corte obtenido por el análisis ROC. El resultado de los 1079 sueros analizados por medio del test de Coggins arrojó 528 muestras positivas y 551 muestras negativas. El análisis entre el test de Coggins y el FPA con una confianza del 95%, estableció un punto de corte de 81,5 mP, siendo el resultado de las mismas 567 muestras positivas y 512 negativas para la técnica de FPA. El valor de verdadero positivo entre técnicas fue de 495, verdaderos negativos 534, falso negativo 33 y falso positivo 17 utilizando al test de Coggins como prueba de Oro. En cuanto al AUC (0,977) reveló que el FPA tuvo un rendimiento global muy bueno con una Se de 93,7 % y una Es del 96,9 %. El índice de Youden obtenido fue de 0,90; es importante destacar que este índice identifica el punto de corte que

determina la Se y Es más alta en conjunto. El valor kappa para determinación de la concordancia entre técnicas fue de 0,90 (nivel de confianza 95%). Las muestras procesadas en su mayoría provenían de establecimientos controlados sanitariamente. Reportes previos demostraron que la reactividad de FPA se correlacionó con los resultados informados para Coggins, utilizando un punto de corte de 81 mP, en un 100% a partir de un total de 106 de sueros negativos (100% de especificidad) y en 135 sueros positivos sobre un total de 151 de sueros positivos (89,4% de sensibilidad) (Tencza *et al.* 2000). En el año 2006, a partir de otros ensayos serológicos similares, se reportó que la Se de FPA versus Coggins fue del 91,8%, y que, al realizar una modificación del péptido sintético, el valor aumentó a 100% (Juliarena *et al.* 2006). A partir de estos análisis, se concluye que el desempeño de la técnica de FPA para el diagnóstico de AIE podría ser considerada en un futuro como una herramienta alternativa, rápida, práctica, simple y objetiva para la emisión de un resultado certero.

Espasandin AG, Cipolini MF, Forletti A, Díaz S, Soto J, Martínez DE, Storani CA, Monzón NM, Beltrame JI, Lucchesi E, Soto P. 2021. Comparison of serological techniques for the diagnosis of equine infectious anemia in an endemic area of Argentina. Journal of Virological Methods. 291: 114101.

<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2021.114101>

I-008-24. Caracterización patológica e inmunofenotípica de tejidos de bovinos intoxicados naturalmente con *Vicia villosa*

Cantón G^{1*}, Sosa E¹, Aguirre L^{2,3}, Colque Caro L^{3,4}, Micheloud J^{2,3,4}, Uzal F⁵

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

2. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta (UCASAL), provincia de Salta, Argentina

3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

4. Área de Investigación en Salud Animal, Instituto de Investigación animal del Chaco Semiárido (IIACS), Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), INTA (EEA Salta Cerrillos), Argentina

5. California Animal Health and Food Security (CAHFS), UCDavis, San Bernardino, USA.

* canton.german@inta.gob.ar

Vicia villosa es una leguminosa utilizada para pastoreo y confección de reservas forrajeras, que en las últimas décadas se ha empleado como cultivo de cobertura con fines agronómicos. Sin embargo, esporádicamente, cuando es pastoreada en estado reproductivo, ocasiona toxicidad en bovinos, caracterizada por dermatitis y lesiones multisistémicas granulomatosas. Su principio tóxico se desconoce, pero por la naturaleza de las lesiones que ocasiona se presume que la intoxicación está relacionada a fenómenos de hipersensibilidad, con activación de linfocitos T, que provocan citotoxicidad e inflamación granulomatosa. En este trabajo se caracterizó la población celular en tejidos de bovinos naturalmente intoxicados con *V. villosa* diagnosticados en los Servicios de Diagnóstico Veterinario del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Balcarce y del Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido (IIACS), INTA Salta. Se seleccionaron muestras de riñón, corazón, glándula adrenal, bazo, hígado, páncreas, pulmón y piel, que habían sido recolectados en las necropsias realizadas en 13 bovinos adultos afectados, razas Holando Argentino (8) y Aberdeen Angus (5). Estos tejidos habían sido fijados en formol al 10%, deshidratados y embebidos en parafina. Estos ya habían sido evaluados y habían presentado diferente grado de lesiones granulomatosas (Aguirre y col., 2021). Se realizaron secciones de 5 μm que fueron teñidas con hematoxilina y eosina y tricrómica de Masson. Además, de cada tejido se realizó inmunohistoquímica (IHQ) para identificar linfocitos T (CD3+) y linfocitos B (CD79+). Cada sección fue evaluada y se aplicó un score de lesión, tinción e inmunomarcajes (de 0 a 3). Brevemente, se corroboraron diferentes grados de infiltrado inflamatorio granulomatoso multifocal a difuso en todos los tejidos evaluados: corazón (score promedio $3,0 \pm 0,0$), riñón ($3,0 \pm 0,0$), hígado ($2,8 \pm 0,5$), piel ($2,8 \pm 0,5$), páncreas ($2,0 \pm 0,0$) y bazo ($1,8 \pm 1,3$), y en menor medida en linfonódulos y pulmón. En todos los tejidos evaluados se observó escasa presencia de colágeno (score 0,0 a 1,0). Se observó infiltrado de linfocitos T (CD3+) principalmente en riñón ($3,0 \pm 0,0$), corazón ($2,8 \pm 0,5$), piel ($2,8 \pm 0,5$) e

hígado ($1,5 \pm 0,6$) y en menor medida en bazo, pulmón, páncreas y linfonódulos. No se observó infiltrado de linfocitos B (CD79+) en ninguno de los tejidos evaluados, a excepción de linfonódulos. No se observaron diferencias en las características histopatológicas e inmunofenotípicas entre los tejidos de bovinos Holando Argentino y Aberdeen Angus intoxicados con *V. villosa*. Si bien queda pendiente continuar con la caracterización de estas lesiones, mediante IHQ para detectar células expresando caspasa-3 activada (apoptosis) y receptores CD68 (macrófagos), estos resultados preliminares confirmarían la participación de linfocitos T en la inmunopatogenia de la toxicidad.

Aguirre L, Cantón G, Morrell E, Sandoval G, Medina D, Avellaneda-Cáceres A, Micheloud J. 2021. Retrospective analysis of hairy vetch (*Vicia villosa* roth) poisoning in Argentina (2004-2019). *Toxicon*. 200: 134-9.

<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.07.012>

I-009-24. Desarrollo de un ELISA de inhibición competitivo para el diagnóstico serológico de la brucelosis caprina y comparación de sus resultados con los de BPA, FPA y fijación de complemento

Novoa MB^{1*}, Aguirre N², Monzón NM³, Foster CN¹, Ugarte E¹, Valentini B¹, Torioni de Echaide, S¹, Vanzini V¹

1. Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IDICaL), CONICET- INTA EEA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

2. Laboratorio Biovet, LRS 693, Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

3. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Argentina

* novoa.maría@inta.gob.ar

La brucelosis caprina es una enfermedad infecciosa y zoonótica de relevancia mundial, causada por *Brucella melitensis* que provoca desórdenes reproductivos en animales y enfermedad grave en humanos. En Argentina, se observan geográficamente tres conglomerados con alta prevalencia de infecciones en caprinos por *B. melitensis*: Centro-Norte (Este de Salta, Noroeste de Chaco y Centro Oeste de Formosa), NOA-Sur (La Rioja y Catamarca) y Cuyo (Mendoza y Sur de San Juan). Las herramientas para el control de la enfermedad se basan en la detección y segregación de animales infectados. La vacunación no es obligatoria en esta especie. Las técnicas de diagnóstico serológico utilizadas son la prueba del antígeno tamponado en placa (BPA) como tamiz, y las pruebas de seroaglutinación en tubo (SAT) y 2-mercaptoetanol (2-ME), polarización fluorescente (FPA), fijación de complemento (FC) y el enzimoinmunoensayo (ELISA) como pruebas confirmatorias. El objetivo de este trabajo fue validar un ELISA de inhibición competitiva (ELISAic) para la detección de anticuerpos anti-*B. melitensis* en muestras de suero sanguíneo de caprinos basado en reactivos producidos en la EEA Rafaela-INTA (ELISAic-Raf).

El antígeno lipopolisacárido liso (sLPS) de *B. abortus* cepa 1119-3 y el anticuerpo monoclonal (AcM) anti-sLPS (AcM D7) se produjeron previamente en la EEA Rafaela-INTA. El ELISAic-Raf utiliza como antígeno al sLPS inmovilizado en una placa de poliestireno. Los sueros problema y controles se agregaron en una dilución 1/10 en buffer PBS + EDTA/EGTA 0,075 M. Se realizó una incubación de 40 minutos a 25°C y luego tres lavados con buffer PBS + 0,05% tween-20. A continuación se añadió el AcM D7 en una dilución 1/300 en buffer PBS + EDTA/EGTA 0,075M. Se incubó y lavó nuevamente, luego se añadió el anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa en una dilución 1/4000 en PBS + 0,05% tween-20. Se incubó y lavó nuevamente, luego se procedió a la lectura de la placa, utilizando ABTS como sustrato cromógeno. Cada placa de ELISA incluyó sueros control de caprinos, positivo fuerte (C++), negativo (C-) y un control de conjugado (Cc) sin suero. Se realizó una lectura dinámica estandarizada cuando el Cc alcanzó una densidad óptica (DO) = 1 a los 10 minutos de agregado el ABTS. Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición (%I) respecto al control de conjugado, según la siguiente formula: %I = 100 - (DO_{muestra} x 100) / DO_{Cc}.

Para evaluar el ELISAic desarrollado, se utilizaron muestras de suero sanguíneo de 875 cabras. Las muestras negativas ($n = 464$) se obtuvieron de cabras de la provincia de Santa Fe, en la que no se ha detectado brucelosis caprina. Las muestras positivas se obtuvieron de cabras infectadas ($n = 411$) de las provincias de Formosa, La Rioja y Chaco (majadas con presencia de abortos y aislamiento bacteriológico, en las que no se ha vacunado con Rev-1). Todas las muestras de suero fueron analizadas mediante el ELISAic-Raf, BPA, FPA y FC. Los resultados obtenidos por ELISAic-Raf se analizaron a través de una curva ROC utilizando el programa Medcalc. Se utilizó como prueba de oro los resultados de las demás pruebas serológicas (BPA, FPA y FC), utilizando los sueros cuyos resultados fueran coincidentes, positivos o negativos a las tres pruebas. Se determinó el área bajo la curva (ABC), el punto de corte óptimo (PC) y la sensibilidad (Se) y especificidad (Es) relativas con un 95% de confianza. Se evaluó la concordancia y el índice kappa (κ) entre las distintas técnicas utilizadas comparándolas de a pares. Además, se evaluó el punto de corte óptimo para FPA utilizando como prueba de oro los resultados de la FC.

El ELISAic-Raf mostró un $ABC = 0,999$ (95% IC = 0,993 – 1,000). El PC fue ≥ 28 %I con una Se de 99,1% (95% CI = 97,4–99,8) y una Es de 99,13% (95% IC = 97,8–99,8) relativas a las demás pruebas serológicas. La concordancia entre ELISAic-Raf y FPA fue 90,89% con $\kappa = 0,82$ (95% IC = 0,78- 0,85), entre ELISAic-Raf y FC fue 98,97% con $\kappa = 0,98$ (95% IC = 0,97- 0,99), entre ELISAic-Raf y BPA fue 98,63% con $\kappa = 0,97$ (95% IC = 0,96- 0,99), entre FPA y FC fue 91,54% con $\kappa = 0,83$ (95% IC = 0,79- 0,87), entre FPA y BPA fue 91,20% con $\kappa = 0,82$ (95% IC = 0,78- 0,86) y, entre BPA y FC fue 99,66% con $\kappa = 0,99$ (95% IC = 0,99- 1,00). En este ensayo preliminar, el ELISAic-Raf mostró un alto rendimiento comparado con las otras técnicas de diagnóstico serológico disponibles para ser usadas con sueros de caprinos. Se observó una muy buena concordancia (mayor a 98%) entre los resultados del ELISAic-Raf y los resultados obtenidos por FC y BPA. Al comparar los resultados del ELISAic-Raf con los resultados obtenidos por FPA, la concordancia fue menor con un porcentaje de acuerdo del 90,89% y un $\kappa = 0,82$. La comparación de los resultados de FPA con los de BPA y FC también obtuvo un 91% de acuerdo. Estos resultados sugieren que el punto de corte de FPA para ser usado con sueros de caprinos debería ser revisado. Al evaluar un punto de corte óptimo para FPA relativo a los resultados obtenidos por la FC, este fue de 73 mP, con una Se y Es de 86,86 (95% IC = 83,2- 90,0) y 96,56 (95% IC = 95,1- 97,7), respectivamente. Este punto de corte es menor al sugerido actualmente por SENASA, de 85 mP.

El ELISAic es una prueba objetiva, rápida, automatizable que permite procesar gran número de muestras por día y por operador. Estas cualidades sumadas a la alta eficiencia demostrada por el ELISAic-Raf en este trabajo, la hacen elegible para determinar prevalencia de brucelosis en majadas con gran número de animales. Estudios adicionales se llevarán a cabo ya que el ELISAic-Raf podría ser de gran utilidad como prueba confirmatoria para la detección de anticuerpos anti-*B. melitensis* en majadas caprinas.

Robles CA, Gaido AB, Spath EJ, Torioni SM, Vanzini VR, Zielinski GC, Aguirre DH, Samartino LE, Rossanigo CE. 2014. Brucellosis caprina en Argentina. Ediciones INTA. [Libro]. 01/09/2014. ResearchGate.

<http://doi.org/10.13140/RG.2.1.2561.4324>

I-010-24. Desarrollo y evaluación de un ELISA indirecto para la medición de anticuerpos contra el virus de la bronquitis infecciosa aviar

Di Giacomo S¹*, Olivera V¹, Geréz R², Asenzo G¹, Vagnozzi A^{1,2}

1. Instituto de Virología (CICVyA), INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* digiacomo.sebastian@inta.gob.ar

La bronquitis infecciosa aviar (BIA) es una enfermedad causada por un coronavirus que se encuentra distribuido en el mundo entero. El virus de BIA replica en tracto respiratorio, riñones y tracto reproductivo de las aves causando pérdidas económicas de consideración, tanto en explotaciones de pollos parrilleros como de gallinas ponedoras (1,2). Los programas completos de vacunación contemplan la administración de varias inmunizaciones. En reproductoras es una práctica común realizar un diagnóstico serológico a las aves post vacunación como método para asegurar seroconversión frente al virus de BIA. En la actualidad este diagnóstico se realiza mediante la utilización de kits comerciales de ELISA importados, debido a que no existen kits nacionales para la medición de anticuerpos frente a este virus.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un ELISA indirecto de alta sensibilidad que pudiera ser utilizado en diagnóstico e investigación y poder reemplazar el kit de ELISA importado, por un ensayo de fabricación nacional.

Para el desarrollo del ensayo utilizamos como controles positivos sueros de pollos inmunizados con vacunas oleosas inactivadas y sueros de pollos infectados con virus activo. Como controles negativos, sueros de pollos SPF. Como antígeno, virus perteneciente al linaje G1-16 (cepa A13) amplificado en embrión de pollo y purificado por gradiente de sacarosa.

Para la puesta a punto del ensayo se sensibilizaron placas de 96 pocillos con virus purificado por gradiente de sacarosa (300 ng/pocillo). El bloqueo de las placas y todas las diluciones en pasos posteriores se realizaron con PBST 5 % suero equino adulto + 5% suero normal de cabra, durante 1 hora a 37°C con agitación. Se realizó el bloqueo de las placas y en forma posterior se colocaron las muestras de suero aviar en diluciones seriadas a partir de 1/100. Luego del lavado con PBST se agregó a la placa un anticuerpo comercial anti- IgG de pollo marcado con peroxidasa. Las placas se revelaron con TMB. La reacción se detuvo con H₂SO₄ 2N. Los valores de densidad óptica se registraron con un lector automático para microplacas Multiskan EX utilizando una longitud de onda de 450 nm. El punto de corte de la placa se determinó utilizando el promedio de un pool de sueros negativos más dos desvíos estándar.

Mediante el uso del ELISA indirecto desarrollado, se pudo cuantificar IgG en sueros de aves vacunadas e infectadas con BIA, con una sensibilidad y especificidad del 100% tomando como Gold Standard el kit de ELISA comercial (IDEXX). Asimismo, nuestro ensayo de ELISA pudo detectar IgG específicas contra IBV a partir de muestras provenientes de lavados traqueobronquiales de

aves infectadas e inmunizadas con vacunas inactivadas. Los resultados obtenidos indican que el ensayo de ELISA indirecto para medir anticuerpos contra el virus de BIA podría reemplazar, con menores costos, los kits importados que se utilizan rutinariamente para medir seroconversión en las explotaciones avícolas de nuestro país. Al comparar ambos ensayos utilizando diluciones 1/500 de sueros de aves vacunadas, se obtuvieron títulos de anticuerpos similares. Sin embargo, nuestro ensayo permite detectar respuestas inmunes humorales más tempranas y/o de menor título ya que el diseño del ensayo permite cuantificar anticuerpos a partir de muestras de suero menos diluidas (1/100) en comparación con los kits comerciales (1/500). El nuevo ensayo se utilizó satisfactoriamente tanto para medir la cinética de anticuerpos frente a vacunas e infecciones experimentales como para medir anticuerpos de mucosa (IgG) en lavajes traqueobronquiales de aves inmunizadas con vacunas inactivadas y con virus activo.

Cavanagh D. 2023. Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. Avian Pathology. 32(6):567-82.

<https://doi.org/10.1080/03079450310001621198>

Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). 2012. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres, duodécima edición 2023 [En línea] Disponible en: <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-manual-terrestre/>

[Consultado 18/01/2023]

Gerez R, Marandino A, Tomas G, Olivera V, Pinto S, Craig MI, Techera C, Perez R, Vagnozzi A. 2021. Evaluation of the efficiency of commercial vaccines against infectious bronchitis virus (IBV) belonging to the GI-16 lineage isolated in an Argentinean outbreak. Avian Diseases. 65(3):456-62.

<https://doi.org/10.1637/0005-2086-65.3.456>

I-011-24. Evaluación de un ELISA sándwich para la detección de anticuerpos contra *Babesia bovis*

Thompson CS¹, Valentini BS¹, Mazzucco-Panizza M¹, Ahmerdt PA¹, Primo ME^{1*}

1. Laboratorio de Inmunología y Parasitología Veterinaria, Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IDICAL), CONICET- INTA EEA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

* primo.maría@inta.gob.ar

Babesia bovis es uno de los hemoparásitos, trasmítidos por *Rhipicephalus microplus*, causante de la babesiosis bovina. Los animales jóvenes son generalmente resistentes a la enfermedad, y una vez que se infectan desarrollan inmunidad específica duradera. Es por ello que, en zona endémica de *R. microplus* la infección con *B. bovis* por exposición natural o por vacunación de animales menores de 10 meses de edad es deseable. La determinación de anticuerpos contra *B. bovis* se utiliza para evaluar tanto el estatus inmunológico de un rodeo, con el objetivo de determinar la necesidad de vacunar, como la inmunidad lograda post vacunación. Actualmente, en el Laboratorio de Inmunología y Parasitología Veterinaria (LIPVet) del INTA Rafaela, esta determinación se realiza por ELISA indirecto (ELISAi) o inmunofluorescencia indirecta (IFI). Ambas técnicas utilizan, como antígenos, merozoítos purificados del cultivo *in vitro* de *B. bovis*. Estos métodos no pueden ser transferidos al medio comercial, debido a la falta de estabilidad y homogeneidad de las diferentes partidas de antígenos producidas. El objetivo del trabajo fue desarrollar y evaluar la *performance* de un ELISA sándwich (ELISAs) utilizando las proteínas MSA2c (*Merozoite Surface Antigen-2c*) de una cepa vacunal (BboR1A) y de una cepa patógena (BboS2P) de *B. bovis*. Se clonaron, expresaron y purificaron por NTA-Ni²⁺ las proteínas recombinantes MSA2c sin la región de transmembrana (tMSA2c) de la cepa BboS2P (MSA2c-S2P) y de la cepa BboR1A (MSA2c-R1A) para utilizar como antígenos. Las proteínas tMSA2c-S2P y tMSA2c-R1A fueron biotiniladas usando sulfo-NHS-biotin. Los antígenos recombinantes tMSA2c-S2P y tMSA2c-R1A se inmovilizaron sobre placas Nunc de 96 pocillos. Las placas se bloquearon con PBS/10 % de leche, se lavaron 3 veces con PBS/0,05 % Tween 20 (PBST) y se agregaron a cada pocillo 100 µl de las muestras de suero problema y controles. Los pocillos se lavaron 5 veces con PBST y se incubaron con las proteínas tMSA2c-S2P y tMSA2c_R1A biotiniladas. Se repitieron los lavados y se agregó estreptavidina-peroxidasa 1/1000. La reacción se reveló con ABTs/H₂O₂ y las DO_{405nm} se midieron a los 20 min. Los resultados se expresaron como porcentaje de positividad (%P). Para evaluar los antígenos, se utilizaron sueros recolectados durante 8 meses a partir de 24 bovinos distribuidos en 4 grupos (n=6) inoculados con cepas patógenas y vacunales de *B. bigemina* (BbiS2P y BbiS1A) y *B. bovis* (BboL17 y BboR1A). El punto de corte, la sensibilidad diagnóstica (SeD) y la especificidad diagnóstica (EsD) se determinaron mediante el análisis de curvas ROC utilizando 725 muestras de animales no infectados con *B. bovis* provenientes de rodeos cerrados de zona libre de *R. microplus* y 151 muestras de animales infectados con *B. bovis* (118 vacunados con *B. bovis* cepa BboR1A y 33 infectados experimentalmente con

la cepa patógena L17). De las 725 muestras de animales no infectados con *B. bovis*, 513 fueron de animales sin inmunizar, 192 de animales inmunizados con *B. bigemina* y 20 de animales inmunizados con *A. centrale*. Para determinar la concordancia (%) y el valor kappa (κ) entre el ELISAs y ELISAi se analizaron los resultados de 293 muestras de suero de bovinos de zona endémica para *R. microplus*, que habían ingresado al LIPVet para evaluación del estatus epidemiológico ($n = 200$) o de inmunidad post vacunal ($n = 93$), con el software MedCalc. Las proteínas recombinantes tMSA2c-S2P y tMSA2c-R1A expresadas tuvieron un 91% de identidad. La SeD y la EsD del ELISAs, con un punto de corte $> 14\%P$, fueron 98,7% (95% CI, 95,3 - 99,8) y 97,8% (95% CI, 96,5 - 98,7), respectivamente. La concordancia entre el ELISAi y el ELISAs fue 89% con un valor κ de 0,785 (95% CI = 0,71-0,85). El ELISAs desarrollado demostró tener muy buena sensibilidad y especificidad. Los resultados preliminares indican una buena correlación con el ELISAi, pero deberían analizarse un mayor número de muestras e incluir en el análisis resultados obtenidos por IFI y PCR. El ELISAs es simple, rápido y podría ser usado para estudios epidemiológicos a gran escala o para el monitoreo de la respuesta inmune post vacunal. El revelado antígeno específico aumenta la especificidad, ya que disminuye el ruido de fondo del sistema; y aumenta la sensibilidad, ya que los sueros no necesitan ser diluidos para su evaluación. Además, se puede utilizar para la determinación de anticuerpos en cualquier especie animal. En conclusión, el ELISAs desarrollado cuenta con la sensibilidad y especificidad adecuada para evaluar la inmunidad humoral en animales infectados naturalmente o vacunados con *B. bovis*. El reemplazo de antígenos extractivos por antígenos recombinantes podría solucionar las limitaciones de producción del ELISAi y permitir avanzar en el desarrollo de un kit transferible a laboratorios de mediana-baja complejidad.

Bock R, Jackson L, de Vos A, Jorgensen W. 2004. Babesiosis of cattle. Parasitology. 129 (Suppl:S):247-69.

<https://doi.org/10.1017/S0031182004005190>

Wilkowsky SE, Farber M, Echaide I, Torioni de Echaide S, Zamorano PI, Dominguez M, Suarez CE, Florin-Christensen M. 2003. *Babesia bovis* merozoite surface protein-2c (MSA-2c) contains highly immunogenic, conserved B-cell epitopes that elicit neutralization-sensitive antibodies in cattle. Molecular Biochemistry Parasitology. 127(2):133-41.

[https://doi.org/10.1016/S0166-6851\(02\)00329-8](https://doi.org/10.1016/S0166-6851(02)00329-8)

I-014-24. Detección de anticuerpos contra un antígeno recombinante de *Mycobacterium bovis*por ELISA en muestras de suero bovino

Gatto MI^{1,2}, Ferrero S¹, Tonini F³, Griffa N⁴, Capozzo A⁵, Alonso B⁶, Martino F³, Paolazzi C², Argüelles C⁷, Helguera G^{1*}

1. Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

2. Agropharma Salud Animal, Moreno, Buenos Aires, Argentina

3. Estudio Veterinario AVIS, Suardi, Santa Fe, Argentina

4. Laboratorio Diagnóstico NG, Santa Fe, Argentina

5. Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud (CAECIHS), Universidad Abierta Interamericana (UAI), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

6. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Dirección General de Laboratorio y Control Técnico (DILAB-SENASA), Martínez, Buenos Aires, Argentina.

7. Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud “Dr. Carlos Malbrán” (ANLIS), Instituto Nacional de Producción de Biológicos (INPB), Departamento Reactivos Diagnósticos, Servicio Derivados de Micobacterias, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

* gustavoh@ibyme.conicet.gov.ar

La prueba oficial de diagnóstico de tuberculosis bovina (TBb) en bovinos es la prueba cutánea de tuberculina PPD, basada en la detección de la inmunidad mediada por células. Debido a sus limitaciones en sensibilidad y especificidad, se han propuesto pruebas serológicas como herramientas auxiliares para maximizar la identificación de animales infectados mediante la detección de anticuerpos contra *M. bovis*. Las técnicas de ELISA no sustituyen a la prueba cutánea, pero permiten detectar bovinos infectados anérgicos a PPD, lo que la convierte en una herramienta complementaria para el diagnóstico de TBb. En este trabajo se evaluó un ELISA utilizando un antígeno recombinante de *Early Secreted Antigenic Target 6 KDa (ESAT-6)* de *M. bovis*, expresado en *Escherichia coli* y purificado por cromatografía de afinidad. Para desarrollar el ELISA se utilizaron muestras de sueros de bovinos PPD negativos, pero con títulos positivos de anticuerpos contra PPD y muestras de sueros de bovinos PPD negativos en rodeos libres de TBb por más de 5 años con títulos negativos de anticuerpos contra PPD. Se optimizó la cantidad de antígeno adherido a la placa, la dilución del suero bovino y del conjugado enzimático, y se estableció la línea de corte para diferenciar sueros positivos y negativos. Los resultados preliminares indicaron una línea de corte con 90% de sensibilidad y 100% de especificidad, confirmando el potencial del ELISA desarrollado para detectar anticuerpos específicos contra *M. bovis* en sueros de bovinos infectados. En futuros estudios, se evaluará el ELISA en distintos rodeos a campo para confirmar su validez diagnóstica.

Bernardelli A. 2007. Producción y control de tuberculina bovina y aviar. Derivado Proteico Purificado (DPP). 2º Ed. Ciudad de Buenos Aires, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.

Casal C, Diez-Guerrier A, Álvarez J, Rodriguez-Campos S, Mateos A, Linscott R, Martel E, Lawrence JC, Whelan C, Clarke J, O'Brien A, Domínguez L, Aranaz A. 2014. Strategic use of serology for the diagnosis of bovine tuberculosis after intradermal skin testing. *Veterinary Microbiology*. 170(3-4): 342-51. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.036>

Harboe M, Oettinger T, Wiker HG, Rosenkrands I, Andersen P. 1996. Evidence for occurrence of the ESAT-6 protein in *Mycobacterium tuberculosis* and virulent *Mycobacterium bovis* and for its absence in *Mycobacterium bovis* BCG. *Infection and Immunity*. 64(1): 16-22. <https://doi.org/10.1128/iai.64.1.16-22.1996>

I-015-24. Evaluación de la expresión génica de TLRs y citoquinas en esmegma de toros con infección genital por *Leptospira* spp.

Plá N^{1,2*}, Videla YP^{3,4}, Burucúa MM^{4,5}, Chequepán FA^{4,5}, Marin MS^{4,5}, Quintana S^{6,7}

1. Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica (FONCyT), Buenos Aires, Argentina

3. Centro Regional de Estudio Sistémico de las Cadenas Agroalimentarias (CRESCA), Facultad de Agronomía, Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires, Azul, provincia de Buenos Aires, Argentina

4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

5. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMdP, Mar del Plata, provincia de Buenos Aires

6. Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM-CONICET-Universidad Nacional de Mar del Plata -UNMDP-), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales UNMDP, Centro Científico Tecnológico Mar del Plata-CONICET, Centro de Asociación Simple CIC-PBA, Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

7. Instituto de Biología Molecular Aplicada Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

* nataliapla996@gmail.com

La leptospirosis, zoonosis de amplia distribución mundial, produce importantes pérdidas reproductivas en bovinos. Se ha reportado la presentación genital de la enfermedad, siendo crucial la detección de individuos infectados para la implementación de medidas sanitarias adecuadas. Si bien *Leptospira* spp. modula la inmunidad innata, se desconoce la respuesta en mucosa genital de toros. El objetivo de este trabajo fue evaluar la expresión de receptores inmunes innatos y citoquinas en muestras de esmegma de toros con infección genital por *Leptospira* spp. Para ello, se seleccionaron muestras de raspajes prepuciales de rutina de toros reproductores de cuatro establecimientos del Partido de Azul, Buenos Aires, sin problemas reproductivos, en los que previamente se evaluó la presencia del ADN de *Leptospira* spp. mediante detección por qPCR del gen *secY*. Se comparó la expresión génica de TLR2, TLR4, IFN- β e IFN- λ por RT-qPCR, con análisis de los resultados mediante el software REST, de 10 muestras negativas y 10 positivas a *Leptospira* spp. La expresión de TLR2 se incrementó significativamente en animales infectados con *Leptospira* spp. con respecto a animales no infectados (4 veces, $p \leq 0,05$), mientras que TLR4 no presentó diferencias. Asimismo, tanto IFN- β e IFN- λ se vieron incrementados significativamente en esmegma de animales infectados (3,5 y 3,1 veces, respectivamente, $p \leq 0,05$). Por lo tanto, este trabajo evidencia que la infección genital de *Leptospira* spp. en toros genera y modula una respuesta inmune innata local, habiendo una asociación entre la presencia de ADN de *Leptospira* spp. y los niveles de expresión de TLR2, IFN- β e IFN- λ .

Loureiro AP, Lilenbaum W. 2020. Genital bovine leptospirosis: a new look for an old disease. *Theriogenology*. 141:41-7.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.09.011>

Varma VP, Bankala R, Kumar A, Gawai S, Faisal SM. 2023. Differential modulation of innate immune response by lipopolysaccharide of *Leptospira*. *Open Biology*. 13(11): 230101. <https://doi.org/10.1098/rsob.230101>

I-016-24. Comparación entre un ELISA y la prueba de aglutinación microscópica para la detección de anticuerpos post-vacunales contra *Leptospira* spp. en bovinos

Martínez ML^{1,3*}, Esteban M¹, Sánchez C¹, Saraullo V¹, Hamer M², Samartino L³, Brihuega B^{1,3}

1. Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología, UEDD IPVET CONICET - INTA, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (CICVyA) INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

* martinez.mara@inta.gob.ar

La leptospirosis es una zoonosis que causa importantes pérdidas económicas en la producción bovina. Un diagnóstico adecuado y la vacunación son algunas medidas a implementar para disminuir tales pérdidas. En el presente trabajo, se comparó un Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA) específico para la detección de immunoglobulina (Ig) G contra *Leptospira* spp., (IgG-ELISA) con la prueba de aglutinación microscópica (MAT) que detecta IgG e IgM. Las pruebas se evaluaron después de la aplicación de dos dosis de una vacuna comercial contra la leptospirosis en 10 bovinos. Luego de la primera dosis, se detectaron anticuerpos específicos contra *Leptospira* spp. en el 90% de los bovinos mediante IgG-ELISA y en el 60% mediante MAT. Después de la segunda dosis, las Ig se detectaron en el 100% y el 90% de los bovinos por IgG-ELISA y MAT, respectivamente. La concordancia general entre el IgG-ELISA y MAT fue débil [$k = 0,4788$; IC del 95% (0,2715-0,6862)]. Como resultado preliminar IgG-ELISA, sería útil para evaluar las IgG inducidas por la vacuna contra *Leptospira* spp, ya que mostró un mejor rendimiento que la MAT.

Martinez M, Rodriguez M, Irazu L, Saraullo V, Hamer M, Watanabe O, Grune S, Romero G, Samartino L, Brihuega B. 2022. Comparing recombinant LipL32 and sonicated antigen of *Leptospira* for detecting bovine leptospirosis using ELISA. Acta Tropica. 225:106214 . <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106214>

I-017-24. Respuesta inmune humoral y severidad de lesiones compatibles con tuberculosis en bovinos negativos a la intradermorreacción

Sammarruco A^{1*}, Ruiz Menna V¹, Delgado F¹, Encinas M², Garro C¹, Eirin ME², Ferrara Muñiz X², De La Fuente I¹, Garbaccio S^{1*}

1. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), UEDD CONICET- INTA-Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA)- Centro Nacional de Investigaciones Agrarias (CNIA), provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) UEDD CICVyA (Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas), CNIA Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias), INTA-CONICET, Argentina

* sammarruco.romina@inta.gob.ar / garbaccio.sergio@inta.gob.ar

La tuberculosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa causada principalmente por *Mycobacterium bovis*. Genera un impacto económico negativo en la producción pecuaria y también en la salud pública, por tratarse de una zoonosis. Actualmente, Argentina cuenta con un plan nacional de control y erradicación, basado en el diagnóstico *ante mortem* a través de la intradermorreacción (IDR). Sin embargo, existen evidencias de bovinos no reactores a esta técnica que pueden ser diagnosticados por medio de la prueba serológica (ELISA) por presentar una respuesta inmune humoral y que, en el examen *post mortem*, presentan lesiones compatibles con tuberculosis. Se ha descripto que la respuesta mediada por anticuerpos resulta evidente en estadios avanzados de la enfermedad, asociada a cuadros patológicos severos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la correlación entre la respuesta inmune humoral y la severidad de las lesiones compatibles con tuberculosis.

Se estudiaron 38.397 bovinos lecheros negativos a IDR, de los cuales se obtuvo el suero entre 15-25 días posteriores a la intradermorreacción para realización del ELISA. Los mismos, eran individuos de entre 3 a 11 años provenientes de 35 establecimientos en proceso de saneamiento localizados en las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe. Se realizó un ELISA indirecto *in house*, para detección de la respuesta humoral. Se realizó la necropsia de los animales que resultaron positivos para recabar información relacionada con la presencia de lesiones compatibles con tuberculosis bovina. Se realizó la colección de los siguientes órganos: linfonodos retrofaríngeo, mediastínico, traqueobronquial, hepático, mesentérico y retro mamario, pulmón, hígado, glándula mamaria, válvula ileocecal y cualquier otro tejido que presentase lesiones compatibles. Los órganos fueron evaluados individualmente y se aplicó un *score*, a fin de evaluar el grado de avance de la enfermedad en cada animal. Se asignó una puntuación de 1 para lesión focalizada, 2 para lesión multifocal y 3 para lesión diseminada. Cuando se observó masividad en la distribución de las lesiones, se asignó el puntaje más alto alcanzado por el resto de los animales evaluados exhaustivamente (29 puntos). A su vez, se colectaron muestras en formol bufferado al 10%, para estudios histopatológicos y se obtuvieron muestras de tejido fresco para la detección por

PCR de la secuencia de inserción (IS) 6110, específica del complejo *Mycobacterium tuberculosis* y para la confirmación bacteriológica en medio Stonebrink. Un animal se consideró confirmado para tuberculosis bovina cuando resultó positivo a bacteriología, histopatología y/o PCR. La comparación estadística de proporciones se realizó en un intervalo de confianza del 95%, mediante EpiDat 3.1 versión software (Xunta de Galicia, OPS-OMS). La distribución de los datos obtenidos se estudió mediante Shapiro Wilk con mediana y rango intercuartílico 25-75 (RIQ₂₅₋₇₅) como estadística descriptiva. Finalmente, se evaluó la correlación entre los valores de densidad óptica y el *score* de lesiones mediante el test de Spearman a través de GraphPad Software, Inc.

El 1% (IC 0,91-1,11) de los bovinos resultaron positivos al ELISA, con valores de densidad óptica mayores al punto de corte de la técnica (>0,5). De allí se logró realizar la necropsia sobre 102 bovinos. En el 95% (IC: 88,93-98,38) de los animales evaluados se encontraron lesiones compatibles con tuberculosis. De las mismas, 91% (IC: 85,18-97,17) fueron confirmadas por histopatología. De los animales analizados por PCR y bacteriología se pudieron confirmar el 69% (IC: 59,35-78,78), y el 66% (IC: 53,88-77,55), respectivamente. Mediante la prueba de Spearman aplicada sobre 82 muestras, se observó una correlación significativa entre densidad óptica obtenida en el ELISA y el *score* de lesiones, con $r=0,2930$, IC 95%: (0,075-0,484) y un *p* valor=0,0075.

Los resultados obtenidos en este trabajo son coincidentes con trabajos previos donde se propone una relación entre el aumento de anticuerpos (representado por el valor de densidad óptica) y un aumento en el avance de la enfermedad. Se pudo demostrar que la mayoría de los bovinos evaluados (95%) presentaron lesiones compatibles con tuberculosis bovina, poniendo en evidencia la presencia de bovinos negativos a la IDR en establecimientos con tuberculosis endémica que fueron identificados a partir del ELISA. En la mayoría de los casos, se pudo confirmar presencia de tuberculosis mediante histopatología, bacteriología y/o PCR. Así mismo se registró una correlación significativa entre la severidad del cuadro (*score* de lesiones) y los valores de densidades ópticas en el ELISA. Sin embargo, hubo casos con densidad óptica elevada sin lesiones y otros con baja densidad óptica y lesiones diseminadas. Nuestros resultados sugieren que la densidad óptica al ELISA podría ser un indicador del cuadro presente en el bovino y, por lo tanto, podría ser una herramienta de selección de aquellos animales con mayor riesgo de transmisión. Por tanto, otros estudios serán necesarios para profundizar sobre esta temática y el potencial aporte del ELISA como complemento diagnóstico de la IDR, a los efectos de optimizar la detección de bovinos infectados y de esa manera contribuir a la detección de fuentes de infección en apoyo a las medidas de control de la enfermedad.

SENASA. 2012. Plan nacional de control y erradicación de la tuberculosis bovina (TB). [En línea] Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/resoluci%C3%B3n-128-2012-195314> [Consultado 29/07/2024]

Garbaccio SG, Garro CJ, Delgado F, Tejada GA, Eirin ME, Huertas PS, León EA, Zumárraga MJ. 2019. Enzyme-linked immunosorbent assay as complement of intradermal skin test for the detection of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Tuberculosis*. 117:56-61. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2019.05.006>

I-018-24. Tuberculosis bovina: relación entre pruebas serológicas y características de las lesiones macroscópicas

Carreño J¹, Macías A¹, Magnano G¹, Alonso B², Macio M¹, Sticotti E¹, Bergamon E¹, Schneider M¹

1. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, provincia de Córdoba, Argentina

2. Departamento de micobacterias, Dilab, SENASA, Buenos Aires, Argentina

* jcarreno@ayv.unrc.edu.ar

El diagnóstico de tuberculosis bovina (TBB) ante morten, se basa en la prueba tuberculina intradérmica. Si bien en Argentina la utilización de pruebas serológicas no está considerada en el diagnóstico oficial, algunos laboratorios las ofrecen como aporte al diagnóstico en situaciones problemáticas. Se considera que la respuesta inmune humoral se hace más evidente en animales con enfermedad crónica y distribución generalizada de lesiones.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la asociación entre los resultados positivos a dos pruebas serológicas y la distribución y características macroscópicas de las lesiones compatibles (LCT) en bovinos con infección por tuberculosis confirmada por cultivo bacteriológico e histopatología.

Se utilizaron 83 muestras de sueros provenientes de bovinos que presentaron LCT al momento de la faena. Estas lesiones fueron confirmadas posteriormente por cultivo bacteriano e histopatología, por lo tanto, sus respectivos sueros fueron considerados como provenientes de animales verdaderos infectados o verdaderos positivos. Se desconocía si los animales habían tenido o no una prueba tuberculínica previa a la faena.

Al momento de la toma de muestra en frigorífico, las LCT se clasificaron según su ubicación en los sistemas afectados y sus características macroscópicas. Posteriormente se definieron por su curso agudo (con halo rojo, sin cápsula ni calcificación) o crónico (sin halo rojo, con cápsula y calcificación) y por su localización en un solo sistema o generalizadas (dos o más sistemas).

Los 83 sueros se analizaron mediante dos técnicas serológicas de ELISA comerciales; IDEXX *M. bovis* Ab (detecta anticuerpos contra la proteína MPB70 y la proteína MPB83), y BIONOTE AniGen BTB Ab ELISA 2.0 (detecta anticuerpos contra la proteína MPB83). Las pruebas se llevaron a cabo en los laboratorios de SENASA Martínez.

Finalmente se observó si había o no asociación entre los resultados de las pruebas serológicas y las características macroscópicas y distribución de las lesiones.

Para el análisis estadístico se empleó un modelo logístico a través del software Infostat professional (Versión 2021) (Di Renzo, 2021), de las siguientes variables: pruebas serológicas, distribución de las lesiones y curso de la enfermedad (aguda o crónica).

Las pruebas serológicas mostraron un bajo porcentaje de resultados positivos en animales verdaderamente infectados. Para la técnica de IDEXX el 28% (n= 23) de los sueros fueron positivos y un 20% (n=17) lo fue para la técnica de BIONOTE,

indicando con ello una baja sensibilidad. Cabe resaltar que todos los animales que fueron positivos para el Kit de BIONOTE, también lo fueron para el de IDEXX.

En cuanto a la distribución de las LCT se observó que en 46 animales (55%) las lesiones afectaron a un solo sistema (respiratorio), mientras que en 37 (45%) fueron generalizadas (dos o más sistemas).

Con respecto al curso de las lesiones, 39 bovinos (47%) presentaron un curso agudo, mientras que 44 (53%) presentaron curso crónico.

En la técnica IDEXX, de los 83 bovinos, 23 resultaron positivos, encontrándose 12 con lesiones agudas y 11 con lesiones crónicas. Con la técnica BIONOTE se encontraron 17 reactores positivos, de los cuales 10 presentaron LCT de curso agudo y 7 presentaron LCT de curso crónico.

Al analizar la distribución de las lesiones se observó que, de los 23 animales positivos para IDEXX, 12 presentaban lesiones generalizadas, mientras que 11 sólo tenían afectado el sistema respiratorio. Para el kit de BIONOTE, 9 presentaban tuberculosis generalizada y 8 sólo en un único sistema.

No hubo evidencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) para afirmar que el/los sistemas afectados y/o el curso (agudo o crónico) de las lesiones, hayan influido en la probabilidad de que la técnica serológica resulte positiva para ninguno de los dos kits de ELISA.

En conclusión, las pruebas serológicas evaluadas mostraron una baja sensibilidad (menor al 30%) y, en este estudio, ni la generalización ni la cronicidad de las lesiones se asociaron de manera significativa con la probabilidad de obtener resultados serológicos positivos.

Garbaccio SG, Garro CJ, Delgado F, Tejada GA, Eirin ME, Huertas PS, Leon EA, Zumárraga MJ. 2019. Enzyme-linked immunosorbent assay as complement of intradermal skin test for the detection of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Tuberculosis*. 117: 56-61. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2019.05.006>

I-019-24. Estandarización y evaluación preliminar de un ELISA competitivo para el diagnóstico de la brucelosis en porcinos

Gutiérrez SE^{1,3}, Morán MC^{1,3}, Khun T¹, Sánchez F¹, Valentini B², Novoa B², Vanzini VR², Estein SM^{1,3}

1. Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (FCV, UNCPBA), Argentina

2. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IDICAL), EEA Rafaela INTA-CONICET, provincia de Santa Fe, Argentina

3. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) (UNCPBA, CICPBA, CONICET), Argentina

* silmares@vet.unicen.edu.ar

La brucelosis porcina es una enfermedad endémica y zoonótica cuyo agente etiológico es *Brucella suis*. Esta enfermedad limita las posibilidades económicas del sector y del comercio internacional ya que ocasiona abortos, muerte perinatal, infertilidad y lesiones osteoarticulares que impactan negativamente en la rentabilidad de las explotaciones y en la calidad de los productos y subproductos de origen animal. Además, es una zoonosis de notificación obligatoria con impacto en la Salud Pública que produce una enfermedad crónica y debilitante en las personas.

El diagnóstico de la brucelosis porcina se basa en la interpretación de los signos clínicos, en el análisis de la situación epidemiológica y en los resultados de las pruebas serológicas. Las pruebas serológicas que se emplean para el diagnóstico poblacional en el porcino incluyen las pruebas tamiz y las confirmatorias. Las primeras consisten en aglutinaciones con bacterias enteras y se denominan BPA (prueba en placa con antígeno tamponado) y RBT (prueba Rosa de Bengala). Las pruebas confirmatorias incluyen el ensayo de polarización de la luz fluorescente (FPA), la fijación de complemento (FC), y las técnicas de ELISA indirecto y competitivo (ELISAc). Es importante destacar que la mayoría de estas pruebas han sido estandarizadas inicialmente para la especie bovina, con sensibilidad y especificidad variables para la especie porcina. Las pruebas de aglutinación y FC detectan anticuerpos contra distintos componentes de la membrana externa, mientras que FPA y ELISAc sólo detectan anticuerpos dirigidos contra el polisacárido O, resultando por lo tanto más específicas.

El objetivo de este trabajo fue optimizar las condiciones de un ensayo de un ELISA competitivo para detectar anticuerpos contra el LPS de *Brucella* en muestras de suero porcino, caracterizadas de acuerdo con su reactividad en las pruebas de BPA y FPA, y según el estatus epidemiológico de la piara.

