



UBA
Universidad de Buenos Aires



VIII JORNADAS DE JÓVENES INVESTIGADORES

**6, 7 y 8 de junio de 2018
Buenos Aires – ARGENTINA**



**PRIMER REPORTE DE ACTIVIDAD ESPERMATOGÉNICA
EXTRATESTICULAR EN UNA ESPECIE DE VERTEBRADO DEL NORDESTE**

ARGENTINO; *PHILODRYAS PATAGONIENSIS* (SERPENTES, COLUBRIDAE)

Aguirre FD¹, Olea G², Ortiz M¹, Boretto J³, Hernando A¹, Lombardo D⁴

¹ Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Departamento de Biología, Cátedra de Biología de los Cordados. Corrientes, Argentina. ² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM). ³ INIBIOMA (CONICET – Universidad Nacional del Comahue). San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. ⁴ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal, Cátedra de Histología y Embriología. CABA Buenos Aires.

En reptiles, como en otros amniotas, el testículo contiene túbulos seminíferos cuyo interior está tapizado por un epitelio constituido por células de Sertoli y células germinales involucradas en la espermatogénesis. Los cambios que sufren las células germinales durante este proceso ocurren en el epitelio seminífero y son muy conservados entre los vertebrados. Sin embargo, investigaciones recientes sugieren una excepción a este patrón debido a la existencia de agrupaciones celulares extragonadales esféricas con potencial espermiogénico en las culebras *Zaocys dhumnades*, *Elaphe taeniura* y *Dinodon rufozonatum* de China. Estas estructuras, denominadas esférulas seminíferas, fueron halladas en el conducto deferente y están constituidas por espermátidas con capacidad para diferenciarse a espermatozoides. En este trabajo se describe la actividad espermatogénica testicular y extratesticular en 20 machos de *Philodryas patagoniensis* colectados durante las cuatro estaciones en la localidad de Empedrado (Corrientes). Las muestras fueron procesadas según la técnica histológica de rutina para hematoxilina y eosina, e inmunohistoquímica para el revelado de la expresión de Oct-4, caspasa 3 activa y PCNA. *Philodryas patagoniensis* presentó un ciclo espermatogénico continuo, con almacenamiento de espermatozoides en el conducto deferente. Asimismo, además de espermatozoides, en el epidídimo y el conducto deferente se registraron otras células de la línea germinal (espermatogonias, espermatoцитos y espermátidas). Estas se presentan aisladas y/o agrupadas constituyendo esférulas seminíferas, también observadas en el testículo. La inmunomarcación de Oct-4, caspasa 3 activa y PCNA dieron positivas, confirmando su naturaleza germinal y su potencial proliferativo y espermatogénico, aún fuera del epitelio seminífero. Mientras que *Z. dhumnades*, *E. taeniura* y *D. rufozonatum* sólo presentaron esférulas seminíferas en el conducto deferente y con células en espermiogénesis (espermátidas), en *P. patagoniensis* estas estructuras se encontraron en el testículo, epidídimo y conducto deferente y contienen células germinales que progresan a través de todas las fases de la espermatogénesis. Este hallazgo constituye el primer registro de actividad espermatogénica extragonadal en vertebrados, abriendo una nueva visión sobre las estrategias reproductivas de esta especie.

DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS Y ANÁLISIS

FARMACOCINÉTICO DE LA CEFALEXINA AL 20% ADMINISTRADA POR VÍA INTRAMUSCULAR Y SUBCUTÁNEA A CABRAS SECAS

Alonso M, Paes Rodriguez Jd, Esmoris S, Dal Verme B, Ellis V, Kreil V

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

La producción de leche de cabra en sistemas de explotación extensivos y semiextensivos ha ganado relevancia como actividad productiva. Sin embargo, la ocurrencia de enfermedades infecciosas puede disminuir la rentabilidad, siendo necesario implementar esquemas posológicos para esta especie. La cefalexina es un antibiótico betalactámico del grupo de las cefalosporinas de primera generación, activa contra organismos gram positivos y algunos bacilos gram negativos. Se decidió utilizar una presentación de cefalexina al 20% de depósito, ya que estas formulaciones permiten espaciar los intervalos de dosificación, facilitando el cumplimiento del tratamiento, especialmente en explotaciones extensivas. Los objetivos fueron determinar las concentraciones plasmáticas de cefalexina en plasma caprino y describir su farmacocinética luego de su administración, vía intramuscular y subcutánea en cabras secas. Se utilizaron seis cabras secas sanas de peso $46,5 \pm 5,20$ kg, en confinamiento durante la experiencia, con acceso a agua y comida y que recibieron una única dosis de 20 mg/kg de una solución de larga duración de cefalexina al 20% (Cefalexina 20%, Laboratorio Ruminant) por vía intramuscular (i.m.) en el miembro posterior izquierdo y por vía subcutánea en la parrilla costal. Se tomaron muestras de sangre con heparina de ambas venas yugulares a tiempos preestablecidos. Las muestras fueron centrifugadas y los plasmas fueron congelados a -20°C hasta su procesamiento. Las concentraciones plasmáticas de cefalexina se determinaron mediante el método microbiológico, utilizando *Kocuria rhizophila* ATCC 9341 como microorganismo patrón. La curva fue validada en plasma caprino (linealidad, exactitud y precisión) para concentraciones entre 50 y $0,39$ $\mu\text{g/ml}$. Los resultados fueron analizados utilizando Graph Pad Prism, Excel y un programa de análisis farmacocinético (Topfit). El límite de cuantificación y de detección del método fueron de $0,78$ $\mu\text{g/ml}$ y $0,39$ $\mu\text{g/ml}$, respectivamente; la exactitud (desvío) fue menor al 14,93%, la variación interdía (precisión) fue menor al 7,23%, y el coeficiente de correlación de la regresión lineal (r^2) fue de 0,994. Los parámetros farmacocinéticos fueron: $C_{\text{máx}}$: $11,57 \pm 5,08$ y $12,72 \pm 4,15$ mcg/ml; T_{max} : $1 \pm 0,5$ y $1,17 \pm 0,65$ h; $t_{1/2}$: $2,719 \pm 0,63$ y $1,77 \pm 0,41$ h, y TMR_{inf} : $4,34 \pm 1,9$ y $3,22 \pm 0,77$ h, para las vías intramuscular y subcutánea, respectivamente. El tiempo mayor a la CIM fue de $9,03 \pm 2,46$ horas (im) y de $7,59 \pm 1,41$ horas (sc). La dosis y la vía de administración utilizadas son las recomendadas por el fabricante para caprinos. Como la cefalexina un antibiótico tiempo dependiente la eficacia clínica está relacionada con el mantenimiento de los niveles plasmáticos del antimicrobiano por encima de la concentración inhibitoria mínima (CIM) del microorganismo patógeno por al menos el 40–50 % del intervalo entre dosis. Se recomienda entonces que cuando se utilice cefalexina al 20% larga duración en cabras secas por vía im o sc a

dosis de 20 mg/kg, debería ser repetida cada 12 horas para microorganismos que tengan $CIM \leq 1$ microgramo/ml, para lograr la eficacia clínica del tratamiento.
UBACyT 20020130100615BA

EFFECTO DEL LAVAJE FOLICULAR POST-CURETEADO EN LA RECUPERACIÓN Y CALIDAD DEL OVOCITO EQUINO

Alvarez IM¹, Clérico G^{1,3}, Paolini M¹, Taminelli G¹, Fernández S², Veronesi JC², Sansinena M^{1,3}

¹Laboratorio de Reproducción y Biotecnología Animal, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina. ²Frigorífico Equino Lamar S.A., Mercedes, Bs. As. ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

El ovario equino post-mortem es fuente de ovocitos para investigación básica y para ciertas biotecnologías de la reproducción asistida como la transferencia nuclear. La histología del folículo ovárico, en relación a la adherencia del ovocito con la pared, dificulta la recuperación ovocitaria por aspiración. El objetivo fue determinar, con un equipo inexperimentado de técnicos, el efecto del lavaje adicional del folículo previamente cureteado en la recuperación y calidad ovocitaria. Se evaluó además el efecto de la duración del procesamiento en la recuperación. El estudio fue desarrollado durante la temporada reproductiva (octubre-diciembre). Un total de 403 ovarios fueron obtenidos inmediatamente post-faena y transportados a 30°C en contenedores isotérmicos con solución fisiológica. Al llegar al laboratorio (<2 h tránsito), los ovarios fueron enjuagados con PBS y procesados en forma aleatoria, sin ponderación visual. En el procesamiento inicial (Tratamiento A, cureteado), los folículos fueron seccionados con un bisturí y raspados con cureta de hueso, el contenido fue descargado en tubo de centrifuga estéril con medio de aspiración (dPBS, 1% SFB y 0.1% penicilina/estreptomicina). Seguidamente (Tratamiento B, lavaje), el folículo previamente cureteado fue lavado (x3) por perfusión con medio de aspiración y filtrado (0.75 μ m, EmCon filter, Immuno Systems, Bibbford, ME). Los complejo ovocito-cúmulus (COCs) fueron aislados y evaluados de acuerdo a su configuración de cumulus (compacto o expandido), cantidad de capas y características de citoplasma (Cp o Exp/1-excelente a 4-degenerado, Stout et al., 2006) bajo lupa estereoscópica 40X. La cantidad y calidad de ovocitos recuperados en cada fracción fue comparada estadísticamente con el test de ANOVA utilizando en paquete estadístico Infostat, estableciéndose significancia $p < 0.05$. De un total de 403 ovarios procesados se recuperaron 785 COCs. De éstos, un 74% (582 ovocitos) correspondió al Tratamiento A (cureteado) en tanto 26% (203 ovocitos) correspondió al Tratamiento B (lavaje). La combinación de ambos métodos resultó en un aumento significativo ($p < 0.05$) de la tasa de recuperación (cureteado+lavaje=1.93 ovocito/ovario vs. cureteado únicamente=1.43 ovocito/ovario). Sin embargo, al evaluar la calidad de los COCs, el 72% de los ovocitos recuperados en el Tratamiento A (cureteado) resultaron ser de calidad superior (grados 1-2) en tanto, solo el 43% de los ovocitos recuperados en el Tratamiento B (lavaje) resultaron ser de calidad superior ($p < 0,05$). La combinación de ambos métodos no resultó en un

aumento significativo en la calidad final ($p>0,05$). Finalmente, no se encontró efecto del tiempo de procesamiento (hora 1, 2 o 3) sobre la recuperación ovocitaria. En conclusión, el lavaje y filtrado adicional de los folículos previamente cureteados resultó en un aumento de la cantidad de ovocitos recuperados, no obstante, éstos son de menor calidad que aquellos ovocitos obtenidos a través del cureteado exclusivamente.

RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE ARSÉNICO Y SELENIO PRESENTES EN HÍGADO Y RIÑÓN DE BOVINOS EN DIFERENTES REGIONES DE LA LLANURA PAMPEANA

Alvarez-Gonçalvez CV, Fernández-Cirelli A, Pérez-Carrera A

Universidad de Buenos Aires, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires – CONICET. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas, Buenos Aires, Argentina.

El estudio de la presencia de elementos traza en tejidos animales y alimentos derivados es fundamental para conocer el impacto en la producción y sanidad animal y el riesgo que podría representar para los consumidores. El objetivo de este estudio es determinar los niveles de arsénico (As), cuya toxicidad resulta de relevancia, y selenio (Se), un antagonista del As, en hígado y riñón provenientes de ganado bovino del sudeste de la Provincia de Córdoba y el noroeste de la provincia de Buenos Aires; así como la relación entre los niveles de dichos elementos en ambos tejidos bovinos. En la totalidad de las muestras ($n=81$) analizadas se observó la presencia de Se y As, tanto en aquellas provenientes de animales de la provincia de Buenos Aires (zona de baja exposición a As) como de Córdoba (zona de alta exposición a As). Los resultados obtenidos muestran que los niveles de As en las muestras de riñón estuvieron entre 58 y 501 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (masa seca - ms), mientras que en las muestras de hígado se observaron concentraciones entre 22 y 247 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ms). Teniendo en cuenta la masa seca (%ms) de cada tejido (riñón=19%ms – hígado= 26%ms), corresponden a concentraciones de As en los tejidos entre 12 y 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (peso húmedo) en el caso de las muestras de riñón y entre 6 y 64 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (peso húmedo) en el caso de las muestras de hígado. En todos los casos los niveles de As se encontraron por debajo de los límites máximos permitidos a nivel nacional (1000 mg/kg (peso húmedo), Plan CREHA 2012). En el caso del Se, en las muestras de riñón, los niveles determinados estuvieron entre 3 y 9 mg/kg (ms); y en las muestras de hígado, estuvieron entre 0,3 y 7 mg/kg (ms), lo que corresponden a concentraciones entre 664 y 1805 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (peso húmedo) en el caso de las muestras de riñón; y entre 87 y 1863 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (peso húmedo) en el caso de las muestras de hígado, si se considera el porcentaje de humedad de las mismas. Los niveles de Se hallados en este trabajo fueron más elevados que los reportados previamente por otros autores. Se encontró una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de Se y As ($p<0.05$) solamente para aquellas muestras provenientes del sudeste de Córdoba. Esto podría deberse a que el loess, principal fuente de la que proviene el As presente en aguas subterráneas, también es rico en Se. Esto es importante porque este elemento puede funcionar como antagonista del As, dado que se observó que los niveles altos del mismo se relacionan con un incremento en la metilación del As, pudiendo así disminuir su toxicidad.

REPORTE DE CASO DE ESTEATOSIS HEPÁTICA EN GYMNOTUS CARAPO.

Arce C, Blanco Cohene T, Flores Quintana C

Universidad Nacional del Nordeste. Instituto de Ictiología del Nordeste (ICNINE). Facultad de Ciencias Veterinarias. Histología Animal

Gymnotus carapo, conocidas de forma vulgar como “morenas” pertenece al orden de los gymnotiformes, son utilizadas como carnada viva en la pesca deportiva, por lo que son buscadas por los pescadores, que encuentran un sustento económico capturándolas de los ambientes y manteniéndolas hasta su venta. Actualmente existe mal manejo de este recurso ictiológico, generado por el mal manejo de transporte y acondicionamiento, hacinamiento de morenas en tanques y deficiencia de nutrientes, además del estrés generado por la extracción de su ambiente natural. El objetivo de este trabajo es describir la presencia de esteatosis hepática en *Gymnotus carapo*. El ejemplar en estudio corresponde a una hembra, cuya gónada se encontraba en fase madura de desarrollo ovocitario, extraída de un sitio de comercialización. Se registró peso total, peso del ovario y peso del hígado para la determinación de la relación gonadosmática ($RGS = \text{peso total del ovario} / \text{peso total del pez} \times 100$) y de la relación Hepatosomática ($RHS = \text{peso total del hígado} / \text{peso total del pez} \times 100$). Una porción del ovario y del hígado fue fijado en formol al 10 %, deshidratada e incluida en parafina y coloreada con hematoxilina y eosina. Los cortes histológicos fueron analizados con el software Image-Pro Plus, versión 4.5 Media Cybernetics, Inc. Se encontraron hembras maduras en el mes de octubre con un RGS promedio de 12,02 % y RHS 1,75 %. Las gónadas fueron grandes de forma cónica, de color amarillo oscuro con ovocitos opacos y translúcidos siendo fácilmente visualizados a ojos desnudos. El hígado presentó coloración marrón pálido con manchas amarillas. Con presencia de ovocitos perinu-cleolares, previtelogenicos y en mayor proporción ovocitos en vitelogénesis proteica y ovocitos maduros. En las secciones histológicas del hígado se evidenció células hepáticas de mayor volumen (hipertrofia) con vacuolas citoplasmáticas redondeadas, claras y núcleos desplazados debido a que las vacuolas generan el desplazamiento del núcleo. Esta condición denominada esteatosis hepática o también conocida como hígado graso, es una condición caracterizada por la acumulación de lípidos (triacilglicéridos) en los hepatocitos producido por desequilibrio metabólico que pueden modificar tanto la morfología como la función del hígado, que puede ser interpretada como una respuesta al estrés ambiental, infecciones, parasitosis, exposición a tóxicos o deficiencia nutricional. La presencia de hígado graso o esteatosis hepática en peces puede provocar en casos graves la mortandad de los ejemplares. Sin embargo, no es un dato fehaciente que genere la disminución en el proceso de desarrollo gonadal o que altere la ecología reproductiva de la especie foco. Por lo que, próximos estudios deben abarcar la eco-fisiología del hígado en el proceso reproductivo de la especie a fin de determinar el posible impacto a largo plazo a nivel gonadal, como así también evaluar el impacto socioeconómico que pueda generar para quienes utilizan este recurso ictiológico con fines comerciales.

FASES INICIALES DEL DESARROLLO OVOCITARIO DE *PSEUDOPLATYSTOMA SPP.*

Arce C¹, Blanco Cohene T¹, Cabral L¹, Ovidio E², Flores Quintana C¹

¹Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Asignatura: Histología Animal. ²Dirección de Recursos Naturales de la provincia de Corrientes. Departamento de Recursos Ícticos.

El surubí es una especie de gran interés para la pesca deportiva y comercial por el delicioso sabor de su carne. Numerosos trabajos demuestran que las condiciones ambientales influyen permanentemente sobre la actividad reproductiva de los peces y por ello la evaluación de algún aspecto de este proceso puede reflejar el grado de afectación que sufre y ayuda a predecir el futuro del recurso íctico. El objetivo de este trabajo es describir las fases iniciales del desarrollo ovocitario de *Pseudoplatystoma spp.* Se colectaron ejemplares hembras del Río Paraná, Derqui y del Riacho Guascara desde septiembre a noviembre del 2017. Se registró peso total, peso del ovario y peso del hígado para la determinación de la relación gonadosomática ($RGS = \text{peso total del ovario} / \text{peso total del pez} \times 100$) y de la relación hepatosomática ($RHS = \text{peso total del hígado} / \text{peso total del pez} \times 100$). Los estadios de maduración gonadal fueron caracterizados macroscópicamente considerando color, transparencia, vascularización y visualización de ovocitos. Una porción de la gónada e hígado fue fijada en formol al 10 %, deshidratada e incluida en parafina y coloreada con hematoxilina y eosina. Los cortes histológicos fueron analizados morfométricamente con el software Image - Pro Plus versión 4.5 Media Cybernetics, Inc. En los meses de septiembre a noviembre se encontraron hembras inmaduras, con RGS de 1,07 % y RHS promedio de 0,83 %. Los ovarios se presentaron pequeños y finos cuerpos alargados de color rosado claro y ocupando 1/3 de la cavidad celómica. Microscópicamente se observó el predominio de ovocitos perinucleolares. El diámetro de los ovocitos presentó una moda de 96,54 μm . Los ovocitos perinucleolares presentaron un aspecto triangular o poligonal con un núcleo oval a esférico con numerosos nucleolos. El citoplasma se torna gradualmente basófilo y se observa un núcleo de vitelo o corpúsculo de Balbiani. Hembras en maduración se presentaron desde octubre a noviembre con RGS promedio de 4,70 % y RHS de 1,19 %. Los ovarios fueron alargados, de color amarillo o naranja claro y ocupando más de la mitad de la cavidad celómica. El ovario en maduración se caracteriza por el predominio de ovocitos pre-vitelogénicos y ovocitos en vitelogénesis proteica. Los ovocitos pre-vitelogénicos se caracterizan por presentar vesículas periféricas, con inclusiones lipídicas claras por debajo de la membrana citoplásmica denominadas alvéolos corticales que son estructuras eosinófilos, que indican el inicio de la vitelogénesis endógena. Los ovocitos pre-vitelogénicos presentaron un diámetro promedio de 358,78 μm . El hígado juega un papel crucial en el proceso del desarrollo gonadal, el incremento del RHS estaría expresando la migración de grasas desde los depósitos corporales para incorporarse al hígado, donde es

metabolizada y transformada en elementos vitelogénicos, los que a su vez migran desde los hepatocitos para incorporar en los ovocitos por micropinocitosis.

ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE ELEMENTOS TRAZA EN AGUA, SUELO Y FORRAJE DE TAMBOS OVINOS, CAPRINOS Y BOVINOS

Arellano FE^{1,2,4}, Calzetta Resio AN^{1,3}, Pérez Carrera AL^{1,2,4}

¹ Universidad de Buenos Aires. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua. Buenos Aires, Argentina. ² Universidad de Buenos Aires-CONICET. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. Buenos Aires, Argentina.

³ Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Centro de Estudios para la Producción y Seguridad alimentaria. Buenos Aires, Argentina. ⁴ Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas. Buenos Aires, Argentina.

La presencia en el ambiente de elementos traza inorgánicos afecta la calidad de la leche de origen ovino, bovino y caprino (ej. As, Cu, Mn, Pb, V, Zn, etc) pudiendo afectar además la salud humana. Estos elementos llegan a los animales a través del agua de bebida y del forraje. El objetivo de este trabajo es presentar los resultados obtenidos en agua, forrajes y suelos de sistemas de producción lechera de diferentes especies. Los establecimientos relevados fueron 33. Para la determinación de la concentración total de los elementos traza en estudio (As, Cr, Cu, Mn, Mo, Fe y otros), se digirieron las muestras de alimento del ganado con ácido nítrico al 65% y H₂O₂ 30(v/v). Las de suelo fueron digeridas con HCl 35% y HNO₃ 65% por 2 hs en reflujo a 100°C. Luego se conservaron con HNO₃ al 10%. Las muestras de agua fueron filtradas y conservadas con HNO₃. La determinación de elementos traza se realizó mediante ICP-OES. Los resultados obtenidos muestran que en suelo las concentraciones de As estuvieron por debajo del LD (10 mg/kg), Fe > a 6000 mg/kg. Las concentraciones de Pb, V, B, Cu y Mo presentaron valores máximos de 29, 56, 43, 49, 12 mg/kg respectivamente. La concentración de Mn varía entre 121 y 612 mg/kg y la de Zn de 36 a 120 mg/kg. En las muestras de forraje y alimentos balanceados las concentraciones máximas de As, Cr, Cu, Mo, Pb y V fueron de 52, 47, 79, 14, 8 y 51 mg/kg respectivamente. Las concentraciones de Mn, Zn y B variaron entre 18 y 793 mg/kg, 11 y 254 mg/kg y de 6 a 562 mg/kg, respectivamente. Las concentraciones de Fe fueron las más elevadas, (entre 83 a > 6000 mg/kg). En las muestras de agua las concentraciones medias determinadas de As fueron 64 ± 20 µg/L, Cr 1.0 ± 0.9 µg/L, Cu de 9.0 ± 6.4 µg/L, Fe 188 ± 28 µg/L, Mn 52 ± 37 µg/L, Mo 61 ± 31 µg/L, Pb 26 ± 1 µg/L, V 126 ± 34 µg/L, Zn 111 ± 21 µg/L y B 1448 ± 471 µg/L. Estos resultados preliminares demuestran la importancia de estudiar la presencia de elementos traza en matrices ambientales y evaluar el estudio del impacto sobre la calidad de los alimentos, en particular la leche de diferentes especies de interés pecuario.

OPTIMIZACIÓN DE PROTOCOLO DE DESINFECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA CINÉTICA DE CRECIMIENTO DEL HAUSTORIO PARA LA INICIACIÓN DE CULTIVOS *IN VITRO* DE *LIGARIA CUNEIFOLIA*

Bari ML^{2,3}, Ricco MV^{1,2}, Cornacchioli C⁶, Bagnato F⁵, Spairani LU⁷, Posadaz A⁸, Ricco RA⁴, Wagner ML⁴, Alvarez MA^{1,2}

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. ²CEBBAD-Cátedra de Farmacobotánica y Farmacognosia, Carreras de Farmacia y Bioquímica, Universidad Maimónides, Hidalgo 775, lab 603, CABA. ³Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. ⁴Cátedra de Farmacobotánica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 4° piso, CABA. ⁵Universidad de San Martín, Buenos Aires. ⁶Universidad de Morón, Buenos Aires. ⁷Instituto Antártico Argentino. ⁸Facultad de Turismo y Urbanismo, Universidad Nacional de San Luis.

Muchas plantas hemiparásitas de la familia Loranthaceae son usadas en medicina popular en varios lugares del mundo. *Ligaria cuneifolia* es una especie representativa de esta familia nativa de nuestro país con una distribución desde el Norte hasta La Pampa y desde Entre Ríos hasta la precordillera andina. Tradicionalmente se la utiliza como hipotensora y, en investigaciones recientes, se demostró que tiene actividad hipolipemiente, antioxidante, antiproliferativa y antitumoral. El cultivo agronómico de especies hemiparásitas es dificultoso lo que hace del cultivo *in vitro* una alternativa para su producción. Las semillas colectadas del campo presentan una alta carga fúngica lo que se traduce en altas tasas de contaminación y pérdida de material. Por otro lado, en ensayos anteriores, nuestro grupo de trabajo ha determinado que es posible lograr la inducción de callos a partir de haustorios luego de evaluar otros tipos de explantos como hoja, tallo y meristema apical. Teniendo en cuenta lo antedicho objetivo de este trabajo fue desarrollar un método eficiente de desinfección y evaluar la cinética de crecimiento del haustorio. Para ello se ensayaron diferentes protocolos de desinfección en los que se evaluó el captán (antifúngico) a distintas concentraciones (0,2 y 0,6 %) adicionado durante diferentes tiempos (15 y 60 minutos) y en diferentes momentos (al principio y al final) conservando o retirando el epicarpo. El ensayo se diseñó utilizando el programa Design Expert para evaluación de la influencia de variables en ensayos de variables múltiples. Para evaluar la cinética de crecimiento del haustorio se realizaron 3 ensayos: en el primero se evaluó la elongación en semillas con y sin epicarpo. En el segundo se realizó una curva de crecimiento para determinar la velocidad y longitud de crecimiento. En ambos ensayos se usó medio de cultivo MS/2 con 3% de sacarosa con un fotoperíodo de 16 horas. En un último ensayo se cultivaron semillas sin su epicarpo en placas de Petri sobre papel de filtro estéril sin medio de cultivo. La mitad se cultivaron en oscuridad y la otra mitad con fotoperíodo de 16 horas. Todas las semillas se mantuvieron en cámara acondicionada a $24 \pm 2^\circ\text{C}$. Independientemente de la utilización de captán (que en ningún tratamiento evidenció reducciones significativas en la tasa de contaminación) la estrategia más efectiva para evitar la contaminación resultó el retiro del epicarpo en flujo laminar, con la que se lograron tasas de contaminación entre 0% y 20% comparados con los tratamientos en los que no se retiró en los que se obtuvieron tasas entre

el 80% y el 100%. Respecto del crecimiento del haustorio se determinó que es indispensable retirar el epicarpo de la semilla para que pueda ocurrir su elongación, que en los primeros 8 días se produce el 100% de su crecimiento (1,5 cm en promedio) a una velocidad de 0,2 cm/día y que es capaz de elongar en condiciones de oscuridad y sin necesidad de medio de cultivo.

EVALUACIÓN DE PARÁMETROS PROTEICOS Y METALOPROTEASAS EN DIFERENTES ETAPAS DE LA LACTANCIA EN CONEJAS

BELITZKY N¹, CAGGIANO N¹, GONZALEZ WULFSHON G¹, SUHEVIC J², PAREJA R¹, DE SIMONE E¹

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. ¹ Cátedra de Fisiología Animal, ² Cátedra de Física Biológica.

En algunos procesos fisiológicos como el desarrollo, remodelación e involución de la glándula mamaria durante la lactancia podrían estar participando las metaloproteasas (MMPs). Existe poca información de las variaciones en las fracciones proteicas de la leche de coneja durante la lactancia, así como tampoco hay información de la actividad de MMPs durante la misma. En este trabajo buscamos estudiar los parámetros proteicos y MMPs en las distintas etapas de la lactancia en conejas. Los resultados obtenidos permitirán integrarlos a los trabajos realizados por nuestro grupo en la especie bovina y determinar si la coneja nos sirve como modelo de la vaca para el estudio fisiopatológico de las proteasas durante la lactancia y la mastitis. Para ello se tomaron muestras de leche de conejas (n=10) provenientes de la unidad productora de la Escuela Agropecuaria (FCV-UBA). Los muestreos se realizaron en cada coneja cada 10 días en cuartos individuales sanos para de esta manera tener muestras de cada tercio de la lactancia. La determinación de las MMP-2 y 9 fue realizada mediante el método de zimografía en gelatina. Las fracciones proteicas de la leche se midieron por SDS-PAGE. La concentración de proteínas totales de la leche se determinó mediante kit comercial (Wiener lab.). El análisis estadístico se realizó con la técnica de ANOVA y test de Tukey. Los resultados obtenidos en relación a la MMP-2 no tuvieron diferencias significativas ya que los niveles de actividad fueron similares en los tres tercios de la lactancia. En cuanto a la MMP-9 se observaron diferencias, pero no fueron significativas ($p>0,05$). En lo que respecta a proteínas totales se observó que en el tercer tercio la concentración fue mayor ($7,63\text{g/dl}\pm 4,08$) que en el primer tercio ($4,64\text{g/dl}\pm 3,44$) y que en el segundo ($3,22\text{g/dl}\pm 2,31$), encontrándose además diferencias significativas entre el segundo y tercer tercio ($p<0,05$). Las distintas fracciones proteicas tuvieron un comportamiento similar, ya que se observó que en el tercer tercio se encontraban los niveles más altos de dichas fracciones pero sin diferencias significativas. Tal es el caso de la kappa caseína donde en el primer tercio la concentración fue de $0,37\text{g/dl}\pm 0,26$, en el segundo fue de $0,33\text{g/dl}\pm 0,26$ y en el último tercio fue de $0,49\text{g/dl}\pm 0,30$ ($p>0,05$). Previamente habíamos observado que las vacas sanas en ningún caso presentaban actividad de MMP-9, siendo que la MMP-9 aparece solo en vacas con mastitis. En este trabajo observamos que la coneja sana presenta actividad de MMP-9 a lo largo de la lactancia, con lo que podemos concluir que la actividad de esta MMP difiere en ambas especies, lo cual dificultará la utilización de conejas como modelo fisiopatológico de lactancia y mastitis bovina.

EFFECTO DEL HONGO ENDOFÍTICO *EPICHLÖË TEMBLADERAE* EN LA MICROPROPAGACIÓN DE *BROMUS PICTUS*

Berdion Gabarain V¹, Novas MV¹, Iannone LJ², Regalado JJ¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. CONICET, Instituto de Micología y Botánica (INMIBO). CABA, Argentina. ²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química, CONICET, Instituto de Micología y Botánica (INMIBO). CABA, Argentina.

Bromus pictus es una gramínea autóctona de la Patagonia, de interés por ser consumida por ovejas, no ser tóxica y crecer en ambientes extremos. Algunas poblaciones están asociadas a diferentes especies de endofitos fúngicos de vástago del género *Epichloë*, que pueden promover la emergencia de semillas y el desarrollo vegetativo de la planta. Siendo gramínea, es considerada recalcitrante para su cultivo in vitro, sin embargo, estudios previos indican que los endofitos *Epichloë* mejoran la micropropagación de *Lolium multiflorum* y *Bromus auleticus*. El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de *Epichloë tembladerae* en las distintas fases de la micropropagación de *B. pictus*. Semillas de *B. pictus* asociadas (E+) o no (E-) a *E. tembladerae* fueron esterilizadas y sembradas en placas de Petri con medio MS suplementado con 30g l⁻¹ de sacarosa y con medio CIM (Callus Induction Medium), consistente en MS suplementado con 30 g l⁻¹ de sacarosa, 2 mg l⁻¹ de 2,4-D y 0.1 mg l⁻¹ de Bencil-adenina (BA). Se sembraron e incubaron durante 4 semanas en oscuridad a 25±2°C, 180 semillas E+ y 180 E- en 3 repeticiones de 60 cada una. En el medio MS se registró un porcentaje de germinación significativamente mayor para las semillas E+ (87±4%) que para las E- (43±6%). En el medio MIC se obtuvo un porcentaje de formación de callos significativamente mayor para las semillas E+ (84±3%) que para las semillas E- (46±4%). Los callos obtenidos fueron subcultivados en nuevas placas con medio MIC cada 4 semanas hasta alcanzar un diámetro de 0,5 cm, tras lo cual se sembraron en placas de medio RM (Regeneration Medium), consistente en MS suplementado con 30 g l⁻¹ de sacarosa y 0.2 mg l⁻¹ de Kinetina, e incubadas durante 8 semanas a 25±2°C con un fotoperiodo de 16 hs. luz y 8 de oscuridad para inducir la regeneración de brotes de *B. pictus*. Sin embargo, esta regeneración no tuvo éxito. Estos resultados nos permiten concluir que *E. tembladerae* incrementa sustancialmente tanto la germinación como la formación de callo en las semillas de *B. pictus*, paso inicial del protocolo de micropropagación. Sin embargo, serán necesarios ensayos adicionales de regeneración para completar este protocolo y estudiar el efecto de *E. tembladerae* en esta etapa. Una vez obtenido este protocolo, podrá ser usado para el desarrollo de nuevas herramientas biotecnológicas en *B. pictus*.