Para la estandarización del ELISA se utilizó el antígeno lipopolisacárido liso (sLPS) de *B. abortus* cepa 1119-3 y el anticuerpo monoclonal (AcM) anti-sLPS (AcM D7) producidos en la EEA Rafaela-INTA. El sLPS se adsorbió en placas de poliestireno y se siguió el procedimiento validado para la especie bovina modificando la dilución de los sueros (1:5) y del anticuerpo monoclonal (1:300). En cada placa se incluyeron los siguientes controles: blanco (sin suero, sin AcM), control de reacción (sin suero, con AcM), control positivo fuerte y débil, y control negativo.

Todas las muestras y controles se ensayaron por duplicado. Los resultados se expresaron como % de bloqueo según la siguiente fórmula: % bloqueo= 100 – (densidad óptica muestra/densidad óptica control reacción)*100.

Para realizar una evaluación preliminar, una vez obtenidas las condiciones óptimas del ensayo, se analizaron un total de 242 muestras de porcinos, incluyendo 162 muestras provenientes de 2 establecimientos con certificación negativa (con resultado negativo en BPA y FPA) y 80 muestras positivas a BPA y FPA provenientes de criaderos con antecedentes clínicos o serológicos de infección. Los resultados se analizaron mediante un ROC (*receiver operator characteristic*) utilizando el programa Epitools (<https://epitools.ausvet.com.au/roccurves>). A continuación, se analizó la reactividad en el ELISAc de un panel de sueros seleccionados (n=53) incluyendo sueros con serología (BPA, RBT y FPA) negativa de animales pertenecientes a establecimientos positivos a la infección, y sueros con resultado discrepante entre las técnicas de BPA y FPA.

Durante la etapa de optimización, se observó que el conjugado (Ac anti-ratón peroxidasa) (Jackson ImmunoResearch Inc., USA) se unía en forma inespecífica a los anticuerpos porcinos unidos al sLPS en el primer paso del ensayo, por lo cual fue necesario agregar 3% de suero porcino (negativo a brucelosis) al diluyente del conjugado para adsorber la reactividad inespecífica. El análisis ROC mostró un área bajo la curva= 0,988 (95% IC: 0,972-1). El punto de corte correspondiente a 41,6% de bloqueo, determinó una sensibilidad de 96,3% (95% IC 89,5% - 98,7%) y una especificidad de 100% (95% IC 97,7% - 100%). Treinta y siete de 38 sueros negativos en aglutinaciones rápidas (BPA y RBT) y FPA provenientes de establecimientos que tenían animales infectados fueron también negativos en ELISAc, mientras que uno de ellos fue positivo (54,45 % bloqueo). Respecto de las muestras con resultado discrepante entre las aglutinaciones y FPA, 10/13 sueros negativos en BPA/RBT pero positivos en FPA, fueron negativos en ELISAc, mientras que los 3 restantes fueron positivos. Dos muestras positivas en BPA/RBT pero negativas en FPA resultaron positivas en ELISAc (47 – 52% bloqueo).

La evaluación preliminar del ELISAc que detecta anticuerpos contra el polisacárido O de *B. abortus* evidencia una alta especificidad y sensibilidad para la detección de porcinos infectados. El análisis de muestras con resultado discrepante indicaría mayor especificidad y sensibilidad en comparación a la prueba de FPA. Esta evaluación preliminar, sumada a las propiedades de la prueba (objetividad de los resultados, automatización y capacidad de procesar gran número de muestras) y teniendo en cuenta que emplea reactivos producidos en el país, la posicionan como un excelente candidato para el diagnóstico de la brucelosis porcina a nivel individual.

Nicola AM, Elena S, Franco C. 2019. Brucelosis: Manual de Diagnóstico Serológico (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*). Versión 4.0/2019. (SENASA, ed.). SENASA. Disponible en:
https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/manual_tecnicas_serologicas-2019-v4_brucelosis.pdf [Consultado 15/06/2024]

Novoa MB, Aguirre N, Torioni de Echaide S, Valentini B, Vanzini V.2021.Desarrollo de un ELISA de inhibición competitivo para el diagnóstico de la brucelosis en bovinos, resultados preliminares. XXIII Reunión Científico Técnica de la AAVLD. Modalidad virtual, p.85.

I-020-24. Efecto de la administración simultánea de *Brucella abortus* cepa 19 y tilmicosina en terneras de tambo

Morán MC^{1,2}, Moriones L², Rodríguez M³, Gutiérrez SE², Estein SM^{1,2*}

1. Laboratorio de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (FCV, UNCPBA), Argentina
2. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) (UNCPBA, CICPBA, CONICET), Arentina
3. Área de Bioestadística (FCV, UNCPBA)

* silmares@vet.unicen.edu.ar

Brucella abortus, bacteria Gram negativa, es el principal agente causal de la brucelosis bovina. El control de esta enfermedad en Argentina se apoya en la vacunación obligatoria de las terneras entre 3 y 8 meses de edad con la vacuna *Brucella abortus* cepa 19, y en la detección y eliminación de los animales seropositivos con destino a faena. En algunos establecimientos de producción bovina, esta vacuna se aplica en forma simultánea con otras vacunas y con la administración metafiláctica de tilmicosina para la prevención de neumonías. Este antimicrobiano del grupo de los macrólidos es un derivado de la tilosina que ha sido reportado como bacteriostático/bactericida para distintos microorganismos Gram negativos y con un efecto inmunomodulador anti-inflamatorio en monocitos y macrófagos. Frecuentemente surgen preguntas de los veterinarios clínicos en referencia a la administración simultánea de este macrólido con *B. abortus* cepa 19. Dado que se ha reportado la sensibilidad de las brucelas a ciertos macrólidos, el objetivo de este trabajo fue comparar la respuesta inmunitaria humoral y celular específica de terneras de tambo vacunadas con *B. abortus* cepa 19 entre 4 y 6 meses de edad que recibieron o no la administración simultánea de una dosis tilmicosina.

El ensayo se realizó en un tambo de la localidad de Tandil, sin antecedentes de brucelosis. Se emplearon 16 terneras de la raza Holando Argentino de 4 a 6 meses de edad. Los animales se identificaron y se distribuyeron aleatoriamente en 2 grupos: G1) vacunados con *B. abortus* cepa 19 (CDVac, Brucelosis cepa 19, Laboratorio CDV) y tratados simultáneamente con tilmicosina (Tilmicosina 30%, Laboratorio OVER S.R.L), y G2) vacunados con *B. abortus* cepa 19, sin tratamiento antibiótico. La vacuna se aplicó de acuerdo con la reglamentación oficial vigente establecida por SENASA, y el antibiótico se administró en el G1 en dosis única siguiendo las instrucciones del proveedor (las aplicaciones fueron en sitios anatómicos distintos). Los días 0, 15, 30, 45, 63, 77, 84, 91, 112, 132, 164, 299 y 469 post vacunación se extrajo sangre para la obtención de suero. Los días 77, 112 y 469 se obtuvo sangre heparinizada. Los sueros fueron ensayados en la prueba cualitativa de antígeno tamponado en placa (BPA) (Laboratorio Biológico de Tandil S.R.L.) de acuerdo con el protocolo establecido por SENASA. Como indicador de respuesta celular específica se realizó un ensayo de estimulación celular sobre la sangre entera con brucelas inactivadas, y se determinó la producción de interferón gamma, de acuerdo con lo descripto previamente. La sangre entera de cada animal fue dispensada en placas de 24 pocillos por

triplicado. Para la estimulación específica se emplearon 30 μ l de una suspensión de 1×10^8 unidades formadoras de colonias de *B. abortus*/ml suspendidas en solución tamponada e inactivadas a 70°C durante 20 min (HKBA). Como control positivo se utilizó el mitógeno Pokeweed y como comparativo se dejó un pocillo sin estimular. Luego de 48 horas de incubación a 37°C en atmósfera con 5% de CO₂ se obtuvo el sobrenadante para la detección de interferón gamma por la técnica de ELISA (BOVIGAM®). Las placas se leyeron empleando un filtro de 450 nm en un lector de microplacas LabSystem Multiskan EX. Los resultados se expresaron en índice de estimulación dividiendo el valor de las densidades ópticas (DO) de la muestra estimulada y la media del valor de la DO del control sin estimular. La comparación entre G1 y G2 se realizó empleando el *test* de Chi cuadrado/Fisher cuando correspondió para determinar si las proporciones de animales seronegativos/seropositivos en los 2 grupos eran iguales en los distintos tiempos de estudio. Asimismo, para estudiar el tiempo que tardaron los animales de ambos grupos en negativizarse, se realizó un análisis de sobrevida de Kaplan-Meier. Para la variable interferón gamma se empleó ANOVA con mediciones repetidas.

Si bien dos animales del G1 se negativizaron muy tempranamente a BPA, los días 30 y 63 post-vacunación, a partir del día 77 la proporción de animales seronegativos/seropositivos en los distintos tiempos de estudio no tuvo diferencias significativas ($p=0,451679$). Tampoco difirió entre grupos el tiempo en que los animales tardaron en seronegativizarse ($p>0,05$). En referencia a los niveles de interferón gamma, no se observaron diferencias significativas entre grupos ($p>0,05$).

En conclusión, si bien el número de animales que se utilizó para este ensayo fue bajo, la administración simultánea de una única dosis de tilmicosina, empleado como preventivo, con *B. abortus* cepa 19 en terneras de tambo vacunadas en edad reglamentaria, *a priori* no ejercería un efecto bactericida/bacteriostático significativo o un efecto inmunomodulador anti-inflamatorio capaz de alterar la respuesta inmunitaria humoral o celular generada por la vacuna. En estudios a futuro se incrementará el número de animales y se evaluará la inmunidad empleando otras metodologías.

Barriónuevo P, Cassataro J, Delpino MV, Zwerdling A, Pasquevich KA, García Samartino C, Wallach JC, Fossati CA, Giambartolomei GH. 2008. *Brucella abortus* inhibits major histocompatibility complex class II expression and antigen processing through interleukin-6 secretion via Toll-like receptor 2. *Infection and Immunity*. 76(1):250-62. <https://doi.org/10.1128/iai.00949-07>

García-Rodríguez JA, Muñoz Bellido JL, Fresnadillo MJ, Trujillano I. 1993. *In vitro* activities of new macrolides and rifapentine against *Brucella* spp. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 37(4):911-3.

<https://doi.org/10.1128/aac.37.4.911>

Nicola AM, Elena S, Franco C. 2019. Brucellosis: Manual de Diagnóstico Serológico (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*). SENASA. Buenos Aires. Disponible en: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/manual_tecnicas_serologicas-2019-v4_brucellosis.pdf [Consultado 15/06/2024]

I-021-24. Tuberculosis bovina: hallazgos de lesiones compatibles en glándula mamaria de bovinos falsos negativos a la intradermorreacción

Ruiz Menna V^{1*}, Sammarruco A¹, Delgado F¹, Encinas M², Garro C¹, Eirin ME², De La Fuente I¹, Garbaccio S^{1*}

1. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), UEDD INTA-Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA)- Centro Nacional de Investigaciones Agrarias (CNIA), CONICET, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO) UEDD CICVyA, CNIA, INTA-CONICET, Argentina

* ruizmenna.vic@inta.gob.ar [garbaccio.sergio@inta.gob.ar](mailto:sergio@inta.gob.ar)

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad ocasionada principalmente por *Mycobacterium bovis*. La misma provoca un impacto sanitario y económico negativo en la producción pecuaria y en la salud pública. La principal vía de transmisión en el bovino es la aerógena seguida de la digestiva/oral, por lo tanto, el calostro y la leche pueden ser vehículo del microorganismo. Existen reportes previos que detallan la presencia de lesiones compatibles con TBB (LCTB) asociadas a mastitis y, con ello, un potencial riesgo de transmisión al hombre y terneros al consumir leche contaminada. En nuestro país, fue descripto el aislamiento de *M. bovis* a partir de muestras de leche, en un 10,7% de bovinos reactores a la intradermorreacción (IDR). Sin embargo, no hay información acerca de la presencia de LCTB en glándula mamaria de bovinos falso-negativos a la IDR, técnica oficial de diagnóstico de la TBB (Resolución SENASA 128/2012). En este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia de LCTB en glándula mamaria de bovinos falso-negativos a la prueba de la IDR.

Se seleccionaron 17 rodeos lecheros endémicos para TBB de las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos. Los bovinos incluidos en este estudio resultaron negativos a la IDR y positivos a la prueba ELISA para detección de respuesta inmune humoral. Posteriormente fueron sometidos a eutanasia seguida de necropsia, a los efectos de registrar presencia o ausencia de lesiones y recolección de muestras de glándula mamaria y linfonódulos retromamarios. Se inspeccionaron y colectaron muestras que pudieran presentar LCTB en otros órganos/tejidos. Se realizó la bacteriología, histopatología y PCR de tejido con fines confirmatorios.

Se efectuaron un total de 72 necropsias con la recolección de sus respectivas muestras de glándula mamaria, observándose en 35 (48,6%) lesiones compatibles con TBB en glándula mamaria y/o linfonódulo retromamario, confirmándose en 23 (31,9%) bovinos. En los 12 bovinos restantes no se logró la confirmación diagnóstica en glándula mamaria. Sin embargo, se confirmó la enfermedad en otros órganos (linfonódulos mediastínicos, mesentéricos, retrofaríngeos, pulmón e hígado).

La elevada proporción de bovinos con LCTB en glándula mamaria, refuerza la importancia de realizar tratamientos térmicos (pasteurización) en leche y calostro, previo a suministrarse a terneros/as durante la crianza artificial o bien utilizarse para consumo humano u otros animales alimentados con leche cruda que pueden ser eslabones intermedios en la mantención de la infección en establecimientos endémicos. Futuros estudios que contemplen el estudio de leche cruda podrán sumar información acerca de la excreción del bacilo en animales falso-negativos a la IDR.

Por lo expuesto, resulta de gran importancia continuar investigando sobre el diagnóstico en bovinos naturalmente infectados para intentar determinar qué rol cumplen la leche y el calostro en la transmisión de la enfermedad.

Garro C, Cobos Roldán M, Oriani S, Garbaccio S. 2011. Tuberculosis en terneros: resultados de un estudio prospectivo. REDVET Revista Electrónica de Veterinaria. 12(12):1-11. [En línea] Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63622039005> [Consultado 30/04/24].

I-022-24. Inmunorreactividad de sonicados bacterianos vs. extractos proteicos de *Leptospira* spp.: resultados preliminares

Esteban M^{1*}, Saraullo¹, Hamer M^{1,2}, Sánchez C¹, Samartino L³, Brihuega B^{1,3}, Martínez M^{1,3}

1. Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología- UEDD IPVET INTA CONICET, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina.

* esteban.micaela@inta.gob.ar

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica endémica en Argentina con brotes epidémicos y que causa grandes pérdidas reproductivas en ganado bovino. La detección de animales serorreactivos y su consiguiente tratamiento favorecería el control. En este trabajo, se comparó la inmunorreactividad de tres extractos proteicos con tritón X114 y tres sonicados bacterianos de *Leptospira* spp. para la utilización en inmunoensayos destinados a detectar anticuerpos específicos anti-leptospira en suero bovino. Se utilizó un cultivo de *Leptospira interrogans* (*L.i.*) serogrupo Pomona serovar Pomona cepa Pomona, uno de *L.i.* serogrupo Sejroe serovar Hardjo cepa Hardjoprajitno y uno de *L.i.* serogrupo Icterohaemorrhagiae serovar Copenhageni cepa M 20. Los cultivos fueron centrifugados, sonicados y se realizó extracción con el detergente tritón X114. Posteriormente, mediante Western blot se observó inmunorreactividad principalmente entre 25 y 30 kDa frente a sueros positivos (títulos de 1/1600) confirmados por la técnica serológica *gold standard* MAT (test de microaglutinación) tanto para sonicados bacterianos como para extractos proteicos y se los comparó con la lipoproteína LipL32 recombinante, proteína de membrana más abundante e inmunogénica conservada en leptospirosis patógenas. Por lo tanto, se puede inferir que la reacción observada coincide con la LipL32 nativa. Estos resultados sugieren que ambas preparaciones antigénicas podrían ser buenos candidatos de sensibilizantes para inmunoensayos, siendo el sonicado más conveniente por su mayor simplicidad y menor costo. El siguiente paso es ensayar estas mismas preparaciones con mayor cantidad de sueros y frente a diferentes títulos de anticuerpos.

Sathiyamoorthy A, Selvaraju G, Palanivel KM, Srinivasan P. 2017. Development of indirect enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of canine leptospirosis. Veterinary World. 10(5): 530-35.

<https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.530-535>

I-023-24. Optimización de un ELISA para el diagnóstico de leptospirosis en porcinos

Esteban M¹, Saraujo V¹, Hamer M^{1,2}, Sánchez C¹, Samartino L³, Brihuega B^{1,3}, Martínez M^{1,3}

1. Instituto de Patobiología- UEDD IPVET CONICET-INTA, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

* esteban.micaela@inta.gob.ar

La leptospirosis es una zoonosis que causa pérdidas económicas en la producción porcina argentina. El diagnóstico serológico se realiza habitualmente a través de la técnica *gold standard* MAT (test de microaglutinación). El mismo es costoso, requiere personal capacitado y ceparios de leptospiras vivas, por lo que su implementación es limitada. En este trabajo se optimizó un ELISA indirecto para detectar anticuerpos IgG buscando abordar esta problemática. Se evaluaron cuatro preparaciones antigénicas como sensibilizantes de una prueba de ELISA anti-IgG-Porcina: sonicado de *Leptospira interrogans* (*L.i.*) serogrupo Pomona serovar Pomona cepa Pomona, sonicado de *L.i.* serogrupo Sejroe serovar Hardjo cepa Hardjoprajitno, sonicado de *L.i.* serogrupo Icterohaemorrhagiae serovar Copenhageni cepa M 20 y una mezcla de los tres. La mayor diferencia entre sueros controles (positivos con título $\geq 1/100$ y negativos con título $< 1/25$, según la técnica MAT) fue obtenida con el sonicado de Hardjo. Para la optimización se evaluaron: diferentes concentraciones del agente sensibilizante (sonicado Hardjo) de 0 a 10 ng/ μ l, del anticuerpo primario (sueros controles) en diluciones de 1/100 a 1/800 y anticuerpo secundario (conjugado anti-IgG porcino) en diluciones de 1/1000 a 1/11000. Las concentraciones de los componentes del ELISA seleccionadas fueron aquellas que presentaron mayor diferencia de absorbancia entre positivos y negativos: sonicado de Hardjo 5 ng/ μ l; anticuerpo primario 1/400 y anticuerpo secundario 1/7000.

Desarrollar un kit de ELISA nacional permitiría complementar la MAT, simplificando y agilizando el diagnóstico de leptospirosis en porcinos, ya que en Argentina no se encuentran disponibles.

Martinez M, Rodriguez M, Irazu L, Romero G, Saraujo V, Watanabe O, Hamer M, Grune Loffler S, Samartino L, Brihuega B. 2021. New enzyme-linked immunoassay for the detection of specific antibodies against multiple *Leptospira* serogroups in bovine sera. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 75: 101609. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101609>

P-001-24. Tricomonosis en toros de cría: evaluación de técnicas tradicionales y moleculares

Barale J¹, Ovelar MF¹, Azaldegui I¹, Lomonaco J¹, Mendez MA¹, Garcia JA^{1*}

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

* garcia.juanagustin@inta.gob.ar

La tricomonosis bovina es una enfermedad de transmisión sexual causada por el protozoo *Tritrichomonas foetus*, causal de importantes pérdidas económicas en rodeos de carne con servicio natural. El macho es portador crónico asintomático del patógeno siendo el principal objetivo para el diagnóstico y control de la enfermedad. Por su lado, la hembra, generalmente elimina la infección después de 1 a 5 meses, y es quien presenta signos clínicos como aborto e infertilidad temporal. El objetivo de este trabajo es describir un foco de tricomonosis y la utilización de técnicas diagnósticas tradicionales y moleculares, en toros de un rodeo de cría en el partido Gral. Lavalle, provincia de Buenos Aires. En abril de 2024, se asistió a un establecimiento ganadero debido a bajos índices reproductivos (80% promedio de preñez). Se realizó la toma de muestra de esmegma prepucial mediante raspaje de 57 toros, Angus, de 4 a 5 años, para cultivo en medio diamond y posterior observación diaria por 7 días conservando a 37°C, y en PBS estéril para qPCR conservándose a -20°C hasta su procesamiento para la identificación de *T. foetus*. La extracción de ADN para qPCR se realizó mediante kit comercial Puriprep S-kit (Inbio Highway). Resultaron positivos al cultivo 13/57 (22,8%) y a la qPCR 17/57 (29,8%). Aunque la prueba de qPCR logró una mayor detección de toros portadores de *T. foetus*, la concordancia entre ambas técnicas para las 57 muestras resultó muy buena (índice kappa: 0,82; IC:0,65-0,99). La mayor tasa de detección del protozoario mediante qPCR, puede deberse a su mayor sensibilidad analítica. A su vez, la técnica de cultivo requiere que el protozoario esté viable para su observación, pudiendo verse afectada su capacidad de supervivencia y/o replicación por factores como la contaminación bacteriana o fúngica. Debe destacarse la utilización de métodos moleculares permitiendo aumentar la tasa de detección y/o confirmando cultivos positivos como herramienta complementaria.

BonDurant RH, 2005. Venereal Diseases of Cattle: Natural History, Diagnosis, and the Role of Vaccines in their Control. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 21:383-408. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2005.03.002>

Ondrak JD, Keen JE, Rupp GP, Kennedy JA, McVey DS, Baker WD. 2010. Repeated testing by use of culture and PCR assay to detect *Tritrichomonas foetus* carrier bulls in an infected Nebraska herd. Journal of the American Veterinary Medical Association. 237:1068-1073. <https://doi.org/10.2460/javma.237.9.1068>

Polo C, Garcia-Seco T, Fernandez V, Hernandez M, Briones V, Diez-Guerrier A, Dominguez L, Perez-Sancho M. 2022. Molecular detection of *Tritrichomonas foetus* in bovine samples: a novel real-time polymerase chain reaction (PCR) assay

targeting EF1-alpha-Tf1 and a comparative study of published PCR techniques.
Parasitology Research. 121:1725-1733.

<https://doi.org/10.1007/s00436-022-07487-7m>

P-002-24. Efecto antihelmíntico de taninos condensados e hidrolizables suministrados en la dieta de ovinos parasitados experimentalmente con *Haemonchus contortus*

Schapiro JH^{1,2}, Bruttomesso MF^{1,2}, Arese, RP³, Morici GE^{1,2}, Palladino PM¹, Lobayán, S², Arias RM¹, Illanes, FA⁴

¹Instituto de Patobiología (IPVET), CICVyA, INTA, Buenos Aires, Argentina

²Instituto de Investigación en Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, USAL, Buenos Aires, Argentina

³Instituto Tecnológico de Chascomús (CONICET-UNSAM), Buenos Aires, Argentina

⁴Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias (CEDIVE), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.

* schapiro.javier@inta.gob.ar

La parasitosis ocasionada por nematodos gastrointestinales es una de las principales enfermedades que afectan a la producción ovina en todo el mundo, siendo *Haemonchus contortus* el nematodo más patógeno debido a su elevada prolificidad y patogenicidad. Durante décadas, el control se basó casi exclusivamente en el uso intensivo e indiscriminado de antiparasitarios de síntesis, sin considerar criterios epidemiológicos de la enfermedad, lo que contribuyó a la selección de parásitos resistentes. Este fenómeno se encuentra ampliamente distribuido a nivel global, por lo que surge la necesidad de contar con un plan estratégico e integral que involucre medidas adicionales, no químicas, de control. En este sentido, en los últimos años aumentó el interés por la fitomedicina, es decir el empleo de plantas que poseen metabolitos secundarios con propiedades antihelmínticas, siendo los taninos uno de los compuestos más estudiados. El objetivo de este trabajo fue evaluar, mediante un ensayo *in vivo*, el efecto antihelmíntico de un extracto comercial de taninos sobre una cepa de *H. contortus*, y observar los posibles daños estructurales mediante microscopía electrónica (ME) de barrido. El ensayo se realizó en un establecimiento ganadero ubicado en la localidad de Magdalena (Buenos Aires) durante los meses de marzo a julio de 2022. Se utilizó el extracto comercial de taninos Silvafeed Bypro® compuesto por 72% de taninos condensados del quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*) y 28% de taninos hidrolizables del castaño (*Castanea sativa*). Se utilizaron 18 corderos de 6 meses de edad los cuales se desparasitaron con una dosis oral de Naftalofos® y se dividieron en tres grupos homogéneos según su peso corporal. Todos los animales fueron alimentados con pellets de alfalfa. Siete días previos a la inoculación experimental, los grupos 2 y 3 comenzaron a recibir taninos en la dieta durante 10 días: el grupo 2 al 0,3% de la ingesta estimada en materia seca (MS) y el grupo 3 al 3% de la ingesta estimada en MS. El grupo 1 (control) recibió sólo el alimento sin agregado de tanino. En el día 0 de la experiencia se trajeron muestras individuales de materia fecal y se realizó el recuento de huevos por gramo de materia fecal (HPG) para constatar que todos los animales fueran negativos. Luego, se inocularon vía oral a todos los animales con 5000 larvas infectivas (L_3) de una cepa pura de *H. contortus* sensible a

benzimidazoles y levamisol. A partir del día 16 post inoculación (PI) y hasta la finalización del ensayo se tomaron muestras individuales de materia fecal del recto tres veces por semana para realizar la técnica de HPG y coprocultivo (técnica de Corticelli-Lai) en los tres grupos experimentales. El día 35 se efectuó la necropsia parasitaria de los 18 animales. Se sacrificaron de acuerdo con los procedimientos establecidos por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de La Plata. Se realizó la sedación con un tranquilizante (xilacina) vía intramuscular y posteriormente se administró un barbitúrico (tiopental sódico) vía endovenosa en efecto bolo. El análisis estadístico utilizado fue un ANOVA con el software InfoStat®. Las medias del HPG se compararon mediante la prueba de Kruskal Wallis, mientras que las medias del conteo de L_3 recuperadas del coprocultivo y de los adultos obtenidos de las necropsias se compararon mediante el test de Tukey. Para evaluar los daños ocasionados por los taninos, se recuperaron los ejemplares adultos de los 18 abomasos, se lavaron con una solución tamponada con fosfato salino y se fijaron en glutaraldehído 2%. Luego, se deshidrataron en alcohol absoluto (30, 50, 70, 96 y 100%) y finalmente se observaron con ME. Durante todo el ensayo, los 18 animales consumieron la totalidad del alimento suministrado diariamente. La consistencia de la materia fecal, la hidratación y la condición corporal se mantuvieron en condiciones normales. Se observó que a partir del día 21 PI se produjo un aumento en los valores de HPG, pero con cierta variabilidad en los diferentes días de muestreo para los tres grupos experimentales, sin demostrar diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p < 0,05$). En las muestras del día 35 PI se observó que el HPG promedio del grupo 2 se redujo 49% mientras que el del grupo 3 se redujo 76% en comparación al grupo 1. Aquí se observó una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y el grupo 3. En cuanto a la recuperación de L_3 del coprocultivo y de adultos de la necropsia, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos experimentales ($p < 0,05$). En las imágenes de ME de los ejemplares adultos se observó que ambos grupos tratados presentaron daños asociados a la cutícula. Los adultos expuestos a 0,3% de taninos presentaron ruptura en la región cefálica y media del cuerpo, las estrías longitudinales adoptaron un aspecto irregular y se visualizó adhesión de taninos sobre la cutícula. Los adultos expuestos a una concentración de 3% de taninos presentaron cambios estructurales relacionados con la cutícula, cavidad bucal y órganos reproductores. Se observó depósito de taninos sobre la lanceta de la cavidad bucal, en el poro excretor y hubo irregularidades en la cutícula a lo largo del cuerpo. Asimismo, en algunos ejemplares hembras se observó que los taninos envolvían completamente el flap vulvar. En los adultos pertenecientes al grupo control no se observaron ninguno de los daños descriptos. En función de los resultados obtenidos podemos concluir que a partir del día 35 PI, con ambas concentraciones de taninos se observó un efecto significativo en la reducción del HPG, que podría estar relacionado al efecto directo de los taninos sobre los estadios adultos produciendo una alteración del proceso reproductivo. Los daños observados en ME podrían contribuir a esta aseveración. A pesar del efecto evidenciado en el HPG, la falta de eficacia en la

recuperación de L₃ podría deberse a la ausencia de taninos en materia fecal lo cual podríamos atribuirlo al diseño experimental utilizado. Además, la falta de eficacia en la carga parasitaria podría deberse al período acotado de administración de taninos en la dieta, acompañado de una única infección experimental de 5000 L₃. El suministro de taninos en concentraciones bajas a moderadas podría contribuir a disminuir la frecuencia de desparasitaciones con fármacos comerciales con la consecuente reducción en la presión de selección para la resistencia.

AVMA Panel on Euthanasia 2001. Report of the AVMA Panel on Euthanasia. Journal of the American Veterinary Medical Association. 218: 669-696.
<https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.669m>

P-003-24. Rangeliosis canina en Paraná, Entre Ríos (Argentina): a propósito de un caso

Paz E¹, Borrás PJ^{2*}, Vázquez MV^{3,4}, Eiras DF^{3,4}.

1. Laboratorio Paz Diagnósticos Veterinarios, Paraná, provincia de Entre Ríos, Argentina

2. Unidad de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Clínica Veterinaria Wellvet, Unidad Académica – UMAI, Buenos Aires, Argentina

3. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

4. Laboratorio DIAP (Diagnóstico en Animales Pequeños), provincia de Buenos Aires, Argentina

* pablojesusborras@gmail.com

La rangeliosis canina es una enfermedad transmitida por la garrapata *Amblyomma aureolatum* que afecta a perros del cono sur de América y producida por el piroplasma *Rangelia vitalii*. Los signos clínicos incluyen sangrado profuso, especialmente en el borde de las orejas. Para la confirmación se requiere de técnicas moleculares que permitan la diferenciación entre piroplasmas. El objetivo del presente trabajo fue reportar la presencia de rangeliosis canina en Paraná, Entre Ríos.

Se presentó a consulta un canino, macho, Labrador, de 7 años, con un síndrome febril asociado a petequias en la zona abdominal y epistaxis. En los extendidos de sangre se observaron estructuras intraeritrocitarias e intraleucocitarias compatibles con merozoitos de piroplasmas. Se realizó nested-PCR y se obtuvo un fragmento de aprox. 800 pares de bases. La secuencia obtenida de este fragmento tuvo un 100% de identidad para *R. vitalii* al compararla con secuencias del GenBank mediante BLAST (KX816959 y otras). El patrón de corte mediante RFLP (técnica poco difundida en nuestro medio, pero útil para la diferenciación rápida y económica de especies de piroplasmas), coincidió con las descripciones para la misma especie. El paciente respondió al tratamiento de dos dosis de imidocarb (IMIDOVER ©) con un intervalo de 15 días (6mg/kg intramuscular).

Este es el primer reporte de *R. vitalii* en perros de la ciudad de Paraná. Esta enfermedad debe ser incluida en el diagnóstico diferencial en perros provenientes de zonas endémicas. El diagnóstico molecular es fundamental para la confirmación de la especie de piroplasma involucrada en el proceso.

Baneth G. 2018. Antiprotozoal treatment of canine babesiosis. Veterinary Parasitology. 254:58-63.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.03.00>

Borrás P, Salvador F, Rinaldi V, Armitano R, Farber M, Sanchez R, Mori L, Guillemi E, 2020. Use of molecular tools for the diagnosis of rangeliosis by *Rangelia vitalii* in Argentina: a case report. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports. 21:100426.

<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100426>

P-004-24. Correlación entre las lesiones pancreáticas, la presencia de huevos en materia fecal (HPG) y la cantidad de parásitos en páncreas de bovinos infestados naturalmente por *Eurytrema coelomaticum*

Pantiu AJ^{1*}, Avellaneda-Cáceres A^{2,3,4}, Olmos LH², Ruiz AF², Waidelich M⁶, Micheloud JF^{2,3,5}.

1. EEA Montecarlo, INTA, provincia de Misiones, Argentina
2. Área de Salud Animal, Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido (IIACS) Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), INTA Salta, Argentina.
3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Buenos Aires, Argentina
4. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta (UNSA) provincia de Salta, Argentina
5. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta (UCASAL) provincia de Salta, Argentina
6. Profesional actividad privada. Montecarlo (N3384), provincia de Misiones, Argentina

* pantiu.andrea@inta.gob.ar

La euritrematosis es una enfermedad emergente en Argentina y recientes trabajos señalan elevada prevalencia en la región centro norte de la provincia de Misiones. Si bien esta enfermedad se ha descripto en otras partes del mundo, son escasos los antecedentes sobre su ciclo biológico, diagnóstico y tratamiento. El objetivo del trabajo fue evaluar la correlación entre la cantidad de parásitos presentes en el páncreas, el recuento de huevos en materia fecal (HPG) y el grado de lesión histopatológica en bovinos naturalmente infectados con *Eurytrema coelomaticum*. Se analizaron 60 muestras de materia fecal y páncreas de bovinos procedentes de un establecimiento donde la enfermedad era endémica. Las muestras fueron colectadas durante la faena donde se realizó el conteo de la cantidad de parásitos adultos presentes en 50 g de páncreas (Nº trematodos/50 g páncreas) de cada animal y se colectaron muestras en formol bufferado al 10% de la sección media del órgano para su evaluación histopatológica y se tomaron muestras de materia fecal para estudio coproparasitológico. Se consideraron tres grados predefinidos de lesiones para la caracterización histopatológica. Se tipificaron como grado 1 (leve) a aquellas muestras pancreáticas con infiltración linfoplasmocítica periductal leve e hiperplasia de los conductos pancreáticos con fibrosis moderada; grado 2 (moderado) a aquellas que presentaron severa proliferación de conjuntiva con obstrucción y ruptura de algunos ductos, fibrosis peri-ductal e inflamación linfoplasmocítica moderada focal y grado 3 (grave) a aquellas lesiones infiltrativas linfoplasmocíticas intersticiales multifocales o difusas con obstrucción y ruptura de ductos, fibrosis severa periductal con áreas de calcificación. La asociación entre las variables cantidad de parásitos en 50 gramos de páncreas, patrones histopatológicos y HPG se analizó mediante modelos lineales generales mixtos utilizando el software estadístico Infostat. Todos los animales bajo estudio presentaron lesiones compatibles con la infección por *Eurytrema spp*, caracterizados por una pancreatitis intersticial no supurativa periductal fibrosante

de severidad variable. La cantidad de trematodos adultos recuperados cada 50 g de tejido pancreático promedio fue de $126,6 \pm 134,4$. Al correlacionar los grados histopatológicos con cantidad de parásitos adultos presentes en 50 g de órgano se observaron diferencias significativas ($p=0,0134$) entre los animales que presentaban lesiones histopatológicas de grado 2 ($192,4 \pm 17$) con respecto a los páncreas que presentaron lesión histopatológicas grado 1 ($122,7 \pm 30,2$) y 3 ($124,9 \pm 31$). Es decir que aquellos animales que presentaron lesiones pancreáticas moderadas presentaban un mayor número de parásitos en este órgano. Con respecto a los niveles de HPG y cantidad de parásitos adultos presentes en 50 g de órgano también se observaron diferencias significativas ($p < 0,013$), dando como resultado que el HPG fue más alto en aquellos páncreas con un mayor número de parásitos adultos (296 ± 95) y viceversa (167 ± 66). Teniendo en cuenta estos resultados se puede concluir que los páncreas con lesiones grado 1 o 3, presentan menores cargas de parásitos adultos y menores niveles de HPG. Esto es esperable, ya que las lesiones grado 1 sugieren infecciones recientes con escasa presencia de parásitos adultos. Por otro lado, los páncreas grados 3 corresponden a lesiones crónicas y severas con intensa fibrosis donde ya la cantidad de parásitos adultos seguramente ha descendido. De este modo ambos estadios pueden ser un desafío para el diagnóstico coprológico debido a que en estas circunstancias la cantidad de huevos es menor.

Olmos LH, Pantiu AJ, Avellaneda Cáceres A, Valencia PN, Cayo PN, Signorini M, Micheloud JF. 2022. Comparison of two coprological methods for the diagnosis of *Eurytrema* ssp. in cattle and sheep. Journal of Helminthology. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022149X22000414>

P-005-24 Una estrategia multimetodológica para el diagnóstico preciso de la leishmaniosis canina

Pereyra R¹, *Nevot MC², Uncos R¹, Nina L¹, Barroso P¹, Bono C³, Estévez JO², Marco JD¹

1. Instituto de Patología Experimental Salta CONICET, provincia de Salta, Argentina

2. Veterinaria del Oeste., Posadas, provincia de Misiones, Argentina

3. Microbiología, Hospital Perón, Tartagal, provincia de Salta, Argentina

* cecilianeivot@yahoo.com.ar

Las leishmaniosis son enfermedades desatendidas causadas por protozoarios flagelados del género *Leishmania*. La forma visceral, la más grave, afecta a humanos, animales silvestres y domésticos y presenta una distribución global. En América es causada por *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* (L. (*L.*) *infantum*), siendo el perro su principal reservorio, tanto en áreas urbanas como periurbanas. La leishmaniosis canina (Lcan) es crónica, con signos y síntomas no patognomónicos, pueden coexistir comorbilidades o casos asintomáticos, por lo que se requieren pruebas de laboratorio precisas para su correcto diagnóstico. En este trabajo desarrollamos y validamos un conjunto de métodos de laboratorio, con el objetivo de maximizar la eficacia diagnóstica de Lcan en las zonas endémicas de Argentina. Entre junio de 2019 y agosto de 2023, se tomó sangre entera a 239 perros con sospecha clínico-epidemiológica de Lcan en la provincia de Salta. Se aplicaron en simultáneo tres métodos serológicos, un enzimoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) recombinante- antígeno rK39 (r-ELISA), otro con lisado de promastigotes de *L. (L.) infantum* (l-ELISA), una inmunocromatografía – antígeno rK39 comercialmente disponible (r-Icrom); y una reacción en cadena de polimerasa (PCR) dúplex para detección de ADN quinetoplastídico de *Leishmania* spp. (k-PCR) en capa de glóbulos blancos. Mediante el software Epidat 3.1, se estimaron sensibilidad (SE), especificidad (ES) y valores predictivos positivo y negativo (VPP y VPN, respectivamente), con un intervalo de confianza del 95% para cada método. Mediante un criterio diagnóstico basado en la clínica y datos de laboratorio combinados, 141 se diagnosticaron como leishmaniósicos, 91 como no leishmaniósicos y 7 indeterminados (2,9%). Los valores de SE, ES, VPP y VPN para r-ELISA alcanzaron 96,9, 97,8, 98,6 y 98,9%; para l-ELISA 96,5, 97,8, 98,6 y 94,7%; para r-Icrom 95,1, 97,7, 98,5, 92,5%; y para k-PCR 89,5, 91,2, 94,1 y 84,7%, respectivamente. En el 82,9% de los casos concordaron los cuatro métodos. En 10 casos no concordaron los resultados de los ELISA, el diagnóstico se resolvió con k-PCR o con r-Icrom. Se define una estrategia diagnóstica de máxima eficacia: dado que los ELISA presentaron los mayores valores predictivos, se pueden aplicar en simultáneo y definir el diagnóstico con los otros métodos en una segunda etapa, sólo en caso de discordancia. Esta estrategia validada no sólo puede aplicarse al diagnóstico cotidiano de Lcan, sino también a estudios de foco o tamizaje, traslado de animales, o para la detección de Lcan asintomática, generando, por lo tanto, un impacto favorable en el manejo de esta zoonosis, en la que el perro actúa como un reservorio primario.

Dantas-Torres F. 2024. Canine leishmaniasis in the Americas: etiology, distribution, and clinical and zoonotic importance. *Parasites and Vectors*. 17(1):1–10. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06282-w>

P-006-24. Antígeno de superficie de merozoito-2c de *Babesia bovis* como blanco para el diagnóstico serológico

Madero A^{1,2}, Daza Millone A^{2,3}, Rodriguez JA⁴, Barredo-Vacchelli GR⁴, Primo E^{3,5}, Schnittger L^{1,3}, Vericat C^{2,3}, Camperi SA^{3,4}, Florin-Christensen M^{1,3}, Huergo MA^{2,3}, Ganzinelli S^{1,3*}

1. Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, INTA-CONICET, provincia de Buenos Aires, Argentina
2. Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas, UNLP-CONICET, La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina
3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)
4. Instituto de Nanobiotecnología y Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
5. Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IDICaL), CONICET- INTA EEA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

* ganzinelli.sabrina@inta.gob.ar

Babesia bovis, uno de los agentes etiológicos del síndrome, conocido a campo, como tristeza bovina es un protozoo transmitido por la garrapata común del ganado, *Rhipicephalus microplus*, que genera pérdidas económicas significativas. Actualmente, el método de diagnóstico serológico *goldstandard* se basa en las técnicas de inmunofluorescencia y ELISA indirecto producidas a partir de cultivos del propio parásito. Estos métodos resultan complejos, implican un elevado costo de producción y presentan reacciones cruzadas con otros patógenos. En este sentido, se propone el desarrollo de un nuevo método de diagnóstico serológico colorimétrico de bajo costo, empleando herramientas de nanotecnología. Con este fin, se utilizaron herramientas bioinformáticas para predecir posibles epitopes B de proteínas inmunodominantes y conservados entre aislamientos de *B. bovis*. Se seleccionaron 2 candidatos presentes en el antígeno de superficie de merozoitos 2c(MSA-2c) conservados a nivel mundial. Estos fueron sintetizados mediante la técnica de síntesis en fase sólida, y mostraron ser reconocidos por anticuerpos presentes en el suero de bovinos infectados experimentalmente. La determinación se realizó mediante la técnica de resonancia de plasmones superficiales que estudia la interacción de moléculas en superficie, revelando la unión específica entre antígeno y anticuerpo. Estos resultados preliminares, muestran que los péptidos diseñados a partir de predicciones de epitopes B de la proteína MSA-2c son candidatos promisorios para el desarrollo de nuevos *tests* serológicos de *B. bovis*.

Chain CY, Pires Souto DE, Sbaraglini ML, Labriola CA, Daza Millone MA, Ramirez EA, Cisneros JS, Lopez-Albizu C, Scollo K, Kubota LT, Ruiz AM, Vela ME. 2019. *Trypanosoma cruzi* virulence factors for the diagnosis of Chagas' disease. American Chemical Society of Infectious Diseases. 5(11):1813-19.

<https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.9b00269>

Dominguez M, Echaide I, Echaide ST, Mosqueda J, Cetrá B, Suarez CE, Florin-Christensen M. 2010. *In silico* predicted conserved B-cell epitopes in the merozoite

surface antigen-2 family of *B. bovis* are neutralization sensitive. Veterinary Parasitology. 167(2-4):216-6. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.023>

P-007-24. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en un rodeo de cría de la zona norte de la Provincia de La Pampa y su asociación con pérdidas reproductivas

Portu AI¹, Portu CA(h)², Cavagión LJ², Schenheiter AB^{1,3}, Portu CA², Oriani DS³.

1. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa, General Pico, provincia de La Pampa, Argentina

2. Establecimiento productivo “La Laura”, General Pico, provincia de La Pampa, Argentina

3. Laboratorio Veterinario Oriani, General Pico, provincia de La Pampa, Argentina

* aportu@vet.unlpam.edu.ar

Neospora caninum es un parásito protozoario que realiza el ciclo completo en los cánidos y puede infectar como hospedadores intermediarios a numerosas especies animales, incluidos los bovinos, en los que provoca pérdidas reproductivas. En Argentina se han comunicado valores de seroprevalencia de entre el 20 y 60% en rodeos lecheros y de carne en los últimos 25 años (Campero *et al*, 2021). Ante la presencia de anticuerpos anti *Neospora caninum* en un rodeo, se recomienda apartar a las hembras seropositivas, aunque en tropas cuya seroprevalencia es alta este manejo implicaría un elevado número de animales descartados para reposición. En un establecimiento de cría de bovinos para carne de la provincia de La Pampa donde se realiza servicio natural se detectó una disminución en la tasa de destete progresivamente: los porcentajes de terneros destetados sobre vacas en servicio fueron del 91,2% en 2019, 87,6% en 2020 y 86,7% en 2021. Para investigar a *N. caninum* como causa de esta situación se decidió realizar un ensayo con el objetivo de describir la seroprevalencia de *Neospora caninum* en un rodeo de bovinos de cría y asociarla a las pérdidas reproductivas observadas. Para ello, en septiembre de 2022 se realizó un sangrado previo al primer servicio de una tropa de vaquillonas identificadas con caravanas electrónicas para la detección de anticuerpos específicos anti *Neospora caninum* por la metodología ELISA indirecto comercial (HIPRA Civitest bovis). Se seleccionaron muestras con resultados positivos altos y se realizó la prueba de avidez de los anticuerpos para asociarlo al origen de la transmisión del parásito entre los animales. Luego de realizar el tacto en marzo de 2023 y apartar las vaquillonas vacías, se dividió a la tropa de vaquillonas preñadas en vaquillonas seropositivas (VQP) y seronegativas (VQN) y se registraron las pérdidas reproductivas de cada grupo. A su vez, a los cuatro meses del nacimiento de las crías, se sangraron las terneras de ambas tropas para evaluar la presencia de anticuerpos anti *Neospora caninum* en estas. Todas las determinaciones de anticuerpos se realizaron con el mismo lote de reactivos. De un total de 230 vaquillonas iniciales, se obtuvieron 111 muestras con resultados positivos (48,3%) entre las que 35 (15% del total) correspondieron a valores positivos altos, de las cuales se seleccionaron 20 para realizar la prueba de avidez. En 16/20 de las muestras seleccionadas se obtuvieron valores de avidez altos y en las restantes fueron intermedios. Luego del tacto, se eliminaron las vaquillonas vacías (23/230) del rodeo y se dividió la tropa en dos: 119 vaquillonas seronegativas (VQN) y 111 vaquillonas seropositivas (VQP) al primer sangrado pre

servicio. En ambas tropas se perdieron animales por muerte no relacionada a la preñez posteriores al tacto inicial dando un total final de 118 vaquillonas en la tropa seronegativa (una muerte) y 108 en la tropa seropositiva (tres muertes). El porcentaje de preñez en VQP fue de 86,5% (96/111) mientras que en VQN fue de 93,3% (111/119). De la tropa VQP se destetaron 89 terneros (41 machos y 48 hembras) con un porcentaje de destete sobre preñez de 95,7% (89/93, se descuentan las tres que murieron), mientras que en la tropa VQN nacieron 100 terneros (42 machos y 58 hembras) con un porcentaje de destete sobre preñez de 90,9% (100/110, se descuenta la que murió). Teniendo en cuenta el destete sobre servicio, los resultados fueron de 82,2% (89/111) para la tropa VQP y de 84,0% (100/119) para la tropa VQN. La probabilidad de pérdida de preñez ante la presencia de anticuerpos fue significativa (OR: 2,17 (IC 90: 1,02, 4,62) pero no entre pérdida de destete sobre servicio y presencia de anticuerpos (OR: 1,43 (IC 90: 0,81 , 2,52)). En noviembre de 2023, a los cuatro meses de edad se sangraron a las hembras hijas de cada tropa, obteniéndose un 16,7% (8/48) de prevalencia de anticuerpos en las hijas de la tropa VQP y un 6,7% (4/58) en las hijas de la tropa VQN (OR 2,7 IC 90 0,93, 7,83). Seis meses más tarde, en mayo de 2024, se volvieron a sangrar las mismas terneras y los resultados de seroprevalencia fueron similares a los anteriores: se obtuvo una prevalencia de anticuerpos de 5,2% en la tropa de terneras hijas de VQN y un 15,2% en la tropa de hijas de VQP. Es importante destacar que al momento del tacto se repitió el sangrado en las vaquillonas y en la tropa catalogada como VQN hubo 4 animales en los que se demostró seroconversión. Sin embargo, esas vaquillonas quedaron en la tropa VQN ya que la división se realizó sobre la base del primer sangrado preservicio. En este reporte se describe una prevalencia de anticuerpos anti *Neospora caninum* en el rodeo similar a otras zonas productivas en Argentina. La alta e intermedia avidez de los anticuerpos en las muestras estudiadas sugiere una transmisión principalmente vertical, al igual que la estabilidad en los porcentajes de seroprevalencia del rodeo de hijas de seropositivas y seronegativas. La seropositividad en las vaquillonas vacías fue significativamente mayor a la de las preñadas, si bien un número mayor de pérdidas de preñez sería necesario para confirmar este resultado. Al finalizar la preñez se evaluó la correlación entre la presencia de anticuerpos previo al servicio con la presencia de anticuerpos en terneras y el porcentaje de destete sobre preñez. No se obtuvo asociación significativa entre disminución del número de terneros destetados ni en la presencia de anticuerpos en las terneras en cada grupo. Estos resultados se deben, probablemente, al bajo número de pérdidas reproductivas totales en ambas tropas. Es necesario realizar estudios de diagnóstico directo en los fetos abortados para determinar el rol del parásito en las pérdidas reproductivas en rodeos de cría.

Campero LM., Moore DP., Echaide IE, Campero CM, Venturini MC. 2021. Neosporosis bovina en Argentina: a 25 años del primer reporte en el país. *Analecta Veterinaria*, 41(1):056. <https://doi.org/10.24215/15142590e056>

P-008-24. Filariasis canina en el Área Metropolitana de Buenos Aires: ¿*Dirofilaria immitis* o *Acanthocheilonema reconditum*?

Vázquez MV^{1,2}, Eiras DF^{1,2*}, Castillo FD³, Gómez FE^{4,5}, Vezzani D⁶

1. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), La Plata, Argentina

2. Laboratorio DIAP, Banfield, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Clínica Veterinaria Rafael Calzada, provincia de Buenos Aires, Argentina

4. Cátedra Métodos Complementarios de Diagnóstico, FCV-UNLP, La Plata, Argentina

5. Hospital Veterinario Adrogué, Burzaco, provincia de Buenos Aires, Argentina.

6. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto Multidisciplinario sobre Ecosistemas y Desarrollo Sustentable, Facultad de Ciencias Exactas, UNCPBA-CIC, provincia de Buenos Aires, Argentina

* bpleiras@gmail.com

La filariasis canina es una enfermedad parasitaria causada por nematodos filáridos de distintas especies que afectan principalmente a los perros y secundariamente otros mamíferos, incluido el hombre. En el sur del área metropolitana de Buenos Aires (AMBA) *Dirofilaria immitis* era la especie predominante hasta hace algunos años, con hallazgos esporádicos de otro filárido (i.e. *Acanthocheilonema reconditum*) en zonas alejadas del conurbano bonaerense. Esta situación se fue modificando a partir de 2020, cuando detectamos pacientes microfilarémicos con resultados negativos a la prueba de antígeno para *D. immitis* por inmunocromatografía. Este hallazgo ya había sido descripto y se presentaba en alrededor del 20% de los perros infectados con *D. immitis* debido a la unión del antígeno circulante con anticuerpos producidos por el paciente. Usualmente, estos casos se resuelven mediante la detección del antígeno previo calentamiento del suero inhibiendo el bloqueo y liberando el antígeno termorresistente. Sin embargo, los nuevos pacientes microfilarémicos continuaban negativos a pesar del calentamiento y consideramos la posibilidad de que otra especie de filárido esté circulando en los perros de la zona. El objetivo del presente trabajo fue estudiar y describir la presencia de *A. reconditum* en perros del sur del AMBA.

Durante los años 2020 y 2021, se reunieron casos similares de 13 caninos provenientes de distintas localidades del sur del AMBA. Todos tenían microfilarias detectables en el microhematocrito o por la técnica de Knott modificada y test de antígeno negativo para *D. immitis*. La ecocardiografía Doppler, radiografía torácica y electrocardiograma de algunos de estos pacientes tuvieron resultados normales. Para la evaluación morfológica se observaron al microscopio las microfilarias obtenidas de la prueba de Knott modificada registrando largo, ancho y forma del extremo anterior y posterior. La coloración de azul brillante de cresil (ABC) se empleó para ver con más detalle la presencia del gancho cefálico característico de las microfilarias de *A. reconditum*. Además, se realizaron pruebas moleculares de PCR convencional en los 13 casos y secuenciación del producto de PCR purificado de 5 perros. Para la PCR, se utilizaron *primers* genéricos que amplifican la región 5.8S-ITS2-28S del ADN ribosomal de nematodos filáridos.

Las microfilarias observadas midieron entre 260 y 300 μ de largo y entre 5 y 7 μ de ancho. El gancho cefálico de *A. reconditum* pudo observarse en algunos ejemplares coloreados con ABC. La PCR utilizada permitió la diferenciación de acuerdo con la altura de la banda de ADN amplificada y revelada en gel de agarosa al 1,5%. En los 13 casos se obtuvieron bandas de la altura esperada para *A. reconditum* (578 pares de bases) y se diferenciaron de la banda de *D. immitis* (542 pares de bases) empleando marcadores de peso molecular y controles de secuencias conocidas. El consenso de las 5 secuencias obtenidas tuvo un 100% de identidad con *A. reconditum* cuando se lo comparó con otras secuencias reportadas en el GenBank. Desde el punto de vista clínico, resulta relevante la identificación de la especie cuando se observan microfilarias circulantes teniendo en cuenta la gran diferencia de patogenicidad entre *D. immitis* y *A. reconditum*. Esta última es mucho menos patógena que la primera, los adultos parasitan el tejido subcutáneo y las lesiones son infrecuentes. La respuesta al tratamiento también difiere entre ambas especies siendo *A. reconditum* muchas veces resistente a ivermectina y otras lactonas macrocíclicas. La simple observación morfológica de las microfilarias obtenidas en el Test de Knott modificado no permite diferenciar con precisión la especie de filárido implicada, las medidas se solapan entre especies haciendo difícil una identificación confiable. La forma del extremo anterior y posterior es más subjetiva y puede variar entre las microfilarias observadas en una misma muestra. La observación del gancho cefálico es dificultosa y requiere de la experiencia del observador. El resultado negativo a la prueba de antígeno no permite descartar *D. immitis* y pueden presentarse casos donde las técnicas moleculares resultan positivas a esta especie en ausencia de antígeno detectable. La PCR empleada es relativamente simple, permite la diferenciación entre ambas especies y complementa las demás pruebas diagnósticas, aunque no es recomendable como herramienta única y corresponde reunir los resultados de las distintas técnicas para un diagnóstico completo.

Si bien la literatura recomienda ivermectina para el tratamiento de las infecciones por *A. reconditum*, existen reportes y experiencias de resistencia a dicha droga. Puede emplearse milbemicina oxima, aunque la administración es prolongada y el costo elevado. Uno de los autores (CFD) obtuvo buenos resultados con levamisol a 10 mg/kg cada 12 h por 2 semanas en pacientes con *A. reconditum*. Los mismos resultaron negativos a microfilarias en todos los controles posteriores al tratamiento. Se necesitan estudios adicionales para evaluar la eficacia del levamisol en perros infectados con *A. reconditum*. En la prevención de la filariasis canina es muy importante el control de los vectores involucrados, para el caso de *D. immitis* los mosquitos (principalmente *Culex* y *Aedes*) mientras que para *A. reconditum* las pulgas (*Ctenocephalides* spp.), los piojos (*Linognathus setosus* y *Heterodoxus spiniger*) y, potencialmente, la garrapata común del perro (*Rhipicephalus sanguineus*).

Brianti E, Gaglio G, Napoli E, Giannetto S, Dantas-Torres F, Bain O, Otranto D. 2012. New insights into the ecology and biology of *Acanthocheilonema reconditum*

(Grassi, 1889) causing canine subcutaneous filariasis. *Parasitology*. 139(4):530-6.
<https://doi.org/10.1017/S0031182011002198>

Esteban-Mendoza MV, Arcila-Quiceno VH, Ríos Chacón C, Jaimes Dueñez JE, Tique Oviedo M, Díaz Bustos A, Castellanos MF, Morchón R. 2024. Microfilaremic infection in canine filariasis in Colombia: a challenge in morphological and molecular diagnostics. *Frontiers in Veterinary Science*. 11:1368307.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1368307>

P-009-24. Epidemiología de la euritrematosis bovina en el centro y norte de la provincia de Misiones

Pantiu AJ^{1*}, Bischoff R¹, Avellaneda-Cáceres A^{2,3,4}, Olmos LH², Signorini M⁵, Waidelich M⁶, Micheloud JF^{2,3,7}.

1. EEA-Montecarlo INTA. Montecarlo, provincia de Misiones, Argentina
2. Área de Salud Animal, Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido (IIACS) Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), INTA Salta, Argentina
3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina
4. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta (UNSA). Salta, Argentina
5. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (CONICET-INTA). Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina
6. Profesional actividad privada. Montecarlo (N3384), provincia de Misiones, Argentina
7. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta (UCASAL). Salta, Argentina

* pantiu.andrea@inta.gob.ar

La euritrematosis es una enfermedad parasitaria causada por *Eurytrema* spp., en la cual el ganado bovino infestado generalmente cursa la enfermedad de forma subclínica y el diagnóstico se determina durante la inspección postmortem en la faena. En casos más severos produce una pancreatitis intersticial crónica con obstrucción de los conductos pancreáticos. Esta enfermedad ha sido descripta inicialmente en el continente asiático; sin embargo, hace un par de décadas fue descrita como un problema emergente en algunas zonas de Brasil. En Argentina la información es limitada y el primer hallazgo data del año 1996. Posteriormente, se registró un caso aislado en un toro en el Noroeste de Misiones. Pese a que estos informes mencionaban casos únicos, estudios recientes sugieren que la enfermedad tiene un impacto mayor al esperado en ciertas zonas de la provincia de Misiones. El objetivo del trabajo fue evaluar la prevalencia de la euritrematosis bovina en esta provincia. El estudio se realizó durante junio de 2018 a mayo de 2021, en el cual se efectuaron visitas a diferentes establecimientos ganaderos en varias localidades de la región centro norte de la provincia de Misiones (El Alcázar, Caraguatay, Montecarlo, Puerto Esperanza, Colonia Delicia, Capioví, Ruiz de Montoya, Puerto Rico, Garuapemí, Aristóbulo del Valle, San Vicente, 9 de Julio, Santiago de Liniers y Comandante Andresito). De cada establecimiento se recogieron entre 20 a 30 muestras de materia fecal (MF), consignándose, además, la edad y sexo de cada individuo. De estas muestras se realizó el análisis coproparasitológico, en el cual los resultados se definieron como positivos y negativos. Los resultados se evaluaron mediante estadística descriptiva, calculando proporciones y el error de muestreo. Se evaluaron los porcentajes de ganado positivo en relación con las categorías (vacas, toros, vaquillonas y novillitos y terneros) y entre los diferentes establecimientos. Mediante la prueba de chi-cuadrado se determinó el grado de asociación entre las variables positivo y

negativo al HPG y categoría animal, utilizando el software estadístico Rstudio. Se tomaron un total de 632 muestras de MF bovina correspondientes a 40 establecimientos ganaderos. El 38 % (n=240) de las mismas correspondían a vacas, el 4 % (n=23) a toros, el 36 % (n=229) a vaquillonas o novillitos de entre 1 y 2,5 años, y el 22 % (n=140) a terneros menores de 1 año. El 70,7 % de los establecimientos muestreados resultó positivo a la presencia de huevos de *Eurytrema* spp en la MF. La prevalencia intrapredial, indistintamente de la categoría, fue del 35,6 %. La prevalencia por categoría fue del 43,5 % en toros y del 40,8 % en vacas. Animales de 1 a 2,5 años (vaquillonas y novillitos) y terneros menores de 1 año mostraron valores del 35,8 % y 25 % respectivamente, significativamente inferiores a los mencionados en categorías de mayor edad ($p=0,01578$). Estos resultados confirman lo extendida que se encuentra la enfermedad en la región y la elevada prevalencia existente en cada predio. Según estos resultados podemos concluir que, la euritrematosis es una enfermedad endémica en el área bajo estudio y que constituye un problema emergente para la región. Por este motivo, consideramos necesario ampliar el muestreo a otras regiones de la provincia para delimitar bien su presencia y establecer medidas de control basados en tratamientos antiparasitarios. Adicionalmente deben llevarse adelante estudios sobre su ciclo y los huéspedes intermediarios interviniéntes para determinar la factibilidad de su control.

Olmos LH, Pantiu AJ, Avellaneda-Cáceres A, Valencia PN, Cayo PN, Signorini M, Micheloud JF. 2022. Comparison of two coprological methods for the diagnosis of *Eurytrema* spp. in cattle and sheep. Journal of Helminthology. 96(53):1-4.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X22000414>

Pantiu AJ, Schapiro J, Morici G, Delgado F, Da Luz MA. 2016. Descripción de una infestación con *Eurytrema* sp. en un toro de Misiones (Argentina). Comunicación. 39º Congreso Argentino de Producción Animal. Tandil, Buenos Aires, Argentina, p.55.

P-010-24. Transmisión transestadial de *Anaplasma marginale* por la garrapata *Amblyomma neumanni*. Resultados preliminares

Calvet E¹, Díaz Carando J², Tarragona EL³, Sebastián PS³, Primo ME³, Mazzucco Panizza, M^{3*}.

1. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, provincia de Santa Fe, Argentina

2. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, provincia de Córdoba, Argentina.

3. Laboratorio de Inmunología y Parasitología Veterinaria, Instituto de Investigación de la Cadena Lactea (IDICAL), CONICET- INTA EEA Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

* mazzuccopanizza.m@inta.gob.ar

Anaplasma marginale, agente causal de la anaplasmosis bovina, es una rickettsia que infecta los eritrocitos de los bovinos. Se transmite a través de vectores, incluyendo garrapatas duras. *Amblyomma neumanni* es una garrapata de tres hospedadores presente en Argentina. Todos sus estadios parasitan al bovino. Estudios previos involucran a esta especie como potencial vector de *A. marginale*. El objetivo del presente estudio fue evaluar la transmisión transestadial (TET) de *A. marginale* por *A. neumanni*. Para ello, se inoculó un ternero libre de *Anaplasma* spp. con *A. marginale* cepa S1P. La confirmación de la infección se realizó por observación de eritrocitos infectados (EI) en extendido sanguíneo, PCR anidada (nPCR) del gen *msp1b* de *A. marginale* y serología (ELISA). Veinte días post-inoculación se infestó el ternero con 3.000 larvas y 250 ninfas de *A. neumanni* mantenidas en conejos en INTA Rafaela. Durante la infestación, el pico de EI en el ternero fue de 25%. Al finalizar la alimentación, se analizaron 10 muestras de garrapatas ingurgitadas (cinco *pooles* de larvas (n=5) y cinco ninfas) por nPCR. Todas resultaron positivas, confirmando que las garrapatas ingirieron *A. marginale*. El resto de los estadios ingurgitados se llevó a incubación. Post-muda, se analizaron 25 ninfas y 22 glándulas salivales de adultos mediante nPCR a fin de amplificar ADN de *A. marginale*, con resultados negativos. Este resultado preliminar indicaría que no hubo TET. En una etapa posterior se alimentarán los estadios post-muda sobre animales susceptibles. Adicionalmente, se aumentará el tamaño de la muestra de garrapatas a analizar.

Kocan KM, de la Fuente J, Blouin EF, Coetzee JF, Ewing SA. 2010. The natural history of *Anaplasma marginale*. Veterinary Parasitology. 167(2-4):95-107.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.09.012>

Nava S, Estrada-Peña A, Mangold AJ, Guglielmone AA. 2009. Ecology of *Amblyomma neumanni* (Acar: Ixodidae). Acta Tropica. 111(3):226-236.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.04.013>

Torioni S, Knowles D, McGuire T, Palmer G, Suarez C, McElwain T. 1998. Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive enzyme-linked immunosorbent assay

using recombinant major surface protein 5. *Journal of Clinical Microbiology*. 36(3):777-82. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.3.777-782.1998>

P-011-24. Detección molecular de *Theileria equi* y *Babesia caballi* causantes de la piroplasmosis equina en animales de trabajo en una localidad de Corrientes Argentina

Benítez D^{1*}, Ganzinelli S^{2,3}, Lobayán S⁴, Schnittger L^{2,3}, Schapiro J^{2,4}

1. EEA Mercedes, INTA, provincia de Corrientes, Argentina

2. Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, INTA-CONICET. provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Argentina

4. Instituto de Investigación en Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

* benitez.daniel@inta.gob.ar

La piroplasmosis equina es causada por *Theileria equi* y *Babesia caballi*, protozoos intraeritrocíticos de los géneros *Theileria* sensu lato (Clade IV) y *Babesia* sensu stricto (Clade VI), que se distribuyen en zonas cálidas de nuestro país y del mundo. Generalmente, en áreas endémicas, los animales infectados cursan la enfermedad en su forma subaguda o crónica, sin demostrar sintomatología clínica. Ambos parásitos son transmitidos a los equinos por garrapatas. Asimismo, se han descripto otras vías de infección, como la transmisión iatrogénica, ocasionada por la inoculación de sangre infectada en animales susceptibles, por medio del uso de agujas o material quirúrgico contaminado. Además, las yeguas infectadas con *T. equi* son capaces de transmitir el patógeno en forma transplacentaria a sus crías, las cuales pueden presentar al nacer cuadros clínicos de anemia o cursar la enfermedad como portadores asintomáticos sanos. En el caso de *T. equi*, los animales portadores desempeñan un papel esencial en la propagación y el mantenimiento de la piroplasmosis equina. Por otra parte, debido a la transmisión transovárica de *B. caballi* en la garrapata, es esta y no los caballos la principal portadora del parásito. El método tradicional para la identificación de los agentes en animales infectados es el examen microscópico de extendidos de sangre teñidos con Giemsa. Más recientemente, se han puesto a punto técnicas serológicas como así también moleculares, las cuales presentan una mayor sensibilidad y especificidad. El objetivo de este trabajo fue estimar la tasa de infección de equinos con *T. equi* y *B. caballi* mediante PCR directa en la población de caballos estudiada. Para ello, se utilizó un diseño de estudio observacional transversal descriptivo, mediante un muestreo no probabilístico, en la localidad de Gobernador Virasoro de la provincia de Corrientes, durante mayo del año 2022 hasta marzo del año 2023. Los animales (n=98), pertenecientes a 22 propietarios, trabajaban en asociación con la fabricación artesanal de ladrillos. Su edad fue registrada y se extrajo ADN genómico por medio de un kit comercial a partir de 500 µl de sangre. La detección de *T. equi* y *B. caballi* se realizó por PCR mediante la amplificación de un fragmento del gen 18S ARNr utilizando *primers* reportados. Como control positivo se utilizó ADN obtenido a partir de cultivos *in vitro* de cada parásito, y

agua como control negativo. Los productos de PCR se visualizaron en un gel de agarosa 1,5% teñido con EcoGel.

En el análisis de las muestras se observó que 52 de los 98 equinos estudiados (53,1%) fueron positivos para *T. equi*. La tasa de infección en los diferentes rangos etarios fue 55,6% (15 de 27) en el grupo etario de 1 a 3 años, 55,4% (31 de 56) en animales de 4 a 10 años de edad y 40% (6 de 15) en los animales mayores de 11 años. Las tasas de infección para *T. equi* observadas sugieren un similar riesgo de infección para los animales en cada uno de los tres grupos etarios estudiados ($\chi^2_{gl=2, \alpha<0,05} = 1,21 \Rightarrow p=0,55$). Por el contrario, no se obtuvieron muestras positivas para *B. caballi*. Se ha reportado que la parasitemia de este hemoparásito en animales portadores es < 1%, y posiblemente escape de la detección con PCR simple. Dado que es necesario aplicar métodos de diagnóstico más sensibles, en el momento, no se puede excluir que esta especie no esté presente en los caballos estudiados. Recientemente, se ha reportado la infección con *T. equi* en 81% de equinos estudiados (34 de 43 animales) en la ciudad de Corrientes. Esta tasa de infección considerablemente más alta que la encontrada en este trabajo, podría deberse al uso de una PCR anidada, que es un método más sensible. La alta proporción de animales afectados por piroplasmosis equina pone en evidencia el problema sanitario de la región. La piroplasmosis equina condiciona considerablemente el rendimiento laboral de los animales. El desarrollo de ensayos moleculares de mayor sensibilidad proporcionaría un diagnóstico más preciso para la investigación epidemiológica de las infecciones producidas por estos patógenos, como así también permitiría la adecuación de medidas de control.

Organización Mundial de la Salud (OIE). Terrestrial Manual. 2021. Equine piroplasmosis (EP). [En línea] Disponible en: https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.06.08_EQUIINE_PIROPLASMOSIS.pdf

[Consultado 06/08/2024]

Schnittger L, Ganzinelli S, Bhoora R, Omondi D, Nijhof AM, Florin-Christensen M. 2022. The Piroplasmida *Babesia*, *Cytauxzoon*, and *Theileria* in farm and companion animals: species compilation, molecular phylogeny, and evolutionary insights. Parasitology Research. 121(5):1207-45.

<https://doi.org/10.1007/s00436-022-07424-8>

Sebastian PS, Benitez-Ibalo AP, Flores FS, Debárbara VN, Martinez EI, Thompson CS, Mangold AJ. 2021. Molecular detection and phylogenetic characterization of *Theileria equi* in horses (*Equus caballus*) from a peri-urban area of Argentina. Ticks and Tick-borne Diseases. 12(6):101810.

<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101810>

P-012-24. Desarrollo y evaluación de un test rápido para el diagnóstico de la tripanosomiasis bovina

Pujato N¹, Allassia M², Marcipar I¹, Esborraz D³; Arias D⁴, Bontempi I^{1*}

1. Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, provincia de Santa Fe, Argentina

2. Hospital de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, provincia de Santa Fe, Argentina

3. Laboratorios Over SRL, San Vicente, provincia de Santa Fe, Argentina

4. Laboratorio de Enzimología Molecular, Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL); Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, provincia de Santa Fe, Argentina

* iabontempi@gmail.com

La tripanosomiasis bovina (TB) es una enfermedad del ganado bovino, cuyo principal agente causal en América del Sur es *Trypanosoma vivax* (Tv). A pesar del notable impacto sobre la cuenca lechera Argentina, no existen tests serológicos comerciales para detectarla. Para abordar este desafío, nuestro grupo desarrolló previamente un ensayo de ELISA (ELISA-TvISG) con gran eficacia diagnóstica, el cual emplea dos proteínas de superficie de Tv (Bontempi y col., 2024). El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una inmunocromatografía de flujo lateral (IFL-TvISG) para la detección rápida de anticuerpos contra Tv, empleando una quimera de ambos antígenos empleados en el ELISA-TvISG. Evaluamos el IFL-TvISG con sueros de bovinos control para Tv (positivos= 31, negativos= 32), diagnosticados previamente mediante observación directa al microscopio y PCR (pruebas de referencia) (Cortéz y col., 2009). El test resultó con una sensibilidad y especificidad del 100%. Posteriormente, el IFL-TvISG se comparó con el ELISA-TvISG empleando 153 muestras de bovinos con sospecha de TB provenientes de distintos tambos de la cuenca lechera. Dado que no se contaba con resultados de las técnicas de referencia para dichos sueros, se determinó la correlación *Kappa* (*k*) entre ambos métodos serológicos, la cual resultó *k*= 0,73 (*p*<0,001). Si bien debería corroborarse el diagnóstico de las muestras que resultaron con serología discordante para estimar con mayor certeza el desempeño diagnóstico del IFL-TvISG, los resultados mostraron que tiene un alto potencial para la detección rápida de TB y contribuiría a mejorar la detección, vigilancia y control de la enfermedad en América del Sur.

Bontempi IA, Arias DG, Castro GV, Peverengo LM, Díaz GF, Allassia M, Greif G, Marcipar I. 2024. Improved serodiagnosis of *Trypanosoma vivax* infections in cattle reveals high infection rates in the livestock regions of Argentina. PLoS Neglected Tropical Diseases. 26;18(6):e0012020.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012020>

P-013-24. Serología fetal para *Neospora caninum*: limitaciones del uso de un ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas indirecto comercial

Campero LM^{1*}, Sosa E¹, García O¹, Hecker YP^{1, 2}, Forneris FR³, Lázaro F¹, Sgromo JA⁴, Fiorentino MA^{1, 3}, Paolicchi FA^{1, 3}, Scigli MV¹, Morrell EL¹, Cantón GJ¹, Moore DP^{1, 3}

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

2. SALUVET, Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España

3. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

4. Laboratorio IoT (Internet de las cosas), INTA EEA Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

* campero.lucia@inta.gob.ar

Neospora caninum es un protozoó causante de abortos en bovinos y asociado frecuentemente al nacimiento de terneros sanos infectados congénitamente. El diagnóstico del aborto por *N. caninum* se define sobre la base de presencia de lesiones histológicas en los tejidos fetales y la confirmación de infección fetal mediante la detección de ADN parasitario y/o de anticuerpos fetales y maternos.

Rutinariamente se utiliza la inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detectar anticuerpos anti-*N. caninum* en líquido de cavidades fetales. Sin embargo, la IFI insume tiempo y es parcialmente subjetiva en la lectura de resultados, requiriendo de experiencia del personal. Por su parte, los *kits* de ELISA son la opción más utilizada para detectar anticuerpos en bovinos adultos ya que debido al gran número de muestras, ofrecen la ventaja de su automatización y objetividad en la lectura de resultados. Sin embargo, la utilización de estos *kits* no ha sido validada para fluidos fetales. El objetivo de este trabajo fue evaluar el *kit* comercial de ELISA indirecto (ELISA_i, CIVTEST Bovis Neospora, HIPRA-CIVTEST) para detectar anticuerpos anti-*N. caninum* en líquidos de cavidades de fetos bovinos.

Se utilizaron 131 líquidos de cavidades de fetos ($n=112$)/muertes perinatales ($n=19$) remitidos al Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado de INTA Balcarce, INTA durante un período de 5 años (2018-2022). La investigación incluyó anamnesis, hallazgos histopatológicos y estudios de laboratorio, integrando los antecedentes, existencia de noxa y lesiones microscópicas compatibles. En base a estos análisis, se examinaron los fluidos corporales de fetos y muertes perinatales y se clasificaron en distintos grupos sobre la base de su diagnóstico: a) diagnóstico etiológico de *N. caninum* ($n=37$), b) diagnóstico etiológico de otros agentes infecciosos ($n=8$), c) sin diagnóstico etiológico con lesiones inflamatorias compatibles con un agente infeccioso ($n=46$) y d) sin lesiones inflamatorias compatibles con agentes infecciosos ($n=31$). Además, se incluyeron en el análisis como grupo control negativo: e) líquidos de cavidades de 9 fetos bovinos recuperados de faena en frigoríficos en los cuales no se identificaron agentes o

lesiones. Los fetos evaluados tenían un rango de edad de 3 a 8,5 meses. Los 19 casos de muertes perinatales estaban representados por natimortos (11/19) y especímenes en los que se corroboró que habían muerto en las primeras horas de vida (8/19).

Sobre la totalidad de líquidos de cavidades se realizaron las pruebas de IFI (título de corte: 1/10) considerando positivo a la presencia de fluorescencia periférica completa del protozoo y ELISA_i (dilución 1/10) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los líquidos con resultados discordantes fueron procesados por *Immunoblot* (IB) en condiciones no reducidas (dilución 1/10), siendo esta una prueba confirmatoria para *N. caninum*. Para el IB se consideró positivo el suero que reaccionó con al menos 1 antígeno inmunodominante (IDAs: 17, 29, 30, 33 y 37 kDa). Los valores de sensibilidad, especificidad, y concordancia entre pruebas (índice kappa, k) se calcularon con el uso del software Epidat (versión 3.1 Organización Panamericana de la Salud y Xunta de Galicia, Consellería de Sanidade). La concordancia se analizó como: pobre ($k= 0$), leve ($k= 0-0,20$), aceptable ($k= 0,21-0,40$), moderada ($k= 0,41-0,60$), adecuada ($k= 0,61-0,80$) y casi perfecta ($k > 0,81$).

Se detectaron 102/131 líquidos de cavidades negativos a ambas pruebas IFI/ELISA_i, sin embargo, del total de 29 líquidos seropositivos a IFI, solamente 17 fueron detectados por el ELISA_i. El IB confirmó la seropositividad de los 12 líquidos fetales restantes positivos por IFI. De los 29 líquidos seropositivos a IFI, 66% corresponden a fetos del último tercio de gestación. Se detectó una sensibilidad diagnóstica relativa de 58,6% y una especificidad diagnóstica relativa del 100% del ELISA_i bajo las condiciones evaluadas. Del grupo de fetos con diagnóstico etiológico de *N. caninum*, la IFI detectó anticuerpos específicos en el 62% (23/37) de los especímenes analizados, mientras que el ELISA_i sólo en el 32% (12/37). La concordancia entre ambas pruebas serológicas fue adecuada ($k= 0,688$).

Los resultados obtenidos confirman que un título de corte de 1/10 es específico para la detección de anticuerpos para *N. caninum* en fetos bovinos, siendo seronegativos la totalidad de fetos con diagnóstico etiológico de otros agentes infecciosos. Asimismo, a pesar de tener una excelente especificidad, la baja sensibilidad evaluada para la prueba de ELISA_i para detección de anticuerpos en fluidos fetales, limita su implementación como herramienta diagnóstica y se refuerza la continuación del uso de la IFI para la detección de anticuerpos específicos anti-*N. caninum* en fetos bovinos.

Campero LM, Minke L, Moré G, Rambeaud M, Bacigalupe D, Moore DP, Hecker Y, Campero CM, Schares G, Venturini MC. 2015. Evaluation and comparison of serological methods for the detection of bovine neosporosis in Argentina. Revista Argentina de Microbiología. 47(4):295-301.

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.07.002>

Söndgen P, Peters M, Bärwald A, Wurm R, Holling F, Conraths FJ, Schares G. 2001. Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. Veterinary Parasitology. 102(4):279-90. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00543-x](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00543-x)

P-014-24. Presencia de coccidiosis aviar en granjas de agricultura familiar de Argentina y Chile. Técnicas tradicionales para su diagnóstico

Britez JD^{1,2}; Pisón Martínez ML¹; Barbano P³; Cantín B⁴; Alegría-Morán R⁵; Ramírez-Toloza G⁴; Tomazic ML^{1,6}; Rodríguez AE¹

1. Instituto de Patobiología Veterinaria, INTA-CONICET; provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Cátedra de Parasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA), Argentina

3. Estación Experimental Agropecuaria, Luján, Área Metropolitana de Buenos Aires (INTA), Argentina

4. Laboratorio de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile

5. Escuela de Medicina Veterinaria, Sede Santiago, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Chile

6. Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

* rodriguez.anabel@inta.gob.ar

La coccidiosis es una enfermedad causada por protozoos del género *Eimeria* spp. Son 7 especies las que parasitan una región intestinal específica de pollos y gallinas. Esta enfermedad produce grandes pérdidas productivas; sin embargo, su prevalencia en la agricultura familiar (AF) es poco conocida, tanto en Argentina como en Chile, y conocerla es fundamental para buscar soluciones. Para ello es fundamental un diagnóstico adecuado que exponga la situación de la granja respecto a la enfermedad. Las técnicas tradicionalmente utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad se basan en los recuentos de ooquistas en las heces y la observación de lesiones macroscópicas en distintas regiones intestinales. En la actualidad estas técnicas complementan los resultados de biología molecular. El objetivo de este trabajo fue evaluar la prevalencia de *Eimeria* spp. en producciones de carne y de huevo en granjas de AF utilizando las técnicas tradicionales. Se tomaron 135 muestras de granjas ubicadas en el Área Metropolitana de la ciudad de Buenos Aires y Provincia de Buenos Aires, Argentina (ARG); Región Metropolitana de Santiago y Región O'Higgins, Chile (CH) durante las estaciones de otoño/primavera 2023. A partir de ellas, se realizó el diagnóstico por cuantificación de los ooquistas de *Eimeria* spp. por gramo (OPG) de materia fecal (MF)/cama. Se realizó la flotación de MF en NaCl y luego se procedió al recuento en cámara de McMaster. Además, se realizaron necropsias de algunas aves de producción de carne, se extrajeron los intestinos, se realizaron cortes longitudinales, se separó el contenido, se realizaron raspajes seriados de la mucosa intestinal y se asignó un puntaje (Go-G4) a las lesiones ocasionadas por la coccidiosis según la escala de Johnson & Reid. También se realizó la observación microscópica de las formas parasitarias y ooquistas a partir de los raspajes. Estas últimas técnicas se acompañaron de la valoración de signos y síntomas. De las 90 granjas familiares visitadas, el 7% eran granjas agroecológicas. Los tamaños de las

parvadas tuvieron una gran variación, con una media de 157 y 100 aves para producciones de carne y huevo, respectivamente. La mayor proporción (63,8%) de OPGs hallada fue de niveles bajos (<1.000). El 13,8% arrojó valores negativos; 10,6% valores entre 1.001-5.000; y 11,7% valores altos (>5.001). En ARG los valores negativos se observaron únicamente en las granjas destinadas a huevo y, por el contrario, los niveles altos se hallaron en granjas de carne. Además, se observó que, en granjas de huevo el 70,1% fueron valores bajos, mientras que en las de carne los valores bajos se hallaron en menos de la mitad de los casos (35,3%). Respecto a las granjas de CH, se observó la misma tendencia. Se encontraron diferencias significativas ($p<0,05$) en los valores de OPG entre los dos tipos de producción tanto en ARG como en CH. La prevalencia general hallada fue de 85,4%, siendo 100,0% en granjas de producción de carne y 75,0% y 89,7% en producciones de huevos ARG y CH, respectivamente. Respecto al puntaje de lesiones intestinales principalmente se apreciaron petequias en la superficie serosa (G2) y contenido amarillento cremoso (G3) en duodeno, en el yeyuno moco naranja, engrosamiento (G2) y estrías de sangre (G3), en ciegos se observaron paredes muy engrosadas, sangre y poco contenido cecal (G3). En el resto de las regiones intestinales no se observaron lesiones (G0). Se observaron formas parasitarias y ooquistes en los frotis analizados. Si bien en algunas regiones intestinales no se encontraron lesiones (G0) la observación de ooquistes o formas parasitarias indicaron la presencia de una o más especies de *Eimeria* spp. Teniendo en cuenta las regiones más afectadas, las características de las lesiones y la presencia de formas parasitarias y ooquistes en las mismas, las especies que podrían hallarse son: *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis* y *E. tenella*. Los signos y síntomas registrados en las granjas principalmente fueron: diarreas con sangre, tamaño dispares, apatía y en algunos casos plumas erizadas, los mismos se observaron solamente en las aves de producción de carne. En las producciones de huevo de ambos países se hallaron valores bajos de ooquistes y aves con baja sintomatología; sin embargo, en las producciones de carne la coccidiosis resultó ser relevante con valores de OPGs altos, presencia de signos y síntomas lo que indica una fuerte presencia de la enfermedad en este tipo de producción. Las técnicas tradicionales utilizadas para el diagnóstico son útiles para hacer un análisis preliminar de *Eimeria* spp. en granjas de AF, pero por su carácter subjetivo, y la necesidad de contar con material de trabajo extraído de necropsias, deben ser apoyadas con técnicas de detección molecular. Este trabajo constituye uno de los primeros reportes de coccidiosis en la AF en ARG y CH, por lo que el conocimiento generado facilitará el diseño de novedosas y mejores estrategias profilácticas.

Johnson J, Reid WM. 1970. Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. Experimental Parasitology. 28:30-6. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(70\)90063-9](https://doi.org/10.1016/0014-4894(70)90063-9)

P-015-24. Desarrollo de un test de ELISA para la detección de anticuerpos anti *Cryptosporidium parvum*

Mira A¹, Monti D², Garro, C³, Lang C¹, Parreño V^{1,2}, Wigdorovitz A^{1,2}, Bok M^{1,2*}

1. Bioinnovo S.A., provincia de Buenos Aires, Argentina

2. INCUINTA, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, INTA provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Instituto de Patobiología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, INTA provincia de Buenos Aires, Argentina

* bok.marina@inta.gob.ar

Cryptosporidium parvum (*C. parvum*) es un protozoario zoonótico que causa diarrea en terneros. La detección de inmunoglobulina G (IgG) específica permite la vigilancia epidemiológica, evaluar la potencia de vacunas y determinar el nivel de calostrado en terneros. El objetivo fue desarrollar un ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) de detección de IgG contra *C. parvum*. Se expresó p23, presente en todos los estadios del parásito, como antígeno. El panel de muestras analizadas incluyó sueros de vacas inmunizadas con una vacuna experimental contra *C. parvum* (pre-vacunación, post vacunación y post parto; n=30), calostros inmunes (n=10), calostro comercial (n=1), suero de terneros descalostrados (n=7), suero de terneros calostrados con calostros inmunes (n=4) y suero de terneros calostrados con calostro comercial (n=4) y desafiados con 6 millones de ooquistas (Tiempo 7, Tiempo 14 y Tiempo 21 post desafío; n=12)². El promedio de anticuerpos en el suero de las vacas prevacunación, post parto y calostro fue de 4,03; 3,85 y 5,24 respectivamente. El título del calostro comercial y del pool de calostros inmunes fue de 4,21 y 4,81 respectivamente. El promedio de IgG anti-p23 en los terneros 48 horas post calostro comercial y calostro inmune fue de 2,86 y 3,61, respectivamente; y de 0,52 en los terneros descalostrados. Los terneros desafiados con *C. parvum* respondieron a la infección con un título de IgG anti p23 promedio de 2,71 (T7); 3,46 (T14) y 3,76 (T21). Los resultados preliminares indican que el ELISA desarrollado permite hacer un seguimiento del calostrado y respuesta inmune contra *C. parvum* en bovinos.

Garro CJ, Morici GE, Tomazic ML, Vilte D, Encinas M, Vega C, Bok M, Parreño V, Schnittger L. 2021. Occurrence of *Cryptosporidium* and other enteropathogens and their association with diarrhea in dairy calves of Buenos Aires province, Argentina. Veterinary Parasitology Regional Studies and Reports. 24:100567. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100567>

P-016-24. Estudio de la prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en perros provenientes de las provincias de Río Negro y San Luis

Dubiel C^{1,*}, Daniele M^{1,2,3}, Sánchez M¹, Simon Difiore N¹, Holzman S¹, Dadé M^{1,2,3}.

1. Universidad Nacional de Río Negro, Sede Alto Valle y Valle Medio, Escuela de Veterinaria y Producción Agroindustrial, Choele Choel, provincia de Río Negro, Argentina.

2. Cátedra de Farmacología Básica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina

3. Universidad de Ciencias Empresariales y Sociales (UCES), Carrera de Veterinaria, Cañuelas, Buenos Aires, Argentina

* cdubiel@unrn.edu.ar

El agente etiológico de la enfermedad de Chagas es el parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. En el ciclo de transmisión del parásito, actúan como vectores insectos hematófagos pertenecientes a la sub-familia Triatominae. Los caninos domésticos cumplen un rol preponderante debido a su cercanía con el ser humano y el libre tránsito que poseen entre el domicilio y las estructuras que conforman el peridomicilio. Es por esto que se considera a los perros como centinelas de la enfermedad de Chagas en los domicilios que habitan. El objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de seropositividad reactiva para *Trypanosoma cruzi* en perros provenientes del Valle Medio de la provincia de Río Negro y del departamento Belgrano de la provincia de San Luis. Para el trabajo se analizó la sangre de 117 perros mediante la metodología de hemaglutinación indirecta (HAI) y a través del método de diagnóstico molecular PCR. De las 67 muestras provenientes de San Luis se determinó una prevalencia del 11,6% con 9 muestras positivas para ambas técnicas de diagnóstico, mientras que, en el caso de las 50 muestras de Río Negro, no se detectaron resultados positivos para *T. cruzi*. Teniendo en cuenta que ambas provincias son parte del territorio declarado por la Organización Mundial de la Salud como libre de transmisión vectorial, resulta preocupante la alta prevalencia de perros positivos para *T. cruzi* reportado para la provincia de San Luis. Este resultado podría estar indicando y alertando sobre una posible circulación del parásito a nivel peri e intradomiciliario.

Crowley P, Labanchi, J L, Dadé M, Daniele M, Calabró A, Grizmado C, Ochoa A, Hernández P, Arezo M, Larrieu EJ, 2021. Epidemiología de Triatominos en la Provincia de Río Negro. Ciencia Veterinaria. 23(2): 37-46. <https://doi.org/10.19137/cienvet202123203>

Simón M L, González P G, Mora M C, Barrio AB, Sánchez N O. (2022). Infección por *Trypanosoma cruzi* en caninos de Acambuco (Salta, Argentina). Revista Veterinaria. 33(2): 223-29. <https://dx.doi.org/10.30972/vet.3326187>

P-017-24. Desarrollo de una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real específica y altamente sensible para la detección y cuantificación de ooquistes de *Cryptosporidium parvum*
de Alba P^{1,2,*}, Garro C², Mira A³, Dus Santos MJ^{1,4}, Schapiro JH², Wigdorowitz A⁵, Florin-Christensen M^{1,2}, Schnittger L^{1,2}

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.
2. Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-CONICET (INTA-CONICET), provincia de Buenos Aires, Argentina
3. Bioinnovo SA, provincia de Buenos Aires, Argentina.
4. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina
5. INCUINTA, INTA, Buenos Aires, Argentina

* dealba.paloma@inta.gob.ar

Cryptosporidium parvum es un protozoó zoonótico que infecta a terneros neonatos alrededor del mundo. La infección está caracterizada por un severo cuadro de diarrea y deshidratación, que lleva a altas pérdidas económicas en sistemas de producción lechera. En Argentina, la prevalencia de la criptosporidiosis en terneros oscila entre el 25 y el 42 %, dependiendo de la región, y la única especie del género *Cryptosporidium* que se ha detectado en animales de menos de dos meses es *C. parvum*. Con las heces, los animales excretan al ambiente el ooquiste en masivas cantidades como estadio infeccioso. En este contexto, es importante destacar que 76 % de los subtipos identificados en el país son zoonóticos, lo cual representa un alto riesgo para la salud pública. El monitoreo de la contaminación de matrices ambientales con ooquistes es de alta importancia para permitir establecer controles que eviten la diseminación masiva del parásito, con las consecuentes repercusiones en la salud pública. Para este fin se requieren técnicas moleculares de alta especificidad y sensibilidad y que también permitan cuantificar la carga de ooquistes en ambientes contaminados. Este trabajo apuntó a establecer una reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (*Real Time qPCR*) con una aumentada sensibilidad para la detección de ooquistes, y su comparación con un ensayo de *Real Time qPCR* previamente reportado.

Se realizó un alineamiento de la secuencia de un gen de doble copia de *C. parvum* que codifica para una glicoproteína con sus secuencias homólogas en las especies *C. bovis*, *C. andersoni* y *C. ryanae*, que comúnmente infectan al ganado. Además, se incluyó la secuencia homóloga de la especie *C. hominis*, cercanamente relacionada con *C. parvum* y que también infecta a humanos. En base a este alineamiento, se diseñaron dos pares de *primers* y una sonda específicos para *C. parvum*, y se verificó su especificidad *in situ* por Primer BLAST. Los *primers* fueron testeados en distintas combinaciones junto con la sonda en reacciones de *Real Time qPCR* de tipo Taqman y se seleccionó la combinación que tuvo una eficiencia de reacción entre 90 a 105 %. Seguidamente, se optimizaron las concentraciones de los *primers* y la sonda. Para determinar la sensibilidad de la

Real Time qPCR, se generó un ADN plasmídico recombinante, el cual tiene como inserto el gen blanco, verificado por secuenciación. Se realizó una curva estándar, evaluando el límite de cuantificación superior e inferior basado en diluciones seriadas entre 10^8 a 10^0 copias plasmídicas. Se pudo determinar que la *Real Time* qPCR establecida puede detectar y cuantificar desde 10^8 hasta 10^1 copias del gen blanco. Se realizó una comparación con otra *Real Time* qPCR que identifica a *C. parvum* pero no lo diferencia de *C. hominis*. Para ello, se compararon los límites de detección de ambos ensayos de *Real Time* qPCR utilizando diluciones seriadas de plásmidos recombinantes, así como la capacidad de cada ensayo de cuantificar ADN genómico proveniente de ooquistes de *C. parvum* purificados. Se observó que la nueva *Real Time* qPCR presenta una mayor sensibilidad con respecto a la anterior mostrando un límite inferior de cuantificación de 10^1 vs. 10^4 copias génicas por reacción. Además, para evaluar la nueva técnica, se analizaron 12 muestras de agua con concentraciones conocidas de ooquistes. La cantidad mínima detectada fue de 80 copias génicas, las cuales equivalen aproximadamente a 10 ooquistes por reacción. Por ello, esta nueva técnica molecular es particularmente adecuada para la cuantificación de *C. parvum* en muestras con una baja cantidad de ooquistes. La aumentada sensibilidad del nuevo ensayo *Real Time* qPCR permite una mejor vigilancia de los entornos contaminados por ooquistes y mejor identificación de las fuentes de infección, lo que a su vez conduce a un mejor control de la criptosporidiosis bovina.

Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, Mueller R, Nolan T, Pfaffl MW, Shipley GL, Vandesompele J, Wittwer CT. 2009. The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*. 55(4): 611–22.

<https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>

de Alba P, Garro C, Florin-Christensen M, Schnittger L. 2023. Prevalence, risk factors and molecular epidemiology of neonatal cryptosporidiosis in calves: the Argentine perspective. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases* 4: 100147. <https://doi.org/10.1016/j.crpybd.2023.100147>

Guy RA, Payment P, Krull UJ, Horgen PA. 2003. Real-time PCR for quantification of *Giardia* and *Cryptosporidium* in environmental water samples and sewage. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(9): 5178–85. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5178-5185.2003>

P-018-24. Evaluación antihelmíntica *in vitro* del fruto de *Gleditsia amorphoides* y *Gleditsia triacanthos* contra *Haemonchus contortus*

Bruttomesso MF^{1,2*}, Morici GE^{1,2}, Catalano AV^{3,4}, Oubiña A^{3,4}, López, PG^{3,4}, Palladino PM¹, Arias RM¹, Lobayán S², Schapiro JH^{1,2}

1. Instituto de Patobiología-IPVET, CICVyA, INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Universidad del Salvador, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Instituto de Investigación en Veterinaria, Pilar, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Farmacognosia, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

4. CONICET, Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* bruttomesso.mia@inta.gob.ar

La haemonchosis es considerada una de las enfermedades parasitarias más frecuentes en ovinos y responsable de importantes pérdidas económicas en la producción a nivel mundial. Durante las últimas décadas, el control de esta enfermedad se basó casi exclusivamente en el empleo de antihelmínticos de síntesis, lo que produjo la selección de poblaciones de nematodos resistentes. Dado este fenómeno, existe un marcado interés en desarrollar nuevas estrategias no químicas de control entre las que se incluye la utilización de forrajes bioactivos.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antihelmíntica *in vitro* de extractos acuosos y metanólicos del fruto de *Gleditsia amorphoides* y *G. triacanthos*, y realizar un screening fitoquímico.

Los frutos de *G. amorphoides* fueron recolectados de la zona boscosa de Reconquista (provincia de Santa Fe, Argentina) y los frutos de *G. triacanthos* de la ciudad de Marcos Paz (provincia de Buenos Aires, Argentina). Las muestras fueron desecadas a temperatura ambiente y posteriormente molidas. Para la extracción metanólica se mezclaron 10 g del material vegetal con 100 ml de metanol que se maceraron durante 48 h en oscuridad. Transcurrido ese período, se filtró la solución y se llevó a un evaporador rotatorio con vacío (40°C) hasta sequedad total. Este extracto se disolvió en metanol a una concentración de 50 mg/ml y se conservó a 4°C. En el momento de realizar los ensayos *in vitro*, los extractos se disolvieron con una solución salina tamponada con fosfato (PBS)-metanol (9:1). La extracción acuosa se realizó a partir de una infusión caliente al mezclar 5 g de material seco y 100 ml agua caliente, que fueron colocados en un recipiente hermético durante 10 minutos. Luego, se filtró y se almacenó en un frasco color caramelo. Para evaluar la actividad antihelmíntica *in vitro* se realizó la técnica de inhibición de la eclosión de huevos (del inglés "EHA") y la de inhibición de la migración larval (del inglés "LMIA"). La obtención de huevos y de larvas infectivas (L₃) necesarias para estos ensayos se efectuó a partir de dos ovinos previamente inoculados vía oral con 5000 L₃ de *H. contortus*. Los huevos se recuperaron de la materia fecal a partir del día 21 post inoculación, y las L₃ mediante coprocultivos. Para efectuar ambas técnicas *in vitro*, se utilizaron como soporte placas de 24 pocillos en las cuales se incubaron huevos y L₃ de una cepa pura de *H. contortus*.

enfrentándolos con las siguientes concentraciones seriadas de los extractos: 50, 25, 12.5, 6.2, 3.1 y 1.6 mg/ml. En ambas técnicas se utilizó agua como control negativo, y como control positivo benzimidazole y levamisole para *EHA* y *LMIA* respectivamente. Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías con un nivel de significación del 0.05% y posteriormente las medias se compararon mediante el *test* de Tukey. El screening fitoquímico se llevó a cabo mediante una cromatografía en capa fina (del inglés "TLC"), con el fin de determinar la presencia de flavonoides, alcaloides, saponinas y cumarinas. Se ensayaron diferentes sistemas cromatográficos y las muestras se evidenciaron con distintos reveladores. De cada extracto se sembraron 10 μ l en placas de sílica gel 60 (Merck®), y se colocaron dentro de una cuba cromatográfica. Luego, las placas se observaron a simple vista, a UV-254 nm y a UV-366 nm. Por otro lado, para evidenciar la presencia de taninos se utilizó una solución de gelatina al 1% y solución de cloruro férrico al 10%.

Tanto el extracto acuoso de *G. amorphoides* como el extracto acuoso de *G. triacanthos* obtuvieron una eficacia cercana al 100% en el *EHA* a partir de 6,2 mg/ml, mientras que los extractos metanólicos de ambas especies vegetales lograron esa misma eficacia a partir de 25 mg/ml. En cuanto al *LMIA*, para la especie *G. amorphoides* el extracto acuoso logró 68% de inhibición a 50 mg/ml a diferencia del metanólico que obtuvo 11,1% a esa misma concentración. Por su parte, el extracto metanólico de *G. triacanthos* obtuvo 46,1% de eficacia a 50 mg/ml mientras que el acuoso no presentó acción a la máxima concentración evaluada por no presentar diferencia estadísticamente significativa con el control negativo. El screening fitoquímico permitió detectar la presencia de cumarinas, flavonoides y saponinas en el extracto metanólico de *G. amorphoides*, mientras que en el extracto acuoso saponinas y taninos condensados. Por otro lado, en el extracto metanólico de *G. triacanthos* se detectaron cumarinas, flavonoides, saponinas y taninos condensados, mientras que en el extracto acuoso cumarinas, saponinas y taninos condensados.

Este es el primer estudio que evaluó la actividad antihelmíntica del fruto de estas especies vegetales, en donde se logró detectar la acción inhibitoria sobre la eclosión de huevos tanto en los extractos acuosos y metanólicos de ambas especies. Por otra parte, se observó efecto inhibitorio sobre la migración de larvas infectivas con el extracto acuoso de *G. amorphoides* y con el metanólico de *G. triacanthos*. Teniendo en cuenta este potencial aporte terapéutico y el alto valor nutritivo de estos vegetales, consideramos que el suministro del fruto de estas especies a los rumiantes podría contribuir a disminuir el uso y la frecuencia de desparasitaciones con fármacos comerciales, reduciendo la presión de selección para genes de resistencia y como consecuencia las pérdidas económicas debidas a *H. contortus*.

Wagner H, Bladt S. 1996. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. 2º Ed. New York, Springer.

P-019-24. Métodos alternativos para la conservación de muestras de tejido muscular animal destinadas al diagnóstico directo y molecular de *Trichinella* spp.

Riva E^{1,2}, Passucci J³, Rodríguez E³, Bernat G^{1,2}, Quintana S^{4,5*}

1. Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCBA), Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CICPBA) Centro de Investigaciones Veterinarias de Tandil (CIVETAN), Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. SAMP, FCV, UNCPBA. Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

4. Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM CONICET), Mar de Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

5. Instituto de Biología Molecular Aplicada. Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

* silvinaquintana.bm@gmail.com

La trichinellosis es una zoonosis de transmisión alimentaria ligada principalmente al consumo de carne cruda (embutidos, salazones) o mal cocida de cerdos, jabalí y otros animales omnívoros o carnívoros que contienen en sus músculos larvas infectivas del nematodo *Trichinella* spp. Con la finalidad de ampliar el conocimiento sobre la epidemiología de este parásito en una región, es necesario analizar mediante métodos directos y moleculares muestras de tejido muscular de animales involucrados en los ciclos domésticos, sinantrópicos y silvestres que permita determinar la presencia, la carga de larvas musculares (LM) y la especie de *Trichinella* involucrada. Para asegurar la calidad de la digestión artificial como método diagnóstico, es recomendable que la muestra de tejido muscular a analizar se conserve refrigerada hasta su procesamiento evitando su descomposición. Sin embargo, esta condición no siempre es factible cuando se realizan muestreo de animales durante campañas de caza o en áreas alejadas de los laboratorios donde se realizarán los análisis de diagnóstico, considerando, además, que dichos muestreos pueden extenderse por varios días a semanas. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de distintos métodos y tiempos de conservación de muestras de tejido muscular porcino en el resultado del diagnóstico directo y molecular de *Trichinella* spp. Se trabajó con 19 muestras de músculo de cerdos naturalmente infectados recibidas en el Laboratorio de Trichinellosis (Área de Parasitología, FCV, UNCPBA), con origen en laboratorios veterinarios regionales que previamente habían arrojado un diagnóstico positivo para las mismas. Para cada muestra se determinó la carga larvaria inicial (larvas por gramo de tejido analizado -lpg) y número y viabilidad de LM recuperadas mediante el método de digestión artificial -DA-(0,2% ácido clorhídrico; pH 1-2; 1% pepsina; 45 minutos de digestión, 30 minutos de decantación). Luego, mediante una asignación al azar, cada muestra fue sometida a uno de los siguientes tratamientos de conservación: (Control) sin tratamiento y refrigeración a 4°C; (Grasa) inclusión en grasa vacuna

comercial y mantenimiento a temperatura ambiente; (Sal) inclusión en 3% cloruro de sodio (ClNa) y mantenimiento a temperatura ambiente. Para los tratamientos se seleccionaron insumos de bajo costo y de fácil adquisición. Las muestras se almacenaron por 1, 2, 4 y 6 semanas luego de cada procesamiento. Finalizado cada tiempo de almacenamiento, cada muestra fue despojada del material de conservación (grasa o sal), tejido graso y aponeurosis propias de la muestra original, y el tejido muscular fue pesado y sometida a DA para determinar el porcentaje del peso del tejido remanente de la digestión, el número y la viabilidad de las LM recuperadas y lpg. Se realizó un análisis de varianza para evaluar el efecto de los tratamientos (método de conservación) y el del tiempo (semanas) utilizando la variable lpg inicial como covariable mediante el software Infostat. Además, se evaluó si las larvas musculares recuperadas de cada tratamiento y tiempo de almacenamiento eran aptas para la identificación molecular específica de *Trichinella*. Para ello, las LM conservadas en etanol absoluto fueron enviadas al Instituto BMA (Mar del Plata) para su análisis mediante qPCR (reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa). La carga larvaria inicial promedio (+/- error estándar) de las muestras asignadas a los tratamientos Control (n=6), Sal (n= 8) y Grasa (n=5) fueron de 21,27 (10,12), 277,18 (127,71) y 117,7 (38,43), respectivamente. Se observó que en las muestras sometidas al tratamiento Control, las LM recuperadas mantuvieron su viabilidad hasta la 6ta semana de conservación, mientras que la viabilidad sí fue afectada en las LM recuperadas de las muestras sometidas a los tratamientos Grasa y Sal. En el tratamiento Grasa, la viabilidad de las LM se redujo 50,6% y 63,2% en la 4ta y 6ta semana de almacenamiento, respectivamente. Para el tratamiento Sal, todas las LM recuperadas a partir de la 1er semana de almacenamiento se encontraron en forma no viables. La totalidad de las LM recuperadas de los distintos tratamientos y tiempos de almacenamiento resultaron aptas para el diagnóstico molecular por qPCR, permitiendo una extracción adecuada de material genético (ADN) y la identificación de la especie *T. spiralis*. La interacción entre el tiempo y los tratamientos fue significativa para la variable lpg recuperadas ($p=0,011$), observando un valor significativamente menor en las muestras sometidas al tratamiento Grasa y almacenadas durante 6 semanas en dicho tratamiento ($p<0,05$). En las muestras sometidas al tratamiento Control, se observó que el porcentaje de tejido remanente fue mayor a partir de la 1er semana de almacenamiento y hasta la 6ta semana, no obstante, esta variación no fue estadísticamente significativa ($p=0,307$). Estos resultados indicarían que utilizar la inclusión en grasa vacuna o en 3%ClNa para muestras musculares de porcinos, son métodos alternativos a la refrigeración que permitirían una conservación adecuada del tejido muscular a temperatura ambiente para su posterior análisis por digestión artificial y diagnóstico de *Trichinella spp*. El tratamiento en grasa sería recomendable por hasta 4 semanas de conservación, a fin de evitar subestimaciones de la carga larvaria real de la muestra. La extracción de ADN de las LM recuperadas y la posterior implementación de la técnica de qPCR para la determinación de la especie de *Trichinella* no se ven alteradas en muestras con cualquiera de los tratamientos y tiempos de conservación estudiados. El

diagnóstico de *Trichinella* en animales susceptibles en distintas regiones aporta valiosa información sobre la circulación y la epidemiología del parásito. En este contexto, es fundamental garantizar la calidad de las muestras colectadas, siendo ese el punto inicial para que el resultado de todo método diagnóstico aplicado sea certero.

Gajadhar AA, Noeckler K, Boireau P, Rossi P, Scandrett B, Gamble H R. 2019. International Commission on Trichinellosis: Recommendations for quality assurance in digestion testing programs for *Trichinella*. *Food and Waterborne Parasitology*. 16(e00059):1-20. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00059>

Quintana S, Recavarren M, Scialfa E, Viera I, Rivero M, Krivokapich S. 2016. Development of a real-time pcr assay for the detection of *Trichinella spiralis* in muscle tissue of swine and derivatives. *Journal of Food Safety*. 36(2):282-7. <https://doi.org/10.1111/jfs.12244>

P-020-24. Genotipificación de *Tritrichomonas foetus* y su relación con la patogenicidad *in vitro* en aislamientos de la provincia de Buenos Aires

Doumecq ML^{1,4*}, Iriarte M², Chiapparrone ML^{1,4}, Lirón JP⁴, Cacciato CS^{1,5}, Monteavaro CE¹, Soto P³.

1. Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, FCV-UNCPBA, Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina
2. Estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria. FCV-UNCBPBA, Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina
3. Laboratorio Biológico Tandil SRL. BIOTANDIL, Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina
4. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina
5. Personal de Apoyo CICPBA, Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina

* ldoumecq@vet.unicen.edu.ar

La trichomonosis bovina, causada por el protozoario *Tritrichomonas foetus* (*T. foetus*), es una enfermedad venérea que provoca pérdidas reproductivas en el sector agropecuario. Las hembras presentan signos clínicos evidentes como puede ser la repetición de celo, mientras que los machos son asintomáticos. La patogenicidad de *T. foetus* se asocia con el contacto directo con las células del hospedador, la producción de enzimas extracelulares y el daño resultante. Además, varios autores han demostrado que la persistencia de la infección en las hembras es variable, y depende tanto de la patogenicidad como de los mecanismos de evasión de las cepas de *T. foetus* frente a la respuesta inmune del hospedador. La epidemiología molecular permite identificar factores de riesgo asociados con una enfermedad mediante el análisis de la relación entre información epidemiológica y marcadores genéticos de un agente patógeno. En este contexto, la genotipificación, que determina diferencias en la secuencia genética entre individuos, es crucial para entender la diversidad genética y su impacto en la epidemiología de la enfermedad. Estudios previos han utilizado marcadores moleculares para identificar diferencias genéticas entre cepas de *T. foetus* aisladas de bovinos y felinos. Estos mismos marcadores también se aplicaron para la caracterización genética de cepas de *T. foetus* en España y en la provincia de La Pampa, Argentina. El objetivo del presente trabajo fue genotipificar 26 aislamientos de *T. foetus* provenientes de esmegma prepucial de toros de diferentes regiones ganaderas de la provincia de Buenos Aires y posteriormente, establecer un patrón de patogenicidad relacionado con la producción de efecto citopático (ECP) en células CHO. En estudios previos, estos aislamientos provenientes de toros asintomáticos fueron clasificados como productores de alto, medio y bajo ECP en células CHO, basándose en el porcentaje de alteración de la monocapa celular. Para el ensayo de genotipificación se utilizó el ADN purificado y conservado a -20 °C de los aislamientos de *T. foetus*. El primer utilizado como marcador molecular fue el MS10, que señala un polimorfismo de tipo INDEL (inscripción/delección) de 66 pb en la posición 121 del fragmento amplificado. El mix de reacción se preparó con el kit T-Plus ADN

Polimerasa (Inbio Highway®): buffer Taq 1x, MgCl₂ 3.5 mM, dNTPs 0.2 mM, primer F 0.2 μM, primer R 0.2 μM, gelatina 0,01%, Taq 0.5U y 2.5 μl de ADN para un volumen final de 25 μl. La amplificación se realizó en un termociclador (Ivema T-18) con el siguiente programa: incubación inicial de 5 min a 94 °C, seguida de 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 1 min, hibridación a 50 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 1 min. La amplificación concluyó con una extensión final de 10 min a 72 °C. Los amplicones se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.3% a 70V, se tiñeron con Gel Red (Biotium®) y se observaron con transiluminador UV. En este trabajo se identificaron dos genotipos de *T. foetus* para los 26 aislamientos en estudio. El genotipo con mayor frecuencia de presentación fue el BL, se observó en 21 de las 26 cepas estudiadas y generó un producto final de 425 pb. Las 5 cepas restantes correspondieron al genotipo minoritario denominado B, que generó un producto final de 359 pb. Al analizar los aislamientos en relación con el patrón de patogenicidad *in vitro* detectado en células CHO, se observó que el genotipo mayoritario se asoció con un ECP severo y elevado, mientras que el minoritario, con un ECP leve. Deberían realizarse estudios adicionales en bovinos para determinar si el ECP observado *in vitro* se traduce en manifestaciones clínicas en los rodeos y si las dinámicas de patogenicidad varían según el genotipo presente.

Doumecq ML, Monteavaro C, Soto P. 2012. Variación del efecto citopático entre diferentes cepas de *Tritrichomonas foetus* sobre líneas celulares CHO. XIX Reunión Científica Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico (AAVLD). Buenos Aires, Argentina, p.321-3.

Fuchs LI. 2017. Tricomonosis bovina: caracterización de cepas prevalentes en la provincia de La Pampa e inmunoprofilaxis de la enfermedad mediante el empleo de vacunas experimentales en vaquillonas. Tesis de Doctorado en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/64218>

Pedraza-Díaz S, Arranz-Solís D, Gómez-Couso H, Fuschs L, Fort M, Rengifo-Herrera C, Navarro-Lozano V, Ortega-Mora LM, Collantes-Fernández E. 2019. Multilocus analysis reveals further genetic differences between *Tritrichomonas foetus* from cats and cattle. Veterinary Parasitology. 276: 108965.

<https://doi.org/10.1016/J.VETPAR.2019.108965>

P-021-24. Síntomas, diagnóstico de laboratorio y tratamiento de criptosporidiosis en un oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*) bajo programa de reintroducción en el Parque Nacional Iberá, Corrientes

Flinta, A², Rosas AC¹, Monzón NM², Espasandin AG², Cipolini MF², Mazur Y¹, Dellamea C¹, Martinez DE^{2*}

1. Fundación Rewilding Argentina, Buenos Aires, Argentina

2. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE, Corrientes Capital, Argentina

* demartinez@vet.unne.edu.ar

La criptosporidiosis es una parasitosis de distribución mundial, causada por diversas especies de *Cryptosporidium*, agente que infecta a diversos hospedadores vertebrados. Ocurre con más frecuencia en individuos jóvenes y se caracteriza por ocasionar diarreas en mamíferos, entre ellos en el hombre, aunque en algunas especies la infección cursa sin manifestaciones clínicas. Se transmite por vía fecal-oral, pudiendo contaminar el agua y los alimentos. La transmisión de agentes infecciosos y parasitarios entre animales en ambientes de interfaz doméstico/silvestre es frecuente, aunque poco documentada, y puede ser considerada como una amenaza potencial para numerosas especies silvestres. Existe poca evidencia sobre la prevalencia y distribución de criptosporidiosis en las poblaciones de animales silvestres de Argentina. El objetivo del presente trabajo es el de reportar la presencia de *Cryptosporidium* spp. y de manifestaciones clínicas asociadas en un oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*) incorporado a un programa de reintroducción previa cuarentena, con destino al Parque Nacional Iberá. Se trabajó con un ejemplar de oso hormiguero macho de aproximadamente 20 días de vida y 1,6 kg. de peso, que llegó al Centro de Rescate de Osos Hormigueros de la Fundación Rewilding, Argentina, ubicado en la Estación Biológica Corrientes (EBCO) en junio del año 2016, proveniente de Campo Gallo, Santiago del Estero, donde estaba en cautiverio en una casa familiar. En el centro permaneció durante 11 meses. Al momento de su ingreso, como parte de la evaluación del estado general, el animal fue analizado para la presencia de parásitos gastrointestinales en materia fecal (MF) mediante técnica de flotación (TF), que resultó en la observación de ooquistes compatibles con la presencia de coccidios, por lo que recibió tratamiento con toltrazuril (20 mg/kg, PO, única dosis). Dentro del cribado sanitario de cuarentena el ejemplar fue analizado para diversas enfermedades infecto-contagiosas, en las que se incluyó, entre otros, el análisis coproparasitológico cualitativo por técnica de flotación, cultivo micológico y bacteriano de materia fecal y la presencia de *Cryptosporidium* spp. por IFD, para los que resultó negativo. Posteriormente, al momento del control para pasar a recintos de recria, fue nuevamente analizado mediante TF y resultó positivo para coccidios en MF, por lo que recibió tratamiento con toltrazuril en el mismo esquema indicado anteriormente. Cuatro meses después, el ejemplar presentó materia fecal sin consistencia, maloliente, con rastros de sangre, retraso en su crecimiento y deterioro en su estado general. Al no ser posible obtener una

muestra suficiente para realizar análisis de MF, se decidió realizar un tratamiento gastrointestinal general el cual consistió en toltrazuril a las dosis indicadas por única vez, fenbendazol (50 mg/kg) durante 5 días y una combinación antibiótica de ciprofloxacina (10 mg/kg) y metronidazol (25 mg/kg) durante 13 días. En este esquema hubo una mejoría clínica, pero 30 días más tarde el animal volvió a manifestar diarrea líquida. En este momento se tomaron muestras de MF fresca y se procedió a su análisis para la detección de parásitos gastrointestinales (coproparasitológico), enterobacterias y hongos (cultivo de heces) y tinción de Ziehl Neelsen. Se detectó la presencia de *Cryptosporidium* spp. mediante la TF y la identificación de ooquistes por medio de microscopía utilizando tinción de Kinyoun (MK), resultando negativo para todas las otras determinaciones. Se inició un tratamiento con azitromicina (10 mg/kg, durante 14 días) y paromomicina (5 mg/kg durante 5 días), luego de lo cual el animal aumentó de peso y presentó buen estado general y heces de consistencia normal. Una vez sin sintomatología manifiesta, se realizó un nuevo control antes de su traslado a uno de los portales de Iberá (portal Carambola), con resultados negativos tanto a la TF y MK como a la inmunofluorescencia directa - IFD - (kit SRID de VMRD Inc. Pullman, WA) sobre muestras de MF. El resultado positivo para criptosporidiosis obtenido por TF y MK, la historia de controles, los síntomas que presentaba el paciente - coincidentes con lo que se reporta para esta enfermedad en varias especies animales - y la respuesta al tratamiento aplicado permiten adjudicar a la presencia de *Cryptosporidium* el cuadro clínico manifestado. Es posible que las condiciones previas a su ingreso, de cautiverio y convivencia con otras especies animales y la probable inmunosupresión ligada al estrés de los trasladados, hayan sido predisponentes para la manifestación clínica. El control previo a la salida de cuarentena mediante el uso de las pruebas diagnósticas TF, MK y la IFD (más sensible y específica para la detección de *Cryptosporidium* spp. en las muestras de materia fecal de animales parasitados) indicarían que el diagnóstico presuntivo era adecuado y el tratamiento logró un control clínico. Si bien hubiese sido adecuado realizar más diagnósticos, sobre todo al inicio de los síntomas, es necesario considerar que el hallazgo comprende una especie no doméstica y con propósito de ser reintroducida en su medio natural, lo que supone un manejo limitado y escaso de las muestras. Tanto toltrazuril como la combinación de azitromicina y paromomicina han mostrado ser opciones prometedoras para el tratamiento de la criptosporidiosis en animales. Toltrazuril ha demostrado eficacia en la reducción de la carga parasitaria y mejora de los síntomas clínicos, mientras que la combinación de azitromicina y paromomicina ofrece un enfoque terapéutico dual que puede potenciar la efectividad contra *Cryptosporidium*. El uso de azitromicina y paromomicina está reportado para *M. trydactilia* y en este caso mostró resultados positivos. Los osos hormigueros gigantes pueden adquirir la infección por *Cryptosporidium* spp. principalmente a través de la ingestión de ooquistes contaminados presentes en el medio ambiente, el contacto con fuentes contaminadas o la interacción con otros animales infectados que actúan como reservorios del parásito. Este reporte pretende mostrar los desafíos que se enfrentan cuando se trabaja con especies silvestres, cuando la posibilidad de

realizar diagnósticos y/o tratamientos estandarizados para animales domésticos significa una constante adecuación de los protocolos en busca de mejorar la eficiencia en el cuidado de la salud animal y humana.

Ibañez-Escribano A, Nogal-Ruiz JJ, Delclaux M, Martinez-Nevado E, Ponce-Gordo F. 2013. Morphological and molecular identification of *Tetratrichomonas* flagellates from the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). Research in Veterinary Science. 95(1): 176-81. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.01.022>

P-022-24. Identificación molecular de especies de *Trypanosoma* en diferentes sistemas productivos de la provincia de Formosa

Zimmer PA^{1*}, Guillemi E², Menéndez JF³, Paoletta M², Lozina L⁴, Farber M²

1. Agencia de Extensión Rural INTA Formosa, provincia de Formosa, Argentina
2. Laboratorio de Hemoparásitos, Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina
3. Actividad privada, Formosa, provincia de Formosa, Argentina
4. Centro de Investigación y Transferencia, Formosa, provincia de Formosa, Argentina

* zimmer.patricia@inta.gob.ar

Los tripanosomas son parásitos hemoflagelados de importancia en la salud humana y animal. El género *Trypanosoma* posee una diversidad biológica amplia. Esta se ve reflejada en la extensa variedad de vertebrados a los cuales puede parasitar (mamíferos, aves, reptiles y anfibios), así como también por los vectores/transmisores (moscas, mosquitos, sanguijuelas, triatomíneos). En Sudamérica, se han detectado *T. cruzi*, *T. vivax*, *T. evansi*, *T. equipardum*, y *T. theileri*. Los tripanosomas de la sección salivaria, *Trypanosoma vivax*, *T. evansi* y *T. equipardum*, están asociados a enfermedades en animales de producción. La provincia de Formosa se encuentra dentro del dominio fitogeográfico Chaqueño; de las 13 regiones que lo componen, 4 se encuentran en el territorio provincial: Chaco semiárido, Chaco subhúmedo, Chaco húmedo con bosques, pajonales y palmares de caranday y Chaco húmedo con bosques y cañadas. Este trabajo tuvo como objetivo estimar porcentajes de positividad de *Trypanosoma* spp. en bovinos de diferentes sistemas de producción de la provincia de Formosa e identificar la variedad de las especies presentes en sangre de bovinos.

Se realizó un estudio observacional de tipo transversal, con selección de establecimientos y muestreo por conveniencia, no probabilístico, con el fin de aumentar la probabilidad de detección de animales infectados con *Trypanosoma* spp. Se seleccionaron establecimientos ganaderos dedicados a la cabaña y cría (Chaco húmedo de bosques, pajonales y palmares de caranday), recría (Chaco subhúmedo) y tambo familiar (Chaco húmedo con bosques y cañadas) de la provincia de Formosa. En los establecimientos de cabaña, cría y recría se obtuvieron entre 50 y 60 muestras por establecimiento. En el caso de ganadería familiar se tomaron 30 muestras que correspondían a la totalidad de animales adultos. Se tomaron muestras de sangre con anticoagulante, conservada a -20°C hasta su procesamiento. En total se colectaron 198 muestras de sangre; en todos los casos los animales seleccionados fueron mayores de un año. Para la detección molecular de *Trypanosoma* spp. la extracción de ADN se realizó con el kit comercial de Roche® siguiendo las indicaciones del fabricante. Se amplificó la región hipervariable D7 de la subunidad mayor del ribosoma 24S común a todo el género *Trypanosoma*. Con el fin de identificar las especies de tripanosomas presentes en las muestras, se realizó la técnica de hibridización reversa en línea (RLBH). La membrana utilizada contiene sondas específicas para la detección de *T. evansi*, *T. theileri*, *T. vivax*, *T. sp. Formosa* y el *Trypanosoma* KG1 descripto por

Thekisoe y colaboradores. A partir de las muestras positivas a la PCR de género, se amplificó la subunidad menor del gen ribosomal 18S de *Trypanosomaspp.* mediante una PCR semianidada, utilizando un grupo de cebadores (dos externos y uno interno marcado con biotina).

A partir de las muestras analizadas de cada sistema productivo se detectaron 59 muestras positivas a *Trypanosoma* spp. A partir de estos resultados, se calculó el porcentaje de positividad para cada uno de los sistemas productivos. En el establecimiento dedicado a cabaña (n:58), fue detectado 5% de positividad, siendo los 3 animales positivos a *T. theileri*. En cría (n:60) el porcentaje de positividad fue del 38%. De los 23 animales positivos, 20 fueron positivos a *T. theileri* y 3 fueron clasificados como *Trypanosoma* spp. En la recría (n:50), se detectó el 26% de positividad. De las 14 muestras positivas, 10 correspondieron a *T. theileri*, 1 a *T. evansi*, 2 presentaron coinfección tanto por *T. theileri* como por *T. evansi* y 1 a *Trypanosoma* spp. En el establecimiento de tambo familiar (n:30), se detectó el 63% de positividad a *Trypanosoma* spp. De las 19 muestras positivas, 16 fueron *T. theileri*, 2 presentaron coinfección tanto por *T. theileri* como por *T. evansi* y 1 presentó una triple infección por *T. theileri-T. evansi-Trypanosoma KG1*. A nivel de unidad vegetativa, en el Chaco húmedo de bosques, pajonales y palmares de caranday se detectaron 23 animales positivos (20 a *T. theileri* y 3 a *Trypanosoma* spp.). En el Chaco subhúmedo, el total de positivos fue 14 (10 *T. theileri*, 1 *T. evansi*, 1 *Trypanosoma* spp. y 2 a *T. theileri-T. evansi*). Por último, en el Chaco húmedo de bosques y cañadas, se detectaron 19 muestras positivas (16 *T. theileri*, 2 *T. theileri-evansi* y 1 *T. theileri-evansi-KG1*).

En el presente trabajo se evidencia el alto porcentaje de detección de especies de *Trypanosoma* en los bovinos de explotaciones ganaderas de la provincia de Formosa. Si bien la especie identificada más frecuentemente fue *T. theileri*, también fue posible evidenciar la presencia de *T. evansi* *al mismo tiempo que T. theileri en 4 muestras*, o la triple combinación *T. theileri-T. evansi-T. KG1*. Esta última especie (*Trypanosoma KG1*), fue previamente aislada y caracterizada a partir de *Haemaphysalis hystricis*, lo cual sugiere que las garrapatas podrían intervenir en la epidemiología de los tripanosomas que circulan en los bovinos. En particular, de los establecimientos analizados, el tambo familiar ubicado en el Chaco húmedo de bosques y cañadas fue el que arrojó mayor porcentaje de positividad (63%). Los resultados de este trabajo permiten especular acerca de la influencia de las unidades de vegetación sobre la transmisión de tripanosomas bovinos propiciando las condiciones para el desarrollo de diversos vectores/transmisores.

Souto R, Vargas N, Zingales B. 1999. *Trypanosoma rangeli*: discrimination from *Trypanosoma cruzi* based on a variable domain from the large subunit ribosomal RNA gene. *Experimental Parasitology*. 91(4):306-314.
<https://doi.org/10.1006/expr.1998.4380>

Paoletta MS, Lopez Arias L, de la Fourniere S, Guillemi EC, Luciani C, Sarmiento NF, Mosqueda J, Farber MD, Wilkowsky SE. 2017. Epidemiology of Babesia, Anaplasma and *Trypanosoma* species using a new expanded reverse line blot

hybridization assay. Ticks and Tick-borne Diseases. 9(2):155-63.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.08.011>

Thekisoe O, Honda T, Fujita H, Battsetseg B, Hatta T, Fujisaki K, Sugimoto C, Inoue N. 2007. A trypanosome species isolated from naturally infected *Haemaphysalis hystricis* ticks in Kagoshima Prefecture, Japan. Parasitology 134(7):967-974. <https://doi.org/10.1017/S0031182007002375>

P-023-24. Evaluación de esquemas alternativos de tratamientos con lactonas macrocíclicas para el control de *Psoroptes ovis*

Herrera R^{1*}, Lifschitz A², Martinez A¹, Soler P¹, Zabaleta G¹, Lauroa C¹, Cabrera R¹, Chodilef M¹, Gallardo M¹, Larroza M¹

1. Grupo de Salud Animal (GSA) INTA Bariloche, provincia de Río Negro, Argentina

2. Centro de investigación Veterinaria (CIVETAN) Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina.

* herrera.rodolfo@inta.gob.ar

La sarna común o sarna psoróptica ovina es una enfermedad parasitaria altamente contagiosa producida por el acaro *Psoroptes ovis* y su denuncia y control son obligatorios en todo el territorio argentino según lo establece el SENASA (Ley N° 14.305). El tratamiento de la sarna psoróptica puede realizarse a través de dos estrategias farmacológicas: los baños de inmersión con organofosforados o piretroides, y los tratamientos inyectables con lactonas macrocíclicas (LM). Para ser aprobados como antisáricos ovinos todos los tratamientos deben llegar al 100% de eficacia a los 21 días después de iniciados. En los últimos años se registró un aumento en los casos de sarna ovina en la Región Patagónica, sumado al reporte de fallas en la eficacia de los tratamientos inyectables. En este sentido, trabajos realizados en la provincia de Río Negro, demostraron que los tratamientos con algunas formulaciones de LM no alcanzaron el 100% de eficacia para controlar la enfermedad en animales infectados con *P. ovis*. Frente a esta situación, se realizó la evaluación de esquemas alternativos de tratamientos con distintas formulaciones de lactonas macrocíclicas inyectables. Los ensayos fueron realizados frente una población de ácaros proveniente de un establecimiento rionegrino donde se reportaron fallas para el control de la enfermedad con productos inyectables. El estudio fue realizado en instalaciones cuarentenarias del INTA Bariloche. Los ovinos fueron inoculados con ácaros según las directrices de la Asociación Mundial para el Avance de la Parasitología Veterinaria (WAAVP). Para esto, se obtuvieron ácaros vivos mediante raspajes de piel realizados en ovinos donantes naturalmente infestados, e inmediatamente fueron inoculados en los animales de experimentación, sobre la piel de los hombros y caderas de ambos flancos. Para prevenir la pérdida del material inoculado por rascado, el mismo fue mantenido durante 7 días sobre la piel, mediante la colocación de bandas elásticas sobre el vellón. El día 50 post inoculación se confirmó la presencia de infestación en todos los animales, se los dividió en 5 grupos de 6 animales cada uno y a cada grupo se le asignó un tratamiento diferente:

- Grupo 1: ivermectina 1%, 0,6 mg/kg por vía SC al día 0 y al día 7 postratamiento.
- Grupo 2: ivermectina 3,15%, 1,05 mg/kg por vía SC al día 0.
- Grupo 3: moxidectina 1%, 0,5 mg/kg por vía SC por vía SC al día 0 y al día 7 postratamiento.
- Grupo 4: doramectina 1%, 0,6 mg/kg por vía SC por vía SC al día 0 y al día 7 postratamiento.

- Grupo 5: doramectina 3,15%, 1,26 mg/kg por vía SC al día 0.

Debido a las serias implicancias de la sarna psoróptica en el bienestar animal, y en concordancia con las recomendaciones de la WAAVP, no se incluyó un Grupo Control en el ensayo. Los días 0, 7, 14, 21, 28 y 35 post-tratamiento se realizaron raspajes de piel y se tomaron seis muestras (3 cm^2) sobre lesiones activas de cada animal. Para el conteo de ácaros en el laboratorio las muestras fueron colocadas bajo una fuente de luz y calor y pasados unos minutos fueron observadas con lupa estereoscópica. La eficacia de los tratamientos fue calculada mediante la comparación de los conteos de ácaros en los grupos experimentales antes y después del tratamiento, a través de la fórmula de Abbott (1925):

Eficacia (%) = $[(\text{Promedio ácaros día 0} - \text{Promedio ácaros día X}) / \text{Promedio ácaros día 0}] \times 100$. A partir de este cálculo se obtuvieron los siguientes resultados:

- La moxidectina y la doramectina al 1% utilizadas a una dosis total de 1 y 1,2 mg/kg, respectivamente, lograron 100% de eficacia al día 21 y los conteos se mantuvieron negativos hasta el final del ensayo.
- La doramectina al 3,15% no logró alcanzar el 95% de eficacia durante el ensayo.
- La ivermectina al 1%, utilizada a una dosis total de 1,2 mg/kg, no alcanzó el 90% de eficacia durante el ensayo.
- La ivermectina al 3,15% no logró alcanzar el 98% de eficacia durante el ensayo.

Teniendo en cuenta que la dosis total de LM fue equivalente en todos los grupos (entre 1-1,2 mg/kg), es necesario entender la relación farmacocinética/farmacodinámica que explican las diferencias observadas, estableciendo posibles predictores de eficacia a través de parámetros que reflejen la acción de los fármacos por dependencia del tiempo de acción, de su concentración o de ambos.

A partir de los resultados obtenidos, se desprende que en poblaciones de ácaros con susceptibilidad reducida a las LM y en ausencia de otras opciones terapéuticas disponibles, es crucial explorar nuevos esquemas de tratamiento que apunten a lograr una eficacia del 100%. Si bien este trabajo proporciona información valiosa, es necesario profundizar estos estudios para entender las bases farmacológicas de estos resultados y así poder contar con alternativas terapéuticas promisorias para el control de esta parasitosis.

Holdsworth P, Rehbein S, Jonson N, Peter R, Vercruyse J, Fourie J, 2022. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP): Guideline for evaluating the efficacy of parasiticides against ectoparasites of ruminants. Veterinary Parasitology. (302): 109613

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109613>

Larroza M, Soler P, Robles C, Cabrera R, Cantón C, Lanusse C, Lifschitz A, 2020^a. Falla en la eficacia de dos formulaciones de ivermectina contra *Psoroptes ovis* (Hering, 1838) en ovinos. Revista FAVE–Sección Ciencias Veterinarias 19 (1): 23-29. <https://doi.org/10.14409/favecv.v19i1.9292>

Larroza M, Soler P, Robles C, Cabrera R, Ballent M, Lanusse C, Lifschitz A, 2020^b. Doramectin efficacy against *Psoroptes ovis* in sheep: Evaluation of pharmacological strategies. Experimental Parasitology. (218):107998.
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107998>

P-024-24. Concordancia entre una prueba de inmunofluorescencia indirecta “in house” y una prueba rápida para la detección de anticuerpos frente a *Leishmania infantum* en perros

Sánchez RO^{1*}, Nina L², Barroso PA², Marco JD².

1. ROSLAB Laboratorio de Diagnóstico Veterinario, Concordia, provincia de Entre Ríos, Argentina

2. Instituto de Patología Experimental (CONICET - Universidad Nacional de Salta), provincia de Salta, Argentina

* ricardosanchez74@gmail.com

La leishmaniosis visceral (LV) es una enfermedad parasitaria de alto impacto en salud pública a nivel mundial. Es causada por el protozoario *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum*, que afecta a humanos, perros y otros mamíferos. Los caninos son considerados el principal reservorio de la enfermedad y el diagnóstico en ocasiones es complejo y se necesita recurrir a más de uno de los métodos diagnósticos disponibles.

El objetivo del presente estudio es evaluar la concordancia entre una prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) realizada *in house* en el laboratorio y una prueba comercial de inmunoanálisis (rk39) *Kalazar Detect™* Imbios.

Se realizó un estudio retrospectivo de 120 sueros caninos provenientes de la ciudad de Concordia, Entre Ríos, un área endémica de transmisión de leishmaniasis visceral canina (LVc). La IFI se llevó a cabo empleando promastigotes de *L. (L.) infantum* cepa MHOM/MA/67/ITMAP-263 cultivados en medio RPMI 1640, suplementado con 10 % de suero fetal bovino. Para la obtención de los promastigotes se procedió a la filtración en gasa estéril del cultivo y posterior centrifugación a 3500 rpm x 15 min. Posteriormente se descartó el sobrenadante y se resuspendió en PBS estéril (pH 7,2). Este procedimiento de lavado se repitió 3 veces. Luego el sedimento fue inactivado en formol al 1% x 24 h. Para la adhesión de los parásitos en los portaobjetos, la cantidad se ajustó a 20-50 parásitos por campo 40x, diluyendo con solución fisiológica. Luego de secados los portaobjetos se fijaron por calor y se guardaron congelados. Para la inmunofluorescencia se utilizó conjugado anti-IgG canina marcado con fluoresceína (Sigma-Aldrich) a la dilución de 1:100. Los sueros fueron procesados a la dilución única de 1/40, utilizando esta dilución como punto de corte. El protocolo de IFI utilizada incluyó incubaciones de 30 minutos en estufa a 37°C, tanto de los sueros como del conjugado y de 3 lavados consecutivos con PBS (pH 7,6) por 10, 5 y 3 minutos luego de cada incubación. Los resultados obtenidos fueron comparados mediante una prueba de concordancia kappa.

De los 120 sueros analizados, 42 fueron positivos a ambas pruebas, 2 fueron positivos a IFI y negativos a rk39, 75 fueron negativos a ambas pruebas, y 1 fue positivo a rk39 y negativo a IFI. El coeficiente de correlación kappa fue de 0,946 (IC95% 0,88-1,00). Esto indica que existió una excelente concordancia entre ambas pruebas. A pesar de que la inmunoanálisis se destaca por su rapidez y facilidad de uso, la IFI es uno de los métodos más utilizados para el diagnóstico y seguimiento serológico de la leishmaniosis ya que es una técnica cuantitativa que

permite cuantificar la respuesta inmune humoral. Ambas pruebas detectan anticuerpos diferentes lo que podría explicar las discrepancias halladas; sin embargo, podrían complementarse y ser de ayuda en la detección de animales verdaderamente infectados.

Lira RA, Cavalcanti MP, Nakazawa M, Ferreira AG, Silva ED, Abath FG, Alves LC, Souza WV, Gomes YM. 2006. Canine visceral leishmaniosis: a comparative analysis of the EIE-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos and the IFI-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos kits. *Veterinary Parasitology*. 137(1-2):11-6.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.12.020>

Mendonça IL, Batista JF, Schallig H, Cruz MDSPE, Alonso DP, Ribolla PEM, Costa DL, Costa CHN. 2017. The performance of serological tests for *Leishmania infantum* infection screening in dogs depends on the prevalence of the disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 59:2017.