REPORTE DE UN CASO DE ENFISEMA Y EDEMA PULMONAR AGUDO BOVINO EN UN ESTABLECIMIENTO DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA

Bermejo LVS¹, Adema EO², Miranda AO¹

¹Sanidad Animal, ²Gestión Ambiental y Recursos Naturales; INTA, E.E.A. Anguil (6326), La Pampa, Argentina. bermejo.virginia@inta.gob.ar

El Enfisema y edema pulmonar agudo bovino es una patología de origen tóxico-metabólico, su el factor desencadenante son los cambios bruscos en la alimentación, en función de la cantidad y calidad de las proteínas aportadas. Se caracteriza por un cuadro respiratorio no contagioso de disnea súbita, marcada y progresiva, llevando a la muerte.

El presente trabajo tiene como objetivo comunicar la presencia de un brote de dicha entidad en bovinos en condiciones de pastoreo natural en un establecimiento de la provincia de La Pampa. Los síntomas y casos de mortandad se presentaron en un lapso de un mes y medio, con un total de 144 animales expuestos, 21 de ellos presentaron síntomas tales como dificultad respiratoria con predominio de patrón abdominal, agitación, tos y secreción nasal, alcanzando una letalidad del 76%. En la necropsia de uno de los ejemplares los hallazgos macroscópicos fueron los siguientes: pulmones edematosos y sin colapsar. Al corte se evidenció severo edema y enfisema interlobular al igual que en la superficie, con abundante espuma en el árbol bronquial. Se recolectaron muestras de tejidos para histopatología y técnicas moleculares; sangre con anticoagulante para hematología y bioquímica sanguínea; e hisopado de pulmón para bacteriología. El diagnóstico histopatológico fue neumonía intersticial aguda, con edema generalizado, congestión, hemorragias y zonas de enfisema alveolar e intersticial, en fase organizativa, dada por la hiperplasia de neumocitos tipo II (epitelización alveolar). El cultivo bacteriológico del pulmón resultó negativo. Las determinaciones por técnica molecular, PCR, para Herpesvirus bovino 1 (IBR), virus de la diarrea bovina (DVB), virus Parainfluenza 3, virus Sincitial respiratorio bovino y Mycoplasma bovis resultaron negativas. Los parámetros de hematología y bioquímica sanguínea, tales como hemograma completo, proteínas totales, fosfatasa alcalina, gamma-glutamil- transpeptidasa, alanina- amino-transferasa, aspartato- amino-transferasa se encontraron dentro de los rangos fisiológicos. Se puede indicar que el cuadro descrito es compatible con la entidad conocida como “Enfisema y edema pulmonar agudo bovino”, en base a: la anamnesis, en la cual se constató que la vegetación natural del establecimiento, utilizada como recurso alimenticio, se encuentra en estado avanzado de degradación por sobrepastoreo. Esta condición sumada a la presencia de especies de la Familia Poáceas (reconocidas por su nivel elevado de L-Triptófano), a los elevados niveles de precipitaciones registradas durante el último periodo de brote (situación que hace propicio el rebrote de la pastura), y al cambio de potrero a uno de mayor oferta, interactuaron sinérgicamente en el desarrollo de la enfermedad, la sintomatología observada, los hallazgos macroscópicos e histopatológicos, y los resultados de pruebas complementarias.

***CRYPTOSPORIDIUM SPP.* EN CIERVOS DE LOS PANTANOS (*BLASTOCERUS DICHOTOMUS*) EN HUMEDALES DE LA ARGENTINA: MODELO DE ESTUDIO Y RESULTADOS PRELIMINARES**

Berra Y¹⁻³, Arias S¹, González L¹, Orozco M²⁻³, Degregorio O¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Salud Pública. ² Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires. ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

La degradación ambiental ha dado lugar a la aparición de enfermedades lo que representa una amenaza para la salud global y la conservación de la biodiversidad. El ciervo de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*) es el mayor cérvido autóctono de América del sur, y habita naturalmente en humedales. En la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) está catalogado como “vulnerable” y en la Argentina es considerado “en peligro de extinción”. Humedales como el Delta del Paraná (Entre Ríos, Santa Fe y Buenos Aires) y los Esteros del Iberá (Corrientes), entre los años 2016 y el 2017 respectivamente, han sufrido inundaciones extraordinarias, registrándose en 2016, en el Delta del Paraná, más de 200 ciervos muertos y en 2017, en Esteros del Iberá, más de 300 ciervos muertos. Las patologías de origen parasitario son un factor asociado a los eventos de morbilidad y mortalidad para la población de ciervos. *Cryptosporidium spp.*, es un protozooario alta probabilidad de emerger como consecuencia de modificaciones en los ecosistemas, pudiendo infectar poblaciones de animales domésticos, silvestres y al hombre. El estudio de *Cryptosporidium spp.*, por su capacidad multihospedadora y su potencial riesgo de emerger, es relevante como modelo de infección en poblaciones de ciervo de los pantanos, para profundizar el conocimiento de su eco-epidemiología que sustente el planteo de acciones sanitarias y de conservación. El objetivo fue determinar la frecuencia de *Cryptosporidium spp.* en materia fecal de ciervo de los pantanos en la Reserva Natural Otamendi y en el área natural San Nicolás. Las áreas de estudio fueron la Reserva Natural Otamendi (RNO), Campana, Buenos Aires, y área natural San Nicolás (SN), Parque Nacional Iberá, Corrientes. Se realizaron campañas estacionales durante 2017. Se realizó un muestreo por líneas transectas, para colectar muestras de materia fecal de la especie en estudio. Se procedió a la concentración de la muestra mediante una sedimentación en agua y flotación en solución azucarada. Luego, se colorearon 10 microlitros del concentrado por la técnica de Ziehl Neelsen en frío, para la detección de ooquistes compatibles con *Cryptosporidium spp.* (“positivas”). En SN se recolectaron 73 muestras de materia fecal de ciervo de los pantanos y en la RNO un total de 18 muestras. Del área SN se procesó el 17,8% (13) resultando un 69,2% (9) positivas y el 30,7% (4) negativas. De la RNO se procesaron el 44,4% (6) resultando un 66,7% (4) positivas y un 33,3% (2) negativas. Para finales del 2018, en las muestras compatibles con ooquistes de *Cryptosporidium spp.* se

realizará nested-PCR, y luego secuenciación y comparación con las secuencias reportadas en el GeneBank. El presente trabajo representa la primera aproximación al conocimiento de la eco-epidemiología de la cryptosporidiosis en ciervo de los pantanos en humedales argentinos. A la vez, permitirá comprender el impacto y el potencial riesgo de transmisión de *Cryptosporidium* spp. hacia otras poblaciones susceptibles, y proponer medidas de prevención y control.

EL USO DE ANDROCOLL-E™ PERMITE SEPARAR ESPERMATOZOIDES DE SEMEN FRESCO DE LLAMA NO TRATADO ENZIMÁTICAMENTE. Resultados preliminares.

BERTUZZI ML¹, FUMUSO FG^{1,2}, ARRAZTOA CC^{1,2}, CARRETERO MI^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, INITRA, Cátedra de Teriogenología, ²CONICET

Debido a la alta filancia y viscosidad que presenta el semen de los camélidos sudamericanos no es posible separar los espermatozoides del plasma seminal (PS) sin realizar centrifugaciones a alta velocidad. Estudios previos utilizaron el Androcoll-E™ (AE) para seleccionar espermatozoides de semen fresco de llama incubado previamente con colagenasa. El objetivo de este trabajo fue separar los espermatozoides del PS en semen fresco de llama no tratado enzimáticamente utilizando la centrifugación a través de este coloide. Se evaluaron 17 eyaculados de 5 machos mediante electroeyaculación bajo anestesia general. Cuando la concentración espermática superaba los 100×10^6 espermatozoides/ml, el eyaculado se diluyó con HEPES-Ham (H-Ham) para alcanzar dicha concentración. Posteriormente, la muestra se dividió en tres partes iguales y se armaron las siguientes columnas: a) 4 ml de AE y una parte de muestra, b) 5 ml de AE y una parte de muestra y c) 6 ml de AE y una parte de muestra. Luego, se centrifugaron a 800 g durante 20 minutos y el pellet obtenido fue resuspendido en 100 μ l del medio H-Ham. Se evaluaron las siguientes características espermáticas: movilidad (oscilatoria, progresiva, circular y total), concentración, funcionalidad e integridad de las membranas, morfología y grado de condensación de la cromatina. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño factorial de un factor (tratamiento) con 4 niveles: fresco, AE 4 ml, AE 5 ml y AE 6 ml. En todas las columnas, la movilidad espermática post-centrifugación fue mayormente oscilatoria. No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la movilidad oscilatoria, progresiva, ni circular entre los tratamientos. Sin embargo, se observó un descenso significativo ($p < 0,05$) de la movilidad total en la columna b con respecto al semen fresco. Tampoco se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el número total de espermatozoides recuperados, en la viabilidad espermática, funcionalidad de la membrana, ni en el grado de condensación de la cromatina, entre las diferentes columnas, ni entre ellas y el semen fresco. Aunque no se observaron diferencias ($p > 0,05$) en los porcentajes de espermatozoides normales, cabezas anormales, cabezas sueltas, colas anormales y piezas intermedias anormales entre los tratamientos, se encontró un mayor porcentaje de espermatozoides con gota citoplasmática en el semen fresco con respecto a las columnas. Podemos concluir que las columnas de Androcoll-E™ de 4, 5 y 6 ml no permitirían mejorar la calidad espermática del semen fresco de llama no tratado enzimáticamente. Sin embargo, el protocolo utilizado logró el objetivo propuesto originalmente de separar los espermatozoides del PS, permitiendo su uso para biotecnologías reproductivas como la fertilización *in-vitro*.

Caracterización de la infección por especies silvestres de *Trichinella* en jabalíes (*Sus scrofa*)

Bessi C^{1,3}, Pasqualetti MI^{1,2}, Ercole M¹, Fariña F^{1,2}, Ribicich MM^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Buenos Aires. Argentina. ²CONICET. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. (INPA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina. ³ CONICET. Buenos Aires, Argentina.

La trichinellosis es una enfermedad zoonótica transmitida por el consumo de alimentos infectados con *Trichinella* spp. A nivel mundial se reconocen nueve especies y tres genotipos. En Argentina la enfermedad es endémica. Las especies encontradas en nuestro territorio hasta el momento son *T. spiralis*, *T. pseudospiralis*, *T. britovi* y *T. patagoniensis*. La transmisión de *Trichinella* spp. depende entre otras cosas, de la capacidad de las larvas de tolerar las condiciones de elaboración y conservación en los productos cárnicos. El tratamiento de las carnes para la inactivación de diferentes agentes patógenos, se ha constituido en un foco de atención de investigadores en todo el mundo. En Argentina la enfermedad es endémica y principalmente transmitida por cerdos, sin embargo, en la última década, los jabalíes y pumas fueron las especies más prevalentes en los focos silvestres. Los jabalíes cumplen un rol fundamental en esta zoonosis debido al hábito de las personas de consumir los mismos tras su caza o comercialización sin diagnóstico previo. Debido a esto, es de primordial importancia el poder comprender el rol epidemiológico que los jabalíes cumplen en esta zoonosis. Bajo este supuesto se busca evaluar la susceptibilidad de los jabalíes a *T. patagoniensis* y *T. pseudospiralis*, lograr caracterizar la infección aguda y crónica como también la respuesta inmune. Se realizará, cada 48 horas, el examen objetivo general de cada animal, observando el comportamiento de los animales, la condición corporal, la apariencia facial, el estado de la piel, pelaje y anexos, el tipo respiratorio, la actitud en reposo y movimiento. Se extraerán muestras de sangre semanalmente para la medición de citoquinas y el estudio de la dinámica de anticuerpos. Se estudiará la infectividad y el patrón de distribución de larvas en los grupos musculares de interés parasitológico (diafragma, intercostal, lengua, esófago y masetero) y comercial (paleta, jamón, solomillo y bondiola) y se evaluará la tolerancia al congelamiento de las larvas de *T. patagoniensis* y *T. pseudospiralis* alojadas en carne de jabalíes. Durante el presente estudio se espera generar conocimientos que serán novedosos y relevantes sobre una nueva especie (*T. patagoniensis*) y evaluar el comportamiento de *T. pseudospiralis*, recientemente reportada en Argentina, en especies ligadas al linaje silvestre como los jabalíes.

Este trabajo está siendo financiado a través del proyecto PICT-2015-2350.

DIETA DE JUVENILES DE SARACA *Brevoortia aurea* Y PEJERREY *Odontesthes argentinensis* EN LA LUCILA DEL MAR: ¿EXISTE SOLAPAMIENTO TRÓFICO?

BIOLÉ FG¹, VOLPEDO AV¹, THOMPSON GA¹

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), CONICET- Universidad de Buenos Aires. e-mail: ferbiole@gmail.com

El objetivo del presente trabajo fue determinar la dieta de individuos juveniles de dos especies marinas: *Brevoortia aurea* (saraca) y *Odontesthes argentinensis* (pejerrey) provenientes de la localidad de La Lucila del Mar (Buenos Aires). Se colectaron 160 peces (saraca, n=55; pejerrey, n=105) durante marzo 2016, y se registró su longitud total (LT en mm) y su peso total (PT en g). Se extrajeron los estómagos y los mismos se preservaron en alcohol 80%. Se analizaron los contenidos estomacales y se calculó el índice de vacuidad (IV= N° estómagos vacíos/ N° de estómagos examinados*100), y el índice de importancia relativa (IIR%) para cada ítem presa *i*, a partir de la fórmula $IIR_i = (N_i\% + P_i\%) \times FO_i\%$, donde FO%, es la frecuencia de ocurrencia, N_i% el porcentaje en número y P_i% el porcentaje en peso de cada ítem presa *i*. Para comparar la dieta entre las dos especies, se utilizó el índice de solapamiento trófico (Cλ) de Morisita (1956) modificado por Horn (1966). El Cλ varía entre 0 y 1 y se considera que valores mayores o iguales a 0,6 representan un alto solapamiento trófico. Los rangos de LT y PT fueron: 50-72 mm y 0,93-3,4 g para saraca y 60-160 mm y 1,29-23,5 g para pejerrey. El IV fue moderado para el pejerrey (30,5%) y nulo para la saraca (no se registraron estómagos vacíos). Ambas especies se alimentaron de siete ítems presa, coincidiendo en seis de ellos: copépodos calanoideos (>1mm: adultos de *Acartia tonsa* y <1mm: mayormente juveniles de la misma especie), copépodos cyclopoideos (*Oithona* sp.), copépodos harpaticoideos (*Microsetella* sp.), larvas cypris (*Balanus* sp.), larvas megalopa (crustáceos decápodos mayormente pertenecientes a *Cyrtograpsus* sp.). Con respecto a los IIR% hubo una baja coincidencia en las preferencias de alimentación de pejerrey y saraca; para el primero el 94% de la dieta estuvo conformado por larvas cypris y el 6% por larvas megalopa, mientras que la saraca prefirió los copépodos calanoideos (75% de la dieta los de mayor tamaño y un 17% de los de menor tamaño) y las larvas cypris (8%). Este último ítem presa es el más frecuente en ambas especies (FO mayores al 90%). Sin embargo, se observó una marcada diferencia en el número máximo de larvas consumido (215 y 11.000 larvas para saraca y pejerrey, respectivamente). El valor del índice de Morisita (Cλ=0,10) indicó que las especies estudiadas no presentan solapamiento en su dieta. Lo cual sugiere que especies que se alimentan de los mismos ítems presa difieren en su preferencia por cada uno de ellos, evitando el solapamiento y la competencia por los recursos alimenticios.

VITRIFICACIÓN DE ESPERMATOZOIDES DE GATO (*FELIS SILVESTRIS CATUS*). RESULTADOS PRELIMINARES EN FELINOS QUE CONCURREN A LA CLÍNICA

Bonaura MC^{1,2}, Lagala FH¹, García Mitacek, MC^{1,2}

¹Cátedra de Reproducción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). bonaura874@hotmail.com

La vitrificación es un proceso físico mediante el cual una solución pasa del estado líquido al sólido sin cristalizar, formándose una sustancia de tipo amorfa-vítrea. En esta técnica de congelación ultrarrápida las células son inmersas en nitrógeno líquido, de este modo el espermatozoide atraviesa rápidamente las temperaturas críticas que afectan su viabilidad, evitando así la formación de cristales de hielo y con ello los daños asociados a este proceso. La vitrificación es un procedimiento simple que requiere poco equipamiento y podría ser sencillo de aplicar en la práctica diaria. Recientes estudios muestran que la vitrificación podría ser una herramienta útil para conservar espermatozoides epididimales (EE) en el gato. Existen pocos estudios sobre esta técnica en espermatozoides. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la adición de disacáridos como la Trealosa (TREA) y Sacarosa (SAC) a un diluyente (DIL) Buffer fosfato salino Dulbecco's® (DPBS) sobre la supervivencia espermática pos vitrificación en felinos. Para cumplir con el objetivo propuesto se utilizaron 20 gatos mestizos, sanos, con un peso de entre 3.5 y 4 kg. Luego de la orquiectomía bilateral, los testículos y epidídimos fueron trasladados al laboratorio donde se separó la cola del epidídimo y se atemperó en un baño termostático a 37°C 10' en DPBS. Para realizar la vitrificación se utilizaron dos DIL diferentes, un DIL DPBS con 1% de albumina sérica bovina (ASB) con de 0,8M de TREA y un DIL DPBS con 1% de ASB con 0,4M de SAC. Un volumen de 20µL de los EE diluidos se envasaron en pajuelas de 0,25 ml, las mismas se colocaron en vapores de nitrógeno líquido durante 2 minutos. El atemperado se realizó a 65°C durante 5 segundos. Al material seminal fresco y pos vitrificado se le realizaron las siguientes pruebas de contrastación microscópicas *in vitro*: concentración espermática, motilidad progresiva individual (MI), vigor (VI), acrosomas intactos (AI), integridad de membrana (IM). Las comparaciones de los parámetros espermáticos entre los EE frescos y pos vitrificación y entre DIL se realizaron mediante el análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS®. Se observaron diferencias significativas en todos los parámetros evaluados entre las muestras frescas y post-vitrificación de ambos diluyentes (MI 53.06 ± 2.8 vs. 2.1 ± 0.57, VI 3.67 ± 0.1 vs. 1.06 ± 0.18, IM 59.58 ± 1.76 vs. 34.19 ± 1.67, AI 59.16 ± 2,48 vs 36,54 ± 1,52, P<0,001). La MI y el VI fueron significativamente más altos cuando los EE se vitrificaron con SAC vs. TREA (MI 3,88 ± 0,75 vs. 0,38 ± 0,75, VI 1,84 ± 0,23 vs. 0,39 ± 0,23, P<0,001). No se observaron diferencias significativas en IM y AI. Podemos concluir que los EE felinos

pueden conservar un porcentaje de sus membranas integras pos vitrificación con la adición de disacáridos. Observándose mejores valores de MI y VI en el DIL con SAC. Sin embargo, los valores obtenidos aún son demasiado bajos para uso práctico en IA. Estos espermatozoides podrían usarse para la ICSI o fertilización *in vitro*. Futuras investigaciones son necesarias para mejorar esta biotecnología.

VITRIFICACIÓN DE SEMEN EN PORCINOS: RESULTADOS PRELIMINARES UTILIZANDO TREALOSA EN EL DILUYENTE

Bonaura MC^{1,2}, Albanesi B¹, Acosta MS¹, Campagnoni M¹, Tittarelli C¹, Williams SI¹

¹Cátedra de Reproducción Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). bonaura874@hotmail.com

La membrana del espermatozoide porcino se caracteriza por su menor resistencia a la congelación-descongelación que otras especies, este hecho particular se debe a la mayor proporción de fosfolípidos poliinsaturados y bajos niveles de colesterol. Si bien la técnica de criopreservación ha mejorado en los últimos años, la fertilidad y prolificidad tras la inseminación artificial con semen congelado aún deben ser optimizadas. El proceso de vitrificación, podría evitar ciertos cambios que atraviesa el espermatozoide durante la congelación-descongelación, por ser considerablemente más rápido que la congelación tradicional. De este modo se reduciría el estrés y algunos daños, principalmente los asociados a la formación de cristales de hielo. El objetivo de este trabajo fue realizar la vitrificación de semen porcino y evaluar el efecto de la adición de Trealosa (TREA) sobre la supervivencia espermática pos vitrificación. Para cumplir con el objetivo propuesto se vitrificó un total de 8 eyaculados de porcinos provenientes de granjas de la provincia de Buenos Aires. El semen diluido fue centrifugado y el pellet obtenido se re-suspendió en dos diluyentes (DIL) diferentes para obtener una concentración final de 20×10^6 esp/ml. Se utilizó un DIL que contenía Buffer fosfato Dulbecco's (DPBS) con 1% de albumina sérica bovina (ASB) y 0,4M de SAC como control (C) y un DIL DPBS con 1% de ASB y 0,8M de TREA (T) para evaluar el efecto del disacárido. Alícuotas de 30 μ L se envasaron en pajuelas de 0,25 ml y se colocaron en vapores de nitrógeno líquido durante 2 minutos. El atemperado se realizó a 37°C durante 1'. El semen fresco y pos vitrificación fue evaluado mediante microscopía para concentración espermática, morfología espermática, motilidad progresiva individual (MI), vigor (VI), acrosomas intactos (AI), % de vivos (V). Las comparaciones de los parámetros espermáticos entre el semen fresco y pos vitrificación y entre DILs se realizaron mediante el análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS[®]. Se observaron diferencias significativas en todos los parámetros evaluados entre las muestras frescas y post-vitrificación para ambos DIL (MI 52.5 ± 2.01 vs 0, VI 2.75 ± 0.05 vs 0, V 55.75 ± 1.84 vs 5.9 ± 0.7 , AI 75 ± 1.42 vs 46.6 ± 1.2 ; $P < 0,001$). Los AI fueron significativamente más altos en el DIL C (TALPSAC) comparado con el DIL T (53.6 ± 2.13 vs 39.6 ± 3.6 ; $P < 0,001$). No se observaron diferencias significativas en el resto de los parámetros evaluados. El porcentaje de AI fue el parámetro seminal que mostró mejores valores pos-vitrificación, comparado con la MI, el VI y el %V, entre el DIL C y el DIL T. En base a los resultados preliminares obtenidos, se puede concluir que la utilización de TREA en el DIL no ejerció un efecto protector sobre los espermatozoides y que se

requieren futuras investigaciones para mejorar el uso de esta biotecnología aplicada a la especie porcina.

PREVALENCIA DE PARÁSITOS DE LOS ANIMALES DE COMPAÑÍA EN UN BARRIO VULNERABLE DE LA CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES, CON ÉNFASIS EN EL ESTUDIO DE LAS GEOHELMINTIASIS ZOONÓTICAS

Bonboni A¹, Martínez Vivot, M²; Martínez G¹, Loiza Y¹, Fariña F^{1,3,4}, Pasqualetti M^{1,3}, Ribicich Mabel, Cardillo Natalia^{1,3,4}

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. ¹Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. ²Cátedra de Enfermedades Infecciosas. ³INPA. ⁴CONICET. Buenos Aires, Argentina.

Toxocara spp., *Strongyloides stercoralis* y *Ancylostoma* spp. son helmintos gastrointestinales de perros y gatos considerados geohelmintos zoonóticos por tener como vía común de transmisión el suelo. Los protozoarios *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium* spp. se vehiculizan principalmente por el agua contaminada con materia fecal de estos animales. La población humana en riesgo la constituyen, sobre todo, niños en etapa pre y escolar en condiciones de pobreza y marginalidad. Esto cobra especial interés dadas las características de la población del barrio Los Piletones, un asentamiento precario de la CABA; ubicado en una zona baja e inundable. El objetivo fue determinar la prevalencia de parasitosis en materia fecal de perros y gatos en el entorno peridomiciliario del barrio Los Piletones durante 2016-2018. Durante 2016-2017 se recolectaron muestras frescas de materia fecal de caninos y felinos del peridomicilio. Las mismas se remitieron refrigeradas al laboratorio, donde se procesaron individualmente mediante tres técnicas coproparasitológicas: Bembrook modificada, Baermann y Telemann modificado. Los extendidos de materia fecal para *Cryptosporidium* spp. fueron teñidos por la técnica de Kinyoun. Se identificaron por microscopía óptica y se remitieron las positivas a *G. intestinalis* para PCR. Se analizaron 120 muestras de materia fecal de caninos y felinos, resultando positivas a parásito el 62,5%, con prevalencias específicas por género: *Ancylostoma* spp. 56,8%, *Trichuris* spp. 13,3%, *Giardia intestinalis* 3,3%, *Toxocara* spp. 7,5%, *Sarcocystis* spp. 3,3% y Coccidios 3,3%. Los aislamientos de *Giardia intestinalis* correspondieron al ensamblaje zoonótico tipo A. Dentro de un mismo género parasitario, las distintas especies ocasionan diferente patología en el ser humano, algunas de las cuales pueden dejar secuelas permanentes, es por tal motivo que los estudios epidemiológicos de prevalencia de parásitos en los animales de compañía, permite valorar y alertar a la comunidad médica sobre las patologías esperadas y detectar ambientes de riesgo. Dada la prevalencia de geohelmintos y protozoarios zoonóticos de las mascotas encontrada en el entorno peridomiciliario del barrio Los Piletones, se concluye sobre la relevancia de intensificar las medidas de prevención para la población humana conviviente, a través de estrategias educativas sobre tenencia responsable y de medidas de saneamiento del espacio público.

**ANÁLISIS DE CEPAS DIARREOGÉNICAS DE *ESCHERICHIA COLI*
PROVENIENTES DE BOVINOS DE TIERRA DEL FUEGO Y SU POSIBLE
IMPACTO EN SALUD (COMUNICACIÓN PRELIMINAR)**

Bonino MP, Bentancor A, Blanco Crivelli X

Universidad de Buenos Aires; Facultad de Ciencias Veterinarias; Microbiología.

Escherichia coli enteropatógena (EPEC) es uno de los patovares de *E. coli* que se destaca por su impacto en la niñez. EPEC es productor de diarreas y constituye la segunda causa de muerte en niños menores a 5 años. Se caracteriza por una adhesión íntima al epitelio intestinal, donde produce una lesión histopatológica conocida como *attaching and effacing* (de adherencia y esfacelación). En Tierra del Fuego (TDF), la tasa de diarreas es elevada. TDF no cuenta con estudios de portadores ni reservorios de EPEC. Constituye un modelo diferente, con una situación climática diferenciada y sin importación de animales en pie, siendo su población bovina nativa. El objetivo de este estudio ha sido determinar la portación de EPEC en bovinos de TDF destinados a faena, y analizar sus factores de virulencia, para poder relacionarlos luego con otros patovares de importancia y su posible impacto en salud. Se realizó un estudio epidemiológico transversal observacional durante julio 2016 para la detección de cepas EPEC, diferenciando tipo de producción (campo o feedlot) y playa de faena. El muestreo fue dirigido por accesibilidad en las dos playas de faena existentes (Ushuaia y Río Grande). Por cada animal se tomó una muestra por hisopado rectal. Para la detección de cepas EPEC se realizó pre-enriquecimiento en caldo tripteína soja, con posterior siembra en agar Mac Conkey y PCR para detectar gen *eae* de la zona de confluencia de colonias. Las cepas aisladas fueron caracterizadas en función de la presencia del gen que codifica para la fimbria de adhesión tipo IV (*bfpA*) en EPEC típicas (*bfpA+*) o atípicas (*bfpA-*). Además se evaluó su patrón de adhesión en cultivo celular con línea HeLA, utilizando tiempos de incubación de tres y de seis horas. Una vez finalizada la incubación, se realizó tinción de Giemsa para poder observar al microscopio óptico. Se analizaron 194 muestras de bovinos de TDF. En muestras de feedlot de Río Grande se identificaron 5/104 sospechosas. En muestras de campo de Río Grande y Ushuaia encontramos 1/20 y 4/70 sospechosas, respectivamente. Se logró aislar una cepa *eae+* de bovino de feedlot. Esta cepa fue *bfpA-*, y no manifestó una adhesión franca al realizar los ensayos (tanto en 3 como en 6 h), por lo que su patrón de adhesión no pudo ser definido. Para justificar la dinámica epidemiológica de la región cabe considerar si las cepas aisladas codifican factores de virulencia adicionales, su relación con otros patovares, la presencia de otros reservorios, la contaminación de alimentos y la percepción de riesgos de la comunidad.

SELECCIÓN IN VITRO DE CEPAS NATIVAS DEL GÉNERO TRICHODERMA A PARTIR DE AISLAMIENTOS DE SUELO PARA EL CONTROL DE SCLEROTINIA SCLEROTIORUM

Borrelli NP^{1,2}

¹Becario Doctoral INTA-CONICET Instituto de Floricultura, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. ²Ayudante Segundo. Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. nicolasborrelli@agro.uba.ar

El sistema de producción agropecuaria actual está basado en la utilización de grandes cantidades de energía externa al agroecosistema, tales como fertilizantes, agroquímicos, semillas, maquinaria y mano de obra. Dichos insumos son necesarios para estabilizar los sistemas naturales regidos y sostenidos por procesos biológicos, desequilibrados por la acción del hombre para maximizar los rendimientos. La necesidad de reducir la incidencia de problemas de salud de las poblaciones y la contaminación ambiental generados por la utilización de agroquímicos en las producciones agrícolas da lugar al planteo de nuevas alternativas en el manejo de las plagas. El control biológico de enfermedades mediante la utilización de cepas nativas del género *Trichoderma* proporciona una herramienta eficaz y útil cuando se introduce dentro de un planteo de manejo integrado de enfermedades, contribuyendo a la estabilidad de los sistemas. Las enfermedades de las plantas causadas por hongos fitopatógenos del género *Sclerotinia* ocasionan grandes mermas de rendimientos y costos asociados a su control, por lo que el diseño de métodos basados en el conocido antagonismo de *Trichoderma* sobre este patógeno daría lugar a la resolución de inconvenientes sin la necesidad de utilizar métodos químicos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el comportamiento antagonístico in vitro de cepas nativas de *Trichoderma*, aisladas de 99 muestras de suelos de la provincia de Buenos Aires y Entre Ríos bajo producción o no, con limitado o nulo uso de agroquímicos, frente a cepas de *S. sclerotiorum*. Las muestras se procesaron en laboratorio mediante la suspensión de 50 miligramos de suelo en 100 cc de agua destilada estéril y su agitado en Vortex por el término de dos horas. Se realizaron diluciones seriadas, sembrando las suspensiones en placas de Petri con agar papa glucosa, incubándolas en estufa a 20+2°C durante 1 semana. Se aislaron 15 cepas que visualmente se podían identificar como pertenecientes al género *Trichoderma* y luego se realizó su reconocimiento preliminar por microscopía. A partir de la metodología de cultivos duales se efectuó un estudio exploratorio en el cual se midió el radio de desarrollo de las colonias a los 2, 3, 5 y 7 días de haber sido sembrados, calculándose el porcentaje de inhibición de crecimiento del patógeno. En base al estudio in vitro se seleccionaron los aislados más eficientes como antagonistas de *S. sclerotiorum*. De los quince aislados de *Trichoderma* evaluados, cuatro (T8, T9, T11 y T13) tuvieron un mejor comportamiento que el resto para inhibir el crecimiento y la formación de esclerocios de *S. sclerotiorum*. Uno de ellos (T8) expresó un comportamiento superior, logrando anular

la formación de esclerocios, además de haber registrado el máximo crecimiento en cultivo dual, con el consecuente menor crecimiento del patógeno. Actualmente se están utilizando las cepas más promisorias en ensayos con sustratos económicos (granos partidos de maíz y trigo) para de esta forma lograr formulados y evaluar el efecto in vivo como biocontrolador y promotor de crecimiento.