<https://doi.org/10.1590/S1678-9946201759039>

Organización Mundial de la Salud (OIE). 2021. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Leishmaniosis [En línea] Disponible en https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.01.11_Leishmaniosis.pdf

[Consultado 3/5/2024]

P-025-24. Tipificación molecular de *Eimeria* sp. en sistemas de producción familiar avícola peri-urbanos en dos países de América del Sur

Pisón Martínez ML¹, Britez J², Poklepovich T³, Trangoni M⁴, Alegría-Morán R⁵, Ramírez-Toloza G⁶, Rodríguez A¹, Tomazic ML^{1,7*}

1. Instituto de Patobiología Veterinaria, INTA-CONICE, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Cátedra de Parasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

3. Unidad Operativa Centro Nacional de Genómica y Bioinformática - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

4. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA-CONICET. Buenos Aires, Argentina

5. Escuela de Medicina Veterinaria, Sede Santiago, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Santiago de Chile, Chile

6. Laboratorio de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile

7. Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (UBA), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

* tomazic.mariela@inta.gob.ar

La coccidiosis aviar es una enfermedad parasitaria intestinal altamente contagiosa causada por un protozoario del género *Eimeria*. Hay 7 especies que infectan pollos y gallinas: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* y *E. tenella*. Los cuadros clínicos varían según la especie involucrada, la dosis infectiva y el estado inmunitario del animal. *E. tenella*, *E. brunetti* y *E. necatrix* ocasionan diarreas hemorrágicas, en cambio especies como *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis* y *E. praecox* generan cuadros de mala absorción. De esta manera, la infección se ve reflejada en detrimento de los parámetros productivos de las aves, generando importantes pérdidas económicas. Numerosos trabajos de investigación sobre la coccidiosis aviar se encuentran avocados a la producción intensiva pero la información acerca de la situación de la enfermedad en avicultura familiar (AF) es escasa. El objetivo del trabajo fue realizar un relevamiento de las especies circulantes en AF, tanto en producciones de carne como de huevo de distintas regiones periurbanas de Argentina y Chile. En el trabajo se incluyeron 37 muestras con más de 10^5 ooquistas que fueron diagnosticadas previamente en 90 producciones de AF periurbanas: Área Metropolitana de Buenos Aires y Provincia de Buenos Aires (n= 50) en Argentina, y regiones Metropolitana de Santiago y O'Higgins (n= 40) en Chile que arrojaron una prevalencia de 85,4%. Los ooquistas fueron aislados (mediante flotación con solución saturada de ClNa D: 1,2 g/l), y se incubaron a 28°C en solución de dicromato de potasio 2%, con agitación y humedad por 48-72 h. Así, se obtuvieron los ooquistas esporulados. Posteriormente, se realizó su ruptura utilizando bolillas de vidrio y disruptor celular. El ADN fue extraído y se midió su concentración y calidad con

espectrofotometría. Para la tipificación molecular, se emplearon dos PCR múltiples (PCRs-m) por muestra. La PCR-m se dividió en dos reacciones (M1 y M2). La reacción M1 contenía 1x Gotaq Buffer; 2,5 U de Gotaq polymerase; 200 μ M de dNTPs; 0,72; 0,56 y 0,56 μ M de oligonucleótidos RAPD-SCAR de *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. maxima*, respectivamente. La reacción M2 incluyó la misma proporción de buffer; GoTaq polimerasa y dNTPs y 0,88; 0,72; 0,56 y 0,56 μ M de oligonucleótidos RAPD-SCAR de *E. brunetti*, *E. mitis*, *E. praecox* y *E. necatrix*, respectivamente. Los productos de PCR de *E. acervulina* (812 pb), *E. tenella* (520 pb) y *E. maxima* (272 pb) en la reacción M1 y *E. brunetti* (620 pb), *E. mitis* (460 pb), *E. praecox* (354 pb) y *E. necatrix* (200 pb) en la reacción M2 fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2,5% utilizando Sybrsafe y observado con luz UV. Por otro lado, se amplificaron en forma individual los 7 fragmentos de RAPD-SCAR a partir de ADN de ooquistes frescos de *Eimeria* sp. presentes en la vacuna Prevencoc E7 (contiene las 7 especies) y se clonaron en un plásmido PGEM-T, siguiendo las recomendaciones del fabricante. Luego de la selección de cada clon positivo de SCAR- *Eimeria* sp. en placas de LB ampicilina, los plásmidos fueron purificados utilizando Wizard Plus SV Miniprep y cuantificado con Nanodrop. Diez μ l de cada plásmido purificado fueron combinados y utilizados en una dilución 1/1000 como control positivo en las PCR-m. Los resultados revelan la presencia de las 7 especies de *Eimeria* sp. en pollos siguiendo la siguiente frecuencia: *E. mitis* (24,1%), *E. acervulina* (21,3%) y *E. tenella* (20,4%) seguido de *E. maxima* (14,8%), *E. praecox* (11,1%), *E. necatrix* (6,5%) y *E. brunetti* (1,9%). No se encontraron diferencias significativas ($P = 0,9764$) entre ambos tipos de producciones, pero considerando que las especies más frecuentes fueron también halladas en las aves de mayor edad y asintomáticas, estas podrían diseminar las especies parásitarias. Esto coincide con trabajos realizados en Argentina con técnicas tradicionales y en granjas comerciales, aunque con una frecuencia de especies ligeramente distinta. En Chile, un trabajo en granjas comerciales halló todas las especies menos *E. brunetti*. Las infecciones combinadas con 2 o 3 especies fueron las más frecuentes en aves que presentaron cuadros clínicos y subclínicos. En cuanto a las aves que presentaron diarrea sanguinolenta, las especies más encontradas (16/21 casos) fueron *E. tenella* y *E. brunetti*, pero también fueron encontradas en casos asintomáticos (6/14), lo que destaca la importancia de la detección molecular en el diagnóstico para establecer medidas de control y prevención inclusive en aves asintomáticas. En 6 de cada 8 infecciones simples en producciones de huevo se encontró solamente *E. mitis*. A pesar de estar poco reportada a nivel mundial, se ha demostrado que posee una prevalencia del 54,0% en producciones de traspasio de Australia en conjunto con especies crípticas, sugiriendo que *Eimeria* sp. presenta una distribución variable tanto geográficamente como entre los distintos sistemas de producción. En otro trabajo se evidenció que el 20,7% de las infecciones en producciones traspasio en Grecia fueron infecciones simples y el 79,3% fueron combinadas. En la mayoría de las muestras analizadas (40,5%) se encontraron huevos de parásitos gastrointestinales, aunque no se evaluaron otras coinfecciones. Para concluir, la tipificación molecular es una herramienta valiosa para realizar el diagnóstico de la

coccidiosis aviar ya que nos permite identificar de manera certa las especies circulantes dentro de las producciones sin necesidad de realizar necropsias ni procedimientos complejos y largos. De esta manera, este trabajo constituye el primer reporte de tipificación molecular de *Eimeria* en AF y contribuye al conocimiento de esta parasitosis y al establecimiento de medidas de prevención y tratamiento adecuado.

Alcaíno H, Gonzalez JP, Fredes F, Gorman T. 2002. Avian Coccidia in Poultry Farms from Chile. Parasitología Latinoamericana. 57(1-2):34-9.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0717-77122002000100009>

P-026-24. 20 años de estudios coproparasitológicos en reptiles: un análisis de lo observado

Regner, P^{1,2,3}

1. Cátedra de Producción, Manejo y Conservación de Fauna Silvestre, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

2. Área de Zootoxicología / Serpentario, 1º Cátedra de Toxicología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

3. Recursos Faunísticos, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Pilar, Provincia de Buenos Aires, Argentina

* pablo.regner@gmail.com

En general los animales de fauna silvestre en sus poblaciones naturales poseen bajas cargas de parásitos en forma aparentemente asintomática. Por el contrario, durante el cautiverio, la condición de ambiente restringido es motivo para que las cargas parasitarias aumenten y afecten la salud de los reptiles. Si a esto sumamos condiciones de alimentación y manejo no adecuadas, podemos observar un aumento exponencial de la carga parasitaria y, como consecuencia, la aparición de signos clínicos de la enfermedad. Así es como las enfermedades parasitarias son de las más comunes en reptiles en cautiverio. A pesar de esto, la información sobre la prevalencia de parasitosis en reptiles de compañía es escasa y en algunas especies nula. Este trabajo describe los resultados obtenidos de la evaluación de 7624 análisis coproparasitológicos realizados a individuos de 80 especies de reptiles durante el período 2004-2024. Los individuos testeados no poseían historial de desparasitación previa y se encontraban en recintos bajo parámetros de temperatura, humedad y ciclo lumínico controlado. Se obtuvieron muestras de materia fecal, fresca y en solución de formol bufferado. Las muestras se procesaron por métodos directos, para la detección de protozoarios flagelados y ciliados y por métodos de concentración. Se realizó tinción de Kinyoun para *Cryptosporidium* spp. Se observó una prevalencia de parásitos mayor dentro del Orden Squamata (53%) al observado en el Orden Testudines (49%). Si solo observamos dentro del orden de los escamosos, los más afectados fueron los saurios, en los que la prevalencia ascendió a 68%, siendo de 41% en serpientes. La especie más afectada fue *Eublepharis macularius* con un 85%, seguido por *Pogona vitticeps* (73%), *Chlamidosaurus kingii* (60%), *Python regius* (51%) y *Chamaleo calyptratus* (50%). La mayor prevalencia de endoparásitos estuvo dada por nematodes, mientras que en saurios lo fue por oxiúridos (69%) y en serpientes por estrongilidos, alcanzando un 22%. Otros nematodes observados fueron ascarídidos (14%), *Capillaria* spp. (8%), rabdítidos (5%), cestodes (2%) y pentastómidos (1%). A su vez, se observaron varias especies de protozoarios; los flagelados afectaron principalmente a *E. macularius* (41%), seguidos por *Panterophis* spp. (25%), *Lampropeltis* spp. (18%) y *P. regius* (15%). Se observaron coccidios con alta prevalencia (40%) en *P. vitticeps*, *C. kingii* (33%) y

Chamaleo spp. (32%). En el resto de las especies de saurios y serpientes la prevalencia fue muy baja (3%). Otro protozoario de gran importancia como es *Cryptosporidium* spp. se observó en un 1% de las serpientes y en un 3% de los saurios. La prevalencia de nematodos en Testudines fue del 33%, siendo de 63% en *Chelonoidis chilensis* y 58% en *Agrionemys horsfieldii* y *Chelonoidis carbonaria*. A su vez, dentro de este Orden, se observó una alta prevalencia de protozoarios ciliados (15%), siendo esta diferencia notoria en especies terrestres herbívoras (*Ch. chilensis*, *Ch. carbonaria*, *Centrochelys sulcata* y *Agrionemys horsfieldii*) en las que se observó una prevalencia de hasta el 74%, mientras que en especies omnívoras o carnívoras (*Trachemys scripta*, *Graptemys kohni*, *Chelydra serpentina*, *Phrynops hilarii*, etc.) fue nula. Al igual que lo observado en otros estudios realizados en saurios bajo condiciones controladas, en todos los casos que se observó más de una especie de parásitos, casi siempre se encontró presente una de oxiúridos. Todavía existe controversia en el posible equilibrio dinámico inmunomodulado entre los oxiúridos y los reptiles huéspedes. Bajo esta premisa los reptiles solo presentarían altas cargas parasitarias de oxiúridos al producirse una inmunosupresión dada por otro patógeno o estrés. Esto podría explicar parte de lo observado, pero por otro lado y dado que son de ciclo directo y de alta tasa reproductiva, la alta prevalencia y carga parasitaria sería algo esperable en individuos que se encuentran restringidos a recintos cerrados con sustratos que dificulten la desinfección. Por otro lado, en un estudio que realizamos sobre la tasa de crecimiento de crías de *Eublepharis macularius* parasitadas con oxiúridos (*Pharyngodon* spp.) en comparación con otras desparasitadas, la misma fue estadísticamente diferente. A diferencia de lo observado en saurios, en serpientes, la prevalencia de multiparasitosis es bastante menor, por debajo del 10%, y esto podría estar relacionado a que justamente no suelen ser afectados por oxiúridos. Otra observación, que se considera de gran importancia, es que la alta incidencia de protozoarios flagelados y ciliados observados en las muestras de materia fecal directas no guardan relación con la presencia de quistes de los mismos en las muestras de materia fecal formolada. Esto nos hace pensar que gran parte de estos protozoarios flagelados o no forman quistes, característica descripta para varias especies del orden Trichomonadida en reptiles, o, si forman quistes, los mismos son sensibles a la acción del formol destruyéndolos. Como puede observarse, la prevalencia de parasitosis internas en reptiles bajo condiciones controladas es alta, siendo una de las principales causas de consulta en la clínica de estas especies. Más allá de esto, la mayoría de los parásitos observados son de fácil tratamiento y la detección precoz de los mismos, mediante un análisis coproparasitológico, es una herramienta útil y necesaria para evitar la presentación clínica de estas parasitosis. Dado que estos animales se encuentran restringidos a recintos, es deseable la desparasitación de estos, por más que las cargas parasitarias sean bajas, ya que actualmente no existe evidencia científica que demuestre un efecto positivo de algún parásito hacia su huésped. Por otro lado, y en relación con la alta prevalencia de protozoarios, se debería tomar al menos una de las muestras en fresco para su análisis directo, en lo posible dentro del consultorio, además de en forma seriada, en solución de formol

bufferado al 5%. Por último, y tal vez siendo un tema a pensar a futuro, es que la mayor parte de los individuos evaluados son exóticos, por lo que, todo lo observado proviene de su ambiente original o, al menos, de su criadero y existe muy poca información de cuál sería el impacto de estos parásitos en nuestro ambiente natural y sobre nuestros animales autóctonos, si llegaran a estar en contacto con ellos.

Šlapeta J, Modrý D, Johnson R. Capítulo 31: Reptile Parasitology in Health and Disease. En: Doneley B, Monks D, Johnson R, Carmel B. 2017. Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice. Hoboken, NJ, Wiley Blackwell, pp. 425-39.

PC-001-24. Enfermedades con signología neurológica en bovinos de la región central de Argentina: análisis retrospectivo de INTA Balcarce (2000-2023)

Marrón Y^{1,2}, Fernández Tovo M^{1,3}, Fiorentino MA¹, Verna A¹, Poo J¹, Lloberas M², Recalt V¹, García JA¹, Morrell E¹, Cantón G^{1*}

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

2. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa, General Pico, provincia de La Pampa, Argentina

3. INTA EEA Mercedes, provincia de Corrientes, Argentina

* canton.german@inta.gob.ar

Las enfermedades que pueden manifestarse clínicamente con signología neurológica pueden tener etiologías muy variables. Incluso existen noxas que no tienen asiento en el tejido nervioso que pueden manifestarse con esta signología. Algunas son zoonóticas y pueden tener impacto en el comercio internacional, por eso es imprescindible una constante vigilancia epidemiológica. El objetivo de este trabajo fue evaluar retrospectivamente las enfermedades con signología neurológica en bovinos analizadas en INTA Balcarce (entre el año 2000 al 2023). Se incluyeron tanto aquellos casos en los que se realizaron visitas a los establecimientos donde se recolectaron muestras, así como aquellos en los que se recibieron muestras recolectadas por los veterinarios de la actividad privada. Las muestras fueron analizadas en los laboratorios de Bacteriología, Virología, Bioquímica Clínica, Parasitología, Toxicología y Patología, para arribar a un diagnóstico etiológico. En ese periodo ingresaron 19372 casos y, de estos, 789 (4,07%) presentaron signología neurológica en bovinos. El 93,8% de los casos registrados ocurrieron en la provincia de Buenos Aires y, con menor frecuencia, en La Pampa, Córdoba y Santa Fe, entre otras. El 61,1% afectó a bovinos menores a los 2 años (terneros, novillitos, novillos y vaquillonas) y el 38,9% a mayores a los 2 años (vacas y toros). El 84,9% se registró en sistemas de producción de carne (cría, engorde a corral o pastoril) y el 15,1% en sistemas de producción lechera. Se identificó la etiología en el 62,8% de los casos siendo las enfermedades diagnosticadas: metabólicas/carenciales (31,4%), tóxicas (13,1%), infecciosas (11,7%), parasitarias (3,8%) y misceláneas (2,8%). En animales menores de 2 años se registraron etiologías metabólicas (15,9%), infecciosas (8,7%), tóxicas (4,6%), parasitarias (3,6%) y misceláneas (1,9%), permaneciendo 26,3% con una etiología indeterminada. Las principales etiologías diagnosticadas fueron polioencefalomalacia nutricional (11,9%), coccidiosis (3,6%), septicemias (3,4%), histofilosis (1,7%), listeriosis (1,4%), hipovitaminosis A (1,2%), lesiones que ocupan espacios craneales (1,2%), hipomagnesemia (0,9%), diplodiosis (0,9%), intoxicación con organofosforados (0,8%), salmonelosis (0,8%) y encefalitis herpética (0,6%), entre otras. En animales mayores a 2 años las principales etiologías diagnosticadas fueron metabólicas (16,0%), tóxicas (8,2%), infecciosas (2,9%), misceláneas (0,9%), parasitarias (0,1%), permaneciendo el 10,7% con una

etología indeterminada. Las enfermedades diagnosticadas con mayor frecuencia fueron hipomagnesemia (13,0%), diplodiosis (3,4%), listeriosis (1,4%), intoxicación con *Claviceps paspali* (1,0%), con *Cynodon dactylon* (0,9%), nitratos (0,9%), *Phalaris* spp. (0,9%) e intoxicación hídrica (0,6%), entre otras. En los casos con etología indeterminada, en el análisis histopatológico se pudieron observar lesiones de encefalitis no supurativa (7,7%) y supurativa (4,3%) que sugerirían la acción de una noxa infecciosa. Estos resultados resaltan la alta frecuencia de enfermedades neurológicas registradas en la región con una clara diferencia etaria. Varias de estas noxas son endémicas en la región, provocando graves pérdidas económicas anualmente en los sistemas de producción (hipomagnesemia, por ejemplo). Esto demuestra el rol relevante de los laboratorios de diagnóstico veterinario y la necesidad de mejorar las herramientas disponibles para mejorar la eficiencia diagnóstica de este síndrome.

Giles L, Orr J, Viora L, Gutierrez-Quintana R, Logue D, Guevar J. 2017. Ruminant neurological disease: a retrospective cohort study. Veterinary Record. 181(14):372-73. <https://doi.org/10.1136/vr.104326>

PC-002-24 Utilidad del proteinograma en el control evolutivo de leishmaniasis

Fontana L.¹, Mórtola E², Pretti R¹, Savignone CA¹, Stornelli MC^{*1}

1. Laboratorio de Análisis Clínicos Hospital Escuela Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Laboratorio de Inmunología veterinaria y CEMIBA, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

* cstornelli@fcv.unlp.edu.ar

La leishmaniasis es una histoparasitosis producida por protozoos de vida intracelular, cuyas manifestaciones pueden ser cutáneas, cutáneo-mucosas o viscerales, según sea la especie de *Leishmania* implicada o la susceptibilidad del huésped afectado. Parasita mamíferos, principalmente roedores, marsupiales, cánidos y primates (incluyendo al hombre). Es una zoonosis mantenida por reservorios domésticos y silvestres, transmitida por vectores dípteros hematófagos del género *Phlebotomus* en el viejo mundo y *Lutzomyia* en el nuevo mundo. Actualmente las condiciones de transmisión han variado, incluso relacionadas al cambio climático y a la deforestación, motivo por el cual los insectos llegan a vivir más cercanos a las viviendas humanas y afectan también a animales en el peridomicilio, que sirven de fuente de infección y mantienen el ciclo de vida del parásito. La valoración de las proteínas totales (PT), albúminas (Alb), globulinas (Gl) y la relación entre ambas, así como el estudio de las distintas fracciones proteicas mediante electroforesis, constituyen elementos útiles para la evaluación de esta enfermedad. Diversos autores comunicaron que las proteínas de fase aguda, aunque no son específicas, pueden considerarse buenos marcadores biológicos de enfermedades y su cuantificación proporciona información temprana útil para el seguimiento terapéutico y el pronóstico. Las distintas alteraciones del proteinograma en pacientes que cursan con leishmaniasis incluyen hiperglobulinemia e hipoalbuminemia así como disminución de la relación Alb/Gl. Uno de los hallazgos clínico-patológicos más frecuentes de esta enfermedad es el aumento policlonal de las inmunoglobulinas (gammapatía) que tiene su origen en la estimulación persistente y exagerada de la respuesta inmune humorar con la activación de varios clones de linfocitos dando lugar a una hipergammaglobulinemia. Esta alteración de la fracción de las gammaglobulinas no se relaciona con la protección, pero sí con la patogenia de la enfermedad y es un dato valioso para la aproximación diagnóstica, el pronóstico y el seguimiento del tratamiento de animales enfermos. Asimismo, el descenso de las globulinas se relaciona con una evolución favorable de los pacientes tratados. Diversos autores han comunicado un proteinograma típico de leishmaniasis, con una hiperproteinemia superior a 8 g/dl, y el incremento de las globulinas, con una relación Alb/Gl igual o inferior a 0,40. La evaluación del control evolutivo y respuesta al tratamiento mediante la titulación de anticuerpos específicos en pacientes con diagnóstico de leishmaniasis, por la técnica de inmunofluorescencia

indirecta (IFI), puede ser un desafío ya que, si bien ocurre una mejoría clínica, persistirán los títulos altos de anticuerpos anti-leishmania, debido a que su disminución es lenta. Sin embargo, la normalización del proteinograma se produce paralelamente a la mejoría clínica y puede usarse como marcador de la misma y detección temprana de recaídas, aunque pueden requerirse evaluaciones hasta 6 meses después de realizado el tratamiento para la completa normalización de los parámetros. El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad del proteinograma en la respuesta al tratamiento de un canino con leishmaniasis. El paciente, mestizo, macho, de un año de edad, evaluado en una clínica privada de El Pato, partido de Berazategui, provincia de Buenos Aires, fue derivado al consultorio de hematología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP por presentar anemia de dos meses de evolución. Durante la evaluación de su historia clínica se observó que el paciente fue adoptado en Misiones. En el examen clínico se observaron mucosas pálidas, decaimiento, conjuntivitis y tos. Se realizaron estudios hematológicos, de bioquímica sanguínea y orina en los que se observó: hematocrito (Hto) 24%; hemoglobina (Hb) 7,70 g/dl; IR: 0,70; PT 10,80 g/dl; Alb 1,80 g/dl; Gl 9 g/dl; relación Alb/Gl: 0,20 y relación proteína/creatinina en orina (UPC): 0,63. El resto de las determinaciones se encontraron dentro de los parámetros normales para la especie. Debido a la presencia de hiperproteinemia con hipergammaglobulinemia y anemia arregenerativa de larga evolución, se decidió realizar un proteinograma electroforético y punción de médula ósea. La electroforesis se realizó sobre cintas de acetato de celulosa (Cellogel®), sembrándose las muestras con aplicador semimicro en buffer borato-acetato (Biopur® pH 8,6. I:0,06) y equipo de electroforesis Labnet®. Las corridas electroforéticas realizadas fueron transparentizadas y posteriormente escaneadas y analizadas con el programa CLIQS® (Core Laboratory Image Quantification Software), que es un software sencillo y accesible para analizar la separación y la cuantificación por densitometría de las diferentes fracciones proteicas. En el proteinograma se observó una gammapatía policlonal (la fracción gamma ocupó el 76,66% de la banda). Por otra parte, en el examen de médula ósea se observaron amastigotes de *Leishmania* spp. Ante este hallazgo, se informó al médico de cabecera para que realizase la denuncia de la enfermedad y comenzara con el tratamiento. Se realizó IFI para obtener el título inicial (1/1280) y se comenzó el tratamiento con allopurinol (20 mg/kg/día). Se realizaron proteinogramas para evaluar la evolución al mes y a los dos meses de instaurado el tratamiento. Si bien al mes continuó observándose la gammapatía policlonal, la fracción gamma ocupó el 53,87% de la banda. Asimismo, se observó un descenso de las Gl a 6,60 g/dl y una relación Alb/Gl de 0,45. Dos meses después de comenzado el tratamiento se observó que la fracción gamma ocupó el 37,57 % de la banda y un descenso de las Gl a 5,70 g/dl y una relación Alb/Gl de 0,51. Nuestros resultados muestran que el proteinograma es de utilidad para realizar el control evolutivo y la respuesta al tratamiento de pacientes con leishmaniasis. Estos hallazgos concuerdan con los comunicados por otros autores.

Carreira, LM, Monteiro P, Azevedo P. 2017. Total proteins, β -and γ -globulins as efficacy therapy response indicators in dogs infected with *Leishmania infantum*—a review. Journal of Veterinary Healthcare. 1(2): 1-11.

<https://doi.org/10.14302/issn.2575-1212.jvhc-17-1764>

Torres M, Bardagí M, Roura X, Zanna G, Ravera I, Ferrer L. 2011. Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniosis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. The Veterinary Journal. 188(3): 346-51.

<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.05.025>

PC-003-24. Parámetros sanguíneos de hembras de vizcacha de llanura (*Lagostomus maximus*) de la estación de cría de animales silvestres de la provincia de Buenos Aires

Gómez Castro G.^{1;2;3}, Acuña F.^{1;2}, Martín L.³, Barbeito C.^{1;2}, Coria F.¹, Pintos M.E.^{3*}

1. Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada (LHYEDEC), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), CCT-La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina

3. Laboratorio Central del Hospital Escuela, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

* eugeniapintos@fcv.unlp.edu.ar

La vizcacha de llanura, *Lagostomus maximus*, es un roedor que comparte hábitat con otros animales y el ser humano (Contarde & Guzmán, 2023). Algunos aspectos de la especie como la bioquímica clínica y hematología se desconocen. El objetivo del trabajo fue determinar valores hematológicos y bioquímicos normales en vizcachas capturadas en la Estación de Cría de Animales Silvestres (Berazategui, provincia de Buenos Aires). Muestras de sangre de 20 hembras de vizcacha, clínicamente sanas, se transportaron refrigeradas en tubos con anticoagulante EDTA y tubos secos. Mediante el uso de un contador celular Sysmex XP-300 se obtuvieron valores de hematocrito (Ht), recuento de eritrocitos (GR) y leucocitos (GB), dosaje de hemoglobina (Hb), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HbCM), concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHbC) y recuento de plaquetas. Además, mediante el autoanalizador InCCA se obtuvieron valores de glucemia, uremia, creatinina, proteínas séricas totales y albuminemia. Las muestras analizadas arrojaron valores de Ht: $37,45 \pm 3,6\%$, GR: $4,92 \pm 0,7 \times 10^6/\mu\text{L}$, GB: $13 \pm 5,1 \times 10^3/\mu\text{L}$, Hb: $11,02 \pm 0,9\text{g/dL}$, VCM: $77,10 \pm 9,41\text{fL}$, HbCM: $22,60 \pm 1,6\text{pg}$, CMHbC: $34,02 \pm 2,4\text{g/dL}$, recuento de plaquetas: $302 \pm 124 \times 10^3/\mu\text{L}$, glucosa: $143,68 \pm 88,06\text{mg/dL}$, urea: $71,81 \pm 24,32\text{mg/dL}$, creatinina: $1,786 \pm 0,30\text{mg/dL}$, proteínas totales: $6,12 \pm 0,67\text{g/dL}$ y albúmina: $4,09 \pm 0,51\text{g/dL}$. Estos resultados aportan información clave sobre los distintos parámetros sanguíneos en animales normales y podrían ser orientativos para detectar tempranamente alteraciones de importancia en salud pública por la eventual transmisión de enfermedades zoonóticas.

Contarde CB, Guzmán DA. Chapter 8: From Pest to Vulnerable Species: Combining Ecological and Behavioural Knowledge for the Conservation and Management of *Lagostomus maximus*. En: Rasia LL, Barbeito CG, Acuña F. 2024. Plains Vizcachas: Biology and Evolution of a Peculiar Neotropical Caviomorph Rodent. Switzerland, Springer Nature, pp. 145-70.

PC-004-24. Efecto del reemplazo del buffer de recuperación antigénica para la detección de la glicoproteína G del virus rábico

Moreno CE¹, Balbiani F¹, Micheloud JF², Fontana D³, Prieto C³, Delgado FO^{1*}

1. Instituto de Patobiología, CICVyA- INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. EEA Cerrillos- INTA, Cerrillos, provincia de Salta, Argentina

3. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, provincia de Santa Fe, Argentina

* delgado.fernando@inta.gob.ar

La inmunohistoquímica (IHQ) permite la detección de antígenos en muestras fijadas en formol. Se ha propuesto su utilidad en el diagnóstico de rabia paresiente, complementando las técnicas de referencia. Las secciones de tejido a utilizar requieren un proceso de “recuperación de antígenos” debido al efecto del formol al 10% sobre las proteínas tisulares. En este trabajo se evaluó el reemplazo de la solución buffer citrato por agua destilada. Se evaluó la inmunomarcación obtenida en 2 grupos de secciones de tejido de muestras de encéfalo fijadas en formol 10% e incluidas en parafina de archivo pertenecientes a 6 bovinos con rabia paresiente confirmada. La IHQ consistió en: desparafinado, recuperación antigénica, bloqueo de actividad de peroxidasa endógena, incubación con anticuerpo primario anti glicoproteína G (MABRVO3, Cellagen Biotech) y revelado con sistema comercial (EnVision- DAB (Dako)). La recuperación antigénica se realizó en un grupo de muestras mediante ebullición en agua destilada (15 min en microondas, 600watts), y en el otro mediante la ebullición en buffer citrato pH6 (15 min en microondas, 600watts). Se observaron las preparaciones en microscopio con objetivos de 4x, 10x y 20x, registrando el menor aumento al cual se detectaba claramente inmunomarcación. La misma se observó a 4x en todos los tejidos evaluados, ubicada en las mismas áreas con ambos tratamientos. Si bien se requieren estudios adicionales, con los reactivos utilizados, el agua destilada podría reemplazar un insumo específico de IHQ, facilitando la implementación de la técnica en laboratorios de baja complejidad para el diagnóstico de rabia.

Ramos-Vara JA, Kiupel M, Baszler T, Bliven L, Brodersen B, Chelack B, Czub S, Del Piero F, Dial S, Ehrhart EJ, Graham T, Manning L, Paulsen D, Valli VE, West K. 2008. Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 20(4): 393-413. <https://doi.org/10.1177/104063870802000401>

Jáuregui GR, Fontana D, Micheloud JF, Prieto C, Delgado F. 2019. Evaluation of new antibodies for the detection of rabies virus in formalin fixed brain tissue samples. *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*. 12(2): 27-32.

<https://10.24070/bjvp.1983-0246.v12i2p27-32>

PC-005-24. Validación de ImageJ como herramienta para la cuantificación de proteinogramas en caninos con ehrlichiosis monocítica

Delgado MB^{1,2}, Mansilla SL^{1,3}, Pereyra N⁵, Rossner MV^{2*}, Angel S⁴

1. Consejo Nacional Investigación Científica y Técnica. (CONICET), Resistencia, provincia del Chaco, Argentina

2. EEA Colonia Benítez, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Colonia Benítez, provincia del Chaco, Argentina

3. Instituto de Medicina Regional de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), Resistencia, provincia del Chaco, Argentina

4. Laboratorio de Parasitología Molecular, INTECH-CONICET, Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), San Martín, provincia de Buenos Aires, Argentina

5. Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Casilda, provincia de Santa Fe, Argentina

* rossner.mariav@inta.gob.ar

El proteinograma es una prueba de laboratorio que evalúa la concentración y composición de las proteínas en el suero sanguíneo. La separación de las proteínas en sus fracciones: albúmina y globulinas α_1 , α_2 , β y γ , permite identificar alteraciones asociadas a diversas enfermedades. Las infecciones agudas suelen elevar las fracciones α_1 y α_2 , mientras que la inflamación crónica se asocia con un aumento de las fracciones α_2 y β . Las hipogammaglobulinemias son un grupo de trastornos caracterizados por niveles bajos de inmunoglobulinas. Esta deficiencia en la respuesta inmunitaria hace a los individuos más susceptibles a infecciones recurrentes. Por otro lado, las gammaglobulinas se refieren a un aumento anormal de las inmunoglobulinas, lo que puede ser indicativo de distintas enfermedades, desde infecciones crónicas hasta neoplasias. Entre estas, la ehrlichiosis monocítica canina, puede tener un impacto significativo en el sistema inmunológico. El proteinograma es útil porque esta enfermedad puede causar tanto una disminución como un aumento anormal de las inmunoglobulinas, dependiendo del tipo de respuesta del sistema inmunológico. Este estudio buscó validar la precisión del software *ImageJ* al compararlo con un sistema comercial de referencia, el Sistema *Quick Gel Split Beta SPE* (Helena Laboratories, USA) con el software Quick Scan Touch para cuantificar las fracciones proteicas. Se utilizaron 35 sueros caninos, preservados a -20°C y descongelados a temperatura ambiente antes del procesamiento. Para la electroforesis, se colocaron las tiras de acetato de celulosa gelificada de origen comercial Progel® en la solución de buffer veronal-veronal sódico (pH 8,6) durante 10 minutos. Posteriormente, se secaron con papel absorbente para eliminar el exceso de buffer y se extendieron sobre el puente de la cuba electroforética con la superficie activa hacia arriba. La siembra de la muestra se llevó a cabo con un capilar (3 μ l). La migración electroforética se llevó a cabo a 140 voltios y 2,5 mA por tira durante 25 minutos. A continuación, se sumergieron las tiras en una solución de rojo Ponceau durante 10 minutos. Se utilizó una cuba de electroforesis horizontal para acetato de celulosa y una fuente de poder JY300

regulable a 300 voltios. Seguidamente, se retiraron las tiras de colorante y se lavaron durante 5 minutos en agua destilada y se decoloraron con una solución de ácido acético al 5% hasta visualizar las bandas. La densidad de cada banda en el patrón de electroforesis fue medida y analizada con el software *ImageJ*. Las imágenes se obtuvieron con la cámara de 48 megapíxeles de un celular modelo SM-A127M y se descargaron en formato JPEG. Para mejorar la visualización de las bandas, se utilizó el menú *Image > Color > Split Channels*, seleccionando el canal *Green* por su mayor contraste con el colorante. Se seleccionó el primer carril de migración utilizando la herramienta de rectángulo en *Analyze > Gels > Select first lane*. El densitograma de las diferentes bandas se generó mediante *Analyze > Gels > Plot Lanes*, creando así una curva densitométrica. Se definieron los límites de cada pico trazando líneas verticales con la herramienta “línea”. Para cuantificar las proteínas, se midió el área debajo de cada pico con la herramienta *Wand Tool*, seleccionando sucesivamente dentro de cada pico según las zonas delimitadas. Esto generó una tabla de áreas medidas llamada *Results*. Posteriormente, se calcularon los porcentajes de las áreas bajo la curva mediante *Analyze > Gels > Label Peaks*, y todos los datos se exportaron a Excel. Para obtener los valores en g/dL de cada banda, se contó con un valor conocido de proteínas totales para calcular cada fracción. Los valores obtenidos se compararon con los valores normales de caninos clínicamente sanos. La concentración de albúmina se encontró en 1,18 g/dL, lo que indica una marcada hipoalbuminemia, dado que los valores de referencia oscilan entre 3,3 y 3,9 g/dL. El valor medio de proteína total fue de 6,3 g/dL, ligeramente por debajo del rango normal de 6,4 a 7,5 g/dL. Los niveles de la fracción α_1 presentaron una media de 0,28 g/dL, dentro del rango de referencia de 0,2 a 0,3 g/dL. En contraste, la fracción α_2 tuvo un valor medio de 0,85 g/dL, superando el rango de referencia que va de 0,3 a 0,4 g/dL. La fracción β mostró un valor medio de 1,83 g/dL, que excede los valores de referencia para la especie, que son de 0,9 a 1,80 g/dL. Por último, la fracción gamma presentó un valor medio de 1,12 g/dL, dentro del rango de referencia de 0,9 a 1,3 g/dL. Este trabajo de cuantificación de las fracciones electroforéticas en caninos proporciona una visión sobre la salud general y permite detectar desviaciones significativas de los valores normales. La hipoalbuminemia y el aumento de la fracción α_2 observados sugieren la necesidad de investigar más a fondo las causas subyacentes, como posibles estados inflamatorios crónicos. La utilización del software *ImageJ* para la cuantificación de bandas electroforéticas facilita el análisis de bioimágenes de manera accesible y precisa. Estos resultados se validaron con el equipo *Sistema Quick Gel Split Beta SPE* en conjunto con el software *Quick Scan Touch*. Este enfoque para el análisis de proteínas plasmáticas no solo mejora la precisión diagnóstica, sino que también resalta la importancia de contar con técnicas accesibles en el ámbito clínico veterinario.

Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*. 9(7): 671-675.

<https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>

Coppo, J A. 2001. Fisiología comparada del medio interno. Buenos Aires, Dunken.
p. 284.

PC-006-24. Tumores intracraneales en bovinos: presentación de dos casos en un rodeo de cría de la provincia de Buenos Aires

Pachianí M.^{1*}, García J.A.¹, Sciolí M.V.¹, Britos G.¹, Barale J.¹, Ovelar F.¹, Woolard K.D.², Uzal F.A.³, Cantón G.¹

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

2. California Animal Health and Food Safety (CAHFS) Davis Branch Laboratory, UC Davis, California, USA

3. CAHFS, San Bernardino Branch Laboratory, UC Davis, California, USA

* pachianí.martina@inta.gob.ar

Las neoplasias son poco frecuentes en animales de producción. En estas especies, los tumores del tejido nervioso son raros, siendo la mayoría tumores de la vaina nerviosa periférica. En este trabajo describimos tumores intracraneales en dos vacas multíparas de un establecimiento ganadero del partido de Coronel Suárez, Buenos Aires. Los dos individuos desarrollaron signos neurológicos en un rodeo de 134 vacas Hereford multíparas consumiendo pastizal natural, en el transcurso de una semana. La vaca nº 1 mostraba hemiplejía facial y giraba en círculos (“torneo” o “circling”). La vaca nº 2 presentaba dismetría de los cuartos traseros y ataxia. La vaca nº 1 fue tratada con tiamina, dexametasona y antibióticos, sin mejoría clínica. Se practicó la eutanasia de ambos animales siguiendo las recomendaciones del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAE) del INTA CERBAS. Durante la autopsia se encontraron masas intracraneales en ambas vacas. Se recogieron muestras de tejido, incluido el sistema nervioso central, para cultivo bacteriológico y aislamiento viral, y se fijaron en formol al 10% para análisis histopatológico. Se realizó inmunohistoquímica (IHQ) de pancitoqueratina y S-100 en los tumores de las vacas nº 1 y nº 2, respectivamente.

En la vaca nº 1 se observó en la base del cráneo una masa de 4 cm, redonda, multilobular pedunculada (ingresando al foramen hipogloso), con una cápsula fibrosa. Al corte se observaron múltiples focos caseosos amarillentos rodeados de tejido fibroso. En la vaca nº 2 se observó en la base del cráneo una masa globosa, blanda y pedunculada de 3-4 cm, próxima al nervio trigémino izquierdo. No se observaron otras lesiones macroscópicas en ninguno de los dos animales.

Histológicamente, la masa de la vaca nº 1 consistía en estructuras multilobulares bien definidas, encapsuladas con una fina capa de tejido conectivo, con extensión desde el tejido conectivo de la duramadre en el techo de la hipófisis. Los lóbulos presentaban múltiples áreas coalescentes de islas con queratina laminar concéntrica (perlas de queratina) central de variado diámetro, ocasionalmente rodeado de capas de células neoplásicas de tipo escamosas presentando un pleomorfismo (anisocitosis y anisocariosis) moderado con menos de 2 figuras mitóticas por campo de alta potencia. Raramente, las células neoplásicas formaban nidos sostenidos por estroma fibrovascular, con leve infiltrado de células mononucleares. Basándonos en la morfología y en la tinción positiva de

pancitoqueratina, se estableció un diagnóstico presuntivo de craneofaringioma. Otros diagnósticos diferenciales considerados son menigioma psamomatoso, neoplasia de células escamosas y tricoepitelioma.

La neoplasia de la vaca nº 2 estaba conformada por un tejido uniforme extenso compuesto por células fusiformes, distribuidas en forma de empalizada y raramente formando paquetes-ovillos, bien delimitado por una fina capa de tejido conectivo. Los haces de células fusiformes se mezclaban ocasionalmente con zonas fibrilares acelulares. Las células neoplásicas fusiformes tenían núcleos ovales alargados y a veces globosos, con una leve a moderada cantidad de citoplasma, cromatina granular y 1 ó 2 nucléolos evidentes. La IHC de la proteína S-100 fue positiva. Basándonos en el aspecto microscópico y en los resultados de la IHC, se estableció el diagnóstico de schwannoma. Otros diagnósticos diferenciales considerados incluyen otros tumores nerviosos periféricos, como neurofibroma, perineuroma o tumor maligno de la vaina nerviosa periférica. En ambos casos (vacas nº 1 y nº 2), los cultivos bacteriológicos y virológicos resultaron negativos.

Las neoplasias son lesiones raramente diagnosticadas en bovinos, siendo más atípico aún la ocurrencia simultánea de dos tumores de distinto origen en un mismo rodeo. En ambos casos se llegó a un diagnóstico morfológico mediante análisis histopatológico y pruebas complementarias de IHC. No obstante, no se dispone de marcadores específicos para tales tumores, por lo que ambos diagnósticos siguen siendo presuntivos. La aplicación de otras técnicas diagnósticas como la microscopía electrónica, tinciones especiales o estudios toxicológicos, podrían ser útiles para detectar un posible factor determinante, si no se trata de una coincidencia temporal. Diferentes factores como la exposición a toxinas ambientales, radiaciones ionizantes o infecciones por virus oncogénicos, y/o inmunosupresores podrían contribuir en la aparición de dichos tumores. Los tumores intracraneales deben incluirse como diagnóstico diferencial, incluyendo masas que ocupan espacios craneales, listeriosis, otitis, así como enfermedades neurológicas bajo programas de control oficial como la rabia o la encefalitis priónica.

Jahns H, McElroy MC. 2022. Bovine intracranial neoplasia: a retrospective case series. *Veterinary Pathology*. 59(5):824-35.

<https://doi.org/10.1177/03009858221100433>

Tomanelli M, Florio T, Vargas GC, Pagano A, Modesto P. 2023. Domestic animal models of central nervous system tumors: focus on meningiomas. *Life*. 13:2284. <https://doi.org/10.3390/life13122284>

RAM-001-24. Vigilancia de la sensibilidad a antimicrobianos en *Staphylococcus aureus* aislados de bovinos en Argentina

Neder VE^{1,*}, Tello D Ellia F¹, Calvino L²

1. EEA Rafaela, INTA, Rafaela, provincia de Santa Fe, Argentina

2. Facultad de Ciencias Veterinarias, Esperanza, provincia de Santa Fe, Argentina

* neder.veronica@inta.gob.ar

Staphylococcus aureus es uno de los patógenos más prevalentes causante de mastitis bovina, debido, entre otros factores, a su capacidad de sobrevivir intracelularmente y de adquirir mecanismos de resistencia a múltiples antimicrobianos (AM). El objetivo de este trabajo fue monitorear la susceptibilidad antimicrobiana de *S. aureus* aislados de leche de vaca frente a antimicrobianos de uso frecuente. Se aislaron 102 cepas de tambos de la cuenca lechera central de Argentina, según procedimientos del National Mastitis Council y confirmados por pruebas bioquímicas. Se realizó la prueba de susceptibilidad a AM mediante difusión en agar según el CLSI usando los siguientes discos: cefoxitina (30 μ g), clindamicina (2 μ g), eritromicina (15 μ g), amoxicilina/ácido clavulánico (20 μ g/10 μ g), rifaximina (40 μ g), neomicina (30 μ g), ceftiofur (30 μ g), cefalotina (30 μ g), oxacilina (1 μ g) y penicilina (10U). Del total de los aislados de *S. aureus*, 19% fueron resistentes a penicilina (19/102), 14% resistentes a amoxicilina+ ácido clavulánico (14/102), 4% a eritromicina (4/102), 3% a clindamicina (3/102), 2% a neomicina (2/102), 1% a cefalotina (1/102) y 1% a oxacilina (1/102). Del total evaluado, 16 cepas fueron resistentes a más de 1 antibiótico (16/102) y 3 cepas fueron simultáneamente resistentes a eritromicina y clindamicina (3/102) prediciendo la sensibilidad a lincomicina. La vigilancia continua es importante para detectar cambios en los patrones de susceptibilidad a los AM para establecer medidas, tanto de uso responsable como regulatorias, para limitar el incremento de la resistencia a antimicrobianos en este patógeno dentro del marco del concepto de “Una Salud”.

CLSI. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard. 4^o Ed. Berwyn. Clinical Laboratory Standards Institute.

Oliver SP, Gonzalez RN, Hogan JS, Jayarao BM, Owens WE. 2004. Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality. 4^o Ed. Verona. National Mastitis Coun.

RAM-002-24. Resistencia de *Fasciola hepatica* al albendazol diagnosticada *in vitro* mediante el test de eclosión de huevos (TEH) en la Patagonia Argentina

Larroza M^{1,*}, Soler P¹, Ceballos L², Álvarez L²

1. Grupo de Salud Animal, EEA Bariloche INTA, provincia de Río Negro, Argentina
2. Laboratorio de Farmacología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) de la Provincia de Buenos Aires, CONICET, Argentina

* larroza.marcela@inta.gob.ar

La fasciolosis, causada por el tremátode *Fasciola hepatica* (*F. hepatica*) es una enfermedad endémica de gran relevancia en majadas y rodeos de la región Patagónica Argentina. De acuerdo con un estudio realizado por el Sistema Regional de Salud Animal (SIRSA) de INTA Bariloche, la prevalencia de fasciolosis en la región en el período 2010-2021 fue de aproximadamente 60% en ovinos y 70% en bovinos. Con respecto a los tratamientos, existe una alta dependencia al uso de fármacos fasciolicidas, administrados varias veces al año, sin un diagnóstico previo que justifique su uso, y en ausencia de planes de control parasitario integrales. Esta alta frecuencia de aplicación, en general sin asesoramiento veterinario, ha contribuido al desarrollo de resistencia antihelmíntica al triclabendazol (TCBZ) y al albendazol (ABZ). Dentro de las técnicas *in vivo* disponibles para diagnosticar la resistencia de *F. hepatica* a fasciolicidas, el test de reducción del conteo de huevos en materia fecal (TRCH) es la más utilizada a campo. El test evalúa la eficacia de los fasciolicidas en base a la disminución del número de huevos de *F. hepatica* después del tratamiento de los animales. En cuanto a las técnicas *in vitro*, el test de eclosión de huevos (TEH), evalúa la eficacia antiparasitaria del ABZ en base a la capacidad de los huevos de *F. hepatica* de desarrollarse y eclosionar en presencia del fármaco.

En este trabajo se presentan los resultados sobre el estado de susceptibilidad / resistencia al ABZ, a partir de aislados de *F. hepatica* de muestras de materia fecal de ovinos provenientes de 13 establecimientos ganaderos de las provincias de Neuquén (2), Río Negro (2), Chubut (7) y Santa Cruz (2). Las pruebas fueron realizadas en el Laboratorio de Parasitología de INTA Bariloche, de acuerdo con la metodología descripta por Canevari et al. 2014. Brevemente, los huevos de *F. hepatica* fueron extraídos de la materia fecal mediante sedimentación y filtrado. Los mismos se incubaron (n= 5) a 25 °C en oscuridad durante 12 horas con ABZ (0,5 nmol/mL). Por cada lote de huevos incubados con ABZ (“tratados”), se incubaron tubos con huevos sin agregado del fármaco (“control”). Después de la incubación, todos los huevos se lavaron para facilitar la eliminación del fármaco y se mantuvieron en oscuridad a 25 °C durante 15 días. Luego de este período, los huevos se expusieron a la luz durante 2-4 h para estimular la eclosión de los miracidios. Los huevos desarrollados (eclosionados y embrionados), y no desarrollados, se evaluaron utilizando un microscopio óptico y se calculó la actividad ovicida, expresada como un porcentaje.

Sobre un total de 13 pruebas realizadas a partir de los aislamientos de *F. hepatica* de 10 localidades patagónicas, 5 (38%) resultaron susceptibles al ABZ, 3 (24%) resistentes y 5 (38%) provenientes de la provincia de Chubut, resultaron sospechosos. Los aislamientos resistentes fueron provenientes de 3 establecimientos de las provincias de Río Negro y Chubut. Cabe destacar que, a su vez, en estos 3 establecimientos también se realizó el diagnóstico *in vivo* mediante el TRCH, obteniendo resultados coincidentes.

Como conclusión, en el contexto actual se evidencia la necesidad de contar con pruebas diagnósticas que permitan identificar la presencia de poblaciones de *F. hepatica* resistentes a fasciolicidas, con el fin de evitar tratamientos ineficaces y contribuir a un correcto uso de los antiparasitarios disponibles. El TEH implementado en este estudio se presenta como una alternativa *in vitro* para la determinación de resistencia de *F. hepatica* al ABZ.

Canevari J, Ceballos L, Sanabria R, Romero J, Olaechea F, Ortiz P, Cabrera M, Gayo V, Fairweather I, Lanusse C, Alvarez L. 2014. Testing albendazole resistance in *Fasciola hepatica*: validation of an egg hatch test with isolates from South America and the United Kingdom. Journal of Helminthology. 88(3):286-292.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X13000163>

Coles G, Bauer C, Borgsteede F, Geerts S, Klei T, Taylor M, Waller P. 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(1-2):35-44.

[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(92\)90141-U](https://doi.org/10.1016/0304-4017(92)90141-U)

Olaechea F, Lovera V, Larroza M, Raffo F, Cabrera R. 2011. Resistance of *Fasciola hepatica* against triclabendazole in cattle in Patagonia (Argentina). Veterinary Parasitology. 178(3-4):364-6. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.12.047>

RAM-003-24. Evaluación de la actividad antiviral de dos nuevos péptidos antimicrobianos sintéticos y cannabidiol contra *Alphaherpesvirus bovino 1*

Olguin Perglione C^{1,*}, Franco L¹, Compaired D¹, Maffía PC^{2,3}

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

2. Laboratorio de Aplicaciones Biotecnológicas y Microbiología (LAByM), Universidad Nacional de Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET, Buenos Aires, Argentina

* olguin.cecilia@inta.gob.ar

El *Alphaherpesvirus bovino 1* (BoAHV-1), virus distribuido a nivel mundial, es responsable de importantes pérdidas económicas en la producción ganadera; y de restricciones comerciales y en el transporte de animales. Actualmente, los tratamientos disponibles contra BoAHV-1 se basan en antivirales sintéticos convencionales, que poseen la desventaja de ser tóxicos e inducir resistencia. En este sentido, es importante contar con nuevos agentes antivirales para el tratamiento de estas infecciones. Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son considerados antibióticos naturales ya que son producidos por varios organismos. Los PAMs tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana contra varios microorganismos, incluyendo bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, hongos y virus. El mecanismo de acción clásico de los PAMs es el efecto membranolítico caracterizado por su habilidad de causar daño en las membranas celulares. Particularmente, algunos PAMs son efectivos contra bacterias multirresistentes y algunos virus, a la vez que son menos propensos al desarrollo de la resistencia. Las propiedades de estos péptidos los hacen muy atractivos para el desarrollo de nuevas drogas terapéuticas, ya que no sólo poseen una rápida acción contra bacterias multirresistentes, si no que algunos péptidos exhiben actividad inmunomoduladora y antiviral. La investigación en PAMs se ha centrado en diseñar *de novo* secuencias de PAMs, simplificando la secuencia de aminoácidos, aumentando la estabilidad y la actividad, así como mejorar las propiedades farmacológicas de los péptidos, facilitando su posible aplicación y comercialización. Por otro lado, *Cannabis sativa* representa una fuente interesante de agentes antibacterianos, principalmente en bacterias resistentes a los antibióticos. Investigaciones preliminares han demostrado que uno de sus cannabinoides no psicoactivos, el cannabidiol (CBD), puede tener actividad antiviral contra ciertos virus, incluyendo los virus de la hepatitis C y algunos coronavirus. Sin embargo, los estadios de la infección viral en donde esta molécula ejerce su efecto, así como el posible mecanismo de acción, todavía son tema de debate e investigación. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad antiviral *in vitro* de dos nuevos péptidos antimicrobianos diseñados y del CBD frente al *Alphaherpesvirus bovino 1*.

Se sintetizaron de manera automatizada y purificaron por HPLC dos nuevos PAMs: P5 y P6.2. Su caracterización fisicoquímica, así como su actividad

antibacteriana y membranolítica fueron previamente analizadas en diversas bacterias. Por otro lado, se dispuso de CBD grado farmacéutico con 99% de pureza, cedido gentilmente por una empresa farmacéutica. La citotoxicidad de los péptidos (P5 y P6.2) y del CBD sobre las células MDBK fue evaluada mediante el ensayo de activación metabólica por el método de reducción de MTT (bromuro de 3(4,5-dimetil-2-tiazoil)-2,5-difeniltetrazólico). El efecto antiviral de los nuevos PAMs y del CBD se evaluó mediante el siguiente esquema de tratamientos:

1. Pre-tratamiento del virus con PAMs y mezcla de PAMs + CBD.
- Además, la actividad antiviral de los PAMs se evaluó con las siguientes condiciones:
2. Co-tratamiento del virus con cada PAM y mezcla de PAMs + CBD durante la adsorción.
3. Pre-tratamiento de las células con los PAM previo a la infección
4. Post-tratamiento de las células con cada PAM luego de la infección.

Se utilizó un stock de BoAHV-1 contenido en $10^{8.8}$ dosis infectivas en cultivo de tejido (TCID₅₀), sobre el cual se realizaron diluciones seriadas en base 10 que fueron expuestas a los distintos tratamientos con los PAMs y PAMs+CBD. Luego de 72 horas de incubación, el título viral se calculó realizando ensayos de titulación viral por TCID₅₀ con el estimador estadístico de Reed y Muench. Adicionalmente, las células adheridas a la superficie de la placa luego de los tratamientos se cuantificaron mediante tinción con cristal violeta.

De acuerdo con el ensayo de MTT en células MDBK, concentraciones ≥ 128 $\mu\text{g}/\text{ml}$ resultaron citotóxicas para P5 y P6.2 y ≥ 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$ para CBD. La actividad antiviral de los péptidos se evaluó a 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$, mientras que para la combinación, se seleccionaron concentraciones de 32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de PAMs y 16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de CBD. La evaluación de la actividad antiviral demostró que los péptidos P5 y P6.2 producen una reducción del título viral (TCID₅₀) de 3,83 log y 2,67 log, respectivamente, cuando se realiza el pre-tratamiento del virus con los PAMs, mientras que con el co-tratamiento se reduce 3 log y 2,33 log para P5 y P6.2, respectivamente. Además, se observó una disminución de 1,33 log con el pre-tratamiento de las células con P5. No se observó disminución del título viral con el pre-tratamiento de las células con P6.2 ni con el post-tratamiento de las células con ambos PAMs. Por otro lado, la combinación de P5 + CBD o P6.2 + CBD durante el pre-tratamiento del virus, redujo del título viral en más de 4,34 log. Los resultados de TCID₅₀ fueron complementados mediante ensayos de tinción por cristal violeta. Mediante esta tinción se cuantificaron las células remanentes no lisadas y adheridas a la placa de cultivo luego de la infección viral con cada tratamiento. En estos ensayos se observó un aumento de las células viables con el pre-tratamiento y el co-tratamiento de virus con los PAMs, en correlación con lo observado en los ensayos de TCID. Si bien es necesario profundizar el estudio de la actividad antiviral de P5 y P6.2, estos nuevos PAMs funcionarían como antivirales contra el BoAHV-1 por inactivación del virus o durante la adsorción-penetración del mismo a la célula, con menor o nula actividad en etapas posteriores. Además, la combinación de los PAMs con CBD, potenciaría el efecto antiviral de estos nuevos compuestos. Estos resultados, sugieren que tanto los PAMs como la estrategia de combinación de los

PAMs con CBD, podrían ser una alternativa a los antivirales convencionales utilizados para el tratamiento de BoAHV-1 como para otros *Alfaherpesvirus* veterinarios y humanos.

Blaskovich MAT, Kavanagh AM, Elliott AG, Zhang B, Ramu A, Amado M, Lowe GJ, Hinton AO, Pham DMT, Zuegg J, Beare N, Quach D, Sharp MD, Pogliano J, Rogers AP, Lyras D, Tan L, West NP, Crawford DW, Peterson ML, Callahan M, Thurn M. 2021. The antimicrobial potential of cannabidiol. *Communications Biology*. 4,7. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01530-y>

RAM-004-24. Concentraciones de tilmicosina y gamitromicina en pulmones de bovinos muertos por enfermedad respiratoria bovina

de Yaniz MG^{1,*}, Fiorentino MA², Cantón L¹, Moreno Torrejón L¹, Valente M¹, Schofs L¹, Sánchez Bruni SF¹

1. Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Centro de Investigaciones Veterinarias de Tandil (CIVETAN)

2. Laboratorio de Bacteriología, Grupo de Salud Animal. Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS), INTA Balcarce/CONICET, Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

* gdeyaniz@vet.unicen.edu.ar

La enfermedad respiratoria bovina (ERB) es la enfermedad más común en bovinos de engorde a corral, con fallas terapéuticas que causan entre 1 y 3% de mortalidad. Los antimicrobianos (ATM) macrólidos, como tilmicosina (TIL) y gamitromicina (GAM), son ampliamente utilizados para el tratamiento de la ERB, debido a su capacidad de alcanzar altas concentraciones pulmonares. Sin embargo, se observan fallas terapéuticas que derivan en una mortandad significativa. El objetivo del presente estudio fue correlacionar los hallazgos anatomo-patológicos y microbiológicos *posmortem* con las concentraciones pulmonares de TLM y GAM en animales muertos por ERB. Se analizaron 41 muestras de pulmón de animales muertos por ERB. Al momento de realizar la necropsia se procedió a la toma de datos relevantes (reporte de tratamientos antibióticos, fechas y drogas utilizadas). Se recolectaron muestras de pulmón para análisis bacteriológico, evaluación de susceptibilidad antimicrobiana y determinación de concentraciones de TIL y GAM. Las muestras de pulmón fueron cultivadas en agar sangre Columbia con 5% de sangre bovina en atmósfera con 5-10% de CO₂ y en agar Mc Conkey en aerobiosis a 37°C durante 48 y 24 h, respectivamente. La identificación de género y especie se realizó mediante pruebas bioquímicas clásicas. La susceptibilidad antimicrobiana a TIL fue testeada por microdilución en caldo en placas (Sensititre®; Trek Diagnostic Systems, Cleveland, OH, USA). Para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana a GAM se realizó el método de difusión en disco. Ambas técnicas se llevaron a cabo siguiendo las especificaciones del CLSI. La cuantificación de residuos de los analitos bajo estudio fue realizada mediante extracción líquida-sólida de las muestras de pulmones previamente trituradas, mediante espectofotometría de masa (UFLC-MS/MS) con una sensibilidad de detección de 0,01 µg/g para ambas moléculas. El diagnóstico anatomo-patológico de los 41 pulmones fue bronconeumonía craneoventral con más del 50% del parénquima pulmonar afectado. Se aislaron bacterias asociadas a la ERB en 40/41 muestras de pulmón: 16 *Histophilus somni*, 16 *Mannheimia haemolytica*, 15 *Pasteurella multocida* y 6 *Trueperella pyogenes*. Del total de bacterias aisladas, 43 resultaron sensibles a TIL (CIM: <4 µg/ml), 2 con susceptibilidad intermedia (CIM: 16 µg/ml) y una resistente (CIM: 32 µg/ml). Los análisis de susceptibilidad a GAM arrojaron 1 solo aislamiento con susceptibilidad intermedia, siendo el resto susceptibles. Se reportaron tratamientos ATM con antiinflamatorios no esteroides

(AINES) en 25 animales. Las drogas utilizadas fueron TIL, Oxitetraciclina y GAM. De 16 pulmones analizados sin reporte de tratamientos, se cuantificaron residuos de TIL y GAM en 5 de ellos. En 16/25 animales se reportaron tratamiento con TIL solamente, habiéndose administrado 1 sola aplicación en 15/16 entre 2 días y 21 días previo a la muerte. Solo 5 animales tuvieron 2 tratamientos ATM y 3 animales con 3 tratamientos ATM (TIL, OTC y GAM). Se detectaron concentraciones de TIL en 23/41 pulmones. GAM fue detectada en todos los pulmones de animales reportados con tratamiento solo con GAM o combinado con TIL (10/41). Las concentraciones variaron entre 0,013 a 8,811 μ g/g y de 0,01 a 2,323 μ g/g para TIL y GAM, respectivamente. A pesar de la utilización de AINES junto con el tratamiento ATM, se detectaron bajas concentraciones de los analitos estudiados en pulmón no coincidiendo con los aspectos farmacológicos reportados e indicados para dichas drogas. Los resultados indican que ninguno de los ATM utilizados pudo evitar la muerte por “tormenta de citoquinas pulmonares” producidas durante la ERB, posiblemente debido a que no pudieron atravesar las barreras biológicas pulmonares para alcanzar concentraciones terapéuticas intra y transcelulares. Nuestros resultados demuestran que, aunque las bacterias hayan sido susceptibles *in vitro* a los antibióticos macrólidos testeados, el diagnóstico y la consecuente aplicación temprana de los ATM son cruciales para que los mismos alcancen concentraciones terapéuticas en el tejido pulmonar y el tratamiento sea efectivo.

Hilton WM. 2014. BRD in 2014: where have we been, where are we now, and where do we want to go? Animal Health Research Reviews. 15(2):120-2.

<https://doi.org/10.1017/S1466252314000115>

Modric S Webb AI, Denredorf H, 1998. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tilmicosin in sheep and cattle. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 21(6): 444-452. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1998.00177.x>

RAM-005-24. Susceptibilidad antibiótica de aislamientos de *Mycoplasma bovis* y *Mycoplasma* spp. de diferentes muestras de bovinos

Sticotti E¹, Jofré E², Maito J^{3,*}, Mora B⁴, Mació M¹, Tamiozzo P^{1,4}

1. Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC), provincia de Córdoba, Argentina

2. Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud [INBIAS] - [CCT CORDOBA] Centro Científico Tecnológico Conicet - Córdoba - [CONICET] Consejo Nacional De Investigaciones Científicas y Técnicas

3. Laboratorio BIO Diagnóstico Veterinario, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

4 Laboratorio ACERCA- Las Higueras, provincia de Córdoba, Argentina

* bodiagnosticoveterinario@gmail.com

Las infecciones causadas por micoplasmas en bovinos pueden causar mastitis, otitis, neumonía y artritis, principalmente. En Argentina, la circulación de *M. bovis* y otras especies de micoplasmas ha sido informada, no solamente en tambos, sino también en rodeos de cría y engorde. Los bovinos pueden infectarse con distintas especies de micoplasmas o incluso co-infectarse con más de una especie y el tratamiento antibiótico sugerido muchas veces es inefectivo. En este sentido, los niveles de resistencia a antimicrobianos a nivel mundial son alarmantes. En nuestro país, no hay informes acerca de la susceptibilidad antibiótica de micoplasmas que afectan a los bovinos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de antibióticos utilizados para el tratamiento de infecciones causadas por *M. bovis* y otras especies de micoplasmas que afectan a los bovinos. Se trabajó con 4 cepas de *M. bovis*, previamente identificados por una PCR especie específica, (dos de ellas aisladas de pulmón, una de lavado bronquioalveolar y la restante de contenido de una articulación) y con 4 cepas de *Mycoplasma* spp. De las cepas en las que no se identificó la especie de micoplasma, 2 habían sido aisladas de articulaciones, una de leche y la restante de pulmón. Las mismas fueron descongeladas y cultivadas en medio Hayflick modificado por 5 días a 37°C con 5% CO₂ hasta la obtención de una Densidad Óptica a 600 nm igual a 0,3. La determinación de la CIM se realizó de acuerdo con Mann y Markham con algunas modificaciones. Los antibióticos fueron diluidos en base 2 del siguiente modo: 40, 20, 10, 5 y 2.5 µg/mL para tetraciclina; 64, 32, 16, 8 y 4 µg/mL para oxitetraciclina; 16, 8, 4, 2 y 1 µg/mL para florfenicol y 40, 20, 10 y 5 µg/mL para gentamicina. El ensayo se realizó en microplacas de 96 pocillos y cada uno de los antibióticos y concentraciones fue ensayado por cuadriplicado. Los controles incluyeron: medio de cultivo no inoculado (control negativo de crecimiento) y medio de cultivo sin antibióticos (control positivo de crecimiento). Cada pocillo fue inoculado con 180 µl de medio de cultivo (con o sin antibiótico) y 20 µl de cada cepa. Las placas fueron selladas con un film permeable a gases e incubadas por 5 días aproximadamente a 37°C con 5% CO₂. Después de la incubación, se determinó la DO en un lector de microplacas Epoch (BioTek). La CIM fue definida como la concentración mínima de antibiótico capaz de producir

la inhibición del crecimiento. Para todas las cepas analizadas, la CIM para oxitetraciclina fue de 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y para tetraciclina de 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$. El rango de CIM para florfenicol fue entre 4 y 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y entre 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para gentamicina *M. bovis* y otras especies de micoplasmas que afectan a los bovinos pertenecen a la clase *Mollicutes*, bacterias que carecen de pared celular y, por lo tanto, inherentemente resistentes a los antibióticos betalactámicos. La resistencia antibiótica de cepas de micoplasmas que afectan a los bovinos redonda en fallas en el tratamiento de las enfermedades que estos producen y puede estar relacionada al origen geográfico del aislamiento, año de aislamiento, sistema de producción, presentación clínica, sitio del cual se obtuvo el aislamiento o prácticas regulatorias del uso de antibióticos en distintos países. La efectividad de los antibióticos *in vivo*, puede ser evaluada *in vitro* determinando la CIM. Si bien una serie de recomendaciones para la evaluación de la CIM en especies de micoplasmas de importancia en veterinaria ha sido publicada, todavía no se ha arribado a un consenso en lo referido a las normas de los ensayos ni a la interpretación de los puntos de corte. Respecto a la oxitetraciclina, la CIM observada fue de 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en todas las cepas. Esta CIM es superior a la CIM₅₀ informada por diversos estudios en aislamientos de *M. bovis* de Bélgica, Estados Unidos de Norteamérica, e Israel en donde en ningún caso fue superior a 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Esto sumado al criterio propuesto por Hannan que sugiere un punto de corte mayor a 8 o 16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de oxitetraciclina en diferentes especies de micoplasmas, sugiere la presencia de resistencia a este antibiótico en todas las cepas testeadas. Algo similar ocurre con la tetraciclina, con la que se observó una CIM de 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Si bien para *M. bovis*, los rangos de CIM₅₀ y CIM₉₀ informados oscilan entre 1-8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 4-64 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente, una CIM mayor a 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sugiere la resistencia a este antibiótico. Para la gentamicina, el rango de valores de CIM encontrado (entre 10 y 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$) es mayor a los valores de CIM₅₀ previamente informados para *M. bovis* (8 $\mu\text{g}/\text{mL}$), pero es menor al valor de CIM₉₀ -32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ - (Lysnyansky y Ayling, 2016). Considerando que el rango de valores de CIM para gentamicina oscilan entre 2 y > 64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y que, para otros aminoglucósidos, existen diferencias en el punto de corte en relación con el origen del aislamiento (leche vs pulmón, por ejemplo) el testeo de una mayor cantidad de cepas provenientes de distintos orígenes es necesario en futuros estudios. Por último, el rango de CIM observado para florfenicol (entre 4 y 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$) se encuentra dentro de los rangos de CIM₅₀ y CIM₉₀ (1-8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 2-32 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente), informados para *M. bovis* en Estados Unidos de Norte América, Europa y China. Como se mencionó, en Argentina no había antecedentes de susceptibilidad antibiótica de micoplasmas que afectan a los bovinos, por lo que este estudio preliminar representa un importante antecedente. Una mayor cantidad de cepas de micoplasmas de distintos orígenes geográficos y muestras y distintas especies con más variedad de antibióticos, acompañado de estudios moleculares deben ser abordados para una mejor comprensión del fenómeno.

Hannan PC. 2000. Guidelines and recommendations for antimicrobial minimum inhibitory concentration (MIC) testing against veterinary mycoplasma species.

International Research Programme on Comparative Mycoplasmology. Veterinary Research. 31(4):73-95.

<https://doi.org/10.1051/vetres:2000100>

Lysnyansky I, Ayling RD. 2016. *Mycoplasma bovis*: mechanisms of resistance and trends in antimicrobial susceptibility. Frontiers in Microbiology. 7:595. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00595>

Mann C M, Markham JL. 1998. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. Journal of Applied Microbiology. 84(4):538-44. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.00379.x>

RAM-006-24. Sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos en bacterias aisladas de animales de compañía en Casilda, Santa Fe

Olarreaga GF¹, Freije JA¹, Barbero U¹, Cane VI¹, Poli GL¹, Ascaini V¹, Rossi J¹, Francois SE¹, Pereyra NB^{1*}

1. Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de Rosario (UNR), provincia de Santa Fe, Argentina

* normapereyra@fcv.unr.edu.ar

Las enfermedades bacterianas representan una gran parte de las consultas en la clínica veterinaria y una razón para la prescripción de antimicrobianos por parte de los médicos veterinarios. El reporte de aislamientos multirresistentes a los antimicrobianos (AM) en nuestra región hace necesaria la identificación de los microorganismos involucrados y su perfil de sensibilidad a los AM, lo cual brinda información al clínico sobre los agentes responsables de las infecciones bacterianas y le permite instaurar tratamientos eficaces y dirigidos. Frecuentemente, al Servicio de Bacteriología se remiten: orinas, hisopados óticos, dérmicos y de tejidos blandos. En urocultivos se aíslan predominantemente bacterias gramnegativas del Orden *Enterobacteriales*. El mecanismo de resistencia más común e importante es la producción de betalactamasas, enzimas capaces de hidrolizar el anillo betalactámico inactivando a los AM, siendo las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) uno de los más importantes por su potencial transmisión horizontal entre distintos géneros. En piel, tejidos blandos y otitis, las bacterias aisladas son fundamentalmente *Staphylococcus* spp., en los cuales uno de los mecanismos de resistencia más importante es la meticilinoresistencia; esta se debe a un cambio en el sitio blanco de los betalactámicos y está mediada por el gen *mecA*. Otro mecanismo de resistencia importante en *Staphylococcus* spp. es la resistencia inducible a la clindamicina en el fenotipo iMLSB (macrólidos, lincosamidas y streptogramina B). En este caso, la clindamicina (CLI), puede aparecer sensible *in vitro* pero desarrollar resistencia, provocando fracaso terapéutico. Las recomendaciones para tratamientos de las infecciones urinarias varían según el agente bacteriano y los patrones de resistencia de la zona, siendo la amoxicilina (AMX), amoxicilina/ac.clavulánico (AMC) y trimetoprima-sulfametoazol (TMS) opciones de primer nivel, debiendo reservarse la nitrofurantoína (NIT), enrofloxacina (ENRO) y las cefalosporinas de 3º generación. En los casos de piodermias y otitis las directrices se basan en la elección primaria de CLI, cefalexina (CFL), AMC, TMS. Los objetivos de este trabajo fueron: reportar la sensibilidad a los antimicrobianos recomendados en las guías de tratamientos para infecciones urinarias, dérmicas y óticas, investigar la presencia de BLEE en bacilos Gram negativos y relevar la meticilinoresistencia y el fenotipo iMLSB en *Staphylococcus* spp. Entre marzo de 2022 y mayo de 2024 en el Servicio de Bacteriología del Hospital Escuela de Grandes y Pequeños Animales (HEGyPA) de la Facultad de Ciencias Veterinarias, de la Universidad Nacional de Rosario, se procesaron 53 muestras de orina y 47 muestras de hisopados de oído, piel y tejidos blandos. Las muestras de orina se sembraron en agar sangre, agar Mac Conkey y agar EMB de Levine, se incubaron en aerobiosis a

37°C durante 24 horas y se realizaron pruebas bioquímicas convencionales para la identificación final. De la misma manera, los hisopados dérmicos y óticos, se sembraron en agar sangre y agar manitol salado; además se realizó la prueba de la coagulasa y otras pruebas identificatorias para *Staphylococcus*. Posteriormente, se realizaron los antibiogramas (ATBg) por la técnica de Kirby-Bauer. En la lectura se registraron los diámetros de los halos de inhibición y se interpretaron según los puntos de corte del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Los AM probados para *Enterobacteriales* fueron: AMC, TMS, NIT, ENRO, cefotaxima (CTX) y ceftazidima (CAZ). Para la detección de BLEE los discos de CTX, AMC y CAZ se colocaron a una distancia de 25 mm de centro a centro. La presencia de deformaciones en los halos de CTX y CAZ en la proximidad del AMC, indicaron la presencia de BLEE. Los AM probados para *Staphylococcus* sp. fueron: CLI, AMC, TMS, oxacilina (OXA), cefoxitina (FOX), doxicilina (DOXY) y eritromicina (ERI). Para evaluar la resistencia a la meticilina se realizaron las pruebas de sensibilidad a OXA en el caso de *Staphylococcus pseudintermedius* y FOX para *Staphylococcus aureus*. Con el fin de detectar el fenotipo iMLSB se colocaron los discos de CLI y ERI a una distancia de 15 a 20 mm entre sí. El achatamiento del halo de CLI en la proximidad de ERI (D-test positivo) se interpretó como iMLSB. Del total de muestras de orina, se obtuvieron 16 (30,18%) aislamientos que correspondieron al orden *Enterobacteriales*: 12 (75%) *Escherichia coli* y 4 (25%) *Proteus* spp. En cuanto a *E. coli* el 100% fue sensible a NIT, 83,33% a CTX, 66,66% a ENRO y TMS y 58,33% a AMC, hallándose 2 aislamientos portadores de BLEE. *Proteus* spp. presentó una sensibilidad del 100% a AMC, TMS, ENRO y CTX. Del total de muestras de hisopados óticos, dérmicos y de tejidos blandos, se obtuvieron 24 (51,06%) aislamientos de *Staphylococcus* spp, de los cuales: 20 (86,95%) se identificaron como *Staphylococcus pseudintermedius* y 4 (17,39%) como *Staphylococcus aureus*. Los *S. pseudintermedius* presentaron una sensibilidad del 80% a TMS y DOXY, 65% a CLI, 60% a ENRO. Se detectó meticilinorresistencia en 8 (40%) y 2 (10%) aislamientos presentaron el fenotipo iMLSB. Con respecto a los *S. aureus* la sensibilidad hallada fue 100% a TMS y ENRO, 75% a CLI, 50% DOXY y 25% FOX, detectando en 3 (75%) aislamientos meticilinorresistencia y el fenotipo iMLSB. Los resultados fueron coincidentes con la bibliografía, en cuanto a los hallazgos de *E. coli* en muestras de orina y de *S. pseudintermedius* a partir de piel y tejidos blandos. En *Staphylococcus* spp. los porcentajes de meticilinorresistencia y resistencia a eritromicina y clindamicina son mayores que los reportados en el país en el año 2015. Esta situación amerita continuar con la investigación para verificar si esta diferencia se debe al incremento de la RAM en los últimos años. El hallazgo de *E. coli* productoras de BLEE, refuerza la necesidad de continuar investigando y concientizar a los profesionales veterinarios en cuanto a restringir el uso de betalactámicos de última generación en la clínica de animales de compañía.

Hillier A, Lloyd DH, Weese JS, Blondeau JM, Boothe D, Breitschwerdt E, Guardabassi L, Papich MG, Rankin S, Turnidge JD, Sykes JE. 2014. Directrices para el diagnóstico y la terapia antimicrobiana de la foliculitis bacteriana

superficial canina. Veterinary Dermatology. 25(3): 163-
e43. <https://doi.org/10.1111/vde.12118>

Weese JS, Blondeau J, Boothe D, Guardabassi LG, Gumley N, Papich M, Jessen LR, Lappin M, Rankin S, Westropp JL, Sykes J. 2019. International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. The Veterinary Journal. 247: 8-25. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.02.008>

RAM-007-24. Prevalencia y niveles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada de urocultivos caninos durante el año 2023

Argüello A¹, Mas J^{1,2}, Ruidiaz V³, Molina E³, Pereyra A^{4,5}, Mas F¹, Rumi MV^{4,5,*}

1. Laboratorio Diagnotest, provincia de Buenos Aires, Argentina
2. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina
3. Hospital Escuela, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina
4. Instituto de Investigaciones en Epidemiología Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina
5. Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina

* mvrumi@fvet.uba.ar

La resistencia antimicrobiana (RAM) representa una amenaza para la salud humana, animal, vegetal y ambiental. Las opciones terapéuticas son cada vez más limitadas ya que los antibióticos se vuelven ineficaces frente a bacterias multirresistentes (MDR). Las infecciones urinarias son frecuentes en la clínica veterinaria y conocer el comportamiento de la RAM es fundamental para el uso adecuado de los antibióticos. El objetivo del trabajo fue determinar la prevalencia de *E. coli* y los niveles de RAM en muestras urinarias de caninos. Se analizaron 5.447 urocultivos procesados por el laboratorio Diagnotest durante enero-diciembre 2023. La identificación bacteriana se realizó por pruebas bioquímicas convencionales. La sensibilidad a los antimicrobianos se evaluó por el método de difusión en agar (CLSI: VET08 y M100-33ed). Los antibióticos ensayados fueron: AMP (ampicilina), AMC (amoxicilina-clavulánico), CFZ (cefazolina), CVN (cefovecin), IMI (imipenem), ENR (enrofloxacina), GEN (gentamicina), AKN (amikacina), NIT (nitrofurantoína) y TMS (trimetoprima-sulfametoxazol). Se obtuvieron 2.939 (53,9%) urocultivos positivos y se recuperaron 3.163 aislamientos, correspondiendo 2.015 (63,7%) a bacilos gram negativos. *E. coli* fue el microorganismo aislado con mayor frecuencia 1.082/3.163 (34,2%) y representó más de la mitad de los aislamientos gram negativos. La resistencia detectada fue: 61,8% AMP; 15,9% AMC; 31,3% CFZ; 29,3% CVN; 2% IMI; 38,6% ENR; 11% GEN; 1,4% AKN; 1,4% NIT; 35,1% TMS y un 34% de MDR. Es preocupante el aumento de la RAM observado en *E. coli* para antibióticos de importancia crítica para la salud humana como las cefalosporinas de tercera generación y carbapenemes respecto a datos previos (período 2011-2017) reportados en nuestro país.

CLSI. 2023. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 33rd ed. CLSI supplement M100. Berwyn. Clinical and Laboratory Standards Institute. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2019. Antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana, 6a rev. [En línea] Disponible en: <https://iris.who.int/handle/10665/331531> [Consultado 05/08/2024]

Rumi MV, Nuske E, Mas J, Argüello A, Gutkind G, Di Conza J. 2021. Antimicrobial resistance in bacterial isolates from companion animals in Buenos Aires,

Argentina: 2011-2017 retrospective study. Zoonoses Public Health. 68(5):516-26.
<https://doi.org/10.1111/zph.12842>

RAM-008-24. Resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada de urocultivos felinos provenientes del área metropolitana de Buenos Aires durante el año 2023

Argüello A¹, Mas J^{1,2}, Ruidiaz V³, Molina E³, Pereyra A^{4,5}, Mas F¹ Rumi MV^{4,5,*}

1. Laboratorio Diagnotest, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina

3. Hospital Escuela, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina

4. Instituto de Investigaciones en Epidemiología Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina

5. Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina

* mvrumi@fvet.uba.ar

Las enfermedades del tracto urinario se diagnostican comúnmente en gatos y aquellas de origen infeccioso requieren del uso adecuado de antibióticos para curar al paciente y disminuir la aparición de resistencia a los antimicrobianos (RAM).

El objetivo del trabajo fue determinar la RAM en aislamientos de *E. coli* provenientes de felinos con signos clínicos de enfermedad del tracto urinario del área metropolitana de Buenos Aires.

Se analizaron 3.436 urocultivos procesados por el laboratorio Diagnotest durante enero-diciembre 2023. La identificación bacteriana se realizó por pruebas bioquímicas convencionales. La sensibilidad a los antimicrobianos se evaluó por el método de difusión en agar (CLSI: VET08 y M100-33ed). Los antibióticos ensayados fueron: AMP (ampicilina), AMC (amoxicilina-clavulánico), CFZ (cefazolina), CVN (cefovecin), IMI (imipenem), ENR (enrofloxacina), GEN (gentamicina), AKN (amikacina), NIT (nitrofurantoína) y TMS (trimetoprima-sulfametoxazol).

De un total de 1.402 (40,8%) urocultivos positivos se recuperaron 1.447 aislamientos, en su mayoría como cultivos puros. Se identificaron 877 (60,6%) bacilos gram negativos y el resto correspondió a gram positivos, principalmente cocos. *E. coli* fue la bacteria aislada con mayor frecuencia 505/1.447 (35%) y representó más de la mitad de los aislamientos gram negativos. La resistencia detectada fue: 58,6% AMP; 10,5% AMC; 24,2% CFZ; 20,3% CVN; 1,4% IMI; 23,6% ENR; 8,9% GEN; 1,2% AKN; 1,4% NIT y 30,9% TMS.

Estos datos muestran un aumento de RAM en aislamientos de *E. coli* provenientes de felinos frente a cefalosporinas de tercera generación y carbapenemes y una disminución de la resistencia a fluoroquinolonas comparado con los datos reportados del período 2011-2017 en animales de compañía de Argentina.

CLSI. 2023. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 33rd ed. CLSI supplement M100. Berwyn. Clinical and Laboratory Standards Institute.

Rumi MV, Nuske E, Mas J, Argüello A, Gutkind G, Di Conza J. 2021. Antimicrobial resistance in bacterial isolates from companion animals in Buenos Aires,

Argentina: 2011-2017 retrospective study. Zoonoses Public Health. 68(5):516-26.
<https://doi.org/10.1111/zph.12842>

RAM-009-24. *Actinobacillus pleuropneumoniae*: sensibilidad a antimicrobianos en cepas aisladas en el período 2021-2024

Cane VI^{1,2,*}, Cane FD², Sarradell JE³, Cane JL², Francois SE¹, Pereyra NB¹

1. Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de Rosario (UNR), provincia de Santa Fe, Argentina

2. Medax, Chañar Ladeado, Santa Fe, Argentina

3. Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de Rosario (UNR), provincia de Santa Fe, Argentina

* valentinacane@fcv.unr.edu.ar

La pleuroneumonía porcina (PP) es causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App), bacteria que forma parte del complejo respiratorio del cerdo. Representa un problema sanitario significativo en la producción porcina debido a su impacto económico, que radica en la alta mortalidad y disminución del crecimiento en cerdos afectados, el costo de tratamientos y vacunaciones y en las penalizaciones producidas en frigorífico. Los brotes pueden aparecer en forma concomitante con otras enfermedades, como consecuencia de cambios en el manejo o por la acción de factores estresantes como la sobre población. El uso de antimicrobianos (AM) es una estrategia fundamental de control y prevención de la PP. Sin embargo, debido al uso masivo y por tiempos prolongados en las granjas porcinas, la resistencia hacia estas drogas ha emergido y se ha reportado a nivel global. En la bibliografía internacional se verifica la presencia de resistencia a fluoroquinolonas, tetraciclinas, penicilinas, estreptomicina, macrólidos, anfénicos y sulfonamidas. En Argentina, los AM más utilizados en el tratamiento de la PP son ceftiofur, doxiciclina, enrofloxacina, norfloxacina, florfenicol, tulatromicina, tiamicina y tiamicina, en diferentes formas de administración (parenteral/enteral) de acuerdo al momento del brote. En los laboratorios de diagnóstico, con respecto a las pruebas de sensibilidad antibiótica, se dan distintas problemáticas, entre ellas, la ausencia de puntos de corte para App provenientes de cerdos para ciertos AM (doxicilina y norfloxacina) en los documentos estandarizados del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y la falta de monodiscos en el mercado local (tulatromicina y tiamicina) para la técnica de Kirby-Bauer. El objetivo del trabajo fue detectar la sensibilidad de cepas de App a los AM de uso frecuente en porcinos en el período 2021-2024 (primer semestre), aisladas de casos clínicos de PP. Las muestras estudiadas provinieron de establecimientos ubicados en las principales provincias productoras de cerdos: Santa Fe, Buenos Aires, Córdoba y Entre Ríos; solo un aislamiento provino de una granja de La Rioja. Estas se procesaron en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario Medax y en el Servicio de Bacteriología del Hospital Escuela de Grandes y Pequeños Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. Ochenta y tres aislados de App provenientes de pulmones con lesiones de PP se obtuvieron a través del cultivo en agar sangre ovina, con el agregado de discos de factor V (Rosco) o estrías de *Staphylococcus aureus*, a 37°C en microaerobiosis durante 24hs. A estos se le realizaron pruebas de sensibilidad antibiótica por la técnica de difusión en agar. Para ello se subcultivó la bacteria en caldos cerebro-corazón con nicotinamida

adenina dinucleótido (NAD), se ajustó la turbidez según escala 0,5 de McFarland, y se inoculó el mismo con hisopo estéril en agar chocolate base Mueller Hinton con el agregado de NAD. Se utilizaron discos comerciales impregnados con AM y se cultivó a 37°C en condiciones de microaerofilia durante 18-24 horas. Se seleccionaron discos de enrofloxacina (ENRO), norfloxacina (NOR), ceftiofur (CEF), tiamulina (TIA), florfenicol (FFC) y doxiciclina (DOX). En algunas cepas se probaron discos fabricados en el laboratorio con tilmicosina (TIL) y tulatromicina (TULA) según recomendaciones del CLSI. Los halos de inhibición se midieron de acuerdo con el punto de corte para App en porcinos CLSI 2020/23/24; en el caso de DOX se utilizaron puntos de corte recomendados para caninos y en el caso de NOR puntos de corte para humanos. Se analizaron los resultados de antibiogramas de las cepas aisladas, no fue posible probar todos los AM en todos los casos. En el año 2021 7 aislamientos fueron estudiados; 7 de 7 resultaron ser sensibles (S) a CEF, ENRO y DOX (100%), 6 de 6 a NOR y TIL (100%), 5 de 6 a TIA (83,33%) y 3 de 7 a FFC (43%). No se probó TULA en estos casos. En 2022, de 40 aislados analizados, todos fueron S a CEF (100%), 28 de 37 (75,68%) a ENRO, 22 de 27 a NOR (81,48%), 17 de 23 a DOX (73,91%), 26 de 35 a TIA (74,30%), 17 de 35 a TIL (48,60%), 7 de 7 a TULA 100% y 20 de 31 a FFC (64,52%). En 2023, 26 cepas de App se aislaron y presentaron las siguientes sensibilidades: 22 de 24 a CEF (91,70%), 22 de 24 a ENRO (72%), 16 de 25 a NOR (64%), 10 de 23 a DOX (47,37%), 21 de 25 a TIA (84%), 19 de 25 a TIL (76%), 7 de 7 a TULA 100% y 19 de 25 a FFC (76%). Durante el primer semestre del 2024, los 10 aislamientos de App se caracterizaron por tener la siguiente sensibilidad: 80% a CEF, 30% a ENRO, 70% a NOR, 40% a DOX, 90% a TIA, 90% a TIL y 30% a FFC. Ocho de estas cepas no presentaron resistencia a la TULA (8/8, S del 100%). Las tetraciclinas constituyen uno de los grupos de AM en los que la resistencia es detectada frecuentemente. Pudo observarse un incremento en los porcentajes de la misma lo largo de 2023 y lo que va del 2024, siendo resistentes a DOX más del 50% de las cepas. En el caso del florfenicol, se registraron porcentajes elevados de resistencia en 2021 y 2024, superando el 57% y 70%, respectivamente. Pudo observarse una disminución leve pero sostenida en la sensibilidad hacia el CEF en el período estudiado. Las quinolonas son un grupo de AM ampliamente usados en las granjas porcinas. En este trabajo se detectó un aumento en la resistencia principalmente en la ENRO. La declinación del porcentaje de S fue más pronunciada en 2024, aunque esto pudo estar relacionado al número de aislados evaluados. Los macrólidos como la TIA son de uso muy frecuente; para este AM la S se mantuvo por encima del 75% en todo el período evaluado. En el caso de la TIL, la resistencia se detectó en más de la mitad de las cepas estudiadas (55%) en el año 2022. No se encontraron cepas resistentes a TULA, lo cual puede estar relacionado a que es un AM de aparición más reciente. La elección de AM para las pruebas de sensibilidad constituye un desafío para el laboratorista. La administración correcta de los AM a campo es una tarea muchas veces difícil para el clínico. La importancia de la implementación de buenas prácticas relacionadas al uso de AM es un tema en auge en la actualidad para prevenir la aparición de cepas resistentes. Se necesitan

legislaciones locales actualizadas para monitorear y preservar la eficacia de los AM.

Sassu E, Bossé J, Tobias T, Gottschalk M, Langford P y Henning-Pauka I. 2017. Update on *Actinobacillus pleuropneumoniae* knowledge, gaps and challenges. *Transbound Emerging Diseases*. 65:72–90.

<https://doi.org/10.1111/tbed.12739>

CLSI. 2024. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard. 7º Ed. Berwyn. Clinical Laboratory Standards Institute.

RAM-010-24. Estudio de resistencia a los antimicrobianos a partir de patógenos bacterianos aislados en porcinos

Cantón J^{1,2,*}, Cacciato CS^{1,2,3}, Chiapparrone ML^{1,2}, Riccio MB⁴, García JP⁴, Moriones L², Eguía V¹

1. Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA)

2. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN) (UNCPBA-CICPBA-CONICET)

3. Comisión de Investigaciones Científicas (CICPBA)

4. Servicio de Diagnóstico Veterinario de Tandil (FCV - UNCPBA), provincia de Buenos Aires, Argentina

* jcanton@vet.unicen.edu.ar

A nivel mundial, los antibióticos se utilizan en la producción animal con fines terapéuticos, como promotores de crecimiento o profilaxis. El uso excesivo e indiscriminado, así como el mal uso, sin respetar las dosis ni los intervalos entre tratamientos, han dado lugar a la aparición de cepas resistentes. Esta situación representa una preocupación significativa para la salud animal, humana y el medio ambiente (OPS, 2024). El uso indiscriminado en producción animal se identifica como un factor de riesgo para el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos (RAM), que puede propagarse a los humanos a través del consumo de productos animales y la exposición directa a microorganismos resistentes. Además, los residuos de antibióticos y microorganismos resistentes pueden contaminar aguas subterráneas y superficiales. En el presente trabajo, se reportan las resistencias a los antimicrobianos detectadas en el Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental a partir de aislamientos bacterianos de casos clínicos en porcinos registrados entre 2018-2024. Las muestras clínicas provienen del Servicio de Diagnóstico Veterinario y de veterinarios privados. A partir de los patógenos caracterizados en el laboratorio, se realizó el antibiograma por el método de difusión en discos o Kirby-Bauer de acuerdo con las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018; CLSI, 2023). Las principales resistencias detectadas para cada síndrome y cada género bacteriano fueron las siguientes: 1- síndrome respiratorio: de 11 cepas de *Streptococcus suis*, 9 mostraron resistencia a tetraciclina, 4 a eritromicina y 2 a trimetoprima sulfametoxazol; de 9 cepas de *Pasteurella multocida* 6 mostraron resistencia a tilmicosina y 4 a enrofloxacina; la cepa de *Glasserella parasuis* mostró resistencia a florfenicol y enrofloxacina, de 2 cepas de *Actinobacillus suis* 2 mostraron resistencia a tilmicosina y 1 a trimetoprima sulfametoxazol; la cepa de *Salmonella* spp mostró resistencia a tetraciclina, trimetoprima sulfametoxazol, ampicilina, ceftiofur y enrofloxacina y la cepa de *E. coli* mostró resistencia a tilmicosina, trimetoprima sulfametoxazol, enrofloxacina y ceftiofur; 2- síndrome sistémico: de 6 cepas de *Streptococcus suis* 6 mostraron resistencia a eritromicina, 5 a tetraciclina, 3 a trimetoprima sulfametoxazol y 1 a florfenicol; de 3 cepas de *Escherichia coli* (*E.*

coli) 3 mostraron resistencia a enrofloxacina, 2 a tetraciclina, 2 a trimetoprima-sulfametoazol, 2 a ceftiofur y 2 a ampicilina; 3- síndrome digestivo: de 8 cepas de *E. coli* 7 mostraron resistencia a tetraciclina, 4 a enrofloxacina, 4 a ampicilina, 3 a ceftiofur, 3 a amoxicilina clavulánico, 3 a trimetoprima-sulfametoazol y de 2 cepas de *Klebsiella* spp. 2 mostraron resistencia a enrofloxacina, 2 a tetraciclina y 2 a ampicilina; 4- síndrome cardiovascular: la cepa *Bordetella bronchiseptica* mostró resistencia para ceftiofur y tilmicosina; 5- síndrome nervioso: la cepa de *Streptococcus suis* mostró resistencia a tetraciclina. Independientemente del síndrome o del patógeno se observan resistencias principalmente a tetraciclina (27), enrofloxacina (16), trimetoprima-sulfametoazol (13), tilmicosina (10) y eritromicina (10). Los resultados hasta aquí obtenidos refuerzan la importancia de realizar el diagnóstico microbiológico y el antibiograma, para conocer el perfil de sensibilidad de los diferentes antimicrobianos utilizados y así, implementar una terapia exitosa desde el punto de vista clínico, reduciendo los costos de producción, la circulación de bacterias resistentes en las granjas porcinas y la diseminación de las mismas a través de la cadena de producción porcina y el medio ambiente.

CLSI. 2018. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. 4º ed. Wayne. Clinical and Laboratory Standards Institute.

CLSI. 2023. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. 6º ed. Wayne. Clinical and Laboratory Standards Institute.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2023. ¿Cómo combatir la resistencia antimicrobiana en producción animal? [En línea] Disponible en: <https://www.paho.org/es/panaftosa/como-combatir-resistencia-antimicrobiana-produccion-animal>

[Consultado el 31/07/2024]

RAM-011-24. Caracterización de aislamientos de *Escherichia coli* portadores del gen *mcr-1* provenientes de pollos enfermos de producción intensiva

González Pasayo RA^{1,*}, Domínguez JE², Fernández Miyakawa ME², Lomónaco JC¹, Huberman YD¹

1. Laboratorio de Bacteriología, Grupo de Sanidad Animal, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS) INTA-CONICET, Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Laboratorio de Bacteriología General, Instituto de Patobiología Veterinaria, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (IPVet), INTA-CONICET, William C. Morris, Buenos Aires, Argentina.

* gonzalez.ramon-a@inta.gob.ar

Escherichia coli es una bacteria comensal integrante de la microbiota intestinal de mamíferos y aves. Sin embargo, algunas cepas pueden ser patógenas y causar infecciones extraintestinales, como la colibacilosis en las aves. La colibacilosis se ha convertido en una enfermedad importante porque provoca mortalidad y pérdidas económicas significativas en las granjas avícolas. Además, el potencial zoonótico de los aislamientos patógenos de aves (APEC) basado en su similitud genómica con las cepas patógenas que afectan a los humanos y la detección frecuente de resistencia antimicrobiana hace que sea crucial realizar el diagnóstico y la vigilancia de los aislamientos locales para su control. Entre sus resistencias detectadas, la resistencia a colistina constituye una amenaza para la salud pública ya que la colistina es considerada como un antimicrobiano de último recurso para el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos multirresistentes en humanos.