MANEJO DE HONGOS DE SUELO PATÓGENOS DE SOLANÁCEAS ORNAMENTALES: INTEGRACIÓN DE PRÁCTICAS SUSTENTABLES

Borrelli NP^{1,2}

¹Becario Doctoral INTA-CONICET Instituto de Floricultura, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. ²Ayudante Segundo. Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. nicolasborrelli@agro.uba.ar

La floricultura es una actividad periurbana intensiva de tipo familiar. En Argentina hay 2.500 ha destinadas a esta producción, en establecimientos localizados en una interfase urbano-rural con gran cercanía entre cultivos y viviendas. Tales producciones se desarrollan con alta dependencia de fungicidas, fertilizantes y reguladores de crecimiento. El uso inadecuado de estos productos puede ser riesgoso para la salud de productores y trabajadores, sus familias y el entorno; y sus residuos pueden permanecer como contaminantes del ambiente. El manejo sobre bases agroecológicas constituye una estrategia para disminuir este daño. En este contexto, el uso de especies de flora nativa presenta interés creciente. A partir de germoplasma nativo del género *Calibrachoa* (Solanaceae), INTA ha generado las variedades Pampa Salmón y Overá Fucsia para el mercado local y Superbells Garden Rose para el norteamericano. Pero la producción en macetas es susceptible a enfermedades ocasionadas por hongos de suelo. Respecto al control biológico de las enfermedades, en Argentina se realizaron numerosos estudios, algunos orientados a la floricultura, pero pocos evaluados a nivel productivo. *Trichoderma* es un género fúngico, ubicuo, frecuente en suelos e inocuo para otros organismos benéficos, con aptitudes tanto para la protección contra fitopatógenos como para la promoción del crecimiento vegetal. Su producción en masa se ha vuelto el foco de la investigación sobre alternativas de manejo fitosanitario. En esta búsqueda podría considerarse también al uso de quitosano como complemento de la aplicación de hongos benéficos en cultivo en maceta de especies derivadas de la flora nativa. Este proyecto tiene por objetivo mejorar la calidad de la producción florícola mediante el manejo de la sanidad de Solanáceas ornamentales con prácticas eco-compatibles. Hasta hoy, se aislaron 19 cepas de patógenos fúngicos de *Calibrachoa* tanto de tejidos aéreos como radicales, entre las que se encuentran los géneros *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Alternaria* y *Nigrospora*, se confirmó la patogenicidad de 7 de ellas y se categorizó a *F. oxysporum* como patógeno prevalente. Se encuentra en ejecución un ensayo con 12 aislados de *F. oxysporum* para detectar los más agresivos y las variedades de *Calibrachoa* más tolerantes. Por otra parte, se cuenta con una colección de 25 aislados de *Trichoderma* obtenidos de rizósfera de *Calibrachoa* y de suelos donde el género crece en forma natural. En un futuro, se avanzará con ensayos que permitan probar el efecto antagonista in vitro de las cepas de *Trichoderma* y del quitosano frente a los patógenos más prevalentes para luego evaluar su eficiencia in vivo. Los aislados preseleccionados se utilizarán en ensayos de promoción de crecimiento de las variedades y en experimentos de

evaluación de su multiplicación en sustratos económicos. Se probará la compatibilidad del quitosano con las cepas más promisorias. Por último, se evaluará el manejo integrado, mediante combinaciones de las prácticas más eficientes.

GRADO DE CONTAMINACIÓN POR ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA EN CARNE MOLIDA EN TIERRA DEL FUEGO. (COMUNICACIÓN PRELIMINAR)

Broglio A^{1,2}, Bentancor A¹

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

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es responsable de enfermedades de transmisión alimentaria por contaminación de alimentos y agua, con una dosis infectiva muy baja (< 100 UFC/g). El ganado bovino es un reservorio natural de STEC O157:H7 y no-O157:H7, las cuales pueden ocasionar diarreas y síndrome urémico hemolítico (SUH) al hombre. La carne molida es el alimento que se considera la principal fuente de infección para el hombre, ya que la contaminación superficial del corte de carne se distribuye en toda la masa del producto cárnico en la molienda. En la Provincia de Tierra del Fuego (TDF) se observa una alta tasa de incidencia de SUH. Los casos denunciados tienen presentación estacional (verano). TDF cuenta con 3 municipalidades Río Grande, Tolhuin, y Ushuaia. Establecer los parámetros de riesgo particulares en esta población se torna necesario para adecuar las medidas preventivas. El objetivo de este trabajo fue determinar el grado de contaminación de STEC en carne molida de venta minorista en las municipalidades de Río Grande, Tolhuin, y Ushuaia. Se realizó una ronda de muestreo en todas las carnicerías de TDF según registros municipales en período de baja temporada turística, septiembre. Se recolectaron por compra 93 muestras que fueron transportadas congeladas al laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Las muestras se procesaron según el algoritmo propuesto para STEC O157:H7 y no-O157 en concordancia al protocolo de FSIS/USDA 2010, utilizando 65 gr de muestra. En el algoritmo de O157:H7 se incorporó un tamizaje con inmunoabsorción (Reveal O157:H7, Neogen) para definir la utilización de inmunocaptura en la ruta diagnóstica de las muestras sospechosas. Para la detección de *stx1/stx2* y *rfbO157* se utilizó la metodología de tamizaje por PCR múltiple. Se utilizaron los controles EDL933 y ATCC 25922 positivo y negativo respectivamente en cada ensayo. En las muestras genotípicamente sospechosas se analizó por inmunocromatografía la producción de toxina Shiga (Quik chek, Abbott). Se detectaron 2/93 muestras sospechosas al serogrupo O157:H7 mediante inmunoabsorción. Luego de la separación inmunomagnética y posterior tamizaje por PCR no se detectaron resultados compatibles con los genes de la toxina Shiga en dichas muestras. No se detectó en las muestras analizadas STEC O157 ni STEC no-O157 en las rutas diagnósticas. La producción de toxina Shiga en las muestras sospechosas dieron negativas. La prevalencia de contaminación en carne molida bovina provenientes de bocas de expendio minoristas de TDF por O157:H7 no-STEC es de 2,15%, sin sospecha ni aislamiento de STEC. Durante la época de muestreo no se denunciaron casos de SUH al Sistema Nacional de Vigilancia en

Salud. Los resultados obtenidos permiten considerar que otras fuentes de infección podrían estar involucradas localmente o que la contaminación de carne tiene una presentación estacional en coincidencia con los casos de SUH.

RESPUESTA A CAMPO DE UN INOCULANTE PARA SOJA ELABORADO CON CEPAS RIZOBIANAS DESNITRIFICANTES

Bruno C¹, Thuar A¹, Castro S²

¹Departamento de Biología Agrícola, Facultad de Agronomía y Veterinaria. ²Departamento de Ciencias Naturales, Facultad Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto. Córdoba. Argentina. E-mail: cbruno@ayv.unrc.edu.ar.

El cultivo de soja representa la mayor superficie cultivada en Argentina, siendo una de las principales fuentes de ingreso de divisas al país en los últimos años. Dicha leguminosa tiene una gran demanda de nitrógeno (N) y casi su totalidad de grano se exporta, por lo que, si la fijación biológica del nitrógeno (FBN) no es eficiente, junto con ese grano estaremos exportando una parte importante de la fertilidad nitrogenada de nuestros suelos. El objetivo del trabajo fue evaluar el impacto de cepas de *Bradyrhizobium japonicum*, seleccionadas por poseer una elevada actividad de la enzima nitrato reductasa (NR), sobre el rendimiento del cultivo de soja en presencia de alto contenido de nitrato NO₃⁻ en el suelo. El estudio se realizó en el campo experimental (CAMDOCEX) de la Facultad de Agronomía y Veterinaria ubicado en la Universidad Nacional de Río Cuarto (33° 06' 23.46" de latitud sur y 64° 17' 54" de longitud oeste) en un suelo clasificado como Hapludol típico, con un contenido de 96,60 ppm N-NO₃⁻ (0-20 cm) y 84,20 ppm N-NO₃⁻ (20-40 cm). El diseño experimental que se utilizó fue de bloques al azar con tres repeticiones, con los siguientes tratamientos: Control (sin inocular y fertilizar), Fertilizado (sin inocular y con la adición de 180 kg N ha⁻¹ de urea a la siembra), Inoculado con las cepas de *Bradyrhizobium japonicum* (USDA110 y Per 3.61, respectivamente). Los resultados obtenidos demostraron que el aporte de FBN de la cepa USDA110 fue del 56% y de la cepa Per 3.61 del 64%, lo cual representa un aumento del 20% y 39% del N acumulado por el cultivo con respecto al tratamiento control. Los datos del rendimiento del cultivo de soja mostraron, que hay diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos inoculados con las diferentes cepas de *Bradyrhizobium japonicum* y fertilizado en relación con el control. El mayor rendimiento del cultivo de soja correspondió a las plantas inoculadas con la cepa Per 3.61 mostrando un aumento del 69 % en relación con el control y 24 % a los tratamientos inoculado con la cepa USDA110 y fertilizado, respectivamente. La respuesta diferencial manifestada en el rendimiento del cultivo soja usando las cepas desnitrificantes de *Bradyrhizobium japonicum* (USDA110 y Per 3.61), ha puesto en evidencia la capacidad de la cepa Per 3.61 de mantener la fijación biológica de nitrógeno en presencia de un alto contenido de nitrato. Por lo tanto, en este ensayo realizado en un suelo con un alto contenido de nitrato, permitió demostrar que la cepa desnitrificante *Bradyrhizobium japonicum* Per 3.61 (caracterizada por llevar a cabo el proceso completo de

desnitrificación) representa un aporte promisorio para su uso como inoculante para soja con el fin de mejorar el rendimiento del cultivo.

ESTUDIO DE LA EQUIBACTINA EN CEPAS ARGENTINAS DE STREPTOCOCCUS EQUI SUBSP. EQUI

Bustos CP^{1,2}, Tasca C³, Lanza N¹, Muñoz A¹, Mesplet M¹, Guida N¹, Castagna De Vargas A³

1Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, 2Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina 3Universidad Federal de Santa María, Laboratorio LABAC, Brasil

Streptococcus equi subsp. *equi* (*S. equi*) es un coco grampositivo, beta hemolítico del grupo C de Lancefield, agente causal de adenitis equina. Este microorganismo posee numerosos factores de virulencia entre los que se destacan la cápsula de ácido hialurónico, la proteína M, los superantígenos y diversas enzimas como la estreptolisina y la estreptoquinasa. Además, produce un sideróforo llamado equibactina (Eqb) que tiene la habilidad de captar el hierro *in vitro*. Se cree que la captación más eficiente de hierro le permite a la bacteria proliferar en tonsilas y linfonódulos aumentando su capacidad de formar abscesos y es fundamental para mantenerse en las mucosas de los animales portadores. Por otro lado, se ha comenzado a utilizar los genes de la Eqb como targets para realizar el diagnóstico de adenitis equina por medio de PCR. El objetivo de este trabajo fue investigar la presencia de la Eqb en aislamientos argentinos de *S. equi*. Se trabajó con 29 aislamientos en los que se estudió la presencia de la Eqb mediante la amplificación de una región de 201 pb del gen *eqbG* (primer ICESE2GC2F 5' TTACCTCCATTACTTGACAATCCAT3' y primer ICESE2GC2R 5' GATTTGCAACATGAAACATTTACAG3') y una región de 1063 pb del gen *eqbE* (primer ZM435 5' CCGAATTTGTCCAAGTGGTATG3' y primer ZM436 5' GCACTCCGTTATACTCACTG3'). El 100% de los aislamientos resultaron positivos a la PCR del gen *eqbG* y el 86% de ellos fueron positivos para el gen *eqbE*. De manera similar, en estudios realizados con aislamientos brasileros, se obtuvo un 100% de cepas positivas al gen *eqbG* y sólo un 66% al gen *eqbE*. De los 4 aislamientos argentinos que resultaron negativos, uno correspondía a un animal portador y los otros 3 fueron obtenidos de linfonódulos de equinos con sintomatología de adenitis equina y, todos los aislamientos brasileros negativos habían sido aislados a partir de caballos portadores. Por otro lado, es interesante destacar que se obtuvieron diferencias en 3 cepas aisladas de una misma muestra de empiema de bolsas guturales: la UBA8Ch y la UBA8Md fueron positivas tanto a *eqbG* como a *eqbE* pero la UBA8Gd fue sólo positiva a *eqbE*. En estudios previos, estas cepas también presentaron diferencias en cuanto a su susceptibilidad antimicrobiana, nivel de expresión de cápsula y formación de biofilm. Estos resultados podrían estar indicando cierto grado de atenuación de estas cepas como ha sido descrito previamente por otros investigadores. Según los hallazgos obtenidos con las cepas argentinas y brasileras, el gen *eqbE* no sería adecuado para el diagnóstico de la adenitis equina y no brindaría resultados

confiables en la detección de portadores de la enfermedad. Se propone aumentar el número de aislamientos de *S. equi* a analizar para conocer la prevalencia de estos genes en los aislamientos locales y la utilidad de estas PCR como herramientas diagnósticas confiables.

Este trabajo fue financiado por los proyectos UBACyT 20020130100299BA y UFSM044905 en el marco de la Movilidad Docente AUGM 2017

CEPAS ATÍPICAS DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *EQUI* AISLADAS DE PORTADORES DE ADENITIS EQUINA

Bustos CP^{1,2}, Lanza N¹, Retamar G, Castillo K, Mesplet M¹, Muñoz A¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.
Proyectos UBACyT 20020130100299BA y UBACyT 20020150200205BA.

La adenitis equina es una enfermedad infecciosa de distribución mundial producida por *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*), caracterizada por producir faringitis y linfadenitis de linfonódulos submandibulares y retrofaríngeos en equinos jóvenes. *S. equi* tiene la capacidad de permanecer por largos períodos de tiempo en caballos recuperados de la enfermedad, con la importancia epidemiológica que esto representa. La correcta identificación de estos animales portadores es fundamental para un manejo adecuado de la adenitis equina ya que pueden mantener la enfermedad en un establecimiento o ingresar el agente a establecimientos libres. El diagnóstico de portadores se basa en el aislamiento bacteriológico y/o detección del agente por PCR a partir de muestras de nasofaringe y bolsas guturales. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es habitante normal de la mucosa respiratoria equina y puede complicar el diagnóstico, por lo tanto es fundamental diferenciarlo de *S. equi*. Clásicamente, se puede estudiar su capacidad diferencial de fermentar lactosa, trealosa y sorbitol y/o la presencia de genes característicos como el *seM*, *seeH*, *seeI* y *eqbG*, entre otros. Recientemente, se identificaron cepas brasileras atípicas de *S. equi* negativas al gen *seeH*, positivas al gen *seM* y capaces de fermentar sorbitol y lactosa. El objetivo de este trabajo fue identificar cepas atípicas de *S. equi* que fueron obtenidas de nasofaringe de equinos sanos y provienen del cepario de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Para ello, se seleccionaron 12 aislamientos identificados previamente como *S. zooepidemicus* por medio de la batería comercial API 20Strep (bioMérieux) y la amplificación del gen *seeH*. Se utilizó la técnica de PCR para amplificar una región de 541 pb del gen *seM* específico de *S. equi* con los primers ASW73F 5' CAGAAACTAAGTGCCGG TG3' y ASW74R 5' ATTCGGTAAGAGCTTGAC GC3'. Se identificó el gen *seM* en 10 aislamientos obtenidos a partir de 8 equinos clínicamente sanos. Para confirmar la identidad del mismo, se purificaron los productos de PCR y se secuenciaron por electroforesis capilar en secuenciadores automáticos en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología CICVyA del INTA Castelar. De manera similar, se detectaron numerosas cepas atípicas de equinos portadores en el sur de Brasil y al analizar las secuencias nucleotídicas del gen *seM*, todas ellas pertenecieron a un mismo alelo (SeM 61). Este tipo de cepas deben ser tenidas en cuenta al momento de realizar la detección de la portación nasofaríngea del microorganismo para evitar los falsos negativos. Por lo tanto, se prevé analizar la totalidad de cepas previamente identificadas como *S. zooepidemicus* provenientes tanto de animales sanos como de animales con signología

clínica. Asimismo, se continuará investigando los alelos de SeM presentes en este tipo de cepas para profundizar los conocimientos de la portación de *S. equi*.

ESTUDIO DE LA EQUIBACTINA EN CEPAS ARGENTINAS DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *EQUI*

Bustos CP^{1,2}, Tasca C³, Lanza N¹, Muñoz A¹, Mesplet M¹, Guida N¹,
Castagna De Vargas A³

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

³Universidad Federal de Santa María, Laboratorio LABAC, Brasil

Streptococcus equi subsp. *equi* (*S. equi*) es un coco grampositivo, beta hemolítico del grupo C de Lancefield, agente causal de adenitis equina. Este microorganismo posee numerosos factores de virulencia entre los que se destacan la cápsula de ácido hialurónico, la proteína M, los superantígenos y diversas enzimas como la estreptolisina y la estreptoquinasa. Además, produce un sideróforo llamado equibactina (Eqb) que tiene la habilidad de captar el hierro *in vitro*. Se cree que la captación más eficiente de hierro le permite a la bacteria proliferar en tonsilas y linfonódulos aumentando su capacidad de formar abscesos y es fundamental para mantenerse en las mucosas de los animales portadores. Por otro lado, se ha comenzado a utilizar los genes de la Eqb como *targets* para realizar el diagnóstico de adenitis equina por medio de PCR. El objetivo de este trabajo fue investigar la presencia de la Eqb en aislamientos argentinos de *S. equi*. Se trabajó con 29 aislamientos en los que se estudió la presencia de la Eqb mediante la amplificación de una región de 201 pb del gen *eqbG* (primer ICESE2GC2F 5'TTACCTCCATTACTTGACAATCCAT3' y primer ICESE2GC2R 5'GATTTGCAACATGAAACATTTACAG3') y una región de 1063 pb del gen *eqbE* (primer ZM435 5'CCGAATTTGTCCAAGTGGTATG3' y primer ZM436 5'GCACTCCGTTATACTCACTG3'). El 100% de los aislamientos resultaron positivos a la PCR del gen *eqbG* y el 86% de ellos fueron positivos para el gen *eqbE*. De manera similar, en estudios realizados con aislamientos brasileros, se obtuvo un 100% de cepas positivas al gen *eqbG* y sólo un 66% al gen *eqbE*. De los 4 aislamientos argentinos que resultaron negativos, uno correspondía a un animal portador y los otros 3 fueron obtenidos de linfonódulos de equinos con sintomatología de adenitis equina y, todos los aislamientos brasileros negativos habían sido aislados a partir de caballos portadores. Por otro lado, es interesante destacar que se obtuvieron diferencias en 3 cepas aisladas de una misma muestra de empiema de bolsas guturales: la UBA8Ch y la UBA8Md fueron positivas tanto a *eqbG* como a *eqbE* pero la UBA8Gd fue sólo positiva a *eqbE*. En estudios previos, estas cepas también presentaron diferencias en cuanto a su susceptibilidad antimicrobiana, nivel de expresión de cápsula y formación de biofilm. Estos resultados podrían estar indicando cierto grado de atenuación de estas cepas como ha sido descrito previamente por otros investigadores. Según los hallazgos obtenidos con las cepas argentinas y brasileras, el gen *eqbE* no sería adecuado para el diagnóstico de la adenitis equina y no brindaría resultados confiables en la detección de portadores de la enfermedad. Se propone aumentar el número

de aislamientos de *S. equi* a analizar para conocer la prevalencia de estos genes en los aislamientos locales y la utilidad de estas PCR como herramientas diagnósticas confiables.

Este trabajo fue financiado por los proyectos UBACyT 20020130100299BA y UFSM044905 en el marco de la Movilidad Docente AUGM 2017

ANÁLISIS DEL NIVEL DE NITROGENO PRESENTE EN LA ALIMENTACION Y EXCRETAS DE RODEOS LECHEROS DE LA CUENCA OESTE (BUENOS AIRES)

Cabral, ON, Vankeirsbilck I, Orlando AA, Herrero MA

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias.

Se realizó la medición del porcentaje de nitrógeno (N₂) presente en muestras de estiércol, pertenecientes a corrales de 32 establecimientos tamberos de la Cuenca Oeste de Buenos Aires. Dichos niveles fueron posteriormente relacionados con la composición dietaria que manejaba cada establecimiento. Inicialmente las muestras de estiércol se procesaron en estufa a 60°C y se molieron, luego se determinó el nivel de N₂ por el método Kjeldahl en dos partes: 1) Digestión: pesaje de la muestra (150 mg±2 mg), agregado de un gramo de catalizador y 4 ml de ácido sulfúrico al 96% a cada muestra y posterior digestión a 420°C (durante una hora y media). 2) Destilación: adicionando 15 ml de agua destilada, 3 gotas de fenolftaleína y 25 ml de hidróxido de Sodio. Se prepara aparte un Erlenmeyer con 6 ml de ácido bórico 4% y 4 gotas de indicador de Tashiro. Ambos se colocan a destilar, hasta alcanzar volumen aproximado de 40-50 ml. Por último, se realizó la titulación con ácido sulfúrico 0.05 N, y a partir del volumen de ácido sulfúrico utilizado, se obtuvo el porcentaje de nitrógeno mediante el siguiente cálculo: %N₂= ml ácido sulfúrico gastado x factor x100/peso muestra (mg). Luego se analizó la dieta en base a tablas de composición de alimento. Se observó que los establecimientos planificados mayormente en base a pasturas, son aquellos con la mayor excreción de N₂ al suelo (valores entre 8.9-11%), a pesar de que esta dieta aporta un bajo contenido de N₂ (valores cercanos al 2%). Por otro lado, en los establecimientos que se manejaron principalmente con concentrados, se observan los menores valores de excretas de N₂ al ambiente (menores al 5.9%), siendo los valores más bajos de N₂ en la dieta (menores al 2%). Por último, aquellos establecimientos que se manejan tanto en base a pasturas como suplementación (50% de cada uno), se observa una excreción intermedia de N₂ (6.6-9.42 %), a pesar de ser los establecimientos que reciben la dieta más rica en N₂ (2.70-3.5%). En base a estos valores obtenidos, se llegó a la conclusión de que los rodeos que se manejaron principalmente con pastoreo, fueron los rodeos más eficientes en la utilización de N₂, consumieron poco N₂ y excretaron mucho al ambiente. En cambio en aquellos establecimientos donde los animales pastoreaban poco o tenían una dieta mixta (50% de cada uno), hubo un uso menos eficiente del N₂ consumido, consumen mucho y excretan poco al ambiente.

ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD DE METALOPROTEASAS (MMPS), GAGS Y PERFILES PROTEICOS EN LECHE PROVENIENTE DE VACAS CON MASTITIS SUBCLÍNICAS CAUSADAS POR DIFERENTES AGENTES ETIOLÓGICOS

Caggiano N, Lorenzo Smirnoff A, Pareja R, De Simone E

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

La mastitis subclínica (MS) ocasiona importantes pérdidas económicas. Por este motivo, el diagnóstico precoz resulta importante para prevenir daños irreversibles en la glándula mamaria. Actualmente, no están bien caracterizadas las alteraciones que ocasionan los diferentes agentes etiológicos en la leche de bovinos con MS. Por este motivo evaluamos la actividad de metaloproteasas (MMPs) y los perfiles proteicos en MS producida por diferentes bacterias. Para este trabajo se muestrearon 156 vacas provenientes de diferentes tambos de la Pcia. de Bs. As. A las muestras se les realizó el Test Mastitis California (TMC) y se determinó recuento de células somáticas (RCS) con cámara de Neubauer, proteínas totales (PT) por kit comercial, fracciones proteicas por SDS-PAGE, glicosaminoglicanos (GAGs) por test de DMBB, MMPs por zimografía y se realizaron cultivos bacteriológicos. De las muestras obtenidas, 109 correspondieron a vacas sanas y el resto a vacas con MS. Al evaluar los cultivos de las MS se observó que 17 eran causadas por *S. aureus*, 23 por estafilococos coagulasa negativos (SCN) y 7 por estreptococos spp. En cuanto al RCS el grupo SCN presentó los valores más altos ($1.6 \times 10^6 \pm 37.924$) ($M \pm ES$) seguido por el grupo *S. aureus* (840.068 ± 292.164) ($p < 0,0001$ y $p < 0,01$ versus sanas respectivamente), el grupo SCN además, difirió de los otros dos grupos ($p < 0.01$). Las PT, la caseína total, lactoalbúmina, lactoglobulina, proteínas de alto peso molecular y las fracciones α y β -caseína no presentaron diferencias entre los grupos ($p > 0.05$). La fracción de κ -caseína mostró diferencias en los grupos *S. aureus* (0.301 ± 0.052 g/dl) y estreptococos spp. (0.277 ± 0.061 g/dl) ($p < 0.001$ y $p < 0.05$ respectivamente versus sanas). Respecto a los GAGs las vacas sanas presentaron valores de 2.00 ± 0.06 mg/ml mientras que los grupos *S. aureus* (2.86 ± 0.159 mg/ml) SCN (2525 ± 78.55 mg/ml) y estreptococos spp. (2542 ± 110.2 mg/ml) presentan diferencias significativas respecto a las sanas ($p < 0.0001$, $p < 0.001$ y $p < 0.05$ respectivamente). Por otra parte, el grupo de estreptococos spp. presentó una actividad de la MMP-2 de 12.11 ± 8.16 (% dens) lo cual difiere significativamente ($p < 0.05$) de las sanas 68.14 ± 7.57 (% dens). Respecto a la MMP-9 la misma presentó diferencias significativas en todos los grupos versus las sanas ($p < 0,001$) y entre estreptococos spp. y *S. aureus* ($p < 0.01$). Como conclusión podemos afirmar que los GAGs, κ -caseína y MMP-9 resultan buenos indicadores para evaluar las MS pudiendo ser considerados para estudiarlos como indicadores de un diagnóstico temprano. Por otra parte la MMP-9 junto con el RCS

difieren según cuál sea el agente etiológico, lo cual puede indicarnos que ciertos agentes etiológicos en las MS podrían estar más involucrados con un daño temprano.

USO DEL MEDIO ANDROMED® PARA CONGELAR SEMEN EQUINO. RESULTADOS PRELIMINARES

Caldevilla M, Ferrante A, Neild D

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

La elección adecuada del diluyente es crucial para el éxito de la criopreservación de semen en cualquier especie. La yema de huevo, empleada de rutina en numerosos protocolos de congelamiento, presenta como limitante ser un compuesto de origen animal y por ende un potencial riesgo de contaminación. Además, debe ser procesada al momento de su utilización y, al poseer gránulos de tamaño similar a los espermatozoides, interfiere con la evaluación del semen. Estudios han comprobado la efectividad del Andromed®, un medio libre de proteínas de origen animal a base de lecitina de soja, para congelar semen de toros. El objetivo de este trabajo fue probar si el medio de congelamiento Andromed® puede emplearse para congelar semen equino. Se obtuvieron eyaculados de 3 padrillos equinos mediante vagina artificial (n=3, r=2). El eyaculado se diluyó en medio a base de leche descremada, se dividió en 4 alícuotas, se centrifugó y re-suspendió con diferentes diluyentes: 1) 20% de yema de huevo y 5% de DMF; 2) 20% de yema de huevo, 2,5% de DMF y 2,5% de glicerol (GLI); 3) Andromed® (Minitube); 4) Andromed® suplementado con 2,5% de DMF. Se realizó una curva rápida de congelamiento. El descongelamiento se realizó en baño térmico a 37°C durante 1 minuto. Se evaluaron los parámetros cinemáticos utilizando un sistema AndroVision® (Minitüb) y la viabilidad y el estado acrosomal con la tinción de FITC-PNA/PI. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza y los resultados están expresados como % promedio \pm DE. No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre el medio de congelamiento con yema-5% de DMF y el medio de congelamiento con yema-2,5% de DMF y 2,5% GLI. Tampoco se observaron diferencias significativas entre Andromed y Andromed suplementado con 2,5% de DMF. Se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) entre los medios de congelamiento con yema respecto al Andromed, en la movilidad total (yema-DMF: $25,1 \pm 9$; yema-DMF-GLI: $25,9 \pm 8,5$; Andromed: $6 \pm 3,5$; Andromed-DMF: $4,5 \pm 3,9$); movilidad progresiva (yema-DMF: $20 \pm 7,4$; yema-DMF-GLI: $21 \pm 7,3$; Andromed: $3,6 \pm 3$; Andromed-DMF: $3,2 \pm 3$). También se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) entre los medios de congelamiento con yema respecto al Andromed, en el % espermatozoides vivos con acrosoma intacto (yema-DMF: $38 \pm 8,7$; yema-DMF-GLI: $36,8 \pm 9$; Andromed: $5,8 \pm 2,5$; Andromed-DMF: $7 \pm 2,9$); % espermatozoides vivos con acrosoma reaccionado (yema-DMF: $4,5 \pm 1,3$; yema-DMF-GLI: $4,6 \pm 1,1$; Andromed: $0,4 \pm 0,2$; Andromed-DMF: 0 ± 0); % espermatozoides muertos con acrosoma reaccionado (yema-DMF: $44 \pm 8,6$; yema-DMF-GLI: $48 \pm 7,6$; Andromed: $83 \pm 3,5$; Andromed-DMF: $82 \pm 3,4$). Como conclusión

preliminar podemos decir que el diluyente Andromed® no es efectivo para congelar semen equino.

SEROTIPOS DE *HAEMOPHILUS PARASUIS* CIRCULANTES EN ALGUNAS PROVINCIAS DEL CENTRO DE ARGENTINA

Camacho PA¹, Estanguet AA¹, Carranza AI¹, Parada J^{1,2},
Ambrogi A¹, Di Cola G¹, Busso JJ¹, Gottschalk M³, Tamiozzo P¹

¹ Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, República Argentina, CP 5800. ² Consejo nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. ³ Faculty of Veterinary Medicine University of Montreal 3200 Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada. J2S 2M2

Haemophilus parasuis es un importante patógeno de los cerdos, pero también es un frecuente comensal de las vías aéreas superiores. Causa poliserositis, neumonía, meningitis y septicemia (conocida como enfermedad de Glässer). Históricamente el agente afecta a lechones recién destetados, pero los cambios en la intensificación de los sistemas de producción hizo que se presente en diferentes edades. En la actualidad se existen 15 serotipos del agente, que varían en su virulencia; Sin embargo, en nuestro país, poco se conoce acerca de aquellos de mayor circulación, por ello, el objetivo del presente trabajo fue identificar el serotipos de aislamientos obtenidos en nuestro laboratorio. Se analizó un total de 66 aislamientos que habían sido obtenidos a partir de muestras clínicas (hisopos nasales, Sistema Nervioso Central, Pulmón) pertenecientes a un total de 10 granjas de tres provincias argentinas (Córdoba, San Luis y Santa Fe). La especie fue identificada por una PCR específica de especie. Para determinar el serotipo se utilizó una múltiplex PCR, previa extracción de ADN. Se identificaron 10 serotipos de *H. parasuis* en las provincias de Córdoba, San Luis y Santa Fe. Los serotipos más frecuentes fueron el 8, 7, 2, 9, 4, 11 y en menor medida los serotipos 1 y 6. En cuatro aislamientos, se observó la presencia de más de un serotipo: 5/12, 8/13, 1/7. En cinco granjas se encontró solo un serotipo, mientras que en las otras cinco, la cantidad de serotipos coexistentes varió de 2 hasta 6. Los resultados obtenidos en este estudio son muy importantes debido a los escasos antecedentes en el país acerca de los serotipos circulantes de manera más frecuente. Conocer los serotipos existentes permitiría un mejor control de las infecciones ocasionadas por *H. parasuis*. Tal como lo describen diversos autores, más de un serotipo puede estar presente en un mismo animal o una misma granja y esto se puede atribuir al hecho de que el agente es un colonizador normal de las vías aéreas superiores y que a su vez pueden coexistir cepas virulentas y no virulentas. Pero para poder determinar esto hacen falta realizar estudios de virulencia de las cepas obtenidas.

PRIMER AISLAMIENTO DE MICOBACTERIAS EN “OSO HORMIGUERO GIGANTE” EN LOS ESTEROS DEL IBERA, CORRIENTES

Carusso C¹, Martinez Vivot M¹, Marfil J^{1y2}, Falzoni E¹, Peña J⁴,
Perez A¹, Ponce L¹, Zumarraga, M^{2y3}., Barandiaran, S^{1y3}.

1- Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Buenos Aires, Argentina. 2- Instituto de Biotecnología, CICVyA-INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. 3-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). 4-The conservaion lund trust, Corrientes, Argentina

El oso hormiguero gigante (“*Myrmecophaga tridactyla*”) es uno de los mamíferos más llamativos y peculiares de la Argentina. Posee un hocico alargado desprovisto de dientes del que sale una larga lengua que utiliza para obtener su alimento principal: hormigas y termitas. Gracias a su larga cola estos animales pueden llegar a medir hasta dos metros de longitud. Esta especie se encuentra en la región chaqueña del Norte argentino y en los bosques húmedos de la provincia de Misiones. Debido a que sólo tiene una cría por año es un animal muy sensible a la persecución humana y a la pérdida de su hábitat natural. Este contexto hace que sea una especie en peligro de extinción. En la provincia de Corrientes existe un proyecto de reintroducción de especies nativas. Muchos de los ejemplares que ingresan al proyecto son crías de oso que quedan huérfanas debido a caza de los adultos. Una vez ingresados los mismos atraviesan una cuarentena sanitaria para poder luego, ser liberados. La tuberculosis en animales silvestres y domésticos es causada principalmente por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), micobacteria patógena de transmisión zoonótica que pertenece al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT). Existen otras micobacterias, conocidas como micobacterias no tuberculosas (MNT), que son consideradas oportunistas. No suelen provocar enfermedad, aunque en presencia de alteraciones de la inmunidad, pueden desarrollar lesiones. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de micobacterias en osos hormigueros gigantes antes de ser reintroducidos en los Esteros del Iberá, Corrientes. Se procesaron 3 hisopados bucales de ejemplares adultos. Se sembraron en los medios de Stonebrink y Löwenstein Jensen (LJ). Se secuenció el gen hsp65 para identificar micobacteria. Se observó desarrollo bacteriano en uno de los cultivos (LJ). Por secuenciación se identificó el aislamiento como *Mycobacterium terrae* con un 100% de identidad. No se detectó la presencia de *M. bovis* en los animales. Cabe destacar que según la bibliografía consultada, no existen reportes de aislamientos de micobacterias en esta especie animal, siendo éste el primero. Si bien esta bacteria no es patógena es importante conocer su presencia en esta población. Conocer el estatus sanitario de los animales previo a su liberación es muy importante ya que de esta manera se puede evitar el ingreso y diseminación de *M. bovis* en áreas donde se desconoce su distribución.