El objetivo del presente trabajo fue detectar y caracterizar los aislamientos de *E. coli* provenientes de pollos enfermos de producción intensiva portadores del gen *mcr-1* que confiere resistencia a colistina en relación con su filiación a los filogrupos, perfil de genes de virulencia y resistencia a colistina.

Los aislamientos estudiados fueron obtenidos de muestras de aves comerciales enfermas de 8 casos de diagnóstico remitidas al Servicio de Diagnóstico Veterinario Especializado (SDVE, INTA Balcarce) entre 2018 y 2021. De dichas muestras, se obtuvieron 34 aislamientos de *E. coli* caracterizadas por pruebas bioquímicas estandarizadas y mediante la presencia del gen de la β-glucuronidasa. Seis de estos aislamientos (A4C2, A5C1, A6C1, A6C2, A7C1 y A34C1) provenientes de lesiones del tracto respiratorio superior resultaron positivos a la detección del gen plasmídico de resistencia a colistina *mcr-1* mediante la PCR descripta por Liu *et al.*, 2016. La identificación del filogrupo (A, B1, B2, C, D, E, F, and *E. cryptic* clade I), se determinó mediante la amplificación de genes marcadores cromosomales (*arpA*, *chuA*, *yjaA* y fragmento de ADN TspE4.C2) mediante la PCR cuádruplex descripta por Clermont *et al.* (2013). La determinación de los filogrupos se basa en marcadores cromosomales y permiten diferenciar cepas comensales (filogrupos A, B1 y C) de cepas extraintestinales virulentas (filogrupos

B2, D y F). La PCR pentaplex (Johnson *et al.*, 2008) se utilizó para identificar los genes de virulencia marcadores APEC (*iroN*, *ompT*, *hlyF*, *iss* y *iutA*) localizados en el plásmido pColV. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) a colistina por el método de microdilución en caldo y los resultados fueron interpretados según CLSI 2024.

Los 6 aislamientos *mcr-1* positivos fueron asignados al filogrupo B1 por lo cual presentan un núcleo genético comensal y poseen al menos 4 de los 5 genes de virulencia analizados, por este motivo, en base al esquema tradicional de tipificación todos son clasificados dentro del patotipo APEC. Además, cinco de los 6 aislamientos *mcr-1* positivos mostraron una CIM a colistina de 4 µg/mL y fueron considerados resistentes a colistina. El aislamiento A34C1 presentó una CIM de 2 µg/mL y fue considerado susceptible.

La determinación del filogrupo B1 en los 6 aislamientos estudiados indica que los mismos presentan un fondo genómico comensal sumado a la presencia del plásmido con genes de virulencia característicos del patotipo APEC que posibilita el desarrollo de la infección. En la actualidad, es difícil establecer una definición del patotipo APEC debido a la plasticidad genómica intrínseca y la alta diversidad de aislados patógenos reportados asociados a aves enfermas, en particular debido a la transferencia horizontal de genes mediante elementos genéticos móviles. Además, la patogenicidad del aislamiento no solo depende de la virulencia de la cepa, sino también del estado del hospedador y los factores ambientales. Así, bajo un estrés severo un mayor número de cepas tienen el potencial de causar enfermedad. Por este motivo, en los últimos años se ha reportado mayor prevalencia de poblaciones comensales de *E. coli* con los genes de virulencia previamente considerados de APEC como se ha observado en nuestro trabajo. La resistencia a colistina detectada dificulta el tratamiento del patógeno e incrementa su peligrosidad. El estudio de la virulencia y la resistencia antimicrobiana contribuirá con el desarrollo de estrategias de control y prevención de la colibacilosis aviar en la región.

Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM. 2013. The Clermont *Escherichia coli* phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups. Environmental Microbiology Reports. 5(1):58-65. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12019>

Johnson TJ, Wannemuehler Y, Doetkott C, Johnson SJ, Rosenberger SC, Nolan LK. 2008. Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. Journal of Clinical Microbiology. 46(12):3996. <https://doi.org/10.1128/JCM.00816-08>

Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J. 2016. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. The Lancet Infectious Diseases, 16(2):161-8.

[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)

RAM-012-24. Reporte de *Staphylococcus* spp. meticilino-resistentes a partir de muestras clínicas de caninos y felinos

Retamar G^{1,2,*}, Gallardo MJ^{1,2,3}, Castillo K¹, Bustos C^{1,2,3}, Mesplet M^{1,2}, Muñoz A^{1,2}

1. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina

2. Instituto de Investigaciones en Epidemiología Veterinaria (IIEV), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina

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

* laboratorioinfeccio@fvet.uba.ar

En los últimos años, se ha observado un aumento progresivo de la resistencia a los antimicrobianos (RAM) en bacterias causantes de enfermedades en pequeños animales. El uso empírico rutinario de tratamientos antimicrobianos en la clínica diaria, sin el aislamiento y las pruebas de sensibilidad antimicrobiana del agente patógeno, puede acelerar la aparición y proliferación de microorganismos resistentes. Entre los géneros que presentan mayor resistencia, *Staphylococcus* se destaca como uno de los más relevantes. Estas bacterias patógenas oportunistas afectan a la mayoría de las especies animales pudiendo provocar diversas enfermedades inespecíficas. Dentro del género *Staphylococcus*, *S. aureus* y *S. pseudintermedius* representan un desafío significativo para la profesión veterinaria debido a que son las especies más reportadas como meticilino-resistentes. Este tipo de resistencia les permite sobrevivir frente a los antibióticos betalactámicos generando fracasos en el tratamiento. Además, debido al estrecho contacto entre humanos y animales de compañía, los *Staphylococcus* resistentes a la meticilina (SMR) representan un riesgo tanto para la salud humana como animal. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de SMR en muestras provenientes de caninos y felinos procesadas en el Laboratorio Escuela de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas (LEEI), FCV-UBA desde marzo de 2023 a junio de 2024. Para realizar este estudio se analizaron 40 aislamientos de *Staphylococcus*: 19 *S. pseudintermedius*, 13 *Staphylococcus* spp. y 8 *S. aureus*. Los aislamientos fueron identificados mediante el esquema propuesto por Bannoehr y Guardabassi (2012). Las pruebas de detección de la meticilino-resistencia y la sensibilidad antimicrobiana se realizaron mediante el método de difusión con discos siguiendo las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2020; CLSI 2024). Resumidamente, se utilizó el medio Mueller Hinton agar, con un inóculo de suspensión bacteriana ajustado a una turbidez de 0.5 de la escala de McFarland y se incubaron 24 horas a 37°C. Para evaluar la meticilino-resistencia se utilizaron discos de oxaciclina o cefoxitina teniendo en cuenta la especie de *Staphylococcus* en estudio. Conjuntamente, se analizó la sensibilidad a ciprofloxacina, trimetoprim sulfametoxazol, nitrofurantoína, gentamicina, tetraciclina, clindamicina y eritromicina. La lectura se realizó mediante la medición de los halos de inhibición y posterior comparación con los puntos de corte indicados de referencia. Se obtuvo un 57,5% de resistencia a la meticilina entre los 40 aislamientos evaluados. En cuanto a los demás antibióticos testeados se identificó entre 60% y 80% de resistencia para ciprofloxacina,

trimetoprim sulfametoazol, tetraciclina, clindamicina y eritromicina. El 62,5% de los aislamientos evaluados presentaron multirresistencia. Aquellos microorganismos que fueron testeados con nitrofurantoína y gentamicina presentaron una sensibilidad de 92% y 82%, respectivamente. La resistencia bacteriana es un problema altamente significativo de trascendencia mundial que amerita su vigilancia y control continuo. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este estudio, es importante destacar el alto porcentaje de resistencia a la meticilina obtenido en los aislamientos considerando que los antibióticos betalactámicos son los más utilizados en la clínica diaria como tratamiento empírico. A su vez, se observó multirresistencia frente otros antibióticos también utilizados de rutina en la clínica veterinaria. Se destaca la relevancia del cultivo para confirmar el origen infeccioso de las enfermedades en caninos y felinos antes de instaurar un tratamiento antibiótico, más aún ante infecciones recurrentes y/o crónicas. Estos resultados remarcán la necesidad de realizar estudios de sensibilidad antimicrobiana en la clínica diaria. Este trabajo contribuye a la vigilancia de la RAM en cepas bacterianas de origen clínico en veterinaria y alerta sobre la necesidad de implementar medidas que contribuyan al uso racional y prudente de los antimicrobianos.

Bannoehr J, Guardabassi L. 2012. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. Veterinary Dermatology, 23, 253-e52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01046.x>

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2024. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 34º ed. CLSI guideline M100-S. [ebook]. Disponible en: <https://clsi.org/all-free-resources/> [Consultado durante 2024]

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals, Approved Standards. 4º ed. CLSI guideline VET-08. [ebook]. Disponible en: <https://clsi.org/all-free-resources/> [Consultado durante 2023 y 2024]

V-001-24. Brote de conjuntivitis y rinitis por alfaherpesvirus bovino en terneros de recría

Vilatuña E¹, Lázaro F^{1,2}, Marrón Y^{1,3}, Fiorentino MA¹, Verna A¹, Cantón G^{1*}

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

2. Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Centro de Investigación Veterinaria Tandil (CIVETAN) CONICET, Argentina

3. Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Pampa, General Pico, Argentina

* canton.german@inta.gob.ar

La enfermedad causada por alfaherpesvirus bovino (BoAHV) produce importantes pérdidas económicas en la ganadería de todo el mundo. La forma respiratoria de la enfermedad, conocida más frecuentemente como ritroqueítis infecciosa bovina (IBR), es la más importante por su elevada morbilidad y baja mortalidad, cuya signología se caracteriza por un cuadro febril, depresión, anorexia, descarga nasal serosa a mucopurulenta, disnea, ptialismo y en algunos casos, aborto. El objetivo de este trabajo es describir un brote de conjuntivitis y rinitis causado por BoAHV en terneros de recría en el partido de San Cayetano, provincia de Buenos Aires. Se vio afectado un rodeo de 115 terneros Hereford, Aberdeen Angus y sus cruzas, de recría pastoril, que se encontraban consumiendo verdeos de invierno, y luego fueron encerrados en corral. Se vio afectado un alto porcentaje del rodeo (aproximadamente el 60%), desde hacía unos 7 días. Los animales manifestaban diferentes grados de conjuntivitis uni o bilateral, catarral, serosa a fibrinopurulenta, epífora, eritema nasal, rinorrea mucopurulenta, sialorrea e inapetencia y temperatura corporal elevada ($>40,0^{\circ}\text{C}$.). En ese momento, se realizaron hisopados oculares y nasales a 6 terneros, para estudios bacteriológicos y virológicos en medio Hank's para aislamiento viral (AV) sobre monocapas de células de riñón bovino Madin Darby (MDBK) y su posterior confirmación mediante inmunofluorescencia directa (IFD) con anticuerpos contra BoAHV-1 y BoAHV-5: monoclonal específico contra BoAHV-1 (VMRD[®]) y policlonal contra BoAHV (American Bio Research[®]), el cual no diferencia cepas de BoAHV-1 y BoAHV-5. Los hisopados oculares también se recolectaron para aislamiento de bacterias aerobias y microaerófilas. Se tomaron muestras de sangre por punción yugular para la extracción de suero y evaluación de anticuerpos mediante seroneutralización viral (SNT), método virus "fijo" /suero variable (diluciones evaluadas 1:4 hasta 1:512). Veinte días después, se volvieron a muestrear los mismos terneros muestreados con anterioridad. Inicialmente, en la totalidad de los cultivos celulares MDBK inoculados con los hisopados nasales y oculares, se observó un efecto citopático característico de BoAHV. A través de IFD se pudieron identificar cepas que inicialmente resultaron negativas al ser tratada con el anticuerpo contra BoAHV-1 (VMRD[®]), pero resultaron positivas cuando se utilizó el anticuerpo contra BoAHV (American Bio Research[®]). Asimismo, en 3/6

hisopados oculares se aisló *Moraxella bovoculi*, en 1/6 hisopados *Moraxella ovis* mientras que otros 2/6 hisopados resultaron negativos al aislamiento de bacterias aerobias y microaerófilas. En las muestras recolectadas de los mismos terneros 20 días después, no se logró aislar BoAHV ni patógenos bacterianos. Se detectó seroconversión para BoAHV en todos los animales muestrados. El cuadro clínico-patológico fue similar a lo descripto previamente para infecciones con BoAHV con una alta prevalencia. Resultó notable la alta tasa de contagio y la severidad clínica del caso. Además, en algunos terneros se aislaron bacterias usualmente asociadas a la microbiota ocular y también contribuyentes a cuadros de queratoconjuntivitis infecciosa bovina. Si bien esta presentación clínica es clásica de infecciones con BoAHV, su detección clínica ha sido poco común en los últimos años en la casuística del INTA Balcarce. Se llevarán a cabo más estudios para caracterizar genéticamente estas cepas de BoAHV.

Zbrun M, Zielinski G, Piscitelli H, Descarga C, Urbani L. 2011. Dynamics of *Moraxella bovis* infection and humoral immune response to bovine herpes virus type 1 during a natural outbreak of infectious bovine keratoconjunctivitis in beef calves. *Journal of Veterinary Science*. 12(4):347-52.

<https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.4.347>

V-002-24. Desarrollo de un kit diagnóstico nacional de ELISA para influenza A porcina

Gammella M^{1*}, Moyano RD³, Palacios MA¹, Bidart J^{1,3}, Soria I¹; Langellotti C³, Mignaqui AC², Quattrocchi V¹

1. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT, INTA-CONICET), provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias Bariloche (IFAB- INTA-CONICET), provincia de Río Negro, Argentina

3. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina

* gammella.mariela@inta.gob.ar

La gripe porcina es ocasionada por el virus de influenza, el cual pertenece a la familia orthomyxoviridae. El virión está compuesto por una cápside proteica que contiene segmentos de ARN de polaridad negativa y por varias proteínas, una de ellas, es la nucleoproteína (NP) que se encuentra conservada en más de un 90% entre todas las cepas de Influenza A. Este virus, puede afectar numerosas especies como perros, equinos, porcinos, focas, ballenas, aves de corral y aves acuáticas. Además, es potencialmente zoonótico ya que puede afectar al humano (1). En la industria porcina, la enfermedad ocasiona grandes pérdidas económicas, debido a que los casos agudos pueden producir anorexia, pérdida de peso, dificultad para respirar, fiebre, abortos y una disminución en la producción de semen, además de las complicaciones por infecciones secundarias bacterianas y virales. Luego de la exposición al virus de la influenza, los cerdos desarrollan fiebre y comienzan a diseminar el virus. La excreción se da mientras dura el pico febril y luego desciende rápidamente. En cuanto a la respuesta inmune, se observa que los anticuerpos circulantes se detectan dentro de los 10 a 14 días posteriores a la infección (2). En la actualidad la enfermedad se diagnostica generalmente de forma clínica, y es presuntiva. El diagnóstico definitivo solo es posible por medio del aislamiento viral, detección de proteínas virales, ácidos nucleicos o anticuerpos específicos contra el virus (3). La respuesta humorar es utilizada para vigilancia. La estrategia más conveniente es la detección de anticuerpos contra la NP, para lo cual se utilizan kits diagnósticos de ELISA importados. Desde el punto de vista de la salud pública, cabe destacar que, dado que los cerdos son susceptibles a la infección tanto por el virus de influenza aviar como humana, se pueden generar nuevas cepas potencialmente zoonóticas.

El objetivo del presente proyecto es desarrollar un kit diagnóstico nacional, cuya eficiencia y costos permitan que sea incorporado a campañas de vigilancia local.

Para ello, fue necesario obtener la proteína NP recombinante. En primer lugar, se analizó la secuencia del gen de la proteína NP del virus y se diseñaron primers para clonar dicho gen utilizando enzimas de restricción (XhoI y HindIII). Se logró amplificar por PCR un segmento del tamaño reportado para la NP (1500pb) partiendo de un aislamiento viral nacional y se clonó dicho segmento en el plásmido pRSET-A (pRSET-A-NP). La correcta construcción del plásmido pRSET A-NP se determinó utilizando enzimas de restricción y por secuenciación. Para la

producción de la NP recombinante, se transformaron bacterias BL21 (DE3) pLys con el plásmido pRSET-A-NP. Se realizó el cultivo con IPTG y a diferentes OD en los distintos tiempos se determinó el tiempo post inducción que produjo mayor nivel de expresión. Para corroborar la expresión se realizaron geles de poliacridamida teñidos con coomasie blue y western blot utilizando un anticuerpo anti-histidinas (ya que la proteína se expresa con una secuencia de histidinas).

La purificación se realizó mediante columnas de afinidad deresina de níquel, y se cuantificó la proteína obtenida por Bradford. Se corroboró mediante dot blot que la proteína NP purificada es reconocida por sueros de cerdos infectados con influenza A.

Se puso a punto un ensayo de ELISA, el cual se determinó la concentración de proteína purificada a usar, el tipo de placa y bloqueante, como así también tiempos y temperaturas de incubación, que nos permitieran distinguir sueros porcinos positivos de negativos. Para esta puesta a punto, utilizamos 60 sueros pertenecientes a una seroteca de INTA – Marcos Juárez, previamente analizados por el kit comercial de IDEXX. Nuestro ensayo coincidió con un índice kappa de 0,86 con el kit comercial, arrojando un 89,5% de muestras positivas coincidentes (34 muestras), 100% de muestras negativas coincidentes (22 muestras), 10% de falsos negativos (4 muestras) y ningún falso positivo.

Como conclusión podemos decir que se ha logrado producir una proteína NP recombinante, que es la base del ensayo de ELISA desarrollado *in-house*, y este ELISA fue capaz de diferenciar sueros positivos de negativos con muy buena concordancia respecto de un kit comercial. Nuestras perspectivas son validar el ELISA *in-house* aumentando la cantidad de sueros negativos y positivos, realizar ensayos de repetibilidad, y a futuro evaluar si la proteína NP obtenida en este trabajo puede ser reconocida por sueros de otras especies infectadas, dado que dicha proteína es altamente conservada. En base a ello, consideramos que este ensayo de ELISA será una herramienta de gran utilidad para el diagnóstico de Influenza A a nivel nacional y posiblemente a nivel regional.

Cauldwell A, Long J, Moncorgé O, Barclay S. 2014. Review: viral determinants of influenza A virus host range. *Journal of General Virology*. (95):1193-1210.

<http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.062836-0>

V-003-24. Desarrollo de un test de ELISA para el diagnóstico de bovinos persistentemente infectados con el virus de la diarrea viral bovina basado en nanoanticuerpos

Poggio L^{1*}, Monti D², Aduriz M¹, Franco V², Wigdorovitz A^{1,2}, Bok M^{1,2}, Parreño V^{1,2}.

¹ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

² INCUINTA, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, INTA Castelar, provincia de Buenos Aires, Argentina

* poggio.leonardo@inta.gob.ar

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) es importante en la industria ganadera debido a su capacidad para causar importantes pérdidas reproductivas. Un desafío particular es la detección de bovinos persistentemente infectados (PI), que actúan como reservorios del virus y facilitan su propagación ¹. El objetivo de este estudio es desarrollar un test de ELISA basado en nanoanticuerpos para detectar el virus en el suero de animales PI. Se realizó un biopaneo de una biblioteca de genes de nanoanticuerpos ² a partir de una llama inmunizada con BVDV 1a, 1b y 2. Se seleccionaron 7 nanoanticuerpos específicos contra la proteína p80, que fueron expresados y purificados por cromatografía de afinidad. Sus EC₅₀ (Concentración Efectiva 50) estimados mediante ensayos de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) contra la proteína p80 arrojaron valores entre 3,88 nM y 0,1 nM. Tres nanoanticuerpos (Nb18, Nb19 y Nb20) reconocieron cepas de los serotipos 1a, 1b y 2 de BVDV por ELISA. Se seleccionaron los Nb18 (EC₅₀ 1,65 nM) y Nb19 (EC₅₀ 1 nM) debido a sus mayores niveles de expresión. Se continuará con la construcción de las versiones bivalentes de ambos clones para evaluarlos como anticuerpos de captura y sus versiones monoméricas se marcarán con la enzima peroxidasa para ser utilizados como anticuerpos de detección. Se espera que este test basado en nanoanticuerpos sea capaz de detectar todas las variantes del BVDV con alta sensibilidad representando una herramienta fiable y versátil para la detección de bovinos PI que contribuirá al control del BVDV en la industria ganadera.

Arbabi Ghahroudi M, Desmyter A, Wyns L, Hamers R, Muylldermans S. 1997. Selection and identification of single domain antibody fragments from camel heavy-chain antibodies. FEBS Letters. 414(3):521–26.

[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01062-4](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01062-4)

V-004-24. Optimización de cebadores para el desarrollo de una multiplex RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2 y coronavirus en animales domésticos

Bravi ME^{1,2}, Fuentealba NA^{1,2}, Mercapide-Cañas Martin², Sguazza HG², Pecoraro MR², Panei CJ^{1,2}

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina

2. Laboratorio de Virología (LAVIR), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

* mbravi@fcv.unlp.edu.ar

Una amplia variedad de hospedadores es susceptible a la infección por coronavirus. Su alta frecuencia de mutación y de recombinación determina una gran diversidad genética con la eventual adaptación a otros hospedadores y la aparición de nuevas variantes. El objetivo de este trabajo fue realizar la optimización de cebadores para el desarrollo de una *multiplex* RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2 y coronavirus en animales, lo que permitiría llevar a cabo un monitoreo epidemiológico continuo. Para la optimización de las condiciones de amplificación, se probaron distintas concentraciones de cebadores para cada gen de interés, determinando la concentración adecuada de uso (2,5 pmol/μL, 5 pmol/μL y 7,5 pmol/μL), ensayadas con tres concentraciones de molde (cDNA) de 5 ng, 50 ng y 100 ng. Los cebadores utilizados amplifican el gen N de SARS-CoV-2 y el gen S de los coronavirus canino y felino. Como control interno de amplificación se utilizó el gen de β-actina. La especificidad y la complementariedad de los cebadores se determinó con el programa DNAMan. Para cada par de cebadores, se realizó una PCR individual con gradiente de temperatura (entre 45°C y 60°C) para determinar la temperatura de hibridación y posteriormente se determinó la temperatura de uso para la *multiplex* PCR. La temperatura óptima de hibridación fue de 50°C y las concentraciones óptimas de cada cebador fue de 5 pmol/μL. Los resultados preliminares obtenidos aportan avances para el desarrollo de un método de detección de SARS-CoV-2 y coronavirus en animales domésticos.

Nguyen VG, Cao TB, Le VT, Truong HT, Chu TT, Dang HA, Nguyen TH, Le TL, Huynh TM. 2023. A multiplex PCR method for simultaneous detection of infectious laryngotracheitis virus and *Ornithobacterium rhinotracheale*. Veterinary Sciences. 3;10(4):272. <https://doi.org/10.3390/vetsci10040272>

V-005-24. Desarrollo de protocolo *two step RT-PCR in house* para el diagnóstico de virus rábico: resultados preliminares

Díaz JP^{1*}, Copa GN^{1,2}, Tolaba Carrillo MG⁴, Enríquez CA⁵, Peralta AV³, Colque Caro LA¹, Aguirre LS^{1,2}, Sandoval GV^{1,2}, Avellaneda-Cáceres A^{1,2,6}, Micheloud JF^{1,2,4}

1. Área de Salud Animal Salta, Instituto de Investigación Animal del Chaco Semiárido, Centro de Investigaciones Agropecuarias, INTA
2. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina
3. Instituto de Biotecnología IABIMO (INTA-CONICET)
4. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta, provincia de Salta, Argentina
5. Cátedra de Química Biológica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, provincia de Salta, Argentina
6. Cátedra de Elementos de Reproducción y Sanidad Animal, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Argentina

* diaz.juanpablo@inta.gob.ar

La rabia es una enfermedad infecciosa causada por el virus de la rabia (RabV), del género *Lyssavirus*, y genoma de ARN de cadena simple polaridad negativa. En el Noroeste Argentino la enfermedad es endémica en el ganado debido a la presencia de murciélagos hematófagos capaces de transmitir la enfermedad a bovinos, equinos y otras especies. En Argentina, el diagnóstico de rabia se realiza en laboratorios oficiales mediante las técnicas clásicas de inmunofluorescencia directa y prueba biológica de inoculación en ratón lactante. Sin embargo, a nivel mundial varios trabajos señalan la utilidad de la prueba de RT-PCR para el diagnóstico de esta enfermedad. El objetivo de este trabajo es presentar el desarrollo de una prueba Two Step RT-PCR *in house* para la detección del virus rábico en el tejido de sistema nervioso (SN) de bovinos. La secuencia target empleada en esta técnica codifica para un fragmento de la nucleoproteína N del virus, común a todos los genotipos existentes del virus RabV. Se incluyó un control interno de PCR dirigido a la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (Gapdh) para determinar la aptitud de las muestras de ADN copia (ADNc). Se emplearon 100 mg de tejido de muestras de SN de bovinos (corteza, base, cerebelo y mix de tejidos) conservados a -70°C que resultaron positivos previamente a pruebas realizadas por laboratorios de referencia. Las extracciones de ARN se realizaron con trizol en cabina de bioseguridad. La retrotranscripción se realizó utilizando random primers y enzima MMLV. ARN y ADNc se cuantificaron por espectrofotometría. Para PCR RabV y PCR Gapdh se estandarizaron empíricamente las temperaturas de annealing y concentración de primers. Se analizaron 11 muestras, todas resultaron positivas al control interno Gapdh, y posteriormente fueron positivas a RabV. Estos resultados prometen que la técnica Two Step RT-PCR con control interno Gapdh resulte de utilidad para diagnóstico de RabV e investigación en el tejido nervioso de bovinos infectados.

Margineda C, Giannitti F, Liguori E, Russo S, Castro DJ, Zielinski, G. 2021. Brote de rabia paresiente bovina en la región libre de enfermedad en la Argentina. Revista Argentina de Microbiología. 53(2):135-40.

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.09.002>

V-006-24. Puesta a punto de una PCR en tiempo real “dúplex” para la detección y diferenciación de rotavirus equino A y B en materias fecales de potrillos con diarrea en Argentina.

Alamos F^{1,2,3*}, Tordoya MS^{1,2}, Ledesma C³, Vera V^{1,2}, Gabaglio C^{1,2}, Parreño V^{1,2}, Barrandeguy M⁴, Carossino M^{5,6}, Vissani M.A.^{1,2,5}

1. Instituto de Virología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina

2. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, UEDD, CONICET, Buenos Aires, Argentina

3. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina

4. Plataforma de Salud Animal (PSA-INIA), Estación Experimental INIA La Estanzuela “Dr. Alberto Boerger”, Colonia, Uruguay

5. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias (FCAyV), Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires, Argentina

6. Louisiana Animal Disease Diagnostic Laboratory and Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, USA

* alamos.florencia@inta.gob.ar

La diarrea en potrillos continúa siendo un problema sanitario importante en establecimientos de cría de caballos deportivos, por las pérdidas económicas asociadas a costos de tratamiento, potencial alteración de la futura “performance” competitiva y riesgo de muerte. Rotavirus Equino A (ERVA) es el principal agente causal de diarrea en potrillos, siendo G3P[12] y G14P[12] las cepas predominantes en el mundo. En Argentina, de acuerdo a resultados previos de nuestro laboratorio, los porcentajes de detección en el período 2016-2023 de ambos genotipos fueron similares (51,5% para G3P[12] y 48,5% para G14P[12]); sin embargo, la frecuencia de detección de cada G-tipo ocurre de forma alternada, siendo en los últimos 4 años G3P[12] más prevalente que G14P[12]. Rotavirus equino B (ERVB) ha sido extensamente reportado como agente infeccioso en cerdos, rumiantes y humanos con diarrea, mientras que en equinos hay pocos reportes. Durante la temporada de nacimientos de 2021 en Kentucky, Estados Unidos, ERVB fue identificado como agente etiológico de casos de diarrea severa en potrillos neonatos ⁽¹⁾. Dado que en Argentina existe aún un porcentaje de diarreas en potrillos que no son atribuidos a agentes conocidos, resulta importante evaluar la presencia de ERVB en las mismas.

El objetivo de este trabajo es validar una PCR en tiempo real “dúplex” para la detección y diferenciación de ERVA y ERVB y analizar muestras de materia fecal de potrillos recibidas en el servicio de diagnóstico durante 2021-2023, en las cuales no se detectó ERVA, con el fin de determinar si ERVB circula en Argentina. Para la puesta a punto, se realizó una curva de calibración con diluciones seriadas en base diez desde 10⁷ hasta 10¹ copias de DNA plasmídico/μl de los plásmidos ERVA (inserto que contiene NSP3), y ERVB (inserto que contiene VP6), para

determinar eficiencia, límite de detección y punto de corte de la técnica. Se incluyeron también muestras de campo de seis materias fecales positivas para ERVA, previamente analizadas con resultado positivo por PCR en tiempo real, para evaluar la especificidad de la técnica. Para la retrotranscripción se utilizó el kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Applied Biosystems) y para la PCR en tiempo real se utilizó el kit Multiplex Master Mix qPCR 2x (Inbio Highway). Se analizaron 57 muestras correspondientes a 15 brotes de diarrea en potrillos previamente analizadas por otras técnicas para ERVA, con resultados negativos. Se realizó la extracción de ARN viral mediante equipo comercial (QIAamp Viral RNA Mini Kit®, QIAGEN).

Se determinó una eficiencia para ERVA del 102,3% y para ERVB del 90%, una linealidad de $R^2=0,93$ para ERVA y $R^2=0,99$ para ERVB, un límite de detección de 100 copias ADN/ul para ERVA y de 10000 copias ADN/ul para ERVB, siendo los puntos de corte $Ct=36$ y $Ct=32$, respectivamente. Las muestras de campo de las seis materias fecales positivas a ERVA fueron detectadas en el Ct esperado para ERVA y resultaron no detectadas para ERVB. No se detectó ERVB en ninguna de las muestras analizadas (0/57), ni tampoco se detectó ERVA (0/57).

Se logró la validación y puesta a punto de una PCR en tiempo real “dúplex” para la diferenciación de ERVA y ERVB, permitiendo ampliar el diagnóstico de agentes causales de diarrea en equinos en nuestro laboratorio. Los resultados obtenidos indican la ausencia de ERVB en las muestras analizadas y reconfirman el resultado negativo a ERVA obtenido previamente mediante otros kits diagnósticos, validando así la robustez de la técnica. Se prevee el análisis de sensibilidad y especificidad de la técnica, siendo necesaria una técnica *gold standard* y materias fecales de campo positivas a ERVB que no poseemos por el momento en nuestro laboratorio. Se continuará con el diagnóstico de ERVA y ERVB en las muestras que ingresen al servicio de diagnóstico para continuar evaluando la prevalencia de estos agentes.

Carossino M, Balasuriya UBR, Thieulent CJ, Barrandeguy M, Vissani MA, Parreño V. 2023. Quadruplex Real-Time TaqMan® RT-qPCR Assay for differentiation of Equine Group A and B Rotaviruses and identification of Group A G3 and G14 Genotypes. *Viruses*. 15(8):1626. <https://doi.org/10.3390/v15081626>

V-007-24. Estandarización de un método para la detección del virus de lengua azul a partir de muestras tomadas en papel de filtro

Quiroga, E^{1,2*}; Jordán, MJ²; Roldán, JS²; Morel, VM³; Sala, J³; Dus Santos, MJ^{1,2,4}

1. Universidad Nacional de Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina.

2. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), CICVyA, INTA Castelar, provincia de Buenos Aires, Argentina.

3. EEA Mercedes - INTA, Mercedes, provincia de Corrientes, Argentina

4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

* quirogaestefania8@gmail.com

La lengua azul es una enfermedad considerada por la OMSA como de máxima importancia para el comercio internacional de animales y sus productos y de declaración obligatoria ante dicha organización. Actualmente, el diagnóstico del virus de la lengua azul (VLA) se efectúa a partir muestras de sangre de animales con signos clínicos o sospechosos, siendo el método más recomendado la RT-qPCR. En nuestro país, los laboratorios capacitados para el diagnóstico del VLA son escasos y se encuentran en la provincia de Buenos Aires (SENASA y Laboratorio de Diagnóstico Virológico, IVIT). Las muestras de sangre colectadas deben trasladarse a estos laboratorios para su procesamiento, lo que genera una gran dificultad debido a las condiciones necesarias para el transporte. Por ello, el desarrollo de métodos que permitan optimizar la toma de muestras, su conservación y transporte seguro es de vital importancia. La técnica DBS (Dried Blood Spot) constituye una alternativa de muestreo para la detección diagnóstica de diferentes patógenos de interés humano y veterinario. La misma consiste en el uso de filtros de papel embebidos en agentes que lisan células, desnaturalizan proteínas, inmovilizan y protegen los ácidos nucleicos y tienen la capacidad de inactivar los virus presentes en la muestra. Esto permite su transporte y conservación a temperatura ambiente. Por todo lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue estandarizar y evaluar protocolos de muestreo para el VLA empleando el método DBS, a fin de lograr una adecuada conservación y transporte de muestras de sangre para el posterior diagnóstico. Para estandarizar las condiciones de obtención del ARN viral se contaminó artificialmente sangre bovina con virus titulado y cuantificado por RT-qPCR. Se evaluó la recuperación del ARN viral, siendo la hidratación con TE, incubación a 37°C por 30 minutos a 1000 rpm de agitación y posterior purificación del ARN con kit comercial, la condición más eficiente. Se evaluó también, la estabilidad de la muestra en las tarjetas almacenando las mismas a 25°C, 4°C, -20°C y -80°C por 1, 7, 30, 90, 180 y 360 días. Hasta el momento, se comprobó la estabilidad a todas las temperaturas hasta los 180 días de almacenamiento. Además, se confirmó la ausencia de material infeccioso en el eluido de la tarjeta. Finalmente, se realizó una evaluación preliminar a campo colectando muestras de sangre de bovinos y ovinos en tubo y en tarjetas. Las mismas fueron transportadas al laboratorio y analizadas con las metodologías estandarizadas. La concordancia de resultados detectables fue total,

no obstante, se detectaron cargas virales inferiores en las muestras sembradas en tarjetas. La metodología estandarizada representa un gran avance dentro del diagnóstico del VLA, ya que permitirá que las muestras se trasladen sin refrigeración y con las condiciones de bioseguridad adecuadas sin perder capacidad diagnóstica.

Cardona-Ospina JA, Villalba-Miranda MF, Palechor-Ocampo LA, Mancilla LI, Sepúlveda-Ariasa JC. 2019. A systematic review of FTA cards as a tool for viral RNA preservation in T fieldwork: Are they safe and effective? Preventive Veterinary Medicine. 172 (104772): 1-11. doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104772.

Purvis LB, Villegas P, Perozo F. 2006. Evaluation of FTA® paper and phenol for storage, extraction and molecular characterization of infectious bursal disease virus. Journal of Virological Methods 138 (2006): 66-69. doi.org/10.1016/j.jviromet.2006.07.021.

V-008-24. ELISA IBR cobayos: prueba de potencia para vacunas contra la rinotraqueítis infecciosa bovina

Franco V¹, Rocha L¹, Romera A^{1,2}, Wigdorovitz A^{1,2}, Bok M^{1,2*}, Parreño V^{1,2}

1. INCINTA, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, INTA Castelar

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

* bok.marina@inta.gob.ar

La rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) es una enfermedad respiratoria de los bovinos causada por el bovine alphaherpesvirus 1 (BoAHV-1), género Varicellovirus. Desde el año 2012 el SENASA implementó el Modelo Cobayo INTA como prueba de potencia oficial para el control de las vacunas para IBR (Res. 598/2012)¹. La potencia de las vacunas se evalúa mediante un ELISA para medir los anticuerpos IgG anti BoHV-1 en el suero de los cobayos inmunizados². El ELISA fue escalado y registrado ante SENASA para su comercialización. El kit se comienza a comercializar en formato *in house* y en el año 2021, una vez aprobado el registro, se produce la primera serie a control en formato industrial definitivo, evaluada por SENASA y otorgándose el certificado de libre comercialización. El kit incluye 5 placas de 96 pocillos sensibilizadas con BoHV-1, sueros de cobayo controles y conjugado anti-IgG de cobayo. El ensayo posee una sensibilidad y una especificidad diagnóstica de 100% y 94,9%, respectivamente. En los últimos 8 años se produjeron 30 lotes (214 kits/1070 placas) que se vendieron a SENASA, a 4 empresas productoras de vacunas y a dos laboratorios de diagnóstico privados (Buenos Aires y Salta). Además, este kit fue exportado a Uruguay, Paraguay, Brasil y Turquía. También, se realizó la estabilidad de 3 lotes consecutivos y se confirmó su durabilidad por al menos 12 meses. El *kit* de ELISA IBR Cobayos marcó un hito en la historia del control de las vacunas logrando mejorar significativamente la calidad de las vacunas aplicadas a los rodeos argentinos.

Parreño V, López MV, Rodriguez D, Vena MM, Izuel M, Filippi J, Romera A, Faverin C, Bellinzoni R, Fernandez F, Marangunich L. 2010. Development and statistical validation of a guinea pig model for vaccine potency testing against infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus. Vaccine. 28(13):2539-49. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.01.035>

V-009-24. Primer estudio de la circulación del virus de la leucosis bovina en búfalos de Argentina

Suárez Archilla G¹, Morel V^{2,3}, Ruiz V^{3*}

1. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IDICaL), EEA Rafaela INTA-CONICET, provincia de Santa Fe, Argentina

2. EEA Mercedes-INTA, provincia de Corrientes, Argentina

3. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (INTA-CONICET), Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), provincia de Buenos Aires, Argentina

* ruiz.vanesa@inta.gob.ar

La infección por el virus de la leucosis bovina (BLV) es endémica en establecimientos bovinos de Argentina, afectando principalmente a establecimientos lecheros. Estudios recientes demostraron que el 71% de los establecimientos bovinos de carne están infectados con BLV, con una seroprevalencia individual del 7,23% (mediana=2,69%; min=0; max=75). La infección natural por BLV en búfalos fue reportada en países cercanos como Brasil y Colombia, con prevalencias individuales de 4-24% y 19-33%, respectivamente, pero se desconoce la situación en nuestro país. El objetivo de este trabajo fue determinar la circulación de BLV en búfalos de Argentina. Para ello, se analizaron 288 sueros de búfalos de ambos sexos, pertenecientes a 7 establecimientos de la provincia de Corrientes (n=269), un establecimiento de Chaco (n=9) y uno de Santa Fe (n=10), y 10 muestras de *buffy coat* pertenecientes a los búfalos de Santa Fe. Las técnicas utilizadas fueron inmunodifusión en gel de agar (IDGA) para la detección de anticuerpos específicos en suero, debido a que los ELISAs diseñados para bovinos pueden dar resultados falsos positivos, y nested-PCR para la detección de ADN proviral en *buffy coat*. Las muestras resultaron seronegativas y no se detectó producto de amplificación. Estos resultados indican que no habría circulación del BLV en búfalos de Argentina. Este es el primer estudio de circulación del BLV en búfalos del país. Se planea continuar con el mismo, incluyendo muestras de búfalos de establecimientos de Formosa, Entre Ríos y Buenos Aires, así como adicionar establecimientos de Chaco y Santa Fe.

Molnár E, Molnár L, Guedes VTM, De Lima ESC. 2000. Naturally occurring bovine leukosis virus in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Brazil. Veterinary Record. 146(24):705-6. <https://doi.org/10.1136/vr.146.24.705>

Olaya-Galán NN, Corredor-Figueroa AP, Velandia-Álvarez S, Vargas-Bermudez DS, Fonseca-Ahumada N, Nuñez K, Jaime J, Gutiérrez, MF. 2022. Evidence of bovine leukemia virus circulating in sheep and buffaloes in Colombia: insights into multispecies infection. Archives of Virology. 167(3): 807-17.

<https://doi.org/10.1007/S00705-021-05285-7>

V-010-24. Capacidad de replicación *in vitro* de miembros de la familia *Orthoherpesviridae* en presencia de plasma rico en plaquetas y suero fetal bovino

S. López^{1*}, V. Andreoli², S. Pereyra¹, S. Delgado³, M Yarvosky¹, F. Romeo¹, E. Gonzalez Altamiranda¹, S. Perez⁴, A. Verna¹

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

2. Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Bioquímica, Universidad de Parma. Italia

3. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

4. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN)-CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), provincia de Buenos Aires, Argentina

* lopez.sofia@inta.gob.ar

Los ortoherpesvirus incluyen los géneros *Varicellovirus* y *Radinovirus*, que comprenden a los virus BoAHV-1 y BoGHV-4, respectivamente. Estos virus tienen gran relevancia debido a su impacto en la salud de los bovinos, afectando tanto la producción como la reproducción [1,2]. El plasma rico en plaquetas (PRP) presenta propiedades inmunomoduladoras y regenerativas debido a su enriquecimiento en factores de crecimiento con potencial mitogénico y antiinflamatorio [3]. Por otro lado, el suero fetal bovino (SFB) es un suplemento esencial en cultivos celulares por su riqueza nutritiva. Dilucidar cómo estos componentes afectan la replicación viral podría proporcionar nuevas perspectivas para el desarrollo de terapias antivirales y mejorar las estrategias de las infecciones ocasionadas por virus. Por lo tanto, en este estudio se analizó la cinética de replicación intra y extracelular de BoAHV-1 y BoGHV-4 en presencia de PRP y se comparó con SFB al mismo porcentaje (10%). Para ello, se utilizaron líneas celulares susceptibles a la infección por ortoherpesvirus, células renales bovinas Madin-Darby (MDBK) y células endometriales bovinas derivadas de cultivos primarios (BEC) cultivadas con medios suplementados con PRP y SFB (10%). Se utilizaron la cepa de referencia BoAHV-1 LA38 y la cepa de campo BoGHV-4 07/435. Se recolectaron sobrenadantes y células a las 12, 24 y 48 horas post-infección (hpi) para la titulación del virus utilizando el método de titulación por punto final. Se utilizó un modelo factorial, en función del tiempo y el tratamiento, para probar la hipótesis de “ausencia de interacción”. Los títulos virales (TV) se ajustaron a modelos de regresión polinómica. La replicación viral extracelular de la cepa LA38 fue menor en ambos cultivos celulares suplementados con PRP, con diferencias significativas ($p>0.05$) observadas de 1 log a las 48 hpi en células MDBK y 0.5 log a las 24 hpi en células BEC. En contraste, los TV extracelulares de la cepa 07/435 no se vio afectado por la presencia de PRP en las células BEC. Esto podría estar indicando que la presencia del PRP no modifica significativamente la replicación viral en estas células. Sin embargo, en las células MDBK, los TV

disminuyeron significativamente ($p>0,05$) con una magnitud de 3.7 log con el PRP a las 48 hpi y aumentaron 1.4 log a las 72 hpi en comparación con el SFB. Este patrón inicial de inhibición seguido de aumento en la replicación viral sugiere una respuesta dinámica y adaptativa del virus al PRP. En cuanto a la replicación intracelular de la cepa LA38, se observó una disminución significativa ($p>0.05$) del TV de 1.5 log de magnitud en presencia de PRP a las 48 hpi en células MDBK, lo que podría indicar una posible inhibición viral por el PRP o facilitación por el SFB. En células BEC, se detectaron diferencias significativas menores ($p>0.05$) en todos los tiempos evaluados con PRP: 0.3 log a las 24 hpi, y 0.7 log a las 48 y 72 hpi. Es importante destacar que, en ambos cultivos, los TV intracelulares con PRP fueron más bajos que con SFB, excepto a las 48 hpi. Estos hallazgos sugieren un efecto inhibitorio del PRP sobre la replicación viral en comparación con el SFB. La excepción observada a las 48 hpi en células MDBK podría deberse a una interacción específica entre el PRP y los mecanismos de replicación viral, lo cual requiere un análisis más exhaustivo. Se observó una tendencia similar en el título viral de la cepa 07/435 en ambos cultivos celulares (MDBK y BEC), siendo siempre más bajos en presencia del PRP, esto sugiere un efecto inhibitorio sobre la replicación viral de esta cepa en ambos tipos de células estudiadas, salvo en momentos específicos donde se registraron diferencias significativas. En células MDBK, estas diferencias fueron significativas ($p>0,05$) a las 24 hpi, mientras que en células BEC ocurrieron a las 24 y 72 hpi, posiblemente relacionado con distintas fases del ciclo viral donde el PRP podría tener un impacto variable. Estos resultados subrayan la importancia de entender cómo los componentes del medio de cultivo pueden influir en la dinámica de replicación viral, lo cual es crucial para el desarrollo de estrategias antivirales y para optimizar la producción de cultivos celulares en la investigación biomédica y veterinaria.

Atasever A, Mendil AS, Timurkan MO. 2023. Detection of bovine viral diarrhea virus and bovine herpes virus type 1 in cattle with and without endometritis. Veterinary Research Forum. 14:541-48.

<https://doi.org/10.30466/vrf.2023.1999091.3830>

V-011-24. Detección de norovirus bovino en terneros de tambos de Argentina mediante PCR en tiempo real

Rocha L^{1*}, Garro C², Mozgovoj M^{3,4}, Bok M^{1,4}, Parreño V^{1,4}

1. INCINTA, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA), INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

2. Instituto de Patobiología (IPVet), Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVYA), INTA, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Instituto de Tecnología de los Alimentos, Centro de Investigaciones de Agroindustria, INTA Castelar, Argentina

4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

* rocha.lucia@inta.gob.ar

Los norovirus bovinos (BoNoV) son patógenos entéricos asociados a cuadros de gastroenteritis aguda. Sin embargo, la información epidemiológica es escasa en Argentina. El objetivo de este trabajo fue estandarizar una PCR en tiempo real (qPCR) para determinar la prevalencia de BoNoV en los rodeos de nuestro país (Wolf, et al 2007)¹. A partir de una muestra de materia fecal positiva, secuenciada previamente², se amplificó un fragmento de 97 pb correspondiente al gen RdRp del virus y se clonó en un plásmido (pGEM-T Easy), el cual se empleó como control positivo del ensayo. Se analizaron 30 muestras de materia fecal de terneros pertenecientes a 3 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires tomadas en el año 2017 y almacenadas a -80°C. Se detectó BoNoV en el 83% (25/30) de las muestras analizadas, los valores de Ct obtenidos oscilaron entre 21,8 y 35,8. Para caracterizar las variantes circulantes, se amplificó por RT-PCR³ un fragmento de 517 pb correspondiente a la región comprendida entre el ORF1 y ORF2 del genoma viral. Diez muestras resultaron positivas, 2 de las cuales se secuenciaron y fueron clasificadas como BoNoV GIII.2, la variante prevalente a nivel mundial. Las muestras restantes, positivas a qPCR y negativas por RT-PCR, mostraron bandas inespecíficas que podrían atribuirse a la degradación de estas a lo largo del tiempo. Más estudios están en proceso para determinar el límite de detección y cuantificación de la qPCR y el análisis de muestras frescas para confirmar las variantes de BoNoV en Argentina.