EXPRESIÓN DE ARNm DE CAST ALTERNATIVAMENTE POLIADENILADOS EN TRES MÚSCULOS DE NOVILLOS ANGUS Y BRAHMAN

Casale MF, Silvestro C, Soria LA

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

El gen de calpastatina (CAST) concita interés en el Mejoramiento Genético Animal por su relación con el proceso *postmortem* de tiernización de la carne. CAST tiene una regulación compleja de la expresión que incluye el uso de cuatro promotores, *splicing* alternativo y sitios variables de poliadenilación. El objetivo de este trabajo fue analizar la expresión de distintas isoformas de ARNm de CAST alternativamente poliadenilados en tres músculos de novillos Angus y Brahman. Se utilizaron muestras de cada músculo (*infraespinatus*, *triceps brachii* y *semitendinosus*) de 2 novillos de cada raza, tomadas en los frigoríficos Carnes del Salado SA (Castelli, Buenos Aires) y Don Rafael SRL (Santo Tomé, Corrientes), de Angus y Brahman, respectivamente. Las muestras se obtuvieron de las canales hasta 2 hs *post mortem* y se conservaron a -80°C, hasta su utilización. El ARN se extrajo con Trizol (Invitrogen) según protocolo del fabricante y luego se purificó con el kit *RNA Clean and Concentrator* (Zymo Research). Se empleó la técnica 3' *Rapid Amplification of cDNA Ends* (RACE) para amplificar los mensajeros. El cDNA se obtuvo a partir de un oligonucleótido polidT diseñado con una cola adaptadora (oligodT-adaptador). A partir de la secuencia de referencia AH14526.2, obtenida de *GeneBank*, se realizó la predicción de los tres sitios de poliadenilación con el *software Poly(A) Signal Miner* y se diseñaron los oligonucleótidos sentido específicos para la amplificación de cada mensajero poliadenilado predicho. A partir del cDNA obtenido por RACE, se realizaron reacciones de PCR para cada isoforma, utilizando cada oligonucleótido sentido específico y un único oligonucleótido antisentido que hibridizaba en la secuencia del oligodT-adaptador. Los amplicones obtenidos se controlaron por electroforesis en geles de agarosa, y posteriormente se eluyeron, clonaron y purificaron para su secuenciación. Las secuencias obtenidas fueron analizadas por *BLASTn* y alineadas con la secuencia de referencia. Los resultados obtenidos permitieron confirmar que el gen CAST se expresa utilizando los tres sitios de poliadenilación esperados en los tres músculos analizados de ambas razas, los mismos corresponden a la posición 2740, 3482 y 4566 de la secuencia de referencia. En conclusión, el tipo de isoforma alternativamente poliadenilada de ARNm de CAST, no sería responsable de la variabilidad en terneza según músculo o raza bovina, pero habría que establecer el efecto del nivel de expresión de cada una sobre dicho rasgo.

DETERMINACIÓN DE *CAMPYLOBACTER* TERMORESISTENTES EN POLLOS PARRILLEROS EN FRIGORÍFICO AVÍCOLA

Caverzán M, Bertone J, Cabral A, Romanini S, Chanique A, Yaciuk R

Dpto. Patología Animal. FAV-UNRC.

En Argentina son escasos los estudios de prevalencia de *Campylobacter* termófilas en frigoríficos avícolas, los cuales son causantes de diarrea en humanos siendo los pollos parrilleros la mayor fuente de contaminación para las personas. El objetivo es determinar la presencia de *Campylobacter* termoresistentes en pollos parrilleros en una planta faenadora de Córdoba. Se realizó el muestreo sistemático al azar de 110 pollos, de 11 granjas, en frigorífico. Se recolectaron de cada granja: los ciegos de 10 animales, hisopados de 5 carcasas y 2 muestras de 250 cm³ de agua de los tanques de lavado, una del tanque “caliente” y otra del tanque frío clorinado. Las muestras se refrigeraron a 4°C hasta su procesamiento. Luego se sembraron por agotamiento en medio de cultivo selectivo para *Campylobacter* (mCCDA), en atmósfera de microaerofilia a 42-43°C. A 48 horas de incubación, las colonias sospechosas fueron identificadas por tinción de Gram, observando la morfología típica de bacilos curvos o espiralados Gram (-) y en fresco el movimiento tirabuzón. La confirmación y tipificación se realizó por pruebas bioquímicas. De las muestras sembradas, se tomaron 2 colonias morfológicamente típicas, se identificaron y se colocaron en eppendorf para luego ser sometidas a tratamiento con calor. Así se realizó la extracción de ADN y la identificación molecular por PCR. De 75 muestras analizadas de ciego el 100% presentó colonias típicas en mCCDA, en el 96% se observó motilidad en fresco, el 100% fue oxidasa positivo y 98% positivo a catalasa. Esto permitió caracterizar fenotípicamente al género *Campylobacter*. En la fenotipificación definitiva se analizaron mediante Indoxil acetato 9 muestras, de las cuales 7 fueron positivas. Éstas mismas 9 muestras fueron negativas a la Hidrólisis del Hipurato. De acuerdo a estos resultados el 77% de los *Campylobacters* aislados corresponderían a *C. coli*, para confirmarlo se necesita la genotipificación molecular, la cual se encuentra en desarrollo contándose con la extracción de ADN de controles positivos, tanto de *C. coli* como de *C. jejuni* para la prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa. Los resultados de los 50 hisopados de carcasa muestran que el 98% de las muestras presentaron colonias típicas en mCCDA y motilidad en fresco. De las 39 muestras procesadas, el 97.43% fue positiva a la prueba de catalasa y de las 24 muestras a las que se les realizó la prueba de oxidasa, resultaron positivas el 79,16%. De las muestras de agua de los tanques de lavado y enfriado hubo crecimiento de colonias compatibles con *Campylobacter* en el agua caliente. El agua fría clorinada arrojó resultados negativos. En conclusión se detecta la presencia de especies de *Campylobacter* termoresistentes en los animales analizados en frigorífico destinados al consumo humano y en el agua de lavado caliente, no así en el agua fría clorinada lo cual demostraría la eficiencia del tratamiento en la reducción de la carga bacteriana.

IMPACTO DE LA EVOLUCIÓN DEL PUNTAJE DE LOCOMOCIÓN SOBRE BIOMARCADORES DE BIENESTAR ANIMAL EN VACAS LECHERAS

Chiozza-Logroño J^{1,2}, Ramiro R^{2,3}, Domínguez GA¹, Madoz V^{1,2}, Odeon MM^{2,4},
Romera A^{2,4,6}, Giuliadori MJ⁵, De La Sota RL^{1,2}

¹Catedra y Servicio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, ²CONICET, ³Curso de Bioestadística, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, ³CICVyA-INTA. ⁴Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. ⁶Universidad de Morón. Buenos Aires, Argentina

El objetivo fue investigar los efectos fisiológicos de la evolución del puntaje de locomoción en vacas lecheras en pastoreo e identificar un panel de biomarcadores sanguíneos de bienestar animal. Se llevó a cabo un estudio prospectivo observacional entre febrero y julio del 2016, en un tambo comercial ubicado en Carlos Casares (35 ° 37 'S, 61 ° 22' O), Argentina. Se incluyeron 96 vacas en la semana previa al parto, que fueron evaluadas, por un mismo observador (ChLJ), cuatro veces (0 ± 3 , 14 ± 3 , 28 ± 3 y 42 ± 3 días posparto) obteniendo el puntaje de locomoción (PL) usando la escala de 5 puntos (1: sana y 5: renga) y una muestra de sangre por punción coccígea. 20 vacas fueron seleccionadas retrospectivamente según la evolución de su PL durante el ensayo: 1) sano (PL 1) durante todo el período, 2) crónico (PL 4-5) durante todo el período, 3) empeorado (PL aumentando a 4-5) y 4) mejorado (PL disminuyendo a 1). Las muestras de sangre se procesaron en un analizador de hematología (Nihon Kohden Celltac alpha MEK-6450), los parámetros hematológicos evaluados fueron recuento de glóbulos blancos, granulocitos, linfocitos, plaquetas y glóbulos rojos, concentración de hemoglobina, porcentaje de hematocrito, concentración de hemoglobina corpuscular media. Luego se separó el plasma y se realizó el análisis de la proteína plasmática total por el método de Lowry, y los niveles de cortisol en plasma por HPLC. Las diferencias entre los grupos se evaluaron mediante ANOVA de dos vías bajo un modelo de medidas repetidas a lo largo del tiempo. Las vacas con cojera crónica tuvieron concentraciones de cortisol más altas que las vacas sanas y las que mejoraron. Por el contrario, las vacas que empeoraron fueron aquellas con las concentraciones más altas de cortisol sérico de todos los grupos (interacción grupo x muestra, $P < 0.001$). Los valores alcanzados corresponden a una respuesta al estrés agudo. Con respecto a las proteínas plasmáticas, todos los animales presentan un alto valor al comienzo de la experiencia, sin embargo, en las vacas que empeoraron se mantuvieron altas durante todo el período de evaluación (interacción grupo x muestra, $P < 0.001$). Los parámetros hematológicos evaluados no presentaron diferencias significativas, todos los grupos estaban dentro de los valores de referencia. En conclusión, las vacas con cojera clínica y las que empeoran tienen concentraciones más altas de cortisol sérico que las vacas sanas. El grupo que empeora, además presenta altos niveles de proteínas plasmáticas totales, lo que se relaciona con una respuesta a un estrés agudo, cuando se acompaña de un

aumento en el cortisol. Los parámetros hematológicos no mostraron diferencias significativas. Podemos concluir que solo el grupo que empeora genera una respuesta de estrés que se mantiene durante el período evaluado. Los otros grupos activaron una respuesta que disminuyó rápidamente y logró estabilizar sus valores de parámetros hematológicos y proteínas plasmáticas.

PATRONES DE SPOLIGOTYPING EXISTENTES EN AISLAMIENTOS DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* EN BOVINOS DE LA PROVINCIA DE SALTA

Civatti A¹, Gorchs C², Barandiaran S¹, Araoz V², Marfil J¹,
Zumárraga M³, Martínez Vivot M¹, Falzoni E¹

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. ²Laboratorio privado. ³CICVyA-INTA, Castelar.

La tuberculosis bovina es una enfermedad zoonótica provocada principalmente por el *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), de distribución mundial y que afecta a especies domésticas y silvestres, constituyendo un riesgo para la salud pública y la economía de los productores ganaderos. El Plan Nacional exige la intradermorreacción para el control y erradicación de la tuberculosis en el campo, mientras que la inspección en faena y el diagnóstico bacteriológico y molecular posteriores son de gran importancia para la vigilancia epidemiológica. El objetivo de este trabajo fue identificar los patrones de Spoligotyping existentes en aislamientos de *M. bovis* obtenidos a partir de decomisos de órganos con lesiones compatibles con tuberculosis (LCT) de bovinos faenados en frigoríficos de la provincia de Salta. Se analizaron 20 muestras de órganos bovinos decomisados de cavidad torácica (pulmones, linfonódulos mediastínicos, pleura parietal) procedentes de dos frigoríficos de la provincia de Salta, con LCT durante 2016 y 2017. Se procesaron por métodos bacteriológicos convencionales utilizando el método de Petroff para la decontaminación. Fueron sembradas en medios de cultivo de Löwenstein Jensen y Stonebrink e incubadas a 37°C durante 2 meses. La identificación del agente se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando la secuencia de inserción IS6110. Para la tipificación molecular de los aislamientos de *M. bovis* se utilizó la técnica de hibridación reversa de Spoligotyping, que se destaca por su reproducibilidad y sencillez de interpretación. De las 20 muestras procesadas, 5 resultaron negativas a bacteriología y a las técnicas moleculares. En las 15 muestras restantes se detectó la presencia de IS6110, confirmándose así el aislamiento de micobacterias del complejo *M. tuberculosis*. Por Spoligotyping se detectaron 5 patrones de hibridación diferentes (spoligotipos). El spoligotipo (spol.) 34 (SB0140 en la base de datos internacional) agrupó al 73,2% (11/15) de los aislamientos estudiados. El 26,8% (4/15) restante correspondió, por partes iguales 6,7% (1/15) al: spol. 21 (SB0130), spol. 39 (SB0269), spol. 136 (SB0486) y un spoligotipo nuevo aún no registrado en la Argentina. Basándonos en los 1.700 aislamientos de la Argentina registrados en la base de datos del Instituto de Biotecnología de INTA Castelar, concluimos que el 93,3% de los aislamientos estudiados mostraron spoligotipos identificados previamente en bovinos, siendo el más frecuente el spol. 34 (SB0140), seguido por el spol. 21 (SB0130); mientras que el 6,7% no fue detectado aún en bases de datos nacionales o internacionales. Podemos señalar que todas las muestras estudiadas correspondían a órganos de la cavidad torácica indicativas de una transmisión vía aerógena

del *M. bovis*.

EFECTO DE LA ÉPOCA REPRODUCTIVA SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO POST-ICSI DE OVOCITOS RECUPERADOS POST-MORTEM

Clérico G^{1,4}, Rodríguez MB^{2,4}, Alvarez IM¹, Taminelli G¹,
Fernandez S³, Veronesi JC³, Salamone D^{2,4}, Sansinena M^{1,3}

¹Laboratorio de Reproducción y Biotecnología Animal, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina, Buenos Aires, Argentina.

²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Departamento de Prod. Animal, Laboratorio de Biotecnología Animal, Buenos Aires, Argentina. ³Frigorífico Equino Lamar S.A., Mercedes, Buenos Aires, Argentina. ⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

La recuperación de ovocitos equinos post-mortem a partir de ovarios de plantas de faena es un procedimiento de gran importancia para la técnica de transferencia nuclear (cloning) o la investigación básica en biología reproductiva y tecnologías de la reproducción asistida en la especie equina. El objetivo de este trabajo fue determinar si existen diferencias en el clivaje y desarrollo embrionario por ICSI de ovocitos recuperados post-mortem durante la época de mayor actividad reproductiva equina en el hemisferio Sur (ALTA) versus épocas de baja o marginal actividad (BAJA). Para ello, se realizaron en total 9 réplicas de procesamiento de ovarios durante la época ALTA (entre los meses de octubre y febrero), y 12 réplicas durante la época BAJA (dividido en 2 períodos: junio-julio, y marzo-abril). Los complejos cumulus-ovocito recuperados fueron madurados *in vitro* en incubadora gaseada (6.5% de CO₂, 38.5°C y saturación de humedad) en medio de cultivo TCM199 con sales de Earls suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB), 0,1mg/mL de Folltropin (Bioinche, Canadá), 100nM de Cisteamina, 1uL/mL de insulina-transferrina-selenio, 1mM de piruvato de sodio y 10ug/mL de gentamicina. Luego de 22-28 horas de maduración, los ovocitos fueron desnudados mediante pipeteo mecánico, aquellos con presencia visible del primer corpúsculo polar fueron sometidos a fecundación mediante ICSI convencional según procedimiento descrito por Palermo *et al* (1992). Para todas las repeticiones se utilizó semen congelado de un mismo padrillo de fertilidad comprobada. Luego de ICSI, los presuntos cigotos fueron cultivados en medio DMEM:F12+Global Total LP suplementado con 6% de SFB, 0,1mM de piruvato de sodio y 10 ug/mL de gentamicina. La proporción de embriones clivados fue evaluada en los días 3-4 post-fecundación, y el desarrollo embrionario hasta el estadio de blastocisto fue evaluado entre los días 7-10. Los resultados fueron analizados mediante la prueba Chi cuadrado utilizando paquete estadístico GraphPad Prism v.7. Se inyectaron 229 ovocitos durante la época ALTA y 269 durante la época BAJA. No se observaron diferencias significativas en la proporción de embriones clivados (65% y 67%) ni en aquellos que alcanzaron el estadio de blastocisto (20% vs. 16%) para la época reproductiva ALTA versus BAJA, respectivamente (P>0.05). Al comparar los períodos incluidos en la época BAJA, se observó una tendencia de incremento en la

proporción de blastocistos obtenidos durante los meses de marzo-abril (coincidentes con el final de la época ALTA) respecto a aquellos producidos en junio-julio (19% vs. 13%; $P > 0.05\%$). En conclusión, sería posible utilizar ovocitos provenientes de ovarios equinos post-portem en técnicas de reproducción asistida e investigación aún en períodos considerados como marginales para la actividad reproductiva, sin afectar su posterior competencia en desarrollo *in vitro*.

COLONIZACIÓN FOLIAR DE BACTERIAS ENDOFÍTICAS A TRAVÉS DE POROS ESTOMÁTICOS

Coppola-Guerriero FM², Romero M¹, Toum L³,
Sannazzaro A¹, Estrella J¹, Pieckenstain F¹, Gudesblat GE²

¹Instituto de Investigaciones Biotecnológicas- Instituto Tecnológico de Chascomús (UNSAM/CONICET), Argentina; ²Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada – (CONICET/ FCEyN, Universidad de Buenos Aires), Argentina; ³Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein, Fundación Pablo Cassará, CONICET, Argentina; Email: ggudesblat@bg.fcen.uba.ar.

Las hojas de las plantas normalmente albergan una gran cantidad de especies de bacterias endofíticas. Algunos de ellos pueden proteger a las plantas hospederas de los patógenos, y la inoculación foliar de las bacterias beneficiosas es una práctica común en la agricultura. Se ha propuesto que las bacterias beneficiosas endofíticas de la hoja colonizan las mismas a través de estomas, pero estos poros se cierran en respuesta a moléculas producidas por bacterias tales como la flagelina, limitando así la penetración bacteriana a través de ellos. Este fenómeno se conoce como inmunidad estomática. Ciertas bacterias fitopatógenas han desarrollado mecanismos para inhibir la inmunidad estomática a través de la síntesis de toxinas difusibles, o efectores. Sin embargo, no se ha estudiado la posible existencia de tales mecanismos en bacterias endofíticas no patógenas asociadas a hojas. En consecuencia se buscó determinar si bacterias pertenecientes a una colección de aislamientos de hojas de plantas de tomate sanas obtenidas de plantaciones comerciales son capaces de inhibir la inmunidad estomática, y si este fenómeno en caso de existir les facilita la colonización endofítica foliar a través de los estomas. Con este fin se realizaron bioensayos de apertura estomática en trozos de hojas de *Arabidopsis thaliana*, haba y tomate en presencia de los aislamientos bacterianos. Se analizó la respuesta estomática frente a aproximadamente 40 aislamientos bacterianos. La mayoría de las bacterias estudiadas activaron la inmunidad estomática, induciendo el cierre de tales poros de manera estable. Sin embargo, tres de los aislamientos, dos de ellos pertenecientes al género *Pseudomonas* y uno a *Bacillus*, indujeron inicialmente el cierre estomático pero al cabo de tres horas los reabrieron. Se obtuvieron extractos orgánicos de sobrenadantes de cultivos de dichas cepas, los cuales inhibieron el cierre estomático inducido por la hormona ácido abscísico o el péptido flg22 derivado de la flagelina. Dichos extractos fueron analizados por cromatografía en tamices moleculares, y se observó que la actividad de reapertura de estomas reside en compuestos de alrededor de 300 D en el caso de *Bacillus*, y de 1500 D en el caso de las *Pseudomonas*. La capacidad de manipular la apertura estomática fue observada también luego de la aplicación directa de suspensiones bacterianas con hisopos sobre hojas de *A. thaliana*. Fue posible además recuperar bacterias aplicadas de esta manera del interior de hojas al cabo de

cuatro horas, lo cual sugiere fuertemente que la capacidad de reabrir estomas facilita la colonización foliar por estomas de dichas cepas. El estudio de este fenómeno permitiría optimizar la entrada de endofitos beneficiosos aplicados foliarmente.

LA EXPRESION DEL GEN ABF4 DE ARABIDOPSIS EN PLANTAS DE PAPA INCREMENTA LA PRODUCTIVIDAD Y LA TOLERANCIA AL ESTRES SALINO Y SEQUÍA

Cortelezzi JI^{1,2}, Muñoz García MN², Fumagalli M², Capiati DA^{1,2}

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Biológica, CABA, Argentina. (2) Instituto de Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. Hector Torres” INGEBI, Comisión Nacional de Ciencia y Técnica (CONICET), Vuelta de Obligado 2490, CABA, Argentina

Las proteínas ABF/AREB (ABRE-binding factor/ABA-response element binding factor) son factores de transcripción de tipo bZIP, involucrados en la regulación de la expresión génica en respuesta al estrés abiótico de manera dependiente de ácido abscísico (ABA). Resultados previos de nuestro laboratorio, demostraron que StABF1, un factor de transcripción de tipo ABF de *Solanum tuberosum*, no solo regula la respuesta a estrés abiótico, sino que podría también actuar como un regulador positivo de la tuberización. Con el fin de mejorar la productividad y tolerancia al estrés abiótico del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* cv. Spunta), desarrollamos plantas transgénicas que expresan el gen *ABF4* de Arabidopsis (35S::*ABF4*). En este estudio se evaluó el desarrollo de las plantas 35S::*ABF4* cultivadas en tierra en condiciones de invernáculo, analizando la productividad, las características de los tubérculos transgénicos y respuesta a condiciones de estrés por alta salinidad y sequía. Las plantas 35S::*ABF4* mostraron un desarrollo vegetativo normal y un aumento en la productividad (determinado como gramos tubérculo/planta) respecto de plantas salvajes cultivadas en condiciones normales (riego 200 ml de agua de red por maceta cada 2 días, 24 °C). Los tubérculos de las plantas 35S::*ABF4* presentaron un mayor peso seco, un mayor contenido de almidón (medido por el método de hidrólisis ácida y determinación de glucosa por el método de Glucosa oxidasa) y un menor contenido de azúcares reductores que los tubérculos salvajes (medido por el método de Nelson Somogyi). Además, los tubérculos transgénicos mostraron un menor grado de brotación durante el almacenamiento, entendido como el porcentaje de tubérculos brotado y el largo y peso del brote. Las hojas de las plantas 35S::*ABF4* mantienen un contenido relativo de agua (RWC) mayor que las plantas salvajes después de la exposición a condiciones de estrés por deshidratación o alta salinidad (250 mM NaCl), debido a una menor pérdida de agua. Las plantas 35S::*ABF4* presentaron mayor supervivencia al estrés salino, y una mayor productividad que las salvajes en condiciones de alta salinidad o sequía (condiciones de cultivo: alta salinidad, riego con 200 mL de NaCl 100 mM; sequía, cese del riego entre la cuarta y décima semana de cultivo). Los resultados obtenidos indican que, además de incrementar la tolerancia al estrés salino y la sequía, la expresión constitutiva del gen *ABF4* de Arabidopsis en papa aumenta la productividad bajo condiciones normales y de estrés, y mejora la capacidad de almacenamiento y la calidad de los tubérculos.

MASTITIS BOVINA: RESISTENCIA BACTERIANA FRENTE A BETALACTÁMICOS Y MACRÓLIDOS (C. PRELIMINAR)

Crespi E, Srednik EM, Gentilini RE

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

La mastitis bovina afecta la salud de los animales con la consecuente disminución de la calidad y cantidad de leche producida. Los cocos grampositivos constituyen un grupo bacteriano con alta frecuencia de aislamientos y algunas especies, dentro del género *Staphylococcus*, son importantes por la habilidad de adquirir resistencia (R) a los antimicrobianos (ATM) de uso habitual en la terapéutica antimastítica. Algunas especies, pertenecientes al grupo de estafilococos coagulasa negativos (ECN) son reservorios de genes de R a ATM, por lo que el monitoreo continuo de la R de estos microorganismos frente a los antibióticos permitirán el manejo más racional de los mismos con el consiguiente beneficio para el animal, el productor y la salud pública. Durante Junio 2016-Diciembre 2017 se analizaron n=148 muestras de leche de vacas con mastitis provenientes de diferentes tambos de la Provincia de Buenos Aires. Para el aislamiento microbiano, se sembraron 10 µl de cada muestra en agar sangre, incubando durante 48 hs a 37°C. Se realizó la identificación de cocos grampositivos, realizando diferentes pruebas bioquímicas. Para los antibiogramas por difusión se siguieron las recomendaciones del CLSI (2013) utilizando discos de penicilina (Pen 10UI), cefoxitina (Fox 30µg), eritromicina (Ery 15µg), clindamicina (Cli 2µg), oxacilina (Oxa 1µg). En los aislamientos que presentaron resistencia fenotípica frente a β-lactámicos (β-L) se evaluó por PCR la presencia de los genes *mecA* y *mecC*, y el tipo y subtipo del casete cromosómico estafilocócico (SCC*mec*), involucrados en la resistencia a β-L. Se aislaron e identificaron n=213 cocos grampositivos del 70% de las muestras de leche. El 72,3% (n=154) ECN; 14,5% (n=31) *S. aureus*; 13,14% (n=28) estreptococos. Dentro de los 154 ECN, 24,6 % (n=38) fueron R a Pen, 14,9% (n=23) R a Ery, 17,5% (n=27) R a Cli y 6,5% (10) R a Fox. De los 28 estreptococos, 14,2% (n=4) fueron R a Pen, 10,7% (n=3) R a Ery y 14,2% (n=4) R a Cli. El 16,1% (n=5) de los *Staphylococcus aureus*, resultó R a Pen, y un aislamiento fue positivo a Fox/Oxa. El 45,5% (n=5) de los aislamientos meticilino resistentes (MR) fueron positivos al gen *mecA* y presentaron el casete IV subtipo a. Ningún aislamiento MR fue positivo al gen *mecC*. Se aislaron cocos grampositivos con R a β-L y a macrólidos. Se detectaron 10 aislamientos ECN-MR y un *S.aureus* meticilino resistente (SAMR); de los cuales 4 ECN-MR y el SAMR presentaron el casete IV subtipo a. Los otros aislamientos tendrían otro mecanismo de R, ya que dieron negativos a los genes *mecA* y *mecC*. La correcta identificación de los microorganismos y el monitoreo continuo de R antimicrobiana es esencial para comprender la participación de los cocos grampositivos en las infecciones intramamarias, y tomar decisiones apropiadas para la terapéutica y el manejo de las vacas en ordeño.

PRIMER REPORTE DE UNA FLORACIÓN DE *GYMNODINIUM* SP. (DYNOPHYCEAE) EN EL RÍO GUALEGUAYCHÚ, ENTRE RÍOS.

Crettaz-Minaglia MC^{1,2}, Gianello D^{1,3}, Percara L¹, De Stéfano LG², Aguer I¹

¹Laboratorio de Indicadores Biológicos y Gestión Ambiental de Calidad de Agua, Facultad de Ciencia y Tecnología, UADER. Rocamora 117, Gualeguaychú, Entre Ríos. ²Área de Biología y Bioinformática, Instituto de Ciencias, UNGS. ³Grupo de Ecología de Sistemas Acuáticos a escala de Paisaje, Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y Medio Ambiente, UNComahue-CONICET. Quintral 1250, San Carlos de Bariloche, Río Negro.

La provincia de Entre Ríos, posee una profusa red con más de 7.000 trazados hídricos de régimen autóctono. La cuenca del río Gualeguaychú, ubicada al sudeste de la provincia, posee una superficie de 6.690 km² y su curso principal es el río homónimo, el cual nace en el departamento Colón y posee una longitud de 250 km, corre con dirección norte-sur en forma paralela a la cuenca del río Uruguay y posteriormente desemboca en la cuenca baja de este último. Para el río Gualeguaychú pueden identificarse diversos usos, como la conservación de la vida acuática, recreación (con y sin contacto directo), pesca y como fuente de agua para potabilización. Estos usos son aprovechados tanto por la población local como flotante. Durante febrero-abril de 2018, se detectó visualmente la presencia de coloración verde en el agua del río, particularmente en la zona del Parque Unzué (33 00' 16,38"S – 58 29'21,15"O). Por esta razón, se tomaron semanalmente muestras superficiales de manera directa con frascos de boca ancha a lo largo del tramo del río Gualeguaychú comprendido entre el Parque Unzué y la zona de desembocadura del arroyo El Cura (33 02'27,00"S – 50 20'29,01"O). Las muestras fueron observadas *in vivo* con microscopio óptico a aumentos de 40X-1000X e identificadas con claves dicotómicas. En las muestras, se halló la presencia de *Gymnodinium* sp. (Dynophyceae), como miembro predominante y único de la floración, exceptuando las muestras de la zona balnearia en dónde tampoco se observó coloración verde del agua. En Argentina, han sido reportadas 10 especies del grupo Dynophyceae formadoras de floraciones, de las cuales solo una es tóxica, a esta última se le ha dado mayor importancia debido a los efectos tanto en el ambiente como a nivel sanitario. Cabe destacar que este es el primer reporte de una floración no tóxica de *Gymnodinium* sp. en el río Gualeguaychú (tramo inferior). Este es un estudio preliminar y se pretende continuar con el monitoreo para obtener mayor información sobre el área de estudio, así como también realizar un análisis cuantitativo de las muestras obtenidas y de variables ambientales, ya que se puede considerar que este evento puede ser un alerta ambiental para el sitio y sería importante comprenderlo e interpretarlo con mayor detalle.

RIQUEZA ESPECÍFICA DE MACROINVERTEBRADOS DE "EL ZAGUÁN" (LA RIOJA)

Crettaz-Minaglia MC^{1,2}, Kass N³, Calvo R³, Rusconi M⁴, Kass C⁵, Zanca F⁴

1. Área de Biología y Bioinformática, Instituto de Ciencias, UNGS. 2. Laboratorio de Indicadores Biológicos y Gestión Ambiental de Calidad de Agua, FCyT, UADER.3. Sección Herpetología, División Zoología de Vertebrados, Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP. 4. Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, CONICET/UNLP. 5. Departamento de Ciencias Básicas y Tecnológicas, UNdeC.

La escasez de los recursos hídricos y disponibilidad de agua en el noroeste de Argentina es un hecho creciente y se prevé mayor severidad ante el fenómeno del cambio climático. En este sentido, es fundamental el conocimiento de los recursos y la biodiversidad que éstos albergan. Los macroinvertebrados constituyen una comunidad diversa que representa el nexo entre los productores primarios y los consumidores en los ecosistemas. Asimismo, frecuentemente son utilizados como bioindicadores de la calidad de agua. El objetivo de este trabajo fue estudiar la riqueza específica del río Miranda, en los sitios de uso público denominados localmente "El Zaguán" (La Rioja). El área de estudio se encuentra en la Cuesta de Miranda a 2020 msnm, un tramo de 12 km de la ruta nacional 40 que cruza las sierras de Famatina y une las ciudades de Chilecito y Villa Unión. Se trata de una zona en la que se forman una serie de remansos del Río Miranda, de los cuales sólo los primeros dos son accesibles a pie y mientras que los demás son sólo accesibles desde el agua. El uso del agua del sitio es principalmente recreativo, principalmente por los pobladores de las zonas aledañas, que puede o no tener contacto directo. Se realizó un muestreo en el mes de diciembre del año 2017 explorando los microhábitats de las primeras dos estaciones y sus zonas aledañas. Las muestras se colectaron con red de mano de 250 µm de apertura de malla y fueron conservadas en etanol al 96 %. En el laboratorio, los organismos fueron separados y clasificados taxonómicamente y en grupos funcionales alimenticios utilizando para ello lupa esterescópica MOTIC (10 y 30X) y claves dicotómicas. Se identificaron 8 taxones: Elmidae, Corixidae, Lestidae, Gomphidae, Belastoma sp., Dineutus sp., Naucoridae y Gordioidea. Distribuidos en depredadores (65,5 %), colector-recolectores (12,5 %), raspadores (12,5 %) y parásitos (12,5 %). Los organismos hallados son indicadores de buena calidad de agua y la elevada proporción de depredadores evidencia la transferencia energética en la comunidad que puede ser, a su vez, transferida a los eslabones superiores (vertebrados) y una mayor complejidad de la trama trófica del ecosistema. Si bien se trata de un estudio preliminar, este es el primer trabajo que abordó el estudio de la riqueza específica de "El Zaguán" y contiene el primer reporte de la presencia de un nematomorfo parásito en el sitio. Es de suma importancia continuar los muestreos en la zona, dada la aparición de taxones en otros períodos del año y que, la presencia de nematomorfos en este lugar, puede repercutir notablemente en las relaciones tróficas del

ecosistema; allí también se encontraron guacaches (Boana riojana), por lo que la presencia de este parásito no sólo podría estar afectando a ciertos artrópodos presentes, sino también a la disponibilidad de alimento para los guacaches.

ESTUDIO DE CONTAMINACIÓN DE CARCASAS OVINAS COMO POSIBLE FUENTE DE INFECCIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* SHIGATOXIGÉNICO DE IMPACTO EN LA INFANCIA EN TIERRA DEL FUEGO

Cundon C¹, Petrina J², Disalvo V³, Benetucci A²,
Aguilera A², Degregorio O⁴, Bentancor A¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología. ²Ministerio de Salud de Tierra del Fuego. ³Laboratorio de Diagnóstico Tierra del Fuego. ⁴Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Epidemiología y Salud Pública.

E. coli shigatoxigénico (STEC) produce cuadros diarreogénicos y es señalada como la principal etiología de síndrome urémico hemolítico (SUH) y principal causa de insuficiencia renal aguda pediátrica en Argentina. La región sur de nuestro país, principalmente Tierra del Fuego (TDF), Antártida e Islas del Atlántico Sur se caracteriza por altas tasas de notificación de cepas diarreogénicas de *E. coli* y SUH. Las causas de ello no han sido aún determinadas. La producción de ovinos en TDF es destinada en el 90% al consumo local y la contaminación de dicho alimento se desconoce. Sin embargo, al tratarse de rumiantes y conociendo la tendencia identificada a una alta prevalencia regional de STEC en corderos en faena, la contaminación de carcasas de corderos destinados al consumo local podría ser una variable explicativa sobre la que se debe trabajar para prevenir las diarreas de la población. Los beneficiarios directos de la investigación son los habitantes de TDF, principalmente niños menores a 5 años, en los que el SUH y diarreas agudas sanguinolentas (DAS) tienen mayor casuística. El objetivo del estudio pretende contribuir al conocimiento de la epidemiología de las infecciones por cepas DEC, particularmente STEC, en TDF. Se realizará un estudio epidemiológico observacional transversal para la detección de cepas STEC en carcasas ovinas de consumo de TDF. El tamaño de muestra se establece en 380 muestras totales, distribuidas proporcionalmente a la faena total de los 3 establecimientos que la llevan a cabo. Las muestras se obtendrán por esponjado de 4 áreas definidas con una misma esponja que será utilizada en cada área a muestrear cubriendo una superficie de 100 cm². Las muestras serán procesadas según el algoritmo de identificación para las rutas de STEC O157 y STEC no-O157. Mediante PCR múltiple de la zona de confluencia, se determinará la presencia de los genes que codifican para toxina Shiga 1 y 2 y serogrupo O157. A partir del agar Mc Conkey se realizará rastrillaje de los grupos O26, O25, O103, O111, O121, O145, O104 y O174. Para las cepas STEC aisladas, se realizará la subtipificación de la toxina Shiga y búsqueda de factores de virulencia adicionales. Se evaluará la producción de toxina Shiga y evaluación fenotípica de producción de hemolisina calcio dependiente. Se analizará la presencia de patovares híbridos. Se investigará epidemiológicamente para establecer procedencia del alimento sospechado. Los casos de SUH, fuentes de infección y origen de las muestras y del ganado

en pie (si pudiere realizarse la trazabilidad del mismo), serán georreferenciados, analizados mediante el software QGIS para evaluar su asociación témporo-espacial. Conocer el grado de contaminación de las carcasas ovinas en playa de faena, el perfil de virulencia de las cepas STEC, la presencia de híbridos y su relación con cepas caracterizadas a partir de casos clínicos humanos, permitirá aportar criterios específicos de intervención sanitaria que contribuyan a disminuir la incidencia de SUH y DAS en TDF.

EFFECTO DE LA INDENOPIRIDINA RTI-4587-073 (L) EN EL TESTÍCULO FELINO

D'Francisco F, López Merlo M, Vercellini R, Blanco P, Barbeito C, Gobello, C.

Laboratorio de Fisiología Reproductiva, Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Nacional de La Plata-CONICET

En la mayoría de las especies, la contracepción masculina ha recibido menor atención que la femenina. Si bien las indenopiridinas, inicialmente desarrolladas como antihistamínicos, mostraron un efecto antiespermatogénico rápido, potente y seguro en roedores, caballos, perros y monos, no se conocen sus efectos en el gato doméstico. Así, el objetivo de este estudio fue describir el efecto clínico, hormonal e histológico gonadal de la indenopiridina RTI-4587-073 en el macho felino, así como también evaluar la seguridad clínica del tratamiento. Se utilizaron 15 gatos domésticos machos mestizos de 1,5 a 5 años de edad. Los mismos fueron tratados al día 0 con RTI-4587-073 12,5 mg/kg PO y hemiorquiectomizados aleatoriamente los días -14 (n=4), 6 hs (n=3), 12 hs (n=4), día 1 (n=3), día 7 (n=4), día 14 (n=3), día 21 (n=3), día 35 (n=3) o día 42 (n=3). En estos mismos días se recolectaron heces para la determinación de testosterona fecal por electroquimioluminiscencia luego de su extracción. Los testículos fueron macro e histomorfométricamente evaluados (ImageJ, NIH, USA). Los datos se expresaron como media \pm SEM y se compararon entre los tiempos mediante test de Kruskal-Wallis seguido del test de Dunn-Bonferroni. Los valores de $P < 0,05$ se consideraron significativos. El peso ($P > 0,1$), largo ($P > 0,1$), ancho ($P > 0,1$) y volumen testicular ($P > 0,1$) así como el índice gonadosomático ($P > 0,1$) y testosterona fecal ($P > 0,1$) no difirieron entre los días. No se observaron efectos secundarios clínicos en ninguno de los animales. La estructura histológica fue normal al día -14, mientras que una importante desorganización de la citoarquitectura del epitelio seminífero se observó a las 6 hs, siendo máxima al día 1 post-tratamiento. En este día, el lumen tubular apareció ocupado por células germinales inmaduras o multinucleadas, detritus celulares y fluido, componentes que fueron desapareciendo gradualmente hacia el día 21. La altura del epitelio germinal se incrementó al día 1, para luego alcanzar el mínimo valor el día 14 y así retornar a los valores pretratamiento al día 35 ($P < 0,01$). El área ($P > 0,01$) y el diámetro de los túbulos seminíferos ($P > 0,01$) siguieron el mismo patrón de variación, excepto que los valores mínimos se alcanzaron el día 7. Los resultados de este trabajo coinciden mayormente con los obtenidos en monos, caballos y perros, en los cuales la administración oral de RTI-4587-083 (I) produjo de manera rápida y reversible alteraciones histológicas testiculares, mínimos cambios endocrinos y ausencia de efectos adversos. Se concluye así que las indenopiridinas representan una opción contraceptiva prometedoras y seguras para el macho felino.

PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO MICROBIOLÓGICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CEFALEXINA EN LECHE DE CABRA

Dal Verme B, Ellis V, Esmoris S, Kreil V

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias,
Cátedra de Farmacología, Chorroarín 280 (1427) CABA.

El método microbiológico relaciona en forma directa concentraciones de antibiótico con el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano en agar. Utilizando concentraciones conocidas de antibiótico, se calcula una regresión lineal y se obtiene una curva estándar a partir de la cual se pueden interpolar los diámetros de concentraciones no conocidas para construir las curvas de disposición plasmática. El objetivo de este trabajo fue la puesta a punto para determinar las concentraciones de cefalexina en leche caprina, mediante el método microbiológico. Se prepararon las diluciones en leche de cabra correspondientes a la curva de concentraciones estándar de 100 µg/ml a 0,39 µg/ml, realizando diluciones al medio de la concentración anterior. Se inoculó agar con 5 ml de una suspensión en caldo cerebro corazón (turbidez 2 McFarland) de *Kocuria rizophila* ATCC 9341 por cada 300 ml de agar. Se prepararon 6 placas de Petri estériles con 27 ml del agar inoculado y se realizaron 10 perforaciones en cada placa, donde se sembraron 50 µl de plasma con antibiótico para cada punto de la curva estándar. Para permitir la predifusión del antibiótico, las placas fueron dejadas a temperatura ambiente durante 30 minutos, y luego fueron incubadas a 34°C por 18 h. Los halos de inhibición fueron leídos con calibre digital y cargados en una planilla de Graph Pad Prism y de Excel para su tratamiento estadístico. Los límites de cuantificación y de detección del método fueron de 50 µg/ml y 0,39 µg/ml; mientras que la exactitud (desvío) fue menor a 14,95% y al 18,8% para las concentraciones intermedias y extremas, respectivamente. Las variaciones intra e interdía (precisión) fueron menores al 3,19% y 3,85%, respectivamente; el coeficiente de correlación de la regresión lineal (r^2) de la curva estándar fue de 0,99. Las pendientes y ordenadas al origen fueron idénticas cuando se compararon las curvas de calibración realizadas en diferentes días. Estos resultados muestran que este método puede ser utilizado para determinar las concentraciones de cefalexina en leche de cabra, existiendo una buena correlación, exactitud y precisión de las curvas de calibración.

UBACyT 20020130200106BA

DETERMINACIÓN DEL POTENCIAL PRODUCTIVO DE EFLUENTES PORCINOS PARA LA GENERACIÓN DE BIOGÁS, A DOS TEMPERATURAS DIFERENTES

D'Angelo Rasera MG¹, Renzi DG²

¹Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Anatomía Descriptiva y Comparada I. Casilda, Santa Fe, Argentina. ²Universidad Nacional de Rosario. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Física Biológica. Casilda, Santa Fe, Argentina.

Los biodigestores son sistemas diseñados para la producción de biogás a partir de desechos orgánicos, lo que permite obtener energía limpia, renovable y de costo relativamente bajo, además de fertilizantes líquidos y sólidos provenientes de los residuos ya degradados. La producción de biogás es un proceso natural que ocurre de manera espontánea gracias a la presencia de microorganismos en un ambiente carente de oxígeno, como resultado de la descomposición final de la materia orgánica. Con el objetivo de evaluar el *potencial productivo* de los efluentes provenientes del módulo de porcinos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNR para la generación de biogás, se realizaron ensayos discontinuos (batch) a dos temperaturas constantes y controladas, a través de las mediciones de dos parámetros físicos: *presión* y *volumen*. Se utilizaron treinta botellas de 1,5 litros de capacidad en las cuales se colocaron 250ml de excretas porcinas (líquidas + sólidas) y 750ml de agua. Se hicieron dos grupos (G1 y G2) de 15 botellas cada uno, las cuales se colocaron dentro de baños térmicos: (G1) conformado por tres recipientes de cinco botellas cada uno a temperatura controlada de 40°C; y (G2) igual a G1, pero a 20°C de temperatura. El ensayo se realizó durante nueve semanas, y se registraron diariamente los valores de presión y volumen de biogás producido en cada botella. Para las botellas del G1, la presión media diaria fue de 0,43bar y el volumen medio diario de biogás generado 290ml, aproximadamente. En el otro grupo (G2) la presión media diaria fue de 0,15bar y el volumen medio de aproximadamente 100ml por día. Estos valores se obtuvieron promediando sobre las quince botellas de cada grupo y para las nueve semanas, aunque durante el transcurso del tiempo se midieron valores mucho más altos (casi el triple en las semanas 4, 5 y 6) y también más bajos (en la novena semana donde prácticamente se alcanzó el total de biogás que se podía obtener con ese sustrato). Es interesante señalar además que para este ensayo se utilizaron 7,5 litros de excretas, y a lo largo de las nueve semanas produjeron un total de 240 litros de biogás (170 litros de G1, y 70 litros de G2), aproximadamente. En ambos grupos las curvas de *litros de biogás producido* por cada *litros de excretas* en función del *tiempo* alcanzan valores asintóticos a partir de la octava semana. Los resultados obtenidos brindan información importante para evaluar el potencial productivo de las excretas del módulo de cerdos para la generación de biogás, lo que resulta

necesario para el diseño de un biodigestor dinámico, con el que no sólo se obtendría energía sino además, los beneficios extra que tiene este tipo de manejo de los efluentes desde un punto de vista ambiental, social y productivo.

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS EVENTOS PUBERTAD Y MADUREZ SEXUAL EN TORITOS RECRIADOS BAJO CONDICIONES PASTORILES

de Iraola JJ^{1,2}, Bonamy M^{1,2}, Caballero BN^{1,2},
Fernández Echeverría MJ¹, González Rocco S¹, Baldo A¹

1. Cátedra de Producción Bovina, Departamento de Producción Animal, FCV UNLP. La Plata, Argentina. 2. Instituto de Genética Veterinaria “Ing. Fernando Noel Dulout” IGEVET - CONICET - FCV UNLP.

La madurez sexual, entendida como el momento en el cual un toro puede ser utilizado con fines reproductivos obteniendo resultados satisfactorios para la industria, es la culminación de un proceso iniciado en la pubertad. La estacionalidad y restricción de los servicios en los sistemas de cría bovina, hacen que la elección de los reproductores sea un punto clave. El empleo de toritos jóvenes trae beneficios tales como la reducción de costos de compra y recría, la reducción del intervalo generacional con el consecuente aumento del progreso genético del rodeo, contar con animales maduros al momento del servicio garantiza resultados óptimos. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar los eventos pubertad, madurez sexual y el intervalo entre estos en toritos Angus recriados bajo condiciones pastoriles. Se trabajó con 195 animales, con un frame score igual a 3, pertenecientes a dos establecimientos, los muestreos se realizaron en dos años consecutivos. Mensualmente se registró el peso (W) de cada animal, se midió su circunferencia escrotal (CE), la alzada a la cadera (H) y mediante calidad seminal a partir de muestras obtenidas por electroeyaculación, se determinó si se encontraban púberes (P) o maduros (M). Se consideró a un animal P, cuando su eyaculado contaba con una motilidad individual progresiva $\geq 10\%$ y una concentración no menor a 50 millones de espermatozoides por mililitro. Para ser clasificados como M debían presentar un mínimo de 30% de motilidad individual y 70% de espermatozoides morfológicamente normales. Se estimaron las correlaciones fenotípicas entre las

variables edad a la pubertad, edad a la madurez, intervalo pubertad- madurez, W, H y CE a la pubertad mediante SAS 9.4. Los toritos fueron detectados P con una edad promedio de 389.48 ± 54.68 días, su W fue de 249 ± 53.51 kg, su H de 110.72 ± 4.62 cm y la CE de 31.16 ± 2.93 cm. La edad promedio a la que fueron detectados M fue de 520 ± 54.68 días, con un W de 336.58 ± 48.24 kg, 115.50 ± 4.17 cm de H y una CE de 34.78 ± 2.68 cm. El intervalo pubertad- madurez fue de 137.93 ± 66.81 días. Los resultados de las correlaciones analizadas fueron altamente significativos entre la edad a la pubertad y la edad a la madurez (0.332 , $P < 0.0001$), entre la edad a la pubertad y el intervalo pubertad- madurez (-0.446 , $P < 0.0001$), entre el W a la pubertad (-0.33 , $P < 0.0001$), CE a la pubertad (-0.331 , $P < 0.0001$) y el intervalo pubertad- madurez, mientras que entre la H y dicho intervalo fue significativo (-0.177 , $P = 0.05$). Estos resultados muestran que la edad a la pubertad y a la madurez son eventos relacionados fisiológicamente, mientras que las características de W, H y CE a la pubertad se relacionan negativamente con el intervalo pubertad- madurez, este hecho puede ser utilizado por el productor a la hora de seleccionar los reproductores que serán enviados a servicio, detectando precozmente a los animales púberes y dentro de estos aquellos que tengan mayores valores de CE, W y H con el fin escoger aquellos animales que arriben a la madurez más tempranamente.

EFFECTOS DE LA TERAPÉUTICA DE LA ENFERMEDAD PERIODONTAL SOBRE EL ESMALTE DENTAL DEL PERRO

De Puch G, Hernández SZ, Negro VB

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

La eliminación mecánica periódica del cálculo y de la placa dental es esencial para controlar la aparición y avance de la enfermedad periodontal (EP). En medicina veterinaria, para lograr este objetivo, se utiliza diferente instrumental específico para remover la placa y los depósitos de cálculo, y generar una superficie lisa para prevenir o retardar el nuevo depósito de placa. En el humano se han comparado los diferentes tipos de instrumentación utilizados para el tratamiento y prevención de la EP, analizando su efectividad para remover placa y cálculo dental, y evaluando el grado de daño generado en los tejidos dentales. En odontología veterinaria se han realizado pocos estudios al respecto, por lo que debido a la escasa información que existe sobre la eficacia de los diferentes instrumentos utilizados en la terapéutica de la EP en el perro, es objetivo de este estudio comparar y

determinar cuál es el método más eficaz para la remoción del cálculo supragingival. Para evaluar los efectos de la instrumentación sobre la superficie del esmalte se tuvieron en cuenta dos variables: la cantidad de cálculo remanente y el grado de pérdida de tejido dental. Para estudiar la primera variable se seleccionaron 18 premolares permanentes de perro con la mitad de la corona cubierta por cálculo, colectados de exodoncias terapéuticas de pacientes del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires (FCV-UBA). Para analizar la segunda variable se seleccionaron 18 dientes permanentes sanos sin EP de perros menores a dos años, muertos por patologías extraorales, o sacrificados por razones humanitarias (metodología aprobada por el CICUAL de la FCV-UBA). Para evaluar las dos variables, los dientes seleccionados se dividieron en 3 grupos a los cuales se los sometió a tres protocolos terapéuticos distintos para la eliminación del cálculo (raspador, cavitador sónico y cavitador ultrasónico), complementando con un pulido dental en todas las opciones. Luego, todos los dientes fueron procesados para ser analizados al microscopio electrónico de barrido. Para realizar el registro y el análisis de las variables evaluadas se crearon dos índices: el índice de cálculo remanente (ICR) y el índice de pérdida de esmalte (IPE). Las microfotografías obtenidas fueron evaluadas a ciegas por 3 observadores, que otorgaron un puntaje a cada una, para luego realizar el análisis estadístico de los valores obtenidos de cada tratamiento. Luego de comparar los resultados obtenidos de ICR, no se encontraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos analizados ($p > 0,05$). Al comparar los resultados de IPE se encontraron diferencias significativas entre el cavitador sónico y el ultrasónico ($p < 0,05$), siendo el de este último el de más bajo valor. Se concluye que el uso del cavitador ultrasónico con pulido dental mostró ser el tratamiento más eficaz a la hora de remover el cálculo supragingival ya que eliminaría el cálculo con la misma eficacia que los otros métodos evaluados, pero sería el menos dañino para la superficie del esmalte.

EFECTO DE LAS NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA SOBRE SINORRHIZOBIUM MELILOTI Y BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM

De Valois N¹, Iannone MF^{1,2*}

(1)Cátedra de Química Biológica Vegetal, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. (2)IQUIFIB (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina

*correo electrónico: mflorencaiannone@gmail.com

En los últimos años se ha incrementado el uso de nanomateriales, sin embargo sus efectos sobre los componentes bióticos del medio ambiente aún no son del todo claros. El riesgo potencial de su uso y la nanotoxicidad debe ser estudiada cuidadosamente. Por tal motivo, se consideró de interés realizar estudios básicos de los efectos de las nanopartículas (NPs) de magnetita, Fe₃O₄, sobre *Bradyrhizobium japonicum* y *Sinorhizobium meliloti*. Dichos rizobios se asocian simbióticamente a las leguminosas, *B. japonicum* lo hace a la soja y *S. meliloti* a la alfalfa, e incorporan nitrógeno (N) de la atmósfera a los agrosistemas. Estos sistemas biológicos son claves para la agricultura, por su implicancia en el ciclo global del

N y por ende, en la producción de alimentos. Para ello, se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de dichas NPs sobre la multiplicación in vitro de *B. japonicum* y de *S. meliloti*. El crecimiento bacteriano se evaluó por la técnica de microgota y se determinó la constante de crecimiento y el número de generaciones. En el caso de *B. japonicum* dichos parámetros se elevaron un 2%, 4%, 11%, 3%, 3% en los tratamientos 1, 5, 10, 25, 50 ppm de NPs, respectivamente. Por su parte *S. meliloti* en presencia de distintas concentraciones de NPs de magnetita (desde 5 hasta 50 ppm) no presentó efectos significativos sobre la constante de crecimiento ni sobre el número de generaciones. Por otro lado, se cuantificaron los polisacáridos extracelulares, tanto los liberados al medio (EPS) como aquellos unidos a la superficie celular (CPS), ya que estos tienen un rol importante en las etapas tempranas de la infección radicular. En el caso de *B. japonicum*, el contenido de EPS y de CPS se duplicó con 10 ppm de NPs, mientras que con 5 ppm solo aumentó el primero (en igual magnitud que con 10 ppm). En *S. meliloti* se detectó un aumento del 15 % en el contenido de EPS y del 36% en el de CPS en presencia de 25 ppm de magnetita; con 10 ppm los aumentos fueron de 3 % y 22 %, respectivamente. Estos resultados preliminares demuestran que a las dosis probadas, las NPs de magnetita no son tóxicas e incluso estas NPs promovieron levemente la multiplicación in vitro de *Bradyrhizobium japonicum*, con un notable efecto sobre la biosíntesis de polisacáridos extracelulares, lo cual podría ser importante en términos de colonización y supervivencia. En el caso de *Sinorhizobium meliloti*, el efecto de estas nanopartículas sobre la biosíntesis de polisacáridos de superficie merece mayor investigación.

PRODUCCIÓN DE BIOFILM DE *ESCHERICHIA COLI* SHIGATOXIGÉNICO O174 Y LETALIDAD EN EL MODELO *CAENORHABDITIS ELEGANS*

Desimoni F, Cundon C, Bentancor A

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

Escherichia coli shigatoxigénica (STEC) es uno de los patovares de mayor importancia en veterinaria asociados con la salud pública. Es el agente etiológico de enfermedades humanas de distinta severidad, desde diarrea acuosa a síndrome urémico hemolítico (SUH). En Argentina, se registra un promedio de 450 casos anuales de SUH el cual afecta principalmente a niños menores de 5 años. STEC se caracteriza por producir al menos una potente toxina conocida como toxina Shiga (Stx). Existen dos tipos de Stx, Stx1 y Stx2, y varios subtipos. Se reconoce que la Stx2 tiene una actividad citotóxica 100 veces más potente que Stx1. En la actualidad, el esquema más extendido incluye tres subtipos Stx1 (Stx1a, Stx1c, Stx1d) y siete subtipos Stx2 (Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, Stx2g). Si bien se reconoce al serotipo O157:H7 como prototipo de infección, el serogrupo O174 se destaca como problemática en Argentina. Es el cuarto en prevalencia dentro del

grupo STEC no-O157 y no es considerado por estándares europeos o americanos en la vigilancia de alimentos. *Caenorhabditis elegans* como modelo *in vivo* de infección oral es eficiente y permite realizar ensayos en patógenos alimenticios. Por otro lado, los ensayos *in vitro*, permiten establecer patrones de adhesión relacionadas con la resistencia a agentes físicos y químicos y la sobrevivencia del microorganismo fuera del huésped. El objetivo del presente estudio es analizar la producción de biofilm *in vitro* de cepas de STEC O174 aisladas (de animales y alimentos) y la virulencia de las cepas en el modelo *in vivo* de *C.elegans*, para categorizar según estos factores el riesgo potencial de los aislamientos. Se analiza una colección de 16 cepas STEC O174:[H21, H28] y 16 cepas patrones provenientes del Statem Serum Institute, Dinamarca y una cepa control de la colección de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. La evaluación de la capacidad *in vitro* de las cepas STEC O174 de producir biofilm se lleva a cabo mediante la lectura de la absorbancia a 540 nm de placas de 96 pocillos sembradas con una dilución 1:40 de cultivo e incubadas a 37°C durante 18 horas. Para la categorización de virulencia de cepas STEC O174 en el modelo *C. elegans*, se sincronizan en L4 placas sembradas con *E. coli* OP50 que contienen *C. elegans* en diferentes estadios. Se evalúa el tiempo de muerte del nematode en placas con STEC O157 mediante un seguimiento de 12 días. Los nematodes son considerados muertos si no responden al estímulo del anillo de platino y determina la dosis letal 50 (LT50). El mismo procedimiento se aplica para las cepas STEC O174 y las cepas control las cuales codifican diferentes subtipos de toxina. El tiempo de LT50% será analizado mediante ANOVA. A su vez se realizarán curva de supervivencia y regresión de Cox. La caracterización del potencial virulencia de las cepas mediante ensayos *in vivo* e *in vitro* permitirá establecer el riesgo de los aislamientos provenientes de diversas fuentes de infección y constituye el primer paso en el estudio de su dinámica epidemiológica.

Francisco Desimoni es Becario del Consejo Interuniversitario Nacional.

¿PUEDEN LOS PERROS RESCATAR A SUS DUEÑOS? LA CONDUCTA DE RESCATE EN PERROS DOMÉSTICOS (*CANIS FAMILIARIS*) Y EL ROL DEL APRENDIZAJE

Dzik V^{1,2}, Carballo F³, Freidin E⁴, Bentosela M^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Instituto de investigaciones Médicas A. Lanari, Buenos Aires, Argentina. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad de Buenos Aires, Instituto de investigaciones Médicas (IDIM), Grupo de Investigación del Comportamiento en Cánidos (ICOC), Buenos Aires, Argentina. ³Instituto de investigaciones Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR; CONICET -UNS), Bahía Blanca, Argentina. ⁴Instituto de Investigaciones Económicas y Sociales del Sur (IESS; CONICET-UNS), Bahía Blanca, Argentina. Contacto: dzik.mvictoria@gmail.com

La conducta de rescate es un tipo de conducta pro-social que refiere a aquellos comportamientos dirigidos a finalizar el estrés de otro individuo. En perros domésticos (*Canis familiaris*), pese a la gran cantidad de anécdotas, los estudios científicos aún son escasos. El objetivo fue evaluar si los perros exhiben la conducta de rescate cuando sus dueños pretenden estar atrapados dentro de una caja. Además, analizar si esta conducta está

modulada por el estado afectivo de sus dueños y el nivel de entrenamiento de los perros. Se empleó una caja de madera con una puerta transparente de Plexiglas. La caja podía ser abierta tirando de la puerta o removiendo un peso que prevenía su apertura. Se evaluaron 3 grupos de perros según las condiciones: *Dueño Estresado* (DE), el dueño pretendía estar atrapado y emitía claros signos de estrés (por ejemplo, gritaba pidiendo ayuda, golpeaba las paredes de la caja) (n=21); *Dueño Tranquilo* (DT), el dueño permanecía quieto e ignorando al perro (n=15); *Perros Entrenados* (PE), se evaluaron perros del ejército entrenados en búsqueda y rescate de personas de manera similar a la condición DE (n=10). Se realizaron 3 ensayos de 2 minutos de duración o hasta que el perro abriera la caja. Se midió la proporción de aperturas de la caja y la latencia hasta la apertura; el tiempo en proximidad y en contacto con la caja. Se incluyó el tiempo con las orejas bajas y con la cola baja; y la frecuencia de lameteo de labios y vocalizaciones, como indicadores de estrés del perro. Las pruebas estadísticas utilizadas fueron el test Binomial para la proporción de apertura de la caja, y ANOVA para las otras medidas. Los resultados muestran que los perros de la condición DE y PE tuvieron mayor proporción de aperturas de caja que los perros de DT (p=.005; p=.02). Solo los perros de la condición PE abrieron la caja por encima del azar (p=0.04). Respecto a las latencias, los perros de la condición DT demoraron mayor tiempo en abrir la caja que los perros de las condiciones DE (p=.028) o PE (p=.002). En cuanto a la proximidad y contacto con la caja, los perros de PE permanecieron mayor tiempo en proximidad y contacto que los perros de DE (p=.02; p=.03) y DT (ps<.001). En relación a los indicadores de estrés, los perros de DE permanecieron mayor tiempo con las orejas bajas que los perros de DT (p=.01). Las demás conductas no arrojaron diferencias significativas (ps>.05). Hallamos que los perros de la condición DE y PE tuvieron mayores aperturas de la caja que los perros de DT. Sin embargo, sólo los perros de la condición PE abrieron por encima del nivel de azar. Por otro lado, los perros de la condición DE podrían haber experimentado estrés, puesto que mostraron mayor frecuencia de orejas bajas en comparación a los perros de DT. En conclusión, algunos perros rescatan espontáneamente a sus dueños cuando ellos muestran claros signos de estrés. Asimismo, el nivel de entrenamiento modula la expresión de este comportamiento.

LA INFLUENCIA DE LA OXITOCINA EN LOS COMPORTAMIENTOS SOCIALES INTERESPECÍFICOS DE PERROS DE REFUGIO Y DE FAMILIA

Dzik MV^{1,2}, Cavalli CM^{1,2}, Barrera G³, Bentosela M^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Instituto de investigaciones Médicas A. Lanari, Buenos Aires, Argentina. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad de Buenos Aires, Instituto de investigaciones Médicas (IDIM), Grupo de Investigación del Comportamiento en Cánidos (ICOC), Buenos Aires, Argentina. ³Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET Litoral), UNL-CONICET. Santa Fe, Argentina. Grupo de Investigación del Comportamiento en Cánidos (ICOC). dzik.mvictoria@gmail.com

La oxitocina (OT) es una hormona y neuropéptido que participa en las conductas afiliativas de varias especies de mamíferos. En perros domésticos, la administración intranasal de OT incrementa los comportamientos sociales hacia los humanos como la proximidad, el contacto y la mirada a los ojos. Sin embargo, no hay estudios que comparen los efectos de la OT en perros con diferentes niveles de interacción diaria con los humanos, como es el caso de los perros de refugio y de familia. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar el

efecto de la administración intranasal de OT en perros con distinto nivel de contacto humano en una prueba de sociabilidad y una tarea comunicativa de mirada. Se administró 16 IU de OT o solución salina a 24 perros de refugio y 21 perros de familia, de 1 a 10 años de edad, todos mestizos. Luego de un intervalo de espera de 40 minutos, se realizaron las pruebas conductuales. La prueba de sociabilidad consistió en la interacción del perro con una persona desconocida. Se dividió en dos fases de dos minutos cada una: 1) *fase pasiva*, la persona permanecía ignorando al animal; 2) *fase activa*, la persona iniciaba activamente interacción, empleando contacto y vocalizaciones en tono positivo. Se midió la cercanía y el contacto hacia el humano en cada fase. En la tarea comunicativa de mirada, el perro aprendía a solicitar comida inaccesible mirando a la cara de la persona. Constó de tres fases, con ensayos de 2 minutos: 1) *adquisición*, se proporcionó un trozo de hígado por cada mirada a la cara humana; 2) *extinción*, no se entregó alimento; 3) *adquisición*, se entregó nuevamente el refuerzo. Se midió la duración de la mirada a la cara humana. Para el análisis estadístico se utilizaron modelos lineales mixtos generalizados GLMM. En la prueba de sociabilidad, los perros de familia permanecieron más tiempo en cercanía y en contacto con la persona comparado a los perros de refugio. Sin embargo, no se hallaron diferencias en función del tratamiento. Respecto a la tarea comunicativa de mirada, los perros de familia miraron más tiempo a la cara humana que los perros de refugio. Esta duración fue mayor en la fase de extinción comparado a las fases de adquisición y de readquisición. Además, se halló efecto de tratamiento en ambos grupos, ya que los perros con OT miraron más tiempo a la cara que con solución salina durante la fase de extinción. En conclusión, los perros de familia exhibieron mayores comportamientos sociales hacia la persona desconocida en comparación a los perros de refugio, sin embargo, la administración de OT no modificó estas respuestas. En cuanto a la tarea comunicativa de mirada, la aplicación de OT aumentó la persistencia en la mirada a la cara de la persona tanto en perros de refugio como en perros de familia. Estos hallazgos permiten conocer más acerca de la OT y evaluar su uso terapéutico en el tratamiento de problemas de conducta, el entrenamiento y la reinserción de perros a hogares de familia.

PUESTA A PUNTO DEL MÉTODO MICROBIOLÓGICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CEFAZOLINA EN PLASMA DE LLAMA: MEJORA DEL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Ellis V, Dal Verme MB, Kreil V

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias,
Cátedra de Farmacología, Chorroarín 280 (1427) CABA.

Durante la puesta a punto del método microbiológico, que relaciona en forma directa concentraciones de antibiótico con el diámetro del halo de inhibición del crecimiento de una bacteria patrón en medio de cultivo sólido, puede ser necesario realizar ajustes al método, en vistas de mejorar los límites de cuantificación y determinación. Una estrategia utilizada, es realizar una predifusión, previa a la incubación de las placas en la estufa, con el fin de facilitar la difusión del antibiótico en el medio de cultivo sólido, y aumentar el diámetro de los halos de inhibición. El objetivo de este trabajo fue comparar los diámetros de inhibición del crecimiento bacteriano y los límites de cuantificación y detección, con predifusión (grupo CP) y sin predifusión (grupo SP), durante la puesta a punto del método

microbiológico para la cefazolina en plasma se llamas. Se preparó una curva de concentraciones estándar de 50 µg/ml a 0,39 µg/ml, realizando diluciones al medio de la concentración anterior en plasma de llamas. Se inoculó agar con 5 ml de una suspensión en caldo cerebro corazón (turbidez 2 McFarland) de *Kocuria rizophila* ATCC 9341 por cada 300 ml de agar. Se prepararon 10 placas de Petri estériles con 27 ml del agar inoculado y se realizaron 10 perforaciones en cada placa, donde se sembraron 50 µl de plasma con antibiótico para cada punto de la curva estándar. Para el grupo SP, las placas fueron colocadas en la estufa a 34°C inmediatamente después de finalizar la siembra del plasma, mientras que el grupo CP, se esperaron 30 minutos antes de colocar las placas a incubar a 34°C, en todos los casos, durante 18 h. La lectura de los halos se realizó con calibre digital. Los halos de inhibición fueron leídos con calibre digital y cargados en una planilla de Graph Pad Prism y de Excel para su tratamiento estadístico. Para el grupo CP, los límites de cuantificación y de detección del método fueron de 3,12 µg/ml; la exactitud (desvío) fue menor a 10,8%, la variación intradía (precisión) fue menor al 5,7% y el coeficiente de correlación de la regresión lineal (r^2) de la curva estándar fue de 0,992. Para el grupo SP, los límites de cuantificación y detección fueron iguales al grupo anterior, la exactitud (desvío) fue menor al 14,4%, la precisión fue menor al 2,9% y el coeficiente de correlación de la regresión lineal de la curva estándar fue de 0,9875. Ambas curvas de calibración fueron paralelas, con idénticas pendientes y ordenadas al origen. Nuestros resultados muestran que la predifusión no logró mejorar el límite de cuantificación del método. Si bien la exactitud y el coeficiente de correlación de la regresión lineal estuvieron dentro de los valores aceptables para la *Kocuria rizophila*, se probará repetir la prueba con otros microorganismos patrón, con el fin de mejorar los límites de cuantificación y de detección del antibiótico en plasma de llamas.

UBACyT 20020130100615BA

NUEVOS ANTIVIRALES PARA EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA SELECCIONADOS MEDIANTE SCREENING VIRTUAL

España de Marco MJ¹, Fabiani M², Casal JJ³, Bollini M³, Cavallaro LV¹, Castro E²

¹ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Virología. Buenos Aires, Argentina. ² CONICET-Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Virología. Buenos Aires, Argentina. ³ CONICET, Centro de Investigaciones en Bionanociencias (CIBION). Buenos Aires, Argentina

El virus de la diarrea viral bovina (BVDV) es un ARN virus perteneciente al género *Pestivirus (Flaviviridae)* que afecta al ganado bovino. Sus infecciones están mundialmente distribuidas y tienden a ser endémicas con niveles de 1-2 % de ganado persistentemente infectado (PI) y 60-85 % de ganado con anticuerpos anti-BVDV. Las infecciones por BVDV generan pérdidas económicas considerables asociadas con reducción en la producción láctea, menor tasa de concepción, desórdenes respiratorios, predisposición a coinfecciones con otros patógenos debido a la inmunosupresión, y muerte de animales

cuando desarrollan una infección aguda; además del impacto negativo sobre la performance reproductiva del ganado. La infección fetal a tiempos tempranos de gestación causa abortos, defectos congénitos, retardo de crecimiento y lleva al nacimiento de terneros con IP, los cuales son generalmente más pequeños, tienen mayor susceptibilidad a otras enfermedades y pueden eventualmente morir de enfermedad de mucosas. El control de la infección por BVDV combina la vacunación (no obligatoria) con la detección y remoción de animales con IP, pero no existe un tratamiento específico. Por eso, el uso de antivirales podría proveer una protección inmediata a los animales en riesgo y complementar las medidas de control. La ARN polimerasa dependiente del ARN (RdRp) viral es esencial para la replicación del genoma del virus y constituye un blanco atractivo para el descubrimiento de antivirales. Con el objetivo de obtener inhibidores selectivos para BVDV, se seleccionaron de manera virtual más de 1000 compuestos de la base de datos comercial HitFinder y 230 compuestos del laboratorio de Química Medicinal (CIBION-CONICET). Se realizó un análisis visual de la unión ligando-receptor y la predicción de sus propiedades farmacológicas. Esto llevó a la selección de varios candidatos estructuralmente diferentes. Se realizó el screening de actividad antiviral *in vitro* de trece moléculas de síntesis (S1-S5) o comerciales (S6-S13). La citotoxicidad en células MDBK se evaluó mediante MTS / PMS y la actividad anti-BVDV (NADL) se evaluó mediante la reducción del efecto citopático. Al menos tres compuestos resultaron activos: S1, S7 y S9 con valores de CE₅₀ de 9,68 ± 0,49 µM (IS: 5,77); 0,98 ± 0,01 µM (IS: 11,53); y 6,40 ± 0,70 µM (IS: 12,90), respectivamente. Además, para mejorar la potencia antiviral de la quinazolina S1, cuya síntesis es simple y fácilmente escalable, se sintetizaron y evaluaron once derivados. Como resultado, cuatro de ellos mostraron una actividad antiviral mejorada, con valores de EC₅₀ en el rango de 0,9 y 2,8 µM. En conclusión, se reportan nuevas moléculas con potente actividad anti-BVDV *in vitro*. Dichos compuestos líderes podrán ser optimizados químicamente para incrementar su actividad biológica. Finalmente, estos estudios destacan el potencial del *screening* virtual frente a un blanco viral para la identificación de nuevos compuestos antivirales.

ESTUDIO DE LA CINÉTICA Y DEL COMPORTAMIENTO DEL *BIOFILM* MIXTO DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *ZOOEPIDEMICUS* Y LEVADURAS AISLADAS DE EQUINOS EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE ANTIMICROBIANOS

Etchecopaz AN¹, Bustos CP¹, Mesplet M¹, Iovannitti CA², Guida N¹

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

El estudio del desarrollo de los *biofilm* microbianos está adquiriendo especial importancia en los últimos años, frente a los nuevos desafíos de enfermedades crónicas, enfermedades recidivantes y resistencia antibiótica. En equinos, una de las enfermedades de altas consecuencias económicas, que tiende a la cronicidad y a las recidivas es la endometritis en yeguas. El agente aislado con mayor frecuencia de este proceso es *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*). El desarrollo en *biofilm* podría ser el responsable

de la permanencia de este agente en mucosas y de su progresión como patógeno oportunista ante cambios en su microambiente. En las mucosas, *S. zooepidemicus* convive con levaduras de distintos géneros. En estudios anteriores hemos analizado *biofilm* de levaduras y de *S. zooepidemicus*, aislados de mucosas nasofaríngea y genital de yeguas de manera individual. Nos planteamos en este trabajo analizar la cinética y el comportamiento del *biofilm* mixto de levaduras y de *S. zooepidemicus* en ausencia y presencia de antimicrobianos. Se trabajó con 3 aislamientos de *S. zooepidemicus* y 3 levaduras aisladas de equinos sanos: *Candida (C.) albicans*, *C. glabrata* y *Rhodotorula* sp. Se desarrolló *biofilm* en microplaca de 96 pocillos midiéndose la producción a las 24, 48 y 72 hs. Para evaluar el comportamiento en presencia de antimicrobianos se desarrolló *biofilm* y a las 24, 48 y 72 hs se realizaron 3 lavados con agua destilada estéril y se agregó penicilina G a una concentración de 1 µg/mL, (10 veces mayor a la concentración bactericida mínima (CBM), testada previamente). Se incubó por 24 hs más y luego de 3 lavados se colorearon con Cristal Violeta 1% por 15 minutos. Se realizaron nuevamente 3 lavados y se solubilizó el colorante adherido con alcohol 96°. Se midió la absorbancia del colorante a 570 nm en espectrofotómetro. Se pudo observar la producción de *biofilm* mixto en todos los casos, demostrando que *S. zooepidemicus* es capaz de interactuar con distintas levaduras dentro de la formación de un *biofilm* mixto. Se observó una disminución en la producción de *biofilm* en *S. zooepidemicus* al interactuar con *C. albicans*, sin observarse variación con las otras levaduras. En algunas cepas se observaron diferencias entre los distintos tiempos analizados, por lo que se puede concluir que existe variabilidad en el comportamiento y cinética del *biofilm* mixto de acuerdo a las cepas involucradas en su formación. Se evidenció una inhibición en la producción de *biofilm* en presencia de penicilina en todos los casos. Esto indicaría que la penicilina inhibe el desarrollo del *biofilm* pero no lo elimina, persistiendo bacterias viables aun a concentraciones de antibiótico 10 veces mayores a la CBM. El desarrollo se ve afectado en mayor medida cuando los aislamientos de *S. zooepidemicus* interactúan con *C. albicans*. La comprensión de los *biofilm* y de las interacciones microbianas permitirá generar estrategias de prevención y tratamiento en enfermedades crónicas o recidivantes para ayudar a combatir la resistencia antibiótica.

MECANISMO DE ACCIÓN Y ACTIVIDAD ANTIVIRAL FRENTE A DISTINTAS CEPAS DE BVDV DE UNA N⁴-ARILTIOSEMICARBAZONA DERIVADA DE 1-INDANONA

Fabiani M¹, Quintana ME², Castro EF¹, España De Marco MJ³, Soraires Santacruz MC⁴, Finkielstein LM⁴, Capozzo A², Cavallaro LV³

(1) CONICET - Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Virología.

(2) CONICET – INTA Castelar, Instituto de Virología. (3) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Virología. (3) CONICET – Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Química Medicinal.

La diarrea viral bovina es una enfermedad que afecta a los bovinos y está asociada a la infección con el virus de la diarrea viral bovina (BVDV), virus ARN del género *Pestivirus*. BVDV se clasifica en genotipos que pueden presentar dos biotipos: citopático (CP) y no citopático (NCP). Además de las infecciones agudas, transitorias, puede generar infecciones persistentes (IP) como resultado del pasaje transplacentario de cepas NCP en los primeros 125 días de gestación. Los animales con IP son considerados la principal

fuelle de transmisión de BVDV, ya que eliminan virus a lo largo de toda su vida. Las infecciones por BVDV generan pérdidas económicas en la industria ganadera en todo el mundo. No existen hasta el momento antivirales disponibles para su tratamiento. Previamente hemos reportado la actividad anti-BVDV *in vitro* de la tiosemicarbazona derivada de 5,6-dimetoxi-1-indanona (TSC) ($CE_{50}=3.8\mu M$), que actúa como un inhibidor no nucleosídico de la ARN polimerasa viral (RdRp). El objetivo fue caracterizar el mecanismo de acción de un derivado N^4 -arilsustituído de TSC (compuesto 8, C8), de mayor potencia ($CE_{50}=0.7\mu M$), y conocer su actividad *in vitro* frente a BVDV de distintos genotipos y biotipos. Para la caracterización del mecanismo de acción se utilizó BVDV-1 cepa NADL (CP) en células MDBK. Se evaluó la actividad virucida, el efecto del pretratamiento de las células, y el efecto del tiempo de adición de la droga sobre la producción viral infectiva en los sobrenadantes luego de 48 h de infección (recuento de UFP) y la producción de ARN viral intracelular a 24 h (q-RT-PCR). Para identificar el blanco viral se seleccionaron BVDV resistentes a C8 (BVDV 8^R) por clonados biológicos sucesivos en presencia del compuesto. De los virus obtenidos se secuenció la región del genoma que codifica para la RdRp. Por otra parte, se evaluó la actividad antiviral de C8 frente a cepas CP (Oregon, Singer y VS-253) mediante ensayos de reducción del efecto citopático (MTS/PMS), y frente a cepas NCP (NY1, NY93, 98-124 y ncp141031) por un ELISA en células utilizando un anticuerpo anti-NS3 (proteína no estructural de BVDV). Los resultados obtenidos demostraron que C8 no posee actividad virucida ni induce un estado antiviral en células MDBK. La máxima inhibición de la replicación viral fue observada cuando C8 se adicionó en las primera 6 h post-adsorción, tiempo que coincide con el comienzo de la síntesis del ARN viral. Por otro lado, se pudieron seleccionar cinco variantes BVDV 8^R ($CE_{50}>15\mu M$) y todas ellas presentaron una mutación que se traduce en un cambio de aminoácido N264D en la RdRp. El mismo cambio fue asociado a la resistencia a TSC. Finalmente, C8 resultó activo frente a todos los genotipos y biotipos de BVDV estudiados hasta el momento. En conjunto, estos hallazgos sugieren que C8 actúa sobre la RdRp de BVDV inhibiendo la síntesis de ARN viral y convierten C8 en un nuevo compuesto líder para el desarrollo de un antiviral útil en medicina veterinaria para el control de las infecciones por BVDV.

EFFECTO DEL SUPERAGONISTA DE GNRH ACETATO DE DESLORELINA EN CANINOS DOMÉSTICOS POSTNATALES

Faya M^{1,3}, Grisolia Romero M^{1,2}, Marchetti C¹, Priotto M¹,
Zurbriggen G¹, Graiff D¹, Gobello C^{2,3}

(1)Universidad Católica de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Córdoba. Argentina. (2)Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias. La Plata. Argentina. (3)CONICET. Buenos Aires. Argentina.

En la mayoría de los mamíferos, el período posnatal, es una ventana de tiempo crítica de vulnerabilidad reproductiva. La utilización de análogos de GnRH, durante este periodo, en mamíferos, produjo un retraso en el comienzo de la pubertad. En este trabajo se evaluó la eficiencia y la seguridad de la administración de una dosis alta de acetato de deslorelinea en caninos domésticos postnatales. Veinte caninos mestizos fueron asignados al azar al grupo DESLO (n = 12), al cual se le administró 18.8 mg de acetato de deslorelinea, en forma de implantes subcutáneos (Suprelorin, Virbac, France), en las primeras 24 horas de nacidos, o

al grupo CONTROL (n = 12). Se realizó el seguimiento de los animales, registrando cambios en el comportamiento sexual, examen físico, citología vaginal, espermograma, determinación de testosterona [T] y estradiol-17 β [E2] hasta que alcanzaron la pubertad y luego fueron gonadectomizados. Las gónadas fueron evaluadas macro y microscópicamente. Los datos fueron analizados estadísticamente. Todos los perros del grupo CONTROL (12/12; mediana 259 días) y 9/12 del grupo DESLO (mediana 577.5 días) alcanzaron la pubertad ($P < 0.01$). Al momento de escribir este resumen, tres perros del grupo DESLO no alcanzaron la pubertad y tienen 730 días de edad. Ninguna de las hembras presentó efectos colaterales ($p > 0.1$), mientras dos machos del grupo DESLO presentaron criptorquidismo bilateral. No hubo diferencias significativas en la altura corporal ($P > 0.1$) y el peso corporal ($P > 0.1$) durante todo el experimento, terminando ambos grupos de crecer a una edad similar (CONTROL 29.25 ± 0.90 vs. DESLO 29.75 ± 2.44 semanas; $P > 0.1$). En los perros machos la T sérica permaneció en niveles basales (< 0.2 ng/mL) hasta las semanas 16.8 ± 1.8 y 57.3 ± 5.6 , en los grupos CONTROL y DESLO, respectivamente ($P < 0.05$). Luego comenzó a incrementarse hasta la pubertad. En todas las hembras, las concentraciones séricas de E2, permanecieron basales (< 5 pg/mL), excepto en el período peripuberal, con valores > 12 pg/mL. La concentración de la hormona antimülleriana en los animales impúberes fue de 21.3 ng/ml y 4.9 ng/ml en los dos machos y < 0.1 ng/ml en la hembra. El estudio histomorfométrico de las gónadas no reveló diferencias significativas en el caso de los ovarios ($P > 0.1$). En el caso de los testículos se observó una disminución de la altura del epitelio germinal ($P < 0.1$). Se concluyó que la aplicación de 18.8 mg de acetato de deslorelina, durante el período postnatal temprano, disminuyó los esteroides sexuales y retrasó la pubertad, en forma mayormente reversible en ambos géneros sin efectos colaterales a excepción de un 33% de criptorquidismo y deterioro de la morfometría testicular. Este trabajo demuestra que sería posible retrasar la aparición de la pubertad por más de 24 meses con este protocolo farmacológico.

OSTEOSÍNTESIS DISTAL DE FÉMUR MEDIANTE UN TUTOR EXTERNO HÍBRIDO. REPORTE DE UN CASO

Fernández Mendy M¹, Corral FJ¹, Bruzzone MC², Mele CE², Guerrero JA¹

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, ¹Cátedra de Cirugía y ²Primera Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas, Buenos Aires, Argentina

Se presentó a consulta al Hospital Escuela de la FCV-UBA, un canino, mestizo, macho, de 9 meses de edad que había sufrido un politrauma hacía 2 semanas. Producto del trauma se había realizado la amputación del miembro anterior derecho, presentando además una subluxación del hombro izquierdo y una fractura distal de fémur derecho (Salter Harris tipo I) de la que había sido intervenida dos veces, sin éxito. El paciente se encontraba en situación no ambulatoria, con una dehiscencia e infección de la herida de la fractura de fémur derecho, asomando del cabo proximal dos clavos intramedulares y un alambre por lo que la lesión se clasificó según Gustillo y Anderson como una fractura abierta grado 3A. Además, la herida de la amputación presentaba una pequeña dehiscencia. Se solicitaron estudios prequirúrgicos de rutina y se decidió la resolución de la fractura lo antes posible.

Debido al tamaño del cabo distal y la presencia de un proceso infeccioso grave se planificó realizar una nueva osteosíntesis mediante un tutor externo híbrido (un hemi-aro circular en distal y un tutor uniplanar unilateral en proximal). Luego de realizar una anestesia general y preparación del paciente para cirugía, se desbridó nuevamente la herida. Se procedió a reducir la fractura y se insertó un clavo intramedular retrógrado de 2 mm desde la fosa intercondílea del fémur que mantuvo estable la fractura mientras se colocó el hemi-aro con alambres de Kirshchner de 1.5 mm de diámetro paralelos a la articulación en el segmento distal. Luego se agregó la barra y se colocaron los 3 medios clavos con alambres de Kirshchner de 1.5 mm en el segmento proximal. Se comprobó una correcta estabilidad fracturaria y movilidad normal de la articulación de la rodilla. Un lavado muy abundante fue realizado con solución fisiológica, luego se tomó una muestra para cultivo. Finalmente se suturó la herida. Se realizaron radiografías postoperatorias corroborando la correcta posición de los implantes, la alineación y aposición de la fractura. Durante el postoperatorio inmediato se realizó fisioterapia 2-3 veces por semana. El paciente demoró aproximadamente 1 semana en volver a deambular por sus propios medios. La herida cicatrizó correctamente y se realizó un tratamiento antibiótico de 4 semanas con amoxicilina y ácido clavulánico (30 mg/kilo cada 12 horas vía oral). Dicho antibiótico resultó sensible al cultivo y antibiograma. A las 8 semanas posquirúrgicas se retiró el clavo intramedular. A las 12 semanas, se retiró el fijador externo híbrido evidenciando una correcta consolidación de la fractura, el paciente se mantuvo realizando fisioterapia hasta dos semanas pos extracción del tutor. Se realizaron radiografías de control a los seis meses posquirúrgico pudiendo observar una remodelación del callo fracturario. Las fracturas en animales que sufrieron una amputación previa son verdaderos desafíos para el cirujano ortopedista ya que el uso del miembro operado será inmediato en el postoperatorio y con una alta carga de peso por el hecho de contar solo con tres extremidades solamente. Las fracturas infectadas o contaminadas son una de las indicaciones de los tutores externos.

CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO DE LA CEPA NATIVA DE MICROALGAS *PARACHLORELLA KESSLERI* (CHLOROPHYTA) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

Fernández RS¹, Viau VE^{1,2}, Juárez AB^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. ²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, CONICET-Universidad de Aires, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA), Buenos Aires, Argentina.

El cultivo de microalgas es un sistema biológico eficiente de utilización de la energía lumínica para producir materia orgánica. Es una práctica cada vez más extendida dado que estos microorganismos pueden sintetizar y acumular compuestos biotecnológicos con usos en la industria alimenticia, farmacéutica y nutracéutica, y para la producción de biocombustibles. La capacidad de síntesis de estos compuestos depende de la cepa de

microalga y del tipo de sistema de cultivo que se utilice para su crecimiento. De modo que al estudiar una cepa con potencial interés comercial resulta fundamental determinar primero su crecimiento en laboratorio ya que nos brindará información valiosa para optimizar su producción. En este contexto, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el crecimiento de *Parachlorella kessleri* (Chlorophyta) en condiciones de laboratorio. Para ello, se desarrollaron inóculos de la cepa en medio de cultivo basal de Bold (BBM) y se incubaron en cámara de cultivo a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ y luz continua. Para obtener una alta biomasa, el inóculo se sembró en erlenmeyers conteniendo 1,3 L de BBM a una densidad inicial de 500.000 células/mL. Los cultivos se incubaron en cámara de cultivo bajo las mismas condiciones y con aireación por burbujeo. Cada dos días se tomaron alícuotas de tres erlenmeyers, y se realizaron recuentos celulares con cámaras de Neubäuer en el microscopio óptico. Bajo estas condiciones de cultivo la cepa de *P. kessleri* mostró una curva de crecimiento caracterizada por una fase lag de 3 días y una fase de crecimiento exponencial de 28 días, alcanzando finalmente la fase estacionaria a partir de los 30 días de cultivo. Además, a los 18 y 26 días (correspondiendo a la fase de crecimiento exponencial) se cosecharon 5 litros de cultivo, cada vez, mediante centrifugado a 5000 rpm y la biomasa obtenida se liofilizó con el objetivo de determinar su rendimiento. La producción de biomasa seca obtenida a los 18 días de cultivo fue de 3.6 gr; mientras que a los 26 días alcanzó un rinde de 5.4 gr (35% más que al día 18). Estos resultados constituyen un importante antecedente sirviendo de base para evaluar diferentes condiciones de cultivo que maximicen la biomasa de *P. Kessleri*, con el fin ulterior de evaluar su estado fisiológico y la capacidad de almacenar compuestos de interés comercial, particularmente nutricionales.

COMPARACIÓN DE DOS TÉCNICAS QUIRÚRGICAS PARA LA PRODUCCIÓN DE TRAUMA MEDULAR AGUDO EN RATAS

Ferraro J, Blanco C, Martín E, Pellegrino F, Vidal Figueredo R

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

Las lesiones de médula espinal por contusión experimental en ratas se han utilizado para comprender los eventos secundarios que siguen a la lesión primaria y agravan el resultado. El objetivo de este trabajo fue comparar dos técnicas para la producción del Trauma Medular Agudo (TMA) en ratas y elegir la alternativa que mejor reproduzca su fisiopatología, valorando la semiología neurológica y comparando las lesiones macro y microscópicas secundarias. Se utilizaron 21 ratas Sprague-Dawley macho, de peso medio 270 gramos y edad 11 semanas. Se anestesiaron y se realizó la laminectomía de T9 y 10,

exponiendo la duramadre espinal. En el grupo Control, se irrigó la zona con solución de Krebs y se suturó. En el grupo Lesionado, se dejó caer una plomada de punta triangular roma de 3 milímetros de ancho y 25 gramos, desde una altura de 20 centímetros. En el grupo Lesión Nueva Técnica (LNT), se extendió la laminectomía y se utilizó una plomada con extremo cilíndrico de 1 milímetro. Se irrigó con solución de Krebs y se suturó. Se aplicó Tramadol y se distribuyeron al azar grupos para evaluar a las 12, 24 y 48 horas. Se realizó el examen neurológico y posterior eutanasia. Se extrajeron los segmentos de médula espinal, se fijaron y procesaron para microscopía óptica. A nivel semiológico, el grupo Control no presentó particularidades. El grupo Lesionado mostró deficiencia en la actividad motora, desplazamiento en posición “de foca”, y pérdida de propiocepción sin sensibilidad superficial. El grupo LNT presentó paraplejía de miembros posteriores, pérdida de propiocepción y de sensibilidad superficial y profunda, vejiga pletórica, esfínter dilatado y micción por rebasamiento. En la necropsia, el grupo Control no presentó lesiones. El grupo Lesionado mostró grados de lesión poco perceptibles en la zona de impacto. En el grupo LNT se encontró seroma y lesiones hemorrágicas en médula. Histológicamente, el grupo Lesionado presentó desorganización de la sustancia blanca en cordones dorsales y edema vasogénico, sin áreas hemorrágicas o compatibles con lesión secundaria, excepto en pocos casos quistes mielínicos y edema de mielina. En el grupo LNT, en cortes longitudinales se observó hemorragia extensa y desorganización de la sustancia blanca, necrosis licuefactiva, edema e infiltración de células mononucleares. En cortes transversales, edema de mielina y desorganización de la sustancia blanca. Se concluyó que la laminectomía por sí sola no produjo alteraciones funcionales. La técnica quirúrgica modificada arrojó resultados en concordancia con los descritos por otros autores, y reprodujo la fisiopatología del TMA. Los cambios inmediatos fueron más evidentes en el grupo LNT. La continuidad de la aplicación de la nueva técnica permitirá la puesta a prueba de tratamientos de la reacción secundaria.

DISPOSICIÓN PLASMÁTICA DEL BUTORFANOL TRAS SU ADMINISTRACIÓN INTRANASAL E INTRAVENOSA EN EQUINOS

Ferreira V, Zapata G, Landoni MF

Cátedra de Farmacología General y Clínica y Hospital Escuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

La vía intranasal en equinos posee un gran potencial para la administración sistémica de fármacos. En esta especie, aun cuando no hay estudios completos y profundos sobre las características anatómo-fisiológicas de la cavidad nasal, su gran superficie e irrigación (potencial área de absorción) permite inferir su potencialidad para la administración sistémica de fármacos. El objetivo del presente estudio fue analizar el perfil de disposición plasmática del butorfanol tras su administración intranasal e intravenosa en equinos. Se utilizaron 6 equinos adultos, clínicamente sanos con estado nutricional aceptable. Se aplicó un diseño cross-over de dos vías en el que cada animal experimental recibió butorfanol al dosis de 0.05 mg/kg por las vías intravenosa (bolo) e intranasal (bomba spray monodosis

calibrada en 200 µl/disparo, Coster Packaging, Argentina). Se extrajeron muestras de sangre a tiempos pre-determinados. Las concentraciones de butorfanol en las muestras sanguíneas extraídas fueron dosadas por HPLC espectrometría de masa en el Laboratorio de Control de Doping Secretaría de Deporte Ministerio de Desarrollo Social de la Nación. Las curvas de disposición plasmática de butorfanol tras su administración intravenosa e intranasal en equinos fueron analizadas a través del programa WinNonlin (SCI Software, Lexington, KY, USA) aplicando modelos no compartimentales. Tras la administración IV la concentración máxima promedio observada, al primer tiempo muestral, fue de 38.10 ± 56.57 ng/ml. El alto valor de desvío estándar es reflejo de uno de los animales experimentales que mostró un perfil outlier. Las concentraciones plasmáticas se mantuvieron por encima del límite de cuantificación (0.1 ng/ml) hasta la hora 4 post-administración en todos los animales experimentales; en cuatro de ellos este tiempo se extendió hasta las 10 horas post-administración. Tras la administración intranasal las concentraciones fueron menores a las observadas tras la administración intravenosa. El pico promedio de concentración fue de 1.95 ± 1.75 ng/ml y se presentó a las 2 horas post-administración. La variabilidad inter-sujetos, especialmente en los primeros tiempos muestrales, fue importante. Butorfanol administrado por la vía intravenosa se distribuyó ampliamente, como refleja su alto volumen de distribución (1.3 l/kg), eliminándose rápidamente, con una vida media para este proceso de 2.7 h. Tras la administración intranasal, fue rápidamente absorbido. La biodisponibilidad fue alta, 55 %, superior a la reportada para la administración intramuscular. La vida media de eliminación tras la administración intranasal, fue más prolongada que la observada tras la administración IV (4.5 h); la diferencia refleja el tiempo de absorción. No se observaron diferencias significativas entre las dos vías de administración en el volumen de distribución ni en el clearance. En conclusión, considerando la alta biodisponibilidad, el casi nulo aclaramiento local, la practicidad y el bajo nivel de stress, la vía intranasal resulta de una vía muy promisorias como alternativa a la vía intravenosa para la administración sistémica de butorfanol en los equinos.

EFFECTO DEL TROLOX SOBRE EL ESTADO REDOX, EL POTENCIAL DE MEMBRANA MITOCONDRIAL Y FERTILIZACIÓN IN VITRO DEL ESPERMATOZOIDE BOVINO CONGELADO-DESCONGELADO

Filosa A, Morado S, Córdoba M

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

El objetivo del trabajo fue analizar el efecto antioxidante del trolox sobre el mejoramiento de la calidad de semen congelado-descongelado bovino y la inducción de la capacitación con heparina (H) a través de los siguientes parámetros funcionales: capacitación, medición del estado redox, potencial de membrana mitocondrial y la fertilización in vitro (FIV). Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey ($p < 0,05$). El espermatozoide bovino

es dependiente del acoplamiento mitocondrial que determina su estado redox y energético. Un análogo soluble de la vitamina E, trolox (6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico), mejora la calidad espermática post-descongelamiento en espermatozoides humanos pero aún no ha sido demostrado en bovino. La H fue usada para promover la capacitación para la posterior fertilización in vitro con y sin en agregado de trolox (n=4). El metabolismo oxidativo espermático, podría ser uno de los responsables del estado redox. De esta manera se evaluó el potencial de membrana mitocondrial mediante la tinción mitocondrial 5,5', 6,6'- tetracloro-1,1', 3,3'-ioduro de tetra-etil-benzimidazolil-carbocianina (JC-1), que distingue entre espermatozoides con alta y baja proporción de mitocondrias funcionales. Las mediciones fueron realizadas en un citómetro de flujo BD FACS Canto II con 488 nm de EX y filtros FL1 (EM: 530 nm) y FL2 (EM: 585 nm). El potencial de membrana mitocondrial fue expresado en porcentaje de unidades arbitrarias de fluorescencia de células en el rango de rojo, observándose un incremento en muestras tratadas con H $55,32 \pm 3,6\%$ con respecto a su control ($p < 0,05$) y una disminución de este porcentaje en muestras tratadas con H/Trolox de $16 \pm 6,0\%$ ($p < 0,05$). Se evaluó, también, la capacitación por la coloración epifluorescente de clorotetraciclina en presencia de H siendo el porcentaje de capacitación $26,50 \pm 7,42\%$, significativo respecto a su control ($p < 0,05$). El uso de trolox no cambió significativamente estos valores. La evaluación de la viabilidad y la integridad acrosomal se realizó con la coloración vital de azul tripán y por microscopía óptica de Contraste Diferencial Interferencial, no obteniéndose diferencias entre los tratamientos con H, con y sin el agregado de trolox ($p > 0,05$). Por último, la evaluación del nivel de especies reactivas del oxígeno se realizó mediante el agregado de MitoSOX Red con citómetro de flujo (filtro FL2 EM: 585 nm), las muestras tratadas con H con o sin trolox no presentaron diferencias significativas en su nivel de anión superóxido. Con respecto a la FIV con espermatozoides tratados con H y H /trolox se obtuvo un porcentaje de clivaje de 89,0 y 80,0 %, respectivamente ($p > 0,05$). El agregado de trolox provocaría varios efectos, un menor potencial mitocondrial sin modificar nivel de anión superóxido y de capacitación del espermatozoide debido a su efecto antioxidante. Sin embargo, este estado de la gameta no alteró el porcentaje de clivaje.

TRATAMIENTO INTERDISCIPLINARIO EN HIPEREXTENSIÓN TARSAL BILATERAL EN FELINOS. REPORTE DE CASO

Fort S¹, Mercado M², Bruzzone C³, Rodriguez M⁴

1,2 Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Argentina. Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales. 3Unidad de Cirugía 4 Evaluación Unidad Emergencias HE. soledadfort@hotmail.com

Dentro de las anomalías congénitas en los miembros, se encuentra el síndrome de hiperextensión tarsal felino bilateral “twisted leg syndrome”. Debido a la escasa información científica el objetivo de este trabajo fue comunicar un caso de anomalía congénita tarsal, con la intervención interdisciplinaria de las Unidades de Fisioterapia y Rehabilitación, Cirugía y Clínica Médica. En la bibliografía científica consultada el tratamiento indicado es el quirúrgico finalizado el desarrollo óseo y no contempla el tratamiento fisioterapéutico. En este caso se instauró un tratamiento quirúrgico a corta edad y fisioterapia pre y post quirúrgica con el fin de acompañar el crecimiento, promover la

movilidad de la articulación afectada y restaurar la biomecánica del paciente. En el Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Buenos Aires, asistió un felino, común europeo, 6 días de edad, con dificultad en la deambulaci3n, deformaci3n bilateral congénita, hiperextensi3n tarsal bilateral. En estudios radiol3gicos se observ3 luxaci3n intertarsal con severa deformaci3n de tejidos blandos sin alteraciones del desarrollo 3seo, sugerente de trastorno ligamentoso congénito. El protocolo fisioterap3utico pre-quir3rgico consisti3 en 8 sesiones, 1 vez por semana de Campos Magn3ticos Puls3tiles de baja frecuencia marca VIP durante 40 minutos y masoterapia. La valoraci3n clínic a se realiz3 con Escala de Dolor Descriptiva Simple, Goniometría y Circunferencia Muscular. El tratamiento quir3rgico de ambos miembros se instaur3 a los 2 meses de edad. Se redujeron las articulaciones tibio-tarsal y tarsometatarsiana con fijaci3n esquel3tica externa durante 3 semanas con angulaci3n fisiol3gica. El protocolo fisioterap3utico post quir3rgico fue de 16 sesiones, 1 vez por semana: Campos Magn3ticos Puls3tiles de baja frecuencia marca VIP 40 minutos. Luego de la extracci3n de los tutores, el paciente deambul3 con normalidad y los ángulos articulares se mantuvieron dentro de los par3metros fisiol3gicos se incorporaron movimientos pasivos y activos. Si bien en la bibliografía científic a consultada el tratamiento quir3rgico es la panartrodesis tarsal finalizado el crecimiento; en este caso se pudo observar que la intervenci3n quir3rgica antes de completar el crecimiento acompañada por tratamiento fisioterap3utico pre y post quir3rgico fue beneficioso para restaurar la funcionalidad de ambos miembros posteriores, mejorando así la biomecánica global.

PREVALENCIA DE MICROORGANISMOS BACTERIANOS EN MUESTRAS DE LECHE CRUDA Y SU PERFIL DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS EN SIETE TAMBOS DEL DEPARTAMENTO DE ITAPÚA EN EL AÑO 2017

Franco F, Martínez M

Federaci3n de Cooperativas de Producci3n (FECOPROD)

El trabajo tuvo como objetivo identificar los causantes de infecciones mamarias que afecta el ganado en los distintos sistemas lecheros de manera a producir leche de calidad y de alto valor econ3mico. El mismo se realiz3 en el laboratorio de la FECOPROD (Federaci3n de Cooperativas de Producci3n) con el objetivo de determinar los microorganismos bacterianos presentes en muestras de leche cruda y su perfil de resistencia a los antimicrobianos en siete tambos del Departamento de Itapúa desde el mes de agosto a noviembre del ańo 2017. Para el estudio fueron utilizados 70 animales (100%) de la especie bovina, en lactaci3n, clínicamente sanos, sin distinción de raza. Se extrajeron muestras de leche y se colocaron en tubos estériles sin conservantes químicos para su posterior envío al

laboratorio y estudio. Cada muestra se sembró en agar sangre, Mac Conkey, y Baird Parker. Se incubaron a 37 °C de 24 a 72 horas. En las placas con desarrollo en agar se procedió a la identificación bioquímica. Se identificó un total de 20 microorganismos distintos de un total de 172, tomando como referencia los 5 más incidentes teniendo en mayor porcentaje a los *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN) (26,16%), seguido por la *Pseudomona aeruginosa* (16,28%), *Pseudomonas putida* (7,56%), *Escherichia coli* (6,40%) y *Stenotrophomas maltophilia* (5,81%). Los 5 microorganismos más incidentes presentaron más de 35% de resistencia, utilizando el sistema Vitek 2 compact, las resistencias encontradas fueron: los SCN resistentes a bencilpenicilina 94,7%, clindamicina 57,8%, cefpodoxima 47,7%, *Pseudomona aeruginosa*: nitrofurantoina 92,8%, amoxicilina/Ácido clavulánico, ampicilina, cefpodoxima, ceftiofur, cloranfenicol, trimetoprim/Sulfametoxazol todos con 78,5%, enrofloxacin y tetraciclina 71,4%, *Pseudomonas putida*: amoxicilina/Ácido clavulánico, ampicilina, cefpodoxima, ceftiofur, cloranfenicol, nitrofurantoina con 100%, trimetoprim/Sulfametoxazol 92,3%, tetraciclina 61,5%, *Escherichia coli*: cloranfenicol 54,5%, ampicilina 36,3 % y *Stenotrophomas maltophilia* que presentó bajo porcentaje de resistencia. En general los porcentajes de resistencia a antimicrobianos entre los SCN analizados fue alta, el valor más elevado se observó para la penicilina, lo que indica que la resistencia mediada por la β -lactamasa se difunde ampliamente entre los aislados lo que obliga al control en el uso indiscriminado de estos antibióticos. La detección de *P. aeruginosa* en la leche hace necesario implementar acciones para su eliminación como la difusión de los resultados obtenidos a los profesionales y productores involucrados, así como la presentación de instructivos para la desinfección de reservorios en agua. Debido a que es un microorganismo ubicuo, se deberán considerar todas las medidas de higiene necesarias para la obtención de una leche de calidad.

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE LLAMAS CON SEMEN CONGELADO. RESULTADOS PRELIMINARES

Fumuso FG^{1,2}, Arraztoa CC^{1,2}, Chaves MG¹, Neild DM¹,
Giuliano SM¹, Miragaya MH¹, Carretero, MI^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Av. Chorroarín 280, Buenos Aires, Argentina. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

La inseminación artificial (IA) con semen criopreservado sigue siendo uno de los campos de investigación más activos en Camélidos Sudamericanos (CSA) ya que aún, no hay protocolos eficientes que permitan la aplicación comercial de dicha biotecnología. Hasta el presente los índices de preñez con semen congelado en CSA son desalentadores, obteniendo entre un 0 y un

26 %. El objetivo de este estudio fue obtener preñeces mediante IA con semen congelado de llama. Se obtuvieron un total de 6 eyaculados de llama mediante electroeyaculación bajo anestesia general, todos los eyaculados presentaron valores medios normales para la especie. Luego de la evaluación, cada eyaculado se diluyó 4:1 en una solución de colagenasa al 0,1% y se incubó durante 4 minutos a 37 °C. Se procedió a la centrifugación durante 8 minutos a 800 g y el pellet fue resuspendido en un diluyente a base de yema de huevo, lactosa al 11 % y dimetilformamida al 7 %. La curva de descenso de la temperatura se realizó en tres fases colocando las pajuelas en una mezcla refrigerante de alcohol - acetona sobre los vapores de nitrógeno líquido dentro de un termo de 10 litros y luego se sumergieron en nitrógeno líquido y se almacenaron a - 196 °C hasta su evaluación. El descongelamiento se realizó a 37 °C durante 60 segundos. Al descongelado, la movilidad espermática progresiva observada fue de $22,5 \pm 9,3$ %; la viabilidad de $22,8 \pm 12,8$ % y la funcionalidad de membrana de $26,7 \pm 13,4$ % (media \pm DE). Para realizar la IA se utilizaron 6 hembras Lama glama, en las cuales la dinámica ovárica fue monitoreada por palpación y ultrasonografía transrectal. En el momento de presentar un folículo dominante (\geq 7 mm de diámetro) se les administró una única dosis de 8 μ g de buserelina (Receptal®) vía endovenosa para la inducción de la ovulación. A las 24 h post-inducción, las hembras fueron revisadas cada 2 h hasta detectar la ovulación, momento en el cual cada una se inseminó con una dosis proveniente de un eyaculado. El diagnóstico de la gestación se realizó por ultrasonografía transrectal a los 24 días pos-ovulación. El intervalo desde la inducción hasta la detección de la ovulación fue de $28,8 \pm 1,0$ h. No se obtuvieron preñeces utilizando el protocolo de criopreservación de espermatozoides de llama aplicado. Existen todavía muchas áreas de estudio en la búsqueda de un protocolo de criopreservación con buenos resultados reproductivos, el uso de crioprotectores combinados y la aplicación de otras curvas de criopreservación, son algunos de los puntos de interés a seguir estudiando.

EFFECTO DE DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVO SOBRE LA MORFOLOGÍA DE FOLÍCULOS PREANTRALES PORCINOS CONTENIDOS EN LÁMINAS DE CORTEZA OVÁRICA. RESULTADOS PRELIMINARES.

Gabriel P¹, Fratto MC¹, Cisale H^{1,2}, Fischman ML¹

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

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

El cultivo in vitro de láminas de tejido ovárico es un método eficaz para evaluar los potenciales daños que pudieran ocasionar los agentes crioprotectores y el proceso de criopreservación sobre los folículos preantrales (FPA). La composición del medio de cultivo utilizado influiría en la eficiencia del proceso. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de distintos porcentajes de suero fetal bovino (SFB) en el medio de cultivo en presencia o ausencia de hormona folículo estimulante (FSH), sobre la morfología de los FPA porcinos contenidos en láminas de corteza ovárica. Se tomaron muestras de láminas de corteza de ovarios provenientes de faena (n=4). Los controles fueron fijados inmediatamente en solución de Bouin por 24 hs. Las muestras restantes fueron cultivadas durante 24 hs a 39 °C, en cámara húmeda con 5% de CO₂, en placas de cultivo de 12 pocillos. Se utilizó un medio de cultivo base: D-MEM, ITS (1mg/ml insulina, 0,55 mg/ml transferrina, 0,5 µg/ml selenio), 2 mM glutamina, gentamicina 10 µg/ml y anfotericina B 10 µg/ml, combinado con concentraciones crecientes de SFB (0 %, 5%, 10% y 20%), en ausencia o presencia (50 ng/ml) de FSH pituitaria porcina. Luego se levantaron las láminas y se fijaron de igual manera que los controles. La evaluación morfológica se llevó a cabo sobre cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-Eosina con microscopía de campo claro (400x). El análisis estadístico se realizó mediante el test de Friedman (p< 0,05). Se analizaron un total de 505 FPA. El uso de un medio de cultivo con bajos porcentajes de SFB (0 y 5%) en ausencia de FSH produjo una reducción significativa en el porcentaje de FPA normales con respecto al control y los restantes tratamientos (Primordiales: Control: 90,75%; 0% SFB: 26,19%; 5% SFB: 20,27%; 10% SFB: 69,17%; 20% SFB: 72,22%. Primarios: Control: 88,38%; 0% SFB: 4,55%; 5% SFB: 27,07%; 10% SFB: 47,52%; 20% SFB: 72,20%). En cambio, con el agregado de FSH se observó una reducción significativa del porcentaje de FPA morfológicamente normales al combinarla con 20% de SFB en comparación con el control y los demás tratamientos (Primordiales: Control: 90,75%; 0% SFB: 80,74%; 5% SFB: 82,41%; 10% SFB: 86,11%; 20% SFB: 38,34%. Primarios: Control: 88,38%; 0% SFB: 33,33%; 5% SFB: 61,34%; 10% SFB: 62,04%; 20% SFB: 23,22%). Diversos estudios sugieren que los sistemas de cultivo que contienen FSH mantendrían la morfología de los FPA y que la misma sería un factor de supervivencia folicular. La presencia de SFB en el medio de cultivo estimularía el metabolismo celular y disminuiría el daño potencial por stress oxidativo y osmótico. Estos estudios concuerdan con los resultados obtenidos ya que en ausencia de ambos factores se redujo significativamente el porcentaje de FPA morfológicamente normales. Se espera que un cultivo más prolongado (6 días) permita evidenciar de forma más significativa el efecto de la FSH en el medio.

CONSUMO DE GLUCOSA DE LOS COCS BOVINOS DURANTE LA MADURACIÓN IN VITRO EN PRESENCIA DE MODULADORES DE LA β -OXIDACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

Gagnetten P¹, Cetica P^{1,2}, Gutnisky C^{1,2}

1 Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. Química Biológica. 2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Investigaciones en Producción Animal. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias.

El objetivo de este trabajo fue determinar el consumo de glucosa de los COCs durante la maduración y la influencia de la actividad de la β -oxidación de ácidos grasos sobre este parámetro. Los COCs inmaduros se obtuvieron por punción aspiración de ovarios provenientes de faena. Se utilizaron solamente aquellos ovocitos completamente rodeados por un cumulus denso y compacto. La maduración se realizó en medio 199 suplementado con 5 % de suero fetal bovino 0,2 $\mu\text{g/ml}$ de FSH y 2 $\mu\text{g/ml}$ de LH y 50 $\mu\text{g/ml}$ de sulfato de gentamicina, bajo aceite mineral a 39°C, 5 % CO₂ en aire humidificado durante 22 hs. El medio fue suplementado con un inhibidor o un estimulador de la β -oxidación, etomoxir 50 mM (E) o carnitina 0,6 mM (CA), respectivamente. La maduración se realizó en microgotas individuales para determinar el consumo de glucosa del COC en forma individual. La concentración de glucosa en el medio de cultivo después de la maduración fue determinada con un kit comercial (Glycemia, Wiener). En cada experiencia (n=50) se incluyeron microgotas de medio sin células como control de la concentración de glucosa. La comparación entre el consumo de glucosa con los distintos tratamientos fue realizada a través de la prueba estadística de ANOVA. Se observó una disminución significativa en el consumo de glucosa en el grupo suplementado con CA respecto al control (15,82 nmoles de glucosa/COC/22hs vs. 22,64 nmoles de glucosa/COC/22hs, respectivamente.) Mientras que en grupo E el consumo de glucosa fue significativamente mayor que en el control (29,02 nmoles de glucosa/COC/22hs vs 22,64 nmoles de glucosa/COC/22hs, respectivamente). Con estos resultados se concluye que la actividad de la vía de β -oxidación de ácidos grasos estaría inversamente vinculada con el consumo de glucosa del COC bovino durante la maduración in vitro.

DETECCIÓN DE TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A CONJUNTIVA DE TERCER PÁRPADO DE OVINOS PARA SU APLICACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE SCRAPIE

Gallardo MJ^{1,2}, Capellino F^{1,3}, Blanco Viera FJ¹, Chacana P¹, Delgado FO¹

¹Instituto de Patobiología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria;

²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas; ³Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.

gallardo.mauro@inta.gob.ar

El Scrapie o Prurigo Lumbar es una enfermedad neurodegenerativa transmisible producida por una isoforma anómala de una proteína constitutiva denominada Prion (PrP^{Sc}) que afecta a ovinos y caprinos. Perteneció al grupo de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) junto con la Encefalopatía Espongiforme Bovina (BSE). Estas enfermedades terminan invariablemente con la muerte de los individuos afectados, careciéndose a la fecha de un tratamiento curativo. El diagnóstico de las EET se basa en la detección post mortem de la PrP^{Sc} mediante diversas técnicas y en la observación de lesiones compatibles en el Sistema Nervioso. En el caso de Scrapie es posible el diagnóstico preclínico de la enfermedad dada la particular acumulación temprana de PrP^{Sc} en tejido linfoide (TL). Por lo tanto, puede diagnosticarse en animales vivos durante el periodo de incubación de la enfermedad. Para ello se utiliza el TL asociado a mucosas de fácil acceso como la conjuntiva del tercer párpado o la mucosa rectal, necesitándose al menos 6 folículos linfoides. En la Argentina no se han identificado casos de Scrapie ni de otras EET. Sin embargo, de las enfermedades de este grupo, Scrapie es la de mayor difusión, reportándose el mayor número de casos nuevos a nivel mundial y su difusión entre rumiantes menores genera barreras comerciales para ovinos, caprinos y sus productos derivados. El objetivo de este trabajo fue analizar el tejido linfoide asociado a tercer párpado a partir de biopsias de ovinos para determinar su aptitud en el diagnóstico preclínico de Scrapie como posible herramienta para evitar el ingreso de la enfermedad. Se realizaron biopsias de la conjuntiva del tercer párpado en 10 ovinos. Las muestras fueron fijadas en formol al 10% y se procesaron con los protocolos de rutina de inclusión en parafina y coloración con hematoxilina y eosina. Se encontraron folículos linfoides en 3 de las biopsias analizadas, y de estas sólo en 1 animal se observó la cantidad óptima para realizar el diagnóstico preclínico. En 3 de las muestras se observaron acúmulos de células linfoides sin la estructura característica de folículo. Si bien son preliminares, los resultados obtenidos indicarían que la presencia de TL en mucosa de tercer párpado es variable y no se encuentra en cantidad suficiente en la totalidad de los ovinos. Esto dificultaría la aplicación de esta estrategia para el diagnóstico preclínico de Scrapie. Estudios realizados en otros países indican que el desarrollo de TL puede ser variable. Se prevé continuar los estudios con ovinos y caprinos de diferentes edades y zonas geográficas para determinar si el desarrollo del TL en el tercer párpado varía con la edad y/o factores ambientales. Es necesario además caracterizar el tipo de células presentes en los acúmulos mencionados para estimar su utilidad diagnóstica. Esta información sería de interés al momento de implementar un sistema de vigilancia para Scrapie.

REPORTE DE CEPAS LOCALES DE MYCOPLASMAS HEMOTRÓPICOS EN FELINOS

Gallardo MJ^{1,2}, Mesplet M¹, Jaliquias A⁴, Martínez Vivot M¹, Guida N¹, Guillemi E^{1,3}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas ²Instituto de Patobiología, ³Instituto de Biotecnología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. ⁴Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Hospital Escuela. Buenos Aires. Argentina. infeccio@fvvet.uba.ar

Los mycoplasmas hemotrópicos o hemoplasmas son bacterias incultivables que parasitan la superficie de los eritrocitos de un gran número de vertebrados. En felinos domésticos se han identificado tres especies capaces de producir Anemia Infecciosa Felina (AIF): *Mycoplasma haemofelis* (*Mhf*), *Candidatus M. haemominutum* (*CMhm*) y *Ca. M. turicensis* (*CMt*), siendo común la coinfección de varias especies. Los mismos están estrechamente relacionados con hemoplasmas que infectan a los perros causando cuadros clínicos similares: *M. haemocanis* (*Mhc*) y *Ca. M. haematoparvum* (*CMhp*). La AIF se caracteriza por producir anemia, síndrome febril, pica, linfadenopatías, hepato-esplenomegalia e ictericia. Los agentes *CMhm* y *CMt* no siempre están asociados a cuadros de anemia y al parecer se manifiestan clínicamente en situaciones de inmunosupresión tales como infecciones por retrovirus, quimioterapias o corticoterapias. La presencia de gatos portadores asintomáticos es muy importante en el mantenimiento de la enfermedad en una población determinada y resulta un riesgo de infección en las transfusiones sanguíneas. El diagnóstico puede realizarse mediante la observación de los hemoplasmas en frotis, aunque esta técnica tiene una muy baja sensibilidad y especificidad, siendo frecuentes los falsos positivos y los falsos negativos. La técnica de PCR ha demostrado tener una sensibilidad y especificidad mayor y es una buena opción para el diagnóstico de portadores asintomáticos en bancos de sangre. Por ello, el objetivo de este trabajo fue identificar molecularmente mycoplasmas hemotrópicos circulantes en poblaciones felinas de la ciudad de Buenos Aires. Se tomaron muestras de sangre venosa de 15 gatos domésticos con cuadros clínicos compatibles con mycoplasmosis. Se realizó la extracción de ADN utilizando el método de Fenol-Cloroformo y precipitación con etanol. Para la identificación molecular se utilizó un protocolo de PCR que amplifica un fragmento (entre 595 y 620 pb) del gen *16SrRNA* común a las especies *Mhf*, *CMhp*, *CMhm* y *Mhc*. Se obtuvieron 5 muestras de sangre positivas con amplicones de aproximadamente 595 pb, de las cuales hasta el momento, dos fueron secuenciadas y comparadas por alineamiento con secuencias de referencia depositadas en la base de datos del Genbank. Se observó que las muestras locales resultaron idénticas entre sí pero mostraron grandes diferencias con las secuencias del gen *16SrRNA* de cepas de *Mhf*, *CMhp*, *CMhm*, *CMt* y *Mhc* reportadas a nivel mundial. El protocolo de PCR puesto a punto permitió identificar mycoplasmas hemotrópicos felinos. Las diferencias observadas sugieren que podrían corresponder a una variante de *Mycoplasma* local ya que si bien tienen un alto nivel de identidad con cepas de referencia, presentan variaciones. Se prevé analizar un mayor número de muestras para poder concluir qué variantes circulan en la población felina local.

EXPRESIÓN DE IGF-1, LEPTINA, Y SUS RECEPTORES EN OVARIOS DE LLAMA

Gallelli MF¹, Castillo VA², Miragaya MM³

²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Cs. Veterinarias, Hospital Escuela, Área de Endocrinología ³Universidad de Buenos Aires, Facultad de Cs. Veterinarias, Área de Teriogenología

La producción de camélidos sudamericanos constituye una actividad pecuaria de relevancia económica, por lo que el estudio de los factores que afectan la reproducción es de importancia para mejorar el desempeño productivo de los mismos. Los camélidos sudamericanos presentan características reproductivas particulares como periodo gestacional largo y nacimiento de una sola cría por parto, lo que determina un bajo desempeño reproductivo. Además son comunes los casos de ausencia de desarrollo folicular y de ovulación. En diversas especies está estudiado que estos eventos son regulados por gonadotropinas y otras hormonas y factores de crecimiento, incluyendo a IGF-1 y leptina. Son escasos los reportes que estudian el efecto de los mismos en la función ovárica en la llama. Por lo tanto, se propone determinar si leptina e IGF-1 se encuentran en el líquido folicular de la llama, y si las mismas varían en relación al tamaño folicular y concentración de estradiol; y evaluar si los receptores para dichas hormonas se expresan en las células foliculares. La obtención de muestras se realizará en llamas adultas no preñadas que habitan en la Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA), las cuales serán monitoreadas mediante ecografía transrectal cada 48 hs; realizándose además extracciones de sangre cada 48 hs para hacer determinaciones de estradiol. Las muestras de líquido folicular serán recolectadas mediante aspiración folicular de folículos en crecimiento tardío, madurez y regresión. Las determinaciones hormonales se realizarán mediante radioinmunoanálisis o ELISA, según disponibilidad. Previo a su procesamiento, el líquido folicular será centrifugado, separando las células de la granulosa, las cuales serán montadas en un portaobjetos y fijadas con formol bufferado al 4%, para luego realizar la identificación del receptor de IGF-1 (IGF1R) y del receptor de leptina (ObR) mediante inmunocitoquímica. Hasta el momento se realizó la puesta a punto de la técnica de inmunohistoquímica para el IGF1R y se encuentra en proceso la puesta a punto para ObR, en cortes de ovario. Asimismo se está realizando la toma de muestras de sangre y líquido folicular, quedando pendientes los dosajes hormonales. Si bien sólo cuenta con los resultados de la puesta a punto de algunas de las mencionadas técnicas, se espera que ambos receptores se expresen en el ovario y que tanto leptina como IGF-1 varíen su concentración en relación a la concentración de estradiol y al tamaño folicular.

CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS DE LOS TAMBOS DE PEQUEÑOS RUMIANTES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

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

CONICET- Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA- UBA-CONICET); Av. Chorroarín 280, C1427CWO, Buenos Aires, Argentina

En Argentina, los rumiantes se encuentran localizados en áreas bien definidas y complementarias. Mientras que el bovino se extiende desde la provincia de Buenos Aires hacia el norte, noreste y noroeste; el ovino ocupa una gran extensión de la Patagonia subiendo desde el suroeste hacia la provincia de Buenos Aires, Entre Ríos y Corrientes. El caprino, en cambio, se direcciona desde Neuquén hacia el noreste. Esta distribución da cuenta de la adaptabilidad de las distintas especies y la diversificación por parte del productor para mantener una actividad rentable a lo largo del tiempo. El análisis de la producción lechera indicó que en la provincia de Buenos Aires se encuentran emplazados el 25 % de los tambos bovinos y establecimientos lecheros de pequeños rumiantes. Esto se debe principalmente a que estos últimos, se vieron beneficiados tanto por políticas nacionales (ley caprina y ovina), como por una revalorización de los productos y subproductos por parte del consumidor. Con la finalidad de relevar información sobre aspectos sanitarios, nutricionales y productivos se llevó a cabo una encuesta en el 50% de los tambos de pequeños rumiantes de provincia de Buenos Aires (siendo los registrados por fuentes oficiales 10 de cada especie). Del análisis de estos, se destaca que la actividad se encuentra confinada a establecimientos de poca superficie y con distintos niveles de intensificación. A mayor intensificación, mayor el número de animales por hectárea y con ello un fuerte incremento de la carga orgánica que recibe el suelo. Por otro lado, se encontró que el 60% de los establecimientos caprinos encuestados utilizan métodos de crianza artificial donde los alimentos son suplementados con promotores de crecimiento (antibióticos) como parte del manejo para mejorar la eficiencia en la digestión. Una vez administrados, los fármacos son parcialmente absorbidos y metabolizados para luego ser excretados por orina y materia fecal (inalterados o como metabolitos que conservan su actividad biológica), lo que constituye un riesgo potencial para el ambiente. Se destaca además que la mayoría de los establecimientos no cuenta con las instalaciones adecuadas para mitigar la carga orgánica e inorgánica que recibe el suelo (nutrientes, materia orgánica, detergentes, agua de limpieza de instalaciones, fármacos y otros). Por lo tanto, el impacto ambiental de estas actividades puede ser significativo por la posibilidad de infiltración hacia acuíferos así como su llegada a cuerpos de agua cercanos por escorrentía. Estos efectos pueden minimizarse mediante el uso de buenas prácticas de manejo que incluyen, el mejoramiento de las instalaciones, la incorporación de sistemas para tratar los efluentes y la aplicación racional de los fármacos veterinarios.

DESCRIPCION DE UN METODO PARA LA DETERMINACION *IN VIVO* DE LA ACTIVIDAD DE SUBTILASAS EN SEMILLAS EN GERMINACION

Galotta MF¹, Roberts IN¹²

¹ Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales, INBA-CONICET.

² Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Biología Aplicada y Alimentos. Cátedra Microbiología Agrícola.

e-mail: mgalotta@agro.uba.ar

Las subtilasas constituyen una familia dentro de las serín proteasas que cumplen diferentes roles durante el desarrollo vegetal. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un método sencillo y rápido para la determinación de la actividad de subtilasas *in vivo*, durante la germinación de semillas de 5 cultivos. Semillas de trigo, maíz, sorgo, arroz y soja, fueron desinfectadas superficialmente y puestas a germinar a 22°C sobre papel de filtro humedecido en placas de Petri. Las semillas fueron muestreadas a los 2 (soja), 4 (trigo, maíz, sorgo y soja), y 8 días (arroz). Se diseccionaron longitudinalmente, y pusieron sobre papel de filtro estéril. El péptido sintético Suc-AAPF-pNA, sustrato específico de subtilasas, fue aplicado sobre los granos diseccionados en concentración 10 µM. Las semillas fueron incubadas durante 0, 15 y 30 minutos, en presencia del sustrato en oscuridad a 30°C. La diazotización del pNA liberado fue llevada a cabo mediante el agregado de las siguientes soluciones: nitrito de sodio 0,1% en HCl 1 M, sulfamato de amonio 0,5% en HCl 1 M, y *N*-(1-naftil)etilendiamina 0,05 M en etanol 47,5%. Luego de la diazotización, el pNA libre toma un color rosado intenso revelando la actividad de subtilasas. En el caso de trigo, maíz y sorgo, se visualizó actividad de subtilasas luego de 15 minutos de incubadas las semillas en presencia del sustrato, y no se observaron diferencias significativas respecto del tratamiento de 30 minutos de incubación. En el caso del arroz, el endosperma del grano tomó un color rosado intenso luego de 30 minutos de incubación. En soja, el tegumento presentó una leve tinción rosada, mientras que los cotiledones (tejido de reserva de las dicotiledóneas) no presentaron actividad de subtilasas para ninguno de los tiempos de incubación. De acuerdo a bibliografía, existe una alta actividad de subtilasas en las etapas de germinación temprana en soja. Por lo tanto, se evaluaron granos de dos días de germinados. Esta vez, se observó una tinción aún más intensa del tegumento, indicando mayor actividad de subtilasas respecto de granos de 4 días. Por último, para comprobar la especificidad del método, granos de trigo fueron incubados durante 0 y 15 minutos en presencia de fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) 5 mM, inhibidor específico de serín proteasas, y quimostatina, inhibidor de cisteín y de algunas serín proteasas del tipo quimotripsina, 100 µM. El resto del ensayo siguió como fue detallado previamente para la incubación de 30 minutos en presencia de Suc-AAPF-pNA. Los controles correspondientes con etanol (solvente de PMSF) y dimetilsulfóxido (solvente del sustrato y de quimostatina) fueron llevados a cabo. Los granos que fueron incubados en presencia de PMSF y/o quimostatina no presentaron la coloración rosada vista previamente en el caso de trigo, indicando la ausencia de actividad de subtilasas debido a la especificidad de estos inhibidores. No se vieron diferencias entre la pre-incubación de 0 y 15 minutos. Por consiguiente, creemos que este es un método rápido y eficaz para evaluar la actividad *in vivo* e *in situ* de subtilasas.

CAMBIOS DE LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL, INTEGRIDAD DE MEMBRANA Y CAPACITACIÓN COMO PARÁMETROS FUNCIONALES EN SEMEN PORCINO REFRIGERADO CON Y SIN ANTIOXIDANTE

García N, Córdoba M

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

Los espermatozoides de porcino son muy susceptibles a las especies reactivas del oxígeno provenientes generalmente de la mitocondria durante los procesos de estrés celular, como el almacenamiento a bajas temperaturas, debido a la composición lipídica de su membrana. El metabolismo de esta gameta es altamente oxidativo y la energía proveniente de la mitocondria puede ser utilizada para la capacitación y motilidad espermática. Se ha demostrado que un análogo soluble de la vitamina E, trolox (6-hydroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico), puede mejorar la calidad espermática post-descongelamiento en espermatozoides de varias especies. El objetivo del trabajo fue estudiar cambios de parámetros funcionales como el potencial de membrana mitocondrial, integridad de membrana plasmática y la vitalidad de espermatozoides refrigerados con y sin trolox. Se evaluó la capacitación por la coloración epifluorescente de clorotetraciclina (CTC), la funcionalidad de la membrana plasmática con el Test Hipoosmótico (HOS-Test), la vitalidad mediante la coloración vital de Azul Tripán, la integridad acrosomal en microscopio de contraste diferencial interferencial (DIC) y el potencial de membrana mitocondrial a través de la tinción de 5,5', 6,6'- tetracloro-1,1', 3,3'-yoduro de tetra-etil-benzimidazolil-carbocianina (JC-1). Las muestras (n=4) fueron suspendidas en diluyente comercial en proporción 1:10 y separadas en dos tubos que se refrigeraron con y sin el agregado de Trolox a 17°C. Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey ($p < 0,05$). En semen fresco la motilidad progresiva fue de $71.43 \pm 8.52\%$ y un vigor $3,43 \pm 0,53$. La integridad de membrana del semen fresco ($84.75 \pm 5.56\%$ de los espermatozoides positivos) evaluadas a través del test hipoosmótico no presentó diferencias significativas con respecto al semen refrigerado con y sin Trolox. La vitalidad en espermatozoides refrigerados mejoró con el agregado de trolox $65,25 \pm 6,80\%$ respecto al no tratado con el antioxidante ($p < 0,05$). El porcentaje de espermatozoides capacitados (CTC) en muestras refrigeradas con trolox ($0,75 \pm 0,95\%$) mantuvo el nivel bajo del semen fresco ($2,0 \pm 0,81\%$) ($p > 0,05$). El porcentaje de espermatozoides reaccionados (CTC) en muestras refrigerados con trolox ($9,50 \pm 5,68$) mantuvo el nivel bajo del semen fresco ($4,87 \pm 3,13\%$) ($p > 0,05$). El porcentaje de vitalidad evaluado con la coloración de Azul Tripán presentó diferencias significativas entre el semen refrigerado con ($65,25 \pm 6,8\%$) y sin Trolox ($51,12 \pm 7,98\%$). El potencial de membrana mitocondrial más bajo se observó en muestras no tratadas con el antioxidante $40,0 \pm 7,55\%$ respecto al fresco $98,00 \pm 2,45\%$ y el tratado con trolox $62,50 \pm 13,30\%$ ($p < 0,05$). Los resultados demuestran que el trolox tiene un efecto protector no sólo a nivel de membrana plasmática sino también sobre el buen funcionamiento mitocondrial además conserva un estado de baja de capacitación y un alto porcentaje de

vitalidad espermática en muestras refrigeradas de semen porcino.

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE SALMONELLA ENTERICA SUBSP. ENTERICA AISLADAS DE EQUINOS

Garda D^{1,2}, Bustos CP^{1,3,4}, Gallardo MJ^{1,4}, Muñoz A¹,
Dominguez J^{3,4}, Chacana P⁴, Mesplet M¹

1Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades, Infecciosas; 2Ex-becaria Estímulo UBACyT; 3Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas; 4Instituto de Patobiología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. infeccio@fvet.uba.ar

Uno de los principales problemas que enfrenta la salud pública es la aceleración de la aparición de la resistencia antimicrobiana (RAM) consecuencia del uso masivo e inadecuado de los antimicrobianos. *Salmonella* spp. pertenece a un grupo de bacterias que puede colaborar con la diseminación global de RAM, actuando como reservorio y transfiriendo material genético entre diversos géneros bacterianos. Los equinos pueden ser hospedadores susceptibles y/o portadores de este tipo de cepas, y debido al estrecho contacto entre el hombre y el caballo existe un riesgo potencial de transmisión zoonótica. El objetivo de este trabajo fue evaluar la circulación de cepas resistentes y conocer el perfil de RAM de *Salmonella* spp. en equinos en nuestro medio local. Se analizaron 31 aislamientos de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* de las serovariedades Abortusequi (20), Typhimurium (7), Newport (2), Freetown (1) y Oranienburg (1) obtenidos de equinos en 2011-2017. La susceptibilidad antimicrobiana se analizó mediante la metodología de difusión con discos con antibióticos betalactámicos, aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas, quinolonas, sulfonamidas, anfenicoles y rifamicinas. Se evaluó la presencia de betalactamasas por métodos fenotípicos (sinergias de doble disco) y se determinaron la concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) en cepas resistentes. Todas las serovariedades resultaron resistentes a rifampicina. Todos los otros aislamientos resistentes pertenecieron a la serovariedad Typhimurium: CRESAL22865/16 a tetraciclina (CIM y CBM 512µg/ml) y con una mutante resistente a estreptomycin (CIM 1024µg/ml; CBM 2048µg/ml), los aislamientos INTA9724/17-1, INTA9724/17-2 e INTA9724/17-3 resultaron resistentes a ampicilina (CIM>32768µg/ml), tetraciclina (CIM y CBM≥256µg/ml), trimetoprim sulfametoxazol, ciprofloxacina (CIM y CBM≥8µg/ml),

enrofloxacin (CIM 8µg/ml; CBM≥128 µg/ml), cloranfenicol y florfenicol clasificándose como multirresistentes. El aislamiento INTA9724/17-3 fue además resistente a ampicilina-sulbactam, amoxicilina-clavulánico, cefalotina, cefpodoxima, ceftriaxone (CIM>32µg/ml) y cefotaxima (CIM>32µg/ml) y los métodos fenotípicos permitieron detectar la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). En este trabajo se evaluó el perfil de RAM de 31 aislamientos de Salmonella spp. de equinos, detectando multirresistencia en 3 aislamientos provenientes de un mismo brote. Las CIM evaluadas permitieron confirmar la resistencia observada. Dada la importancia de las BLEE, se están realizando estudios moleculares para caracterizar los genes responsables de la resistencia observada. Si bien se monitorea RAM en bacterias aisladas de animales de producción intensiva, la vigilancia para las bacterias aisladas de caballos y otros animales de compañía es limitada. Los resultados de este trabajo resultan útiles tanto para guiar la terapéutica en la práctica equina como para evaluar el riesgo potencial para la salud pública.

Proyecto UBACyT 20020130100299BA

ASOCIACIÓN ENTRE INMUNIDAD PASIVA Y MORTALIDAD EN TERNEROS

Garro C¹, Arisnabarreta J², Picasso C³

¹Grupo de Epidemiología y Medicina Preventiva. IPV-CICVYA. INTA-CONICET, Argentina. ²Asesor privado, Laboratorio Noroeste, Argentina. ³Department of Veterinary Population Medicine, University of Minnesota, EEUU.

La mortalidad en la cría y recría de terneras de remplazo es un factor crítico para la sustentabilidad y el progreso genético en rodeos lecheros. Varios factores de riesgo se han asociado a la muerte de los animales en las primeras etapas de vida. Sin embargo, es escasa la información local sobre el efecto de un eficiente calostrado en la mortalidad de terneros en rodeos lecheros. El objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre la falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTIP), basada en la medición del valor de proteínas séricas totales (PST), y la mortalidad en terneros durante los primeros 45 días de vida. Entre julio 2012 y noviembre 2017 se registró la fecha de nacimiento, el peso al nacer y el sexo de 1867 terneros Holando Argentino de un rodeo lechero de la provincia de Buenos Aires, Argentina. La concentración de PST se cuantificó por

refractometría, entre los 2 y 7 días de vida; y valores de PST \leq 5,2 g/dL se consideraron como indicador de FTIP. Las madres de los animales participantes en el estudio fueron vacunadas pre-parto para la prevención del complejo diarreico neonatal. Los terneros, tras ser separados de sus madres dentro de las primeras 2 horas de vida, recibieron cuatro litros de calostro (fresco o congelado) a través de sonda buco-esofágica antes de las 6 horas de vida. Posteriormente, fueron ingresados a un sistema de crianza artificial individual y alimentados con sustituto lácteo (dos tomas diarias) y alimento extrusado *ad libitum*. El volumen total diario de sustituto lácteo suministrado fue de entre 4 y 6 litros, dependiendo de la estación del año. No se utilizaron antiparasitarios, vacunas ni tratamientos profilácticos preventivos durante los primeros 45 días de vida de los terneros. El análisis se realizó por regresión logística utilizando el software R 3.2.4. El mejor modelo fue seleccionado basado en el indicador AIC. La concentración media de PST fue de 5,3 g/dL (rango: 3-8,9 g/dL), y el 38% (709/1867) de los terneros evaluados presentó FTIP. La mortalidad fue del 18,9% (352/1867) en los primeros 45 días de vida. El modelo estadístico indicó que (a) la estación del año, (b) el año de nacimiento y (c) los pesos al nacimiento influyeron significativamente sobre la mortalidad. Ajustando por estos factores (a,b,c), el riesgo de mortalidad fue mayor en los terneros que presentaron FTIP (OR: 1,8; IC_{95%}: 1.4-2.3; p <0,0001) en relación a los terneros sin FTIP. Estos resultados sugieren la importancia de un eficiente calostrado de los terneros previo al ingreso a la crianza artificial para reducir la mortalidad durante los primeros 45 días de vida y pueden ser utilizados para la elaboración de planes de mejora en el manejo del calostro.

EL INGRESO UNIVERSITARIO 2018: DESAFÍOS Y PERFILES

German JC¹, Fascendini PY¹, Galván SM³

¹ Becario en el marco de “Estímulo a las Vocaciones Científicas - Cientibeca”; Adscripto Servicio Orientación Educativa (S.O.E.).² Co-Directora de beca, S.O.E.; ³ Directora de beca. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Litoral.
juangerman.926@gmail.com

El paso desde educación media a la educación superior es una experiencia dramática para muchos estudiantes debido a factores, que conjugados, se ven reflejados en altos índices de deserción académica que actualmente vive la Universidad. Desde el Servicio de Orientación Educativa (S.O.E) de la Facultad de Ciencias Veterinarias y junto con la

cátedra de Introducción a la Veterinaria se busca orientar a los jóvenes en el proceso de aprendizaje universitario y fundamentalmente permitirles un espacio donde puedan encontrarse consigo mismos y descubrir cuáles han de ser los obstáculos que dificultan el transcurrir académico. El objetivo del presente trabajo es acercar las voces estudiantiles en torno a las características que presentan los ingresantes de la cohorte 2018 con el fin de analizar perfiles y vislumbrar alternativas de intervención. Teniendo en cuenta un metodología de abordaje cuantitativa ha sido mediatizado un instrumento de recolección de datos mediante *Google forms*, logrando analizar las características más sobresalientes de los estudiantes ingresantes tanto en aspectos personales, académicos como sociales, a fines de socializar sus rasgos sobresalientes con los docentes. Esta herramienta de diseño tecnológico fue aplicada a un total de 229 ingresantes. En relación con los resultados se menciona que el 85,9% son estudiantes que tienen una edad entre 17 y 19 años, siendo el 57,9% mujeres, 78,7% procediendo de la zona urbana, cuya orientación en el nivel secundario es de Ciencias Naturales el 28,7%, 24,4% de Agro Agro ambiente, 18,5% Economía y Gestión de las organizaciones, 13% Humanidades y ciencias sociales. En relación con la elección de la carrera el 86,6% elige Veterinaria por el gusto por los animales, 44,9% interés por la medicina veterinaria, utilizando el 78% como estrategia de estudio el resumen siendo que el 66,9% se pone nervioso al tener que dar un examen, con preferencia de los escritos en un 66,9%. Para concluir se reconoce la heterogeneidad estudiantil que pueblan las aulas en nuestra casa de estudio, que requiere múltiples y variadas intervenciones, como así también reclama la creación de espacios y escenarios que permitan a todos aprender más allá de la procedencia existente. Es necesario aprender el oficio de “estudiante universitario”, lo cual exige un proceso de resocialización en las exigencias y reglas propias de este nivel. Este aprendizaje requiere adaptarse a nuevos estilos de vida, de convivencia, a diferentes modelos de docencia, a una nueva normatividad y funcionamiento institucional. Quienes no logran aprender el oficio de estudiante, no llegan a afiliarse a la institución. Ellos se verán forzados, en la mayoría de los casos, a abandonar la Universidad o a permanecer en ella en calidad de "crónicos", es aquí donde la Universidad debe asumir una responsabilidad que por años ha evadido, al referirse siempre a la mala formación con la que vienen los estudiantes desde la educación-media y aceptar que la única opción válida es la de enseñarle a su alumno el oficio de ser “estudiante universitario”.

PERFIL DEL INGRESO A LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA DE LA F.C.V. - U.N.L, RELEVAMIENTO Y ANÁLISIS DE COHORTES

German JC¹, Fascendini PY¹, Galván SM.³, Heinze H⁴

¹ Becario en el marco de “Estímulo a las Vocaciones Científicas - Cientibeca”; Adscripto Servicio Orientación Educativa (S.O.E.).² Co-Directora de beca, S.O.E; ³ Directora de beca.⁴ Cátedra de Bioestadística. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional del Litoral.
juangerman.926@gmail.com

Uno de los momentos clave en la formación superior que atañe a toda la comunidad educativa de cualquier universidad del país, es el ingreso universitario. Es un proceso atravesado por múltiples variables de tipos psicológicas, académicas, como así también

socio-económicas y familiares. La multiplicidad de factores intervinientes, hacen imperativo el análisis de cada cohorte, para el desarrollo de políticas de retención de estudiantes acordes al nuevo ingreso que año a año se presenta. En este sentido, el propósito de esta publicación es identificar y conocer algunos rasgos característicos de los ingresantes a la carrera de Medicina Veterinaria de la FCV-UNL de las cohortes comprendidas entre los años 2015 y 2018 inclusive. El instrumento se organizó, a fines tal de recabar información, en áreas relacionadas con datos personales, procedencia de escuela secundaria, datos del grupo familiar, dificultades vivenciadas en el proceso de formación, experiencias en torno a la evaluación. El dispositivo fue diseñado en un trabajo colaborativo entre el Servicio de Orientación Educativa y la Cátedra de Introducción a la Veterinaria, caracterizado por un abordaje de tipo cuali-cuantitativo, siendo aplicado a un promedio de 249 alumnos por año. Dicho dispositivo institucional se viene implementado al inicio de cada año de manera ininterrumpida hasta la actualidad, sufriendo año a año adaptaciones estructurales y de aplicación en pos de su mejora. Es importante aclarar que la participación es de carácter voluntario, la muestra se compone solo de aquellos ingresantes que decidieron contestarla. Se presenta como un instrumento autoperceptivo, ya que el ingresante responderá en función de lo que el mismo percibe de la situación interrogada. El mismo se constituye por una serie de preguntas cerradas con opciones que el estudiante debe seleccionar en función de sus características singulares. En los resultados obtenidos se observó que 6 de cada 10 estudiantes son mujeres, manteniéndose esta proporción a lo largo de los años analizados ($P=0,99$). La edad cronológica estudiantil está comprendida entre 17 y 19 años (8 de cada 10), proviniendo predominantemente de Santa Fe, Entre Ríos, Córdoba ($P=0,28$). Sobresale el dato de que 8/10 estudiantes declaran solo resumir para estudiar lo cual significaría un obstáculo a la hora de aprender materiales complejos y extensos. Se reconoce recurrencia de factores emocionales interfirientes en el proceso evaluativo, mostrando ansiedad ante los exámenes evidenciado en voces como “estudiaba para el examen, pero al momento de responder, me ponía en blanco, no me salía una palabra”. Considerando estos resultados se puede determinar una conclusión preliminar, que referencia a la vulnerabilidad que los estudiantes poseen en torno a sus características subjetivas como así también un bagaje instrumental escaso para hacer frente a la educación superior, registrándose también una tendencia de feminización de la carrera.

MODIFICACIONES PUNTUALES EN EL ECTODOMINIO DE LA PROTEÍNA M2 DE INFLUENZA PARA LA EVALUACIÓN DE VACUNAS UNIVERSALES

Gomez JM¹, Sperat W¹, Mattion N², Ibañez LI¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein, CONICET. ²Centro de Virología Animal, CONICET.

El virus de influenza causa infecciones epidémicas en el hombre, las aves y diversas especies de animales susceptibles. El virus evoluciona continuamente mediante intercambio de segmentos genómicos o por incorporación de mutaciones en las proteínas de superficie contra las cuales se dirige la respuesta inmune evocada por las vacunas convencionales. Por lo tanto las vacunas deben ser actualizadas anualmente. Una estrategia para superar esta

dificultad consiste en dirigir la respuesta inmune hacia regiones más conservadas del virus tales como el ectodominio de la proteína M2 (M2e), con el fin de generar vacunas universales. Sin embargo, y a pesar de que M2e está conservada, con baja frecuencia se han reportado algunas mutaciones que podría poner en riesgo la efectividad de dichas vacunas. El objetivo del proyecto es generar virus de influenza A con M2e modificados con el fin de determinar el *fitness* y el potencial de escape de dichos virus a la respuesta inmune inducida por vacunas universales. Como paso inicial se comenzó con la introducción de mutaciones puntuales en M2e utilizando un vector para genética reversa que codifica la proteína M2 en el mismo fragmento que la proteína NA. Se utilizó también un segundo vector que expresa la proteína M1 y tienen deletados los sitios de *splicing* alternativo que conducen a la expresión de M2. Utilizando la técnica de mutagénesis dirigida se introdujeron mutaciones en M2e por PCR seguida por restricción con la enzima DpnI y posterior transformación en bacterias DH5alfa. Los clones positivos se analizaron por restricción con la enzima XbaI. Para poner a punto la técnica de genética reversa, que permite la generación de virus infectivo, se co-transfectaron células HEK-293 con estos vectores y otros 6 vectores que codifican para el resto de las proteínas del virus. A las 24-48 horas postransfección, se utilizó el sobrenadante de las células transfectadas para infectar células MDCK y se determinó la formación de partículas infectivas por observación de la destrucción de la monocapa de células. Las construcciones también fueron analizadas mediante Western Blot para determinar la correcta expresión de las proteínas M1 y M2. A partir de los resultados obtenidos hasta el momento, podemos concluir que es posible la modificación del virus de influenza mediante las estrategias planteadas. Esto nos permitirá generar virus mutantes para determinar la capacidad protectora de vacunas universales basadas en M2e.

GARRAPATAS PRESENTES EN ÁREAS URBANAS PROTEGIDAS Y BARRIOS ALEDAÑOS DE LA CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES

González S^{1,2}, Graciano L³, Garaglia L³, Berra Y³, Cicuttin G⁴, Marcos E³

1. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Estadística.
2. Becario UBACyT categoría Maestría 3. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra Salud Pública. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. 4. Instituto de Zoonosis Dr. Luis Pasteur, CABA.

Las garrapatas son ectoparásitos hematófagos capaces de parasitar vertebrados domésticos, silvestres y al hombre. Su importancia sanitaria radica en la capacidad de provocar parálisis, toxicosis, alergias y al mismo tiempo ser vectores de diversos patógenos, muchos

de las cuales son zoonóticos. En Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) se indica la presencia de cuatro especies: *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato, *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma triste*, e *Ixodes auritulus*. Las últimas tres exclusivamente en la Reserva Ecológica Costanera Sur (RECS). El hombre y los animales interactúan sobre nuevas interfases (silvestres-urbanas) debido a cambios en los hábitats naturales dando lugar a numerosas oportunidades para la transmisión de zoonosis. Las características de dichas interfases, la cercanía de los ambientes urbanos y silvestres; y el posible tránsito de animales entre ambos los transforman en interesantes sistemas de estudio para la dinámica temporo-espacial de garrapatas como potenciales vectores de zoonosis. El objetivo fue estudiar abundancia relativa y distribución estacional de garrapatas presentes en interfases urbanas-silvestres de la CABA. El estudio se realizó en las interfases: Barrio Rodrigo Bueno-RECS, y Reserva Ecológica Ciudad Universitaria-Costanera Norte (RECU-CN)-Ciudad Universitaria. La metodología para la recolección de garrapatas consideró la extracción manual a partir animales domésticos (perros y gatos) en el barrio Rodrigo Bueno cada 3 meses; y recolección mensual, durante un año, mediante el método “bandera” (arrastre de un paño de algodón de 1 x 1,5 m sobre la vegetación) en RECU-CN. Los ejemplares recolectados fueron almacenados en alcohol 70 % para su posterior clasificación taxonómica. Se realizaron encuestas a los habitantes del barrio, con el fin de obtener información acerca de percepciones y actitudes respecto de la presencia de garrapatas. Los datos obtenidos se analizaron de manera descriptiva y se calculó: prevalencia de garrapatas, abundancia relativa media e intensidad media parasitaria. En el Barrio Rodrigo Bueno durante el período 2016-2017 se examinaron 169 animales domésticos, y se recolectaron 103 garrapatas, en su totalidad de la especie *Rhipicephalus sanguineus*. Se calcularon los siguientes indicadores: Prevalencia de garrapatas en animales domésticos: 20,11%, Abundancia relativa media: 0,61 garrapatas por animal y una Intensidad media parasitaria de 3,03 garrapatas por animal infestado. Respecto de la estacionalidad, en los meses cálidos la Prevalencia fue del 28,57% mientras que en los meses fríos del 15,09%. En tanto en RECU-CN se realizaron a la fecha 8 muestreos donde se recolectaron 173 garrapatas que aún restan ser clasificadas. Las especies halladas en las interfases urbanas-silvestres de CABA son de interés sanitario debido a su capacidad de parasitar tanto a animales como al hombre y a su potencialidad como vectores de enfermedades zoonóticas. Los resultados permitirían evaluar planes de prevención y acciones educativas respecto de posibles enfermedades en animales y humanos.

RELACIÓN DE LA ENZIMA LACTATO DESHIDROGENASA (LDH) EN LECHE EN VACAS CON MASTITIS CLÍNICAS Y SUBCLÍNICAS

Gonzalez Wulfsohn G, Caggiano N, Lorenzo Smirnoff A, Belitzky N, De Simone E

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

La detección temprana de mastitis, especialmente las de presentación subclínica y el correcto manejo de las mismas resulta de suma importancia para reducir las pérdidas en los tambos. La determinación de LDH en leche fue propuesta como un posible indicador de inflamación de la glándula mamaria en estadios tempranos y presentaría relación con el

recuento de células somáticas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad de LDH en leche y relacionar esta actividad con los distintos tipos de mastitis y agentes etiológicos. Las muestras de leche fueron tomadas de 68 vacas de diferentes tambos de la Pcia. de Buenos Aires. A las mismas se les realizó el test mastitis california (TMC), la determinación de LDH por kit comercial y cultivos bacteriológicos. Cuando se analizó el test mastitis california se clasificó a las vacas en tres grupos: i) sanas (n=28), ii) subclínicas (n=13) y iii) clínicas (n=27). Las vacas que presentaron mastitis clínicas fueron las que tuvieron mayor actividad de LDH $839,1 \pm 204,9$ (M \pm SE) respecto de las vacas sanas 203.4 ± 42.04 p<0,01. Al tener los datos de agentes etiológicos en mastitis clínicas se observó que las mastitis clínicas producidas por E. coli fueron las que más actividad de LDH presentaron (962 ± 587.6) (p<0.05 vs sanas). Al evaluar por los agentes etiológicos que producen las mastitis subclínicas se observó que el mayor valor de actividad LDH lo presentaban las mastitis causadas por S. aureus 1378 ± 533.9 (p<0,001 vs sanas) seguidos por los estafilococos coagulasa negativos 1048 ± 572.6 . A partir de los resultados de este trabajo podemos concluir que la actividad de LDH se encuentra incrementada principalmente en las mastitis clínicas y dentro de estas en las causadas por E.coli. Respecto a las mastitis subclínicas se observó que las causadas por S. aureus y estafilococos coagulasa negativo fueron los que más actividad presentaron. Por lo tanto la actividad de LDH podría resultar de importancia como complementaria del TMC y podría ser un indicador de inflamación que cobra mayor importancia en ciertos tipos de mastitis. Siendo que la LDH indica el grado de inflamación podemos concluir que ciertos agentes etiológicos generan mayor inflamación que otros y que su determinación conjunta con el TMC nos aporta información, no sólo de la presencia de mastitis, sino también del grado de inflamación de la glándula. De esta forma determinar el estatus inflamatorio mamario puede servir de pronóstico del grado de lesión que pueda tener la glándula. Esto último resulta de suma importancia para intervenir y evitar daños irreversibles que pueden repercutir en una menor producción y un refugio temprano del animal.

DINÁMICA DE LA EVOLUCIÓN VIRAL DE LAS CEPAS DE SEROTIPO A DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA DURANTE LA EPIDEMIA 2000-2002

Götte MM^{1,2}, Perez AM³, Galdo Novo S⁴, König GA^{1,2}.

1. Instituto de Biotecnología, INTA-Castelar. 2. CONICET. 3. College of Veterinary Medicine, University of Minnesota. 4. Coordinación de Virología, Laboratorio Animal, SENASA.

La Fiebre Aftosa es una enfermedad viral altamente contagiosa. En los años 2000-2002 se produjo en Argentina la epidemia más grande de las últimas décadas, estuvieron involucradas dos cepas virales del serotipo A, A2000 y A2001, distantes filogenéticamente.

Se estudió su dinámica con el objetivo de determinar posibles focos de introducción de la enfermedad y las relaciones filogenéticas y filogeográficas de los brotes secuenciados y la dinámica de la epidemia a nivel nacional. Durante la epidemia, se produjeron múltiples brotes en todo el país, los cuales se muestrearon de manera proporcional a la cantidad de brotes ocurridos en cada mes y región, durante la fase de crecimiento exponencial de brotes. El genoma viral se amplificó por RT-PCR y luego se secuenció por el método de Sanger. El ensamblado de los contigs se realizó, con el programa “Codon Code Aligner”. Las secuencias consenso se alinearon con el programa “BioEdit”. Se realizaron filogenias con los parámetros en default para hacer un reconocimiento inicial de la filogenia, luego se determinó el modelo molecular que mejor ajusta a los datos por medio del JMODEL test utilizando el AIC. Las filogenias se realizaron con “MEGA 5.05” por distintos métodos, distancias (NeighborJoining), máxima parsimonia, y máxima verosimilitud. El fragmento de genoma analizado es de aproximadamente 2,2Kb, corresponde a la región completa que codifica para las proteínas estructurales (P1). Se logró una buena cobertura muestral a lo largo de la fase de crecimiento exponencial de los brotes de la epidemia. En los meses en los cuales se produjo el reemplazo de la cepa A2000 por la A2001 se generaron más secuencias a fin de determinar la dinámica evolutiva de ambas cepas. Se generaron 98 nuevas secuencias y se sumaron al análisis 25 secuencias obtenidas en otro estudio de nuestro laboratorio. En la filogenia obtenida se observa una completa separación de ambas cepas en clados independientes que probablemente correspondan a distintos focos de introducción de la enfermedad. A su vez, la cepa A2001 se puede categorizar en 3 subgrupos que muestran una tendencia a la asociacióntemporoespacial, aunque no exclusiva ya que se observa superposición de los grupos en ambas variables. En conclusión, la separación genética entre ambas cepas, se ve reafirmada en este trabajo, mientras que dentro del clado de la cepa A2001 se marcó una tendencia a la diferenciación en subgrupos relacionados temporoespacialmente, siendo necesario desarrollar análisis filogeográficos a fin de obtener resultados objetivos que permitan describir la diseminación de la epidemia para A2001.

CINÉTICA DEL BIOFILM DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *EQUI* EN PRESENCIA DE GLUCOSA, SUERO Y PLASMA EQUINO

Graciano L^{1,2,3}, Lanza N¹, Muñoz A¹, Mesplet M¹, Guida N¹, Bustos Cp^{1,4}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, ²Cátedra de Salud Pública, ³Ex-concurrente en Investigación, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, ⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

La adenitis equina es una enfermedad infecciosa de distribución mundial producida por *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*) que afecta el tracto respiratorio superior de equinos jóvenes produciendo linfadenitis submandibular y retrofaríngea. En trabajos previos, se estudió la capacidad de *S. equi* de producir biofilm, es decir, una comunidad de células

bacterianas que crecen envueltas en una matriz extracelular (MEC) producida por ellas mismas y que está adherida a una superficie. La MEC compuesta por agua y otros elementos como polisacáridos le permite a las bacterias resistir diversas condiciones adversas. En equinos portadores de *S. equi*, la formación de biofilm podría contribuir a la supervivencia bacteriana y permanencia en bolsas guturales y nasofaringe. El objetivo de este trabajo fue estudiar la cinética del biofilm de aislamientos de *S. equi* obtenidos de portadores en presencia de glucosa, suero y plasma equino. Se trabajó el método colorimétrico en microplaca, incubando 7 aislamientos en medio Todd Hewitt (THB) suplementado con 0,2% de extracto de levadura (EL) y 10% de suero equino (SEA) a 37°C con 5% de CO₂ *over night*. Los inóculos se prepararon diluyendo cada cultivo 1/10 en medio fresco de THB+EL+SEA con y sin agregado de glucosa (GLU) al 0,1% y, en medio fresco de THB+EL con 10% de plasma equino. Se colocaron 200 µl de cada dilución en una microplaca de 96 pocillos de fondo plano (Nunc Maxisorp). Luego de incubar por 72, 96, 120 y 144 h, se lavó 2 veces con agua destilada estéril y se coloreó con Violeta de Genciana al 1% durante 10 min. Luego de 2 lavados, se eluyó con etanol 95 y se determinó la DO a 570 nm en el lector de ELISA (DYNEX, MRX Revelation). Se pudieron identificar diferentes cinéticas según el medio de cultivo empleado, distinguiéndose las etapas de proliferación y síntesis de MEC, maduración y dispersión en todos los casos. La mayor producción de biofilm se evidenció en presencia de plasma en todos los tiempos de incubación testeados. Con el medio basal (THB+EL+SEA) se observó escasa producción, detectando un considerable incremento con el agregado de GLU. Si analizamos la producción de biofilm a través del tiempo con cada medio de cultivo, con el medio basal se observó escasa producción con un pico a las 144 h de incubación. En presencia de GLU la producción fue disminuyendo a través del tiempo y luego vuelve a incrementarse a las 144 h de incubación. Por último, la producción de biofilm en presencia de plasma mostró un pico a las 72 h disminuyendo luego la cantidad de biofilm producido a través del tiempo. Los resultados obtenidos permiten concluir que la presencia de plasma equino en el medio de cultivo fue potenciadora de la producción de biofilm en todos los tiempos de incubación. Como se observó en trabajos previos, la mayor formación de biofilm en presencia de plasma respecto a la de suero, podría estar relacionada a la acción del fibrinógeno.

Proyecto UBACyT 20020130100299BA

OPTIMIZATION AND BIOLOGICAL VALIDATION OF AN ASSAY USING A β -GALACTOSIDASE TRANSFECTED DM28-C *TRYPANOSOMA CRUZI* STRAIN

Gulin JEN^{1,3}, Rocco DM^{1,3}, Alonso V², Cribb P^{2,3}, Altcheh J^{1,3}, García-Bournissen F^{1,3}

¹ Servicio de Parasitología y enfermedad de Chagas – Hospital de Niños “Dr. Ricardo Gutiérrez” - Instituto de Investigaciones Multidisciplinarias en Patologías Pediátricas (IMIPP). ² Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, Fac. Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario (IBR-CONICET-UNR). ³ Concejo de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET).

Treatment options for Chagas disease rely on two nitroheterocyclic drugs, benznidazole (BZ) and nifurtimox (NFX). In spite its high efficacy in the acute phase of the disease,

treatment during chronic phase is controversial. Moreover, therapy is not exempt of adverse events, which could lead to treatment suspension. Therefore, there is an urgent need to develop safer and more effective drugs. Recently, some technologies have been applied in order to automatically screen large compound libraries. Using the *Trypanosoma cruzi* Dm28c strain transfected with an *E. coli* β -galactosidase gene, which allows production of a colored product, we developed and validated an easy, quick and reliable assay for high throughput drug screening. Ten thousand Vero C-76 cells per well were seeded in 96-well culture plates. After 24 hs, cells were infected with culture-derived trypomastigotes from Dm28c/pLacZ *T. cruzi* strain in different parasite:cell ratio (MOI=1:1; 5:1 or 10:1). Different times of parasite-cell interaction were evaluated (2, 6 or 24 hs) and then BZ (10 μ M) or medium alone (NT) was added. At 3, 4 or 5 days post-infection (dpi), a substrate solution (Chlorophenol red- β -D-galactopyranoside 100 μ M and Nonidet-P40 0.1%, final concentration) was added. Plates were read in an ELISA reader at 570 nm, after incubation with substrate solution at 2, 4, 6 and 24 hours at 37 $^{\circ}$ C and 5% CO₂. Non-parametrical Kolmogorov-Smirnov test was applied to compare the distributions of NT and BZ-treated values from each combination of MOI, interaction time and dpi measurements. From 27 possible combinations, the optimal system conditions were established as MOI=5:1, 2 hs of interaction and revealed at 4 dpi after 4 hs of incubation, since it provided a statistically significant difference between BZ-treated and NT wells ($p=0,0023$; D value=0,75). Additionally, simultaneous assays were carried out to determine the BZ and NFX sensitivity of Dm28c/pLacZ strain, by comparing the conventional and colorimetric methods. The drug concentration resulting in the lysis of the 50% of trypomastigotes (LC₅₀) was 41,36 and 24,52 μ M for BZ and NFX while for colorimetric method, LC₅₀ were 44,74 and 38,94 μ M, respectively. In conclusion, a colorimetric assay using the Dm28c/pLacZ strain of *T. cruzi* has been set up in order to improve and optimize drug screening capacity, obtaining biologically meaningful values from BZ and NFX sensitivity. This system will be applied to high throughput screening of large drug libraries to identify compounds with anti-*T. cruzi* activity.

IDENTIFICACIÓN Y ANALISIS *IN SILICO* DE REGIONES REPETIDAS EN TANDEM PARA DETERMINAR DIVERSIDAD GENÉTICA EN *UREAPLASMA DIVERSUM*.

Gutierrez S¹, Ibañez F^{2,3}, Giraudo JA¹, Tamiozzo PJ¹

Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, República Argentina, CP 5800. ² Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físicoquímicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina, CP 5800. ³ Consejo nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

Ureaplasma diversum es una bacteria que afecta principalmente a los bovinos. Conocer la variabilidad genética del agente sería de utilidad para encontrar algún marcador molecular capaz de identificar cepas patógenas y para otros estudios epidemiológicos. La diversidad genética del agente ha sido determinada mediante electroforesis de campo pulsado (PFGE) y secuenciación de un fragmento del gen *16SrRNA*. Para la PFGE, es necesario el aislamiento del agente, lo que debido a la dificultad en el mismo, hace que esta técnica no sea de elección, mientras que con el análisis del gen 16S rRNA los resultados no fueron conclusivos. Debido a la falta de otras herramientas moleculares disponibles para la tipificación de *U. diversum* y dado que el análisis de múltiples locus de regiones repetidas en tándem (MLVA) es una técnica altamente discriminatoria y reproducible, incluso a partir de muestras biológicas, el objetivo del trabajo fue identificar algunas regiones repetidas en tándem para determinar diversidad genética