Wolf S, Williamson MW, Hewitt J, Rivera-Aban M, Lin S, Ball A, Scholes P, Greening G. 2007. Sensitive multiplex real-time reverse transcription-PCR assay for the detection of human and animal Noroviruses in clinical and environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(17):5464-70.

<https://doi.org/10.1128/AEM.00572-07>

Ferragut F, Vega CG, Mauroy A, Conceição-Neto N, Zeller M, Heylen E, Uriarte EL, Bilbao G, Bok M, Matthijnssens J, Thiry E, Badaracco A, Parreño V. 2016. Molecular detection of bovine Noroviruses in Argentinean dairy calves: circulation of a tentative new genotype. *Infection, Genetics and Evolution*. 40:144-50.

<https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.02.034>

Castells M, Caffarena RD, Casaux ML, Schild C, Castells F, Castells D, Victoria M, Correa FR, Giannitti F, Parreño V, Colina R. 2020. Detection, risk factors and molecular diversity of norovirus GIII in cattle in Uruguay. *Infection, Genetics and Evolution*. 86(104613):1-7. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104613>

V-012-24. Primer reporte de diarrea viral bovina en Ecuador por medio de RT-qPCR a partir de muestras tomadas en tarjetas de colección de ácidos nucleicos

Aguilar, FL^{1,3*}; Cardoso, N⁴; Marucho, SS²; Dus Santos, MJ²; Carruyo, G³

1. Universidad Técnica de Machala, Machala, Provincia del Oro, Ecuador

2. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA; Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), INTA Castelar, provincia de Buenos Aires, Argentina

3. Universidad del Zulia, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina

* flaguilar@utmachala.edu.ec

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB), es un virus de distribución mundial perteneciente al género *Pestivirus* dentro de la familia *Flaviviridae*. El VDVB presenta dos genotipos, VDVB 1 y VDVB 2, que se identifican como especies distintas dentro de este género; además, tienen una clasificación adicional como citopático y no citopático, basado en su comportamiento en cultivo celular *in vitro*. Actualmente, se ha reconocido un gran número de nuevas especies de pestivirus como el HoBi-like (VDVB3 o *pestivirus H*), virus atípico de rumiantes el cual ha sido reportado en países como Brasil y Argentina. El VDVB es considerado el agente causal de las principales pérdidas económicas en el mundo de la industria ganadera, provoca una gran variedad de síntomas clínicos en bovinos, y la aparición de animales persistentemente infectados (PI). La presencia del VDVB en una muestra puede determinarse mediante aislamiento viral, detección de antígeno (ELISA) o de ácido nucleico viral (PCR). La detección del ARN viral por RT-PCR convencional y RT-qPCR presenta la ventaja de ser una técnica rápida, sensible y mucho más apropiada principalmente para el diagnóstico del VDVB en animales jóvenes PI que pudieran presentar anticuerpos del calostro materno.

En la actualidad no hay reportes sobre el diagnóstico molecular del VDVB en poblaciones bovinas de Ecuador. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la presencia del VDVB en los hatos ganaderos de la zona Sur del Ecuador, por medio de RT-qPCR. El presente trabajo se realizó en un total de 189 muestras de sangre, provenientes de los cantones El Guabo, Pasaje, Chilla, Piñas y Santa Rosa, siendo estos los más representativos en producción lechera en la Provincia de El Oro (Sur del Ecuador). Las muestras fueron procesadas por centrifugación (2000 rpm durante 15 min), y 50 ul del plasma sanguíneo obtenido fue colocado en las tarjetas de colección de ácidos nucleicos GenSaver™ 2.0 (Ahlstrom) para su conservación. Las mismas se dejaron secar y se conservaron a -20°C/4°C hasta su utilización. La extracción del material genético de las tarjetas se realizó como se describe en Favaro y col (2023) con pequeñas modificaciones. La detección del genoma de VDVB se efectuó amplificando un fragmento de 201 pb correspondiente al 5' UTR (Monteiro y col, 2019).

Globalmente, el virus fue detectado en el 20,63% (39/189) de las muestras analizadas. Los animales no presentaban signos clínicos asociados con la enfermedad. No obstante, en todos los cantones se obtuvieron muestras positivas, siendo el cantón de Piñas el que presentó la mayor proporción de positividad. No se observó asociación entre la presencia del virus y las variables sexo y raza.

El presente estudio confirma por primera vez la presencia del VDVB entre los hatos ganaderos de la provincia de El Oro y demuestra de manera directa la circulación del virus en todos los cantones muestreados. Así mismo, la utilización de las tarjetas de colección de ácidos nucleicos representa una gran alternativa a la hora de conservar el material genético en vista de sus bondades en cuanto a preservación, bioseguridad y fácil transporte de las muestras biológicas.

Favaro PM, Molineri A, Dus Santos MJ, Calvino LF, Pecora A. 2023. Improvement of bovine pestiviral diagnosis by the development of a cost-effective method for detecting viral RNA in fresh specimens and samples spotted in filter papers. *Revista Argentina de Microbiología*. 55(2):167-75.

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.10.002>

V-013-24. Detección del virus de la diarrea viral bovina como contaminante de bancos celulares

Franco L^{1*}, Becerra L¹, Pérez López J¹, Salazar D¹, Politzki R¹, Cardoso N^{2,3}, Suyay Roldán J³, Jordán M³, Ruiz V^{1,2}, Olguín Perglione C¹

1. Laboratorio de Virus Adventicios, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), INTA-CONICET, Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT) INTA-CONICET, Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina

* franco.lautaro@inta.gob.ar

Los agentes adventicios son contaminantes que se introducen de forma no intencional durante el proceso de producción de biológicos. Las líneas celulares son ampliamente utilizadas durante la manufactura de estos productos y, en consecuencia, todos los productos biológicos que utilizan células durante el proceso productivo tienen riesgo de contener contaminantes virales. Un producto biológico elaborado a partir de células contaminadas podría tener graves consecuencias clínicas en sus usuarios, así como pérdidas económicas para la industria. Por este motivo, es sumamente importante detectar e identificar los contaminantes virales adventicios que podrían estar presentes en las líneas celulares.

La seguridad viral de los bancos celulares y los productos biológicos puede garantizarse mediante la aplicación de una serie de ensayos, que se realizan siguiendo normativas y reglamentaciones nacionales e internacionales. De acuerdo con estos lineamientos, el esquema de control de contaminantes virales adventicios puede realizarse *in vitro*, lo que incluye la inoculación de la muestra en diversas líneas celulares susceptibles para detectar una amplia gama de virus. Adicionalmente, según el tipo de muestra y la normativa, se realizan también ensayos *in vivo*, con inoculación de ratones y/o huevos embrionados para amplificar virus que no replican en cultivos celulares. Finalmente, se realiza la detección específica de diferentes virus a través de inmunoensayos y/o PCR o RT-PCR.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en el Laboratorio de Virus Adventicios del Instituto de Virología, INTA, sobre la detección de contaminantes virales adventicios en bancos celulares en el periodo comprendido entre enero de 2018 y diciembre de 2023.

Durante este periodo se analizaron 101 muestras de bancos celulares de diferentes líneas, entre ellas: CHO, BHK, VERO, MDBK, MDCK, CRFK, PK15, MA104, HEp-2, RK13, ED, RAW y NSO.

Cada muestra fue inoculada en al menos dos líneas celulares diferentes dependiendo del origen y destino del producto. Las células fueron observadas diariamente durante 21 días, realizando al menos dos pasajes. Durante todo este

período se observaron diariamente en busca de efecto citopático, y luego los cultivos fueron revelados por hemadsorción, para detectar virus hemadsorbentes, y por inmunofluorescencia directa y/o PCR/RT-PCR para detectar específicamente virus bovinos, porcinos y/u otros. De acuerdo con el requerimiento, algunas de estas muestras fueron inoculadas también en huevos embrionados y/o en ratones lactantes y/o adultos. Todos los ensayos fueron realizados de acuerdo con los lineamientos internacionales descriptos por EMA y USDA; y nacionales como los de ANMAT y SENASA.

Se detectaron agentes virales contaminantes en tres de los bancos celulares analizados durante este periodo. En todos los casos, el agente viral detectado fue el virus de la diarrea viral bovina (BVDV) del tipo no citopático. La detección se realizó mediante las técnicas de inmunofluorescencia directa y RT-qPCR.

Estos resultados demuestran la importancia de la detección de contaminantes virales adventicios sobre los bancos celulares que se utilizarán como sustrato durante el proceso de producción de biológicos, destinados tanto al ámbito veterinario como humano.

Además, este trabajo resalta la importancia de contar con el servicio de detección de virus adventicios en nuestro país, contribuyendo a garantizar la seguridad viral y la calidad de los productos biofarmacéuticos.

Animal and Plant Health Inspection Service. 2024. Code of Federal Regulations. Title 9, Volume 1. Animals and Animal Products. Chapter I, Animal and Plant Health Inspection Service, Department of Agriculture Part 113. Standard Requirements. 113.52 Requirements for Cell Lines Used for the Production of Biologics. [En línea] Disponible en:

<https://www.aphis.usda.gov/veterinary-biologics/cfr>

[Consultado 01/04/2024]

V-014-24. Detección molecular de *Pestivirus* y *Mycoplasma spp.* en muestras de suero fetal bovino: importancia del diagnóstico integral en sustratos para la producción de biológicos

Franco, L¹; Becerra, L¹; Pérez López, J¹; Politzki, R¹; Cardoso, N^{2,3}; Suyay Roldán, J³; Jordán M³; Ruiz, V^{1,2}; Olgún Perglione C^{1*}

1. Laboratorio de Virus Adventicios, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), INTA-CONICET, Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina

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

3. Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), INTA-CONICET, Hurlingham, provincia de Buenos Aires, Argentina

* olguin.cecilia@inta.gob.ar

El suero fetal bovino (SFB) es un suplemento muy importante para el cultivo de células y tejidos utilizados en el desarrollo de productos biofarmacéuticos. Este insumo podría estar contaminado con agentes adventicios, como virus y micoplasmas, lo que podría afectar gravemente la producción de biológicos.

El objetivo de este trabajo es mostrar los resultados obtenidos durante el diagnóstico de virus adventicios y *Mycoplasma spp.* realizado sobre muestras de SFB irradiado, recibidas en nuestro laboratorio durante enero de 2020 y diciembre de 2023.

Se evaluaron 68 lotes (muestras) de SFB procedentes de 4 empresas nacionales. Las muestras fueron inoculadas en 2 líneas celulares (MDBK y Vero) y observadas diariamente durante 21 días con al menos 2 pasajes, para detectar efecto citopático (ECP). Los cultivos fueron revelados por hemadsorción e inmunofluorescencia directa (IFD) para detectar virus bovinos. Además, se realizó la búsqueda molecular del genoma de pestivirus y *Mycoplasma spp.* en la muestra original y en el lisado celular obtenido luego de los 21 días.

Se detectó material genético de pestivirus y micoplasma en el 38% y 22% de las muestras originales, respectivamente. Sin embargo, el mismo fue indetectable en los lisados celulares post-cultivo. Ninguna de las muestras presentó ECP ni actividad hemadsorbente, y todas resultaron negativas por IFD.

Estos resultados demuestran la eficiencia de la irradiación del SFB y remarcan la importancia de realizar el diagnóstico de agentes contaminantes en este suplemento, para garantizar la seguridad de los productos biológicos que utilizan este sustrato durante su proceso productivo.

Monteiro FL, Cargnelutti JF, Martins B, Noll JG, Weiblen R, Flores, EF. 2019. Detection of bovine pestiviruses in sera of beef calves by a RT-PCR based on a newly designed set of pan-bovine pestivirus primers. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 31(2): 255–58.

<http://doi.org/10.1177/1040638719826299>

van Kuppeveld FJ, van der Logt JT, Angulo AF, van Zoest MJ, Quint WG, Niesters H G, Galama JM, Melchers WJ. 1993. Genus- and species-specific identification of mycoplasmas by 16S rRNA amplification. *Applied and Environmental Microbiology*. 59(2): 655.

<http://doi.org/10.1128/aem.58.8.2606-2615.1992>

V-015-24. Virus de distemper canino en 5 zorros grises pampeanos (*Lycalopex gymnocercus*) en la provincia de Buenos Aires

Tizzano, MA¹, Origlia, JA^{1, 6}, Butti, MJ^{1,4}, Susevich, ML^{1, 2}, Maydup FA^{1,6}, Gorritti G⁵, Carpinetti, BN³, Sguazza, GH¹; Echeverría, MG^{1, 2}.

1. Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV) Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

2. CCT-CONICET-La Plata, Argentina

3. Área Gestión Ambiental/Ecología, Instituto de Ciencias Sociales y Administración, Universidad Nacional Arturo Jauretche, Argentina

4. Laboratorio Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

5. Cátedra de Ecología General, Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

6. Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

* mtizzano@fcv.unlp.edu.ar

El virus del distemper canino (CDV), produce infecciones agudas y frecuentemente mortales en miembros de las familias *Canidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae* y *Felidae*. Se encuentra ubicado taxonomicamente dentro la familia *Paramixoviridae*, subfamilia *Orthoparmyxovirinae*, género *Morbilivirus*. La enfermedad que produce suele ser multisistémica, dando signos respiratorios, entéricos y neurológicos. Se previene mediante la utilización de vacunas inactivadas, atenuadas o modificadas genéticamente en animales de compañía. Las especies silvestres no reciben vacunación, por lo tanto, actúan como reservorios de la enfermedad. Dentro de estas especies susceptibles, el zorro gris pampeano (*Lycalopex gymnocercus*) es uno de carnívoros de vida libre más abundantes de América del Sur. Habitán pastizales, bosques abiertos y algunas áreas pobladas y se alimentan de vertebrados domésticos y silvestres, frutos, insectos, carroña y basura. En este trabajo se informa la detección del virus del distemper canino en zorros grises pampeanos de la provincia de Buenos Aires. Se obtuvieron muestras de 16 zorros, 4 de ellos provenientes de la captura incidental y el resto muertos por atropellamiento, entre el año 2020 y el 2023. Se extrajeron las vísceras huecas y órganos parenquimatosos. Se extrajeron los ARNs de las muestras de pulmones obtenidas con el reactivo RNAzol. Se utilizaron 2 microgramos de los ARN extraídos para realizarles unas RT-PCRs con cebadores específicos para el gen N del CDV denominados (CDV-f: 5'-TTCTGAGGCAGATGAGTTCTC-3' y CDV-r: 5'-CTTGGATGCTATTCT GACACT-3'). Luego de la PCR, se obtuvieron amplicones de 829 bp en muestras de pulmón de 5 zorros, de acuerdo con lo esperado. Cabe destacar que en tres de estos animales predominaba un cuadro neurológico agudo y dos de ellos presentaron lesiones histopatológicas compatibles con la enfermedad viral. Estos resultados ponen de manifiesto la presencia del CDV en 5 ejemplares de zorros grises. El presente trabajo pone en evidencia la circulación del virus del distemper canino en zorros grises en la provincia de Buenos Aires. La

urbanización de zonas periféricas a los grandes centros urbanos ha acelerado el intercambio de patógenos entre especies silvestres y domésticas. Los animales atropellados y los provenientes de capturas incidentales, son capaces de suministrar información valiosa referida a la circulación de algunos agentes infecciosos en la región bajo estudio; además plantean nuevos desafíos concernientes a la conservación de la fauna autóctona.

Acevedo GS, de Lima EL. 2021. Reporte del primer caso de moquillo canino en zorro de monte (*Cerdocyon thous*) en la provincia de Misiones Argentina. Ciencia Veterinaria. 23(1): 47-54. <https://doi.org/10.19137/cienvet-202123105>

Oleaga A, Blanco Vázquez C, Royo LJ, Doria Barral T, Bonnaire D, Armenteros JA, Rabanal B, Gortázar C, Balseiro A. 2022. Canine distemper virus in wildlife in south-western Europe. Transbound Emerging Diseases. 69: 473–85.

<https://doi.org/10.1111/tbed.14323>

Wang F, Yan X, Chai X, Zhang H, Zhao J, Wen Y, Wu W. 2011. Differentiation of canine distemper virus isolates in fur animals from various vaccine strains by reverse transcription-polymerase chain reactionrestriction fragment length polymorphism according to phylogenetic relations in China. Virology Journal. 8: (85): 2-8. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-85>

V-016-24. Estudio filogenético del virus de la inmunodeficiencia felina en muestras de sangre de felinos de la ciudad de La Plata, Buenos Aires

Colina SE¹, Tizzano MA^{1*}, Aspitia CG¹, Metz, GE¹, Echeverría MG¹

1. Laboratorio de Virología (LAVIR), Centro de Microbiología Básica y Aplicada (CEMIBA), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina

* marcotizzano@yahoo.com.ar

El virus de la inmunodeficiencia felina (VIF) pertenece a la familia *Retroviridae*, género *Lentivirus* y comparte clasificación con el virus de anemia infecciosa equina, el virus de la inmunodeficiencia del simio y el virus de la inmunodeficiencia humana, entre otros. Este retrovirus se encuentra distribuido mundialmente y es el causante de la mayoría de infecciones crónicas que afectan el sistema inmune en las poblaciones felinas (Little et al., 2020). En Argentina, la circulación de un subtipo del VIF, denominado E, fue sugerida hace casi 30 años mediante el estudio filogenético de una región del gen *env* (Pecoraro et al., 1996). En el siguiente trabajo de investigación se realizó un estudio filogenético, a partir de una región específica del gen *env* del VIF, a muestras positivas para este retrovirus a partir de un universo de muestras de sangre remitidas al Laboratorio de Virología en el transcurso del año 2023.

A partir de las muestras de sangre remitidas, se realizó el aislamiento de ADN genómico haciendo uso del kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) siguiendo las indicaciones del fabricante. Seguidamente el ADN se incubó a 60°C por 10 minutos en bloque térmico y se diluyó agregando 1 volumen de agua libre de nucleasas. En una primera instancia, se realizó una PCR dúplex para la detección del ácido nucleico de VIF/VILEF utilizando dos pares de cebadores que hibridan en una región del gen *pol* del VIF y en una región de la retrotranscriptasa del VILEF con las siguientes condiciones: desnaturización inicial a 95°C por 5 minutos, 35 ciclos a 94°C por 1 minuto, 52°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos y una extensión final a 72°C por 5 minutos. Los ADN positivos a VIF se utilizaron como molde para la PCR punto final haciendo uso de los cebadores utilizados por Pecoraro y colaboradores, que amplifican un fragmento de aproximadamente 750 pb. El programa utilizado fue: desnaturización inicial a 95°C por 5 minutos, 30 ciclos a 94°C por 1 minuto, 57°C por 1 minuto y 72°C por 1 minuto y extensión final a 72°C por 5 minutos. Los productos amplificados se separaron electroforéticamente en gel de agarosa al 1% por 30 minutos, se tiñeron en solución de bromuro de etidio y se visualizaron en transiluminador de luz UV. La purificación se realizó mediante el kit AccuPrep® PCR/Gel Purification Kit (Bioneer Corporation) siguiendo indicaciones del fabricante. La secuenciación se realizó mediante la técnica de Sanger seguido de electroforesis capilar en secuenciador automático SeqStudio Genetic Analyzer (Thermofisher) de la Unidad de Genómica del Hospital El Cruce de Florencio Varela. Las secuencias se analizaron empleando el software bioinformático Mega11 construyéndose un árbol con máxima similitud utilizando el método Bootstrap como test filogenético luego

de 500 réplicas y empleando las secuencias de los diferentes subtipos del VIF (A, B, C, D; E y F) reportadas en el GenBank.

Entre febrero y diciembre del año 2023 fueron remitidas un total de 71 muestras de sangre con anticoagulante de felinos a fin de realizar la determinación de la presencia de ácido nucleico pertenecientes al VIF y al VILEF por la técnica de PCR punto final, encontrándose 7 muestras positivas para VIF. Del total de muestras positivas, se logró amplificar un fragmento comprendido entre las regiones V3 y V5 del gen *env* del VIF de 5 muestras: VIF 8, VIF 34, VIF 36, VIF 37 y VIF 52. De solamente 3 muestras se logró obtener un fragmento de aproximadamente 750 pb que cumpliera con las condiciones necesarias para el servicio de secuenciación: VIF 8, VIF 34 y VIF 52. Con las tres secuencias recuperadas se realizó un análisis filogenético a partir del cual se pudo determinar que VIF 34 y VIF 52 agruparon con el subtipo E y VIF 8 agrupó con el subtipo A. Los hallazgos en este trabajo dan cuenta de una posible circulación del subtipo A del VIF, además del E ya reportado en la ciudad de La Plata provincia de Buenos Aires (Pecoraro et al., 1996). Curiosamente la circulación del subtipo A se encuentra en concordancia con lo descrito en otro trabajo realizado en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires en el que, tras el análisis filogenético del gen *gag* del VIF, los investigadores pudieron establecer la circulación del subtipo A (Huguet et al., 2019). Actualmente se sigue trabajando en la secuenciación de las demás muestras a fin de lograr obtener mayor certeza sobre los subtipos del VIF circulantes y así aportar datos relevantes sobre la epidemiología de este retrovirus a fin de mejorar las prácticas de cuidado y prevención de la infección para estos animales de compañía.

Huguet M, Novo SG, Bratanich A. 2019. Detection of feline immunodeficiency virus subtypes A and B circulating in the city of Buenos Aires. Archives of Virology. 164(11):2769-74. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04363-1>

Little S, Levy J, Hartmann K, Hofmann-Lehmann R, Hosie M, Olah G, Denis KS. 2020. 2020 AAFP Feline Retrovirus Testing and Management Guidelines. Journal of Feline Medicine and Surgery. 22(1):5–30.

<https://doi.org/10.1177/1098612X19895940>

Pecoraro MR, Tomonaga K, Miyazawa T, Kawaguchi Y, Sugita S, Tohya Y, Kai C, Etcheverrigaray ME, Mikami T. 1996. Genetic diversity of Argentine isolates of feline immunodeficiency virus. The Journal of General Virology. 77(9):2031-35. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-77-9-2031>

V-017-24. La importancia del diagnóstico molecular en la vigilancia epidemiológica y el control de brotes de enfermedades virales en equinos

Vera, V^{1,2*}, Tordoya, MS^{1,2}, Alamos, F^{1,2}, Olguín Perglione, C^{1,2}, Gabaglio, C^{1,2}, Barrandeguy, M³, Vissani, MA^{1,2,4}

1. Instituto de Virología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina

2. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, CONICET, Buenos Aires, Argentina.

3. Plataforma de Salud Animal (PSA-INIA), Estación Experimental INIA La Estanzuela "Dr. Alberto Boerger", Colonia, Uruguay

4. Instituto de Investigación en Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

* vvera@inta.gob.ar

Las enfermedades virales representan una amenaza constante para la industria, causando pérdidas económicas significativas relacionadas con la presentación de brotes de enfermedad clínica, cancelación de eventos ecuestres y limitaciones en el movimiento internacional de equinos. Debido a esto, es fundamental contar con métodos de diagnóstico rápido que permitan la toma de decisiones para el control de brotes, así como también mantener una vigilancia epidemiológica activa, garantizando la sanidad de nuestros caballos.

El objetivo de este trabajo es comunicar los resultados obtenidos a partir del análisis de muestras de casos clínicos compatibles con enfermedades de etiología viral remitidas al laboratorio durante 2019-2023.

Se recibieron: 249 muestras de órganos/placentas de 151 casos de abortos, natimortos y muertes perinatales, 119 hisopados nasofaríngeos (HN) de 35 casos respiratorios, 177 materias fecales de 51 casos de diarrea en potrillos, 281 muestras de hisopados perineales-genitales (HPG) de 188 equinos con lesiones compatibles con exantema coital equino (ECE) y muestras de sistema nervioso central (n:43) e hisopados nasofaríngeos (n:87) de 81 casos de enfermedad neurológica, de los cuales, 27 ocurrieron entre noviembre y diciembre del 2023. Sobre las muestras se aplicaron distintas modalidades de PCR para el diagnóstico de virus equinos siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de Sanidad Animal.

Se detectó Herpesvirus equino 1 (EHV1) en el 7,3% (11/151) de los casos de abortos, de los cuales el 45,5% (5/11) fueron casos esporádicos mientras que el 54,5% (6/11) correspondieron a brotes de abortos epizooticos. En cuanto a los cuadros neurológicos, EHV1 se detectó en el 5% (4/81) de los casos, en relación con tres casos esporádicos (dos en 2021 y uno en 2022) y un brote de mieloencefalopatía ocurrido en 2021. El virus de la encefalomieltitis equina del Oeste (WEEV) se detectó en 66,7% (18/27) de los casos recibidos entre noviembre-diciembre 2023 en relación con el brote de WEEV ocurrido en Argentina. Antes de esa fecha, ninguno de los casos resultó positivo a WEEV. No se detectó virus del Oeste del Nilo en ninguno de los casos neurológicos. De los casos de enfermedad

respiratoria, se registró Herpesvirus equino 4 (EHV4) en el 14,3% (5/35), correspondiendo a casos en potrillos, mientras que no se detectó virus de influenza equina (EIV) en ninguna de las muestras analizadas. Rotavirus equino A se detectó en el 29,5% (15/51) de los casos de diarrea de los cuales, el 66,7% (10/15) fueron caracterizados como genotipo G3P [12] y el 33,3% (5/15) como genotipo G14P [12]. Se detectó Herpesvirus equino 3 (EHV3) en el 38,1% (107/281) de las muestras de HPG, de las cuales 38,3% (41/107) están relacionadas a un brote de ECE ocurrido en un establecimiento durante la temporada reproductiva 2020, mientras que el 61,7% (66/107) corresponden a casos esporádicos ocurridos durante todo el período. No se detectó virus de arteritis equina (EAV) en ninguna de las muestras de abortos ni en los HN de casos respiratorios.

Los resultados presentados evidencian la importancia de la implementación de técnicas de diagnóstico molecular para la detección rápida y específica de agentes virales en equinos. En el caso de virus endémicos (EHV1, EHV3 y EHV4), se logró realizar el diagnóstico etiológico, lo que permitió instaurar medidas de control en cada uno de los establecimientos. De la misma forma, en los casos neurológicos, que en equinos son de denuncia obligatoria, se realizaron la rápida notificación a autoridades sanitarias y la implementación de acciones de control en los brotes ocurridos en 2021 (EHV1) y 2023 (WEEV). Por último, el diagnóstico molecular permite garantizar una vigilancia epidemiológica activa para EIV y EAV.

Organización Mundial de la Salud Animal (OMSA). 2022. Manual de las Pruebas de Diagnóstico de las Vacunas para los Animales Terrestres. [En línea] Disponible en:

https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/E_summary.htm [Consultado (1/07/2024)]

Olguín Perglione C, Vissani MA, Tordoya S, Darqui F, Miño S, Becerra L, Timoney P, Barrandeguy M. 2012. Re-introduction of equine arteritis virus into Argentina in 2010 and its consequences for the equine industry. Journal of Equine Veterinary Science. 32(10): S71-S72. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.08.154>

V-018-24. Desarrollo de un ensayo de amplificación isotérmica mediada por loop para la detección del virus de la lengua azul

Morel VM ^{1, 4*}; Roldán JS ²; Cardoso NP ^{2, 4} de Alba P ³; Schnittger L³; Jordán MJ ²; Miño S ⁵; Dus Santos MJ ^{2, 4}

1. EEA Mercedes-INTA, Mercedes, provincia de Corrientes, Argentina
2. Instituto de Virología, CICVyA, INTA, Buenos Aires, Argentina
3. Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA, Buenos Aires, Argentina
4. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina
5. EEA Cerro Azul-INTA, Cerro Azul, provincia de Misiones, Argentina

* morel.victoria@inta.gob.ar

La lengua azul (LA) es una enfermedad viral no contagiosa que afecta a rumiantes, camélidos domésticos y salvajes. Es considerada por la Organización Mundial de la Salud Animal (OMSA) de máxima importancia para el comercio internacional y de declaración obligatoria ante esta entidad y SENASA. Su agente causal, el virus de la LA (VLA) se transmite por vectores hematófagos del género *Culicoide* spp.¹ En la actualidad no existe tratamiento efectivo ni vacunas para esta enfermedad, por lo que el desarrollo de herramientas de control es de suma importancia y urgencia. Si bien en nuestro país no se han reportado casos con signos clínicos de la enfermedad, se ha detectado serología positiva desde 1996, habiéndose aislado el virus (serotipo 4) en 5 oportunidades.² En muestreros realizados recientemente por nuestro grupo en la provincia de Corrientes, se observó un alto nivel de seropositividad en bovinos y ovinos; además se confirmó la presencia del virus en estas especies de rumiantes y en culicoides. Actualmente, la detección del genoma viral es posible a través de RT-PCR o RT-PCR en tiempo real, que, en países en desarrollo, como Argentina (donde la mayoría de los laboratorios veterinarios no cuentan con equipamiento sofisticados), resulta difícil su implementación. Esto podría resolverse con el desarrollo de un método diagnóstico simple, económico y accesible. La amplificación isotérmica mediada por loop (LAMP) permite amplificar un gran número de copias de ADN a una temperatura constante, la cual puede acoplarse con un paso de transcripción reversa (RT-LAMP) y permitir así la detección de manera económica y rápida de patógenos con genoma ARN. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un ensayo de RT-LAMP para la detección del VLA en muestras de sangre bovinas y ovinas. Para llevar a cabo este objetivo, se sintetizaron 4 juegos de primers dentro de una región conservada de la secuencia codificante de la proteína VP6 del VLA. Se evaluaron los diferentes primers, distintas temperaturas y tiempos a fin de definir las condiciones óptimas de reacción. Para la estandarización, se empleó un sistema de RT-LAMP en un paso con intercalante fluorescente y la reacción se monitoreó en un termociclador en tiempo real. Utilizando el mejor set de primers a la mejor temperatura y tiempo analizados, se lograron detectar hasta 4,28 TCID₅₀/reacción. Estos valores son similares a los detectados con la técnica standard utilizada, RT-qPCR. Además, se verificó su especificidad analítica ensayando 8 virus bovinos. Por último, se evaluaron muestras de ovinos y bovinos previamente diagnosticadas por RT-qPCR

para corroborar el buen desempeño de la reacción. A continuación, se evaluó la utilización de un revelado colorimétrico a fin de facilitar su adopción por laboratorios veterinarios. Los ensayos preliminares indicaron que la técnica mantiene su performance con una leve disminución de su sensibilidad analítica. Estos resultados nos permiten avanzar en el desarrollo de una prueba diagnóstica para la detección del VLA rápida, económica y sencilla que permitirá transferir a laboratorios regionales la capacidad de diagnosticar la presencia del VLA en muestras de campo.

Patel A, Roy P. 2014. The molecular biology of bluetongue virus replication. *Virus Research*. 182:5-20. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.12.017>

Legisa D, Gonzalez F, De Stefano G, Pereda A, Santos MJD. 2013. Phylogenetic analysis of bluetongue virus serotype 4 field isolates from Argentina. *Journal of General Virology*. 94:652-62. <https://doi.org/10.1099/vir.0.046896-0>

V-019-24. Evaluación *in vitro* del efecto del plasma rico en plaquetas en la cinética de replicación del virus de la diarrea viral bovina

Yavorsky M^{1,3}, Andreoli V², Pereyra S¹, Delgado S¹, López S^{1,3}, González Altamiranda E¹, Verna A^{1*}

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

2. Departamento de Ciencias Médicas Veterinarias, Universidad de Parma, Parma, Italia

3. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, provincia de Buenos Aires, Argentina

* verna.andrea@inta.gob.ar

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) es uno de los principales patógenos que afecta la salud reproductiva del ganado bovino a nivel mundial, el cual presenta especial tropismo por las células y tejidos del tracto reproductor (Odeón et al. 2009). Se están desarrollando diversas estrategias para mejorar los índices productivos y controlar las enfermedades asociadas. El uso de plasma rico en plaquetas (PRP) es un tratamiento emergente en la regeneración de tejidos debido a su contenido de factores de crecimiento con propiedades mitogénicas y antiinflamatorias. Estos factores podrían influir en la replicación viral al modular el entorno de la célula huésped (Everts et al., 2020). La interacción potencial entre el PRP y la replicación del VDVB abre nuevas áreas de investigación para entender mejor cómo diversas terapias pueden impactar en la dinámica de las infecciones virales en el ganado bovino. El objetivo de este trabajo fue analizar la cinética de replicación del VDVB en presencia de PRP al 5% y 10% en comparación con suero fetal bovino (SFB) al 10% como condición estándar de cultivo. Para ello se utilizaron una línea celular de riñón bovino (MDBK) y células endometriales bovinas en cultivo primario (CEB) en placas de 12 pozos a una concentración de $7,5 \times 10^5$ células/ml en medio de cultivo. Ambos tipos celulares se infectaron con una cepa de referencia NADL de genotipo 1a, biotipo citopático a una razón de 2000 partículas virales. Se recolectaron sobrenadantes y células a las 24, 48 y 72 horas post infección (hpi) para determinar el título viral utilizando el método de titulación de punto final (Reed & Muench, 1938). Los títulos virales (TV) de NADL fueron expresados como \log_{10} TCID₅₀/ml a los tiempos indicados después de la infección (hpi). Los TV se ajustaron a modelos de regresión polinómica y se utilizó un modelo factorial en función del tiempo y el tratamiento, probando la hipótesis “ausencia de interacción”. A las 24 hpi, los TV extracelulares en las células MDBK tratadas con PRP al 5% (4,87) y al 10% (4,17) fueron significativamente más altos en comparación con el grupo control SFB al 10% ($p < 0,005$ y $p < 0,05$, respectivamente). En contraste, a las 48 horas hpi, los títulos virales en presencia de PRP al 10% (5,30) disminuyeron significativamente respecto al grupo SFB al 10% ($p < 0,05$). Por otro lado, los TV intracelulares no mostraron diferencias significativas en respuesta al tratamiento con PRP en ninguno de los tiempos analizados. El análisis de las CEB no mostró diferencias significativas en los TV

extracelulares con PRP en ninguno de los tiempos evaluados ($p > 0,05$). Sin embargo, a las 48 hpi, los TV intracelulares con PRP al 10% (5,13) fueron significativamente más bajos ($p < 0,05$) en comparación con los TV intracelulares con SFB al 10%. De manera similar, a las 72 hpi, los TV con PRP al 5% (4,90) y al 10% (4,85) fueron significativamente menores ($p < 0,05$) en comparación con los TV con SFB al 10%. Los resultados obtenidos para las células MDBK, en los que se observaron mayores TV en el sobrenadante a las 24 hpi, podrían deberse a una estimulación inicial de la replicación viral, posiblemente facilitada por los factores de crecimiento presentes en el PRP. Sin embargo, a las 48 hpi, la disminución del TV en presencia de PRP al 10% podría interpretarse como un efecto inhibitorio en las etapas posteriores de la infección asociado a algún factor presente en el PRP. La ausencia de diferencias significativas en los TV intracelulares sugiere que el PRP no afecta la capacidad del VDVB para replicarse dentro de las células MDBK, o que otros mecanismos celulares compensan cualquier efecto inicial del PRP. En las CEB, la ausencia de diferencias significativas en los TV observados en el sobrenadante sugiere que el PRP no está estimulando la replicación inicial dentro de la célula, lo que se refleja en la falta de aumento del título en el sobrenadante. No obstante, la respuesta intracelular al PRP durante el inicio de la replicación puede variar según el tipo celular, siendo más evidente el efecto estimulador en la línea celular MDBK. En el entorno intracelular de las CEB, se observó una disminución significativa de las partículas virales a las 48 hpi y a las 72 hpi, lo que refuerza la hipótesis de que el PRP tiene un efecto inhibitorio progresivo sobre las etapas tardías de la replicación viral en estas células. En conclusión, estos resultados sugieren que el PRP puede tener un efecto inhibitorio en la replicación viral, especialmente en el entorno intracelular de las células CEB, y que este efecto podría depender de la concentración de PRP y del tipo de célula infectada. Estos hallazgos abren la posibilidad de considerar el uso del PRP, bajo condiciones controladas, como un componente antiviral en estrategias terapéuticas para controlar la replicación del VDVB. Se destaca la necesidad de realizar más investigaciones para entender los mecanismos subyacentes y optimizar su aplicación en la práctica veterinaria.

Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana, JF, Mautner K. 2020. Platelet-rich plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. International Journal of Molecular Sciences. 21(20):7794.

<https://doi.org/10.3390/ijms21207794>

V-020-24. Detección del virus de alas deformadas en abejas nativas sin aguijón, en la provincia de Buenos Aires

González FN^{1,6*}, Bucafusco D^{2,3}, Álvarez LJ⁴, Dus Santos MJ¹, Virgillito A^{5,6}

1. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT) INTA-CONICET, Argentina
2. Cátedra de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina
3. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), CONICET-Universidad de Buenos Aires (UBA), Argentina
4. División Entomología, Universidad Nacional de la Plata (UNLP), provincia de Buenos Aires, Argentina
5. Cátedra de producción, manejo y conservación de la fauna silvestre, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad de Buenos Aires (UNLP), Argentina
6. Asociación Argentina de Meliponicultura.

* gonzalez.fernanda@inta.gob.ar

El virus de las alas deformadas (DWV) se ha convertido en el patógeno de insectos más conocido, extendido y estudiado del mundo. Pertenece a la familia *Iflaviridae* y se han identificado tres variantes: DWV-A, DWV-B y DWV-C. El DWV es el virus más prevalente en las poblaciones de abejas melíferas y está asociado, junto al ácaro *Varroa destructor*, a la pérdida de colmenas. En nuestro país, se ha identificado la presencia de las variantes DWV-A y DWV-B en colmenares de *Apis mellifera* y, recientemente, nuestro grupo reportó el genoma completo de la variante DWV-A de abejas sintomáticas y asintomáticas. Además, se ha encontrado el DWV en varias especies de artrópodos, incluyendo otros miembros de la familia *Apidae*, como son las abejas nativas sin aguijón (ANSA).

En Argentina, se han identificado 37 especies de ANSA presentes en su mayoría en el norte argentino y la provincia de Misiones. Estas abejas presentan un tamaño pequeño a mediano (2-15 mm) y se caracterizan por presentar la venación alar reducida, la presencia de penicilio y la reducción del aguijón en las hembras. Tienen comportamiento social y viven en colonias permanentes. La cría de estas abejas (meliponicultura) se remonta a los pueblos originarios del Continente Americano, teniendo aún un importante valor cultural, medicinal y alimenticio en diferentes etnias y pobladores rurales del norte de Argentina y ha despertado en la actualidad un creciente y renovado interés en nuestro país y otros países del Centro y Sudamérica. En los últimos años se han encontrado cada vez con mayor frecuencia en zonas urbanas de Buenos Aires. Sin embargo, poco se conoce de la presencia de patógenos que afecten a las ANSA. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue identificar el DWV en ANSA, ubicadas en zonas urbanas de la provincia de Buenos Aires.

En febrero 2023 y febrero 2024 se realizó un muestreo de 59 nidos, ubicados en barrios de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y el conurbano bonaerense. Parte de las muestras recolectadas (5-10 ejemplares) se utilizaron para la clasificación taxonómica y la extracción de ARN viral. La detección del DWV se realizó mediante una RT-qPCR, utilizando cebadores específicos que permiten identificar

cualquier variante del DWV (Pan-DWV). Así mismo, las muestras positivas fueron analizadas mediante el uso de RT-qPCR múltplex para diferenciar la variante DWV-A de las DWV-B/C.

En el 39% de los nidos (23/59) se logró clasificar la especie *Plebeia droryanay* y en un 61% (36/59) la especie *Tetragonisca fiebrigi*. Respecto al DWV, el virus fue detectado en el 35,6% (21/59) de las muestras analizadas. De las muestras positivas, el 61,9% (13/21) correspondió a la especie *P. droryana* y el 38% (8/21) restante a *T. fiebrigi*. En ambas especies la variante del DWV identificada fue DWV-A.

Nuestros resultados constituyen el primer reporte de la circulación del DWV en abejas nativas sin aguijón muestreadas en la provincia de Buenos Aires, dentro de áreas urbanas. Se identificaron solo dos especies de ANSA; en ambas se detectó el DWV-A, aunque con mayor porcentaje de muestras positivas en la especie *P. droryana*.

Futuros estudios intentarán abordar el impacto que la infección por DWV ocasiona en las colmenas.

de Souza FS, Kevill JL, Correia-Oliveira ME, de Carvalho CAL, Martin SJ. 2019. Occurrence of deformed wing virus variants in the stingless bee *Melipona subnitida* and honey bee *Apis mellifera* populations in Brazil. *Journal of General Virology*. 100(2):289-94.

<https://doi.org/10.1099/jgv.0.001206>

V-021-24. Evaluación de los anticuerpos contra virus de influenza equina, herpesvirus equino 1, virus del Oeste del Nilo y virus de arteritis viral equina, en burras de tambo

Illanes N¹*, Bertone J¹, Motta C¹, Nuñez M¹., Tamiozzo P¹, Pietrain M², Lossino L¹, Gabaglio C³ 4, Vera V³ 4, Vissani A³ 4 5

1. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Rio Cuarto (UNRC), provincia de Córdoba, Argentina

2. Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María, Córdoba, Argentina

3. Instituto de Virología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina

4. Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, UEDD, CONICET, Buenos Aires, Argentina

5. Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Escuela de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires, Argentina

* nillanes@ayv.unrc.edu.ar

En Argentina se estima una población aproximada de 185.000 burros utilizados principalmente para trabajo. Recientemente las investigaciones se centraron en la leche de burra debido a sus similitudes con la leche humana y también como complemento de esta. Se sugiere que la misma podría utilizarse en aquellos lactantes intolerantes a la lactosa de la leche de vaca, como así también para personas con enfermedades cardiovasculares, pacientes con obesidad y ancianos, ya que el contenido de grasa y de colesterol de la leche de burra es bajo, lo que la convierte en un alimento adecuado para este tipo de pacientes.

A pesar de la gran importancia para las comunidades locales en los trabajos rurales y otras actividades, así como también de la importancia económica de esta especie para muchos países y al potencial de su industria como fuente de alimento, la información disponible sobre enfermedades virales que afectan a esta especie es escasa. Se conoce que tienen una susceptibilidad diferente a ciertos agentes infecciosos y manifestaciones clínicas en comparación con los caballos. Sin embargo, existen pocos estudios científicos sobre patogenia, respuesta inmune y fisiopatología y gran parte del conocimiento disponible proviene de la experiencia clínica de los veterinarios o de reportes de casos, así como también del conocimiento que se extrae de los caballos a los burros.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la respuesta inmune contra virus de influenza equina, herpesvirus equino 1, virus del Oeste del Nilo y arteritis viral equina en burras de tambo.

Se analizaron sueros de 82 hembras y 2 machos provenientes de un tambo ubicado en la provincia de Córdoba, destinado a la producción de leche de burra para lactantes y personas que presentan alergia a la proteína de la leche de vaca. Los animales estaban vacunados únicamente contra influenza equina y tenían diagnóstico negativo de anemia infecciosa equina (AIE) por el test de Coggins, según la reglamentación 617/05 se SENASA vigente en el país.

Las muestras fueron analizadas por las técnicas de microseroneutralización para la detección de anticuerpos totales contra herpes virus equino (EHV-1) y arteritis viral equina (EVA), por inhibición de la hemoaglutinación para la detección de anticuerpos contra el virus de influenza equina (EIV) y por ELISA para la detección de anticuerpos contra virus del Oeste del Nilo (WNV).

En todos los casos se siguieron las recomendaciones del Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) 2022, versión online (Capítulo 3.6.10, arteritis viral equina; Capítulo 3.1.26, encefalitis del Oeste del Nilo; Capítulo 3.6.7 influenza equina y Capítulo 3.6.9 rinoneumonitis).

Se detectaron anticuerpos contra EHV en el 90,47% (76/84) de las muestras analizadas, con títulos variables entre 1:8 y 1:256, y en el 34,52% (29/84) se detectaron anticuerpos contra EIV, con títulos entre 1:8 y 1:128. Todas las muestras resultaron negativas a WNV y EVA.

A partir de los resultados podemos concluir que se detectó la presencia de anticuerpos con EHV y EIV en la población de burras analizadas. Si bien los herpesvirus en equino (tipo 1 y tipo 4) presentan distribución mundial, en burros existen pocos trabajos de prevalencia de estos virus, y de otros herpes que afecten a los burros (3). Sin embargo, los resultados de este trabajo concuerdan con los resultados de serología de poblaciones de equinos adultos. En cuanto a la detección de anticuerpos contra EIV, estos podrían ser consecuencia de vacunaciones anteriores o de la exposición de estos animales a la infección natural durante alguno de los últimos brotes de influenza ocurridos en el país.

Este es el primer reporte en Argentina de un análisis serológico realizado en burras destinadas a la producción de leche. Tanto estos resultados como la ausencia de anticuerpos contra WNV y EVA constituyen el primer informe realizado en nuestro país en relación con la presencia de enfermedades virales en burros domésticos. Resaltamos la importancia de contribuir con este informe al estudio de la sanidad en burros tanto en Argentina como en el mundo, y de esta manera, bajo el concepto de Una Salud, favorecer a la salud tanto de los animales como del producto obtenido, en este caso leche para consumo humano.

Barrandeguy M, Carossino M. 2018. Infectious diseases in donkeys and mules: an overview and update. *Journal of Equine Veterinary Science*. 65: 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2018.02.026>

Li L, Liu X, Guo H. 2017. The nutritional ingredients and antioxidant activity of donkey milk and donkey milk powder. *Food Science Biotechnology*. 27(2):393-400. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0264-2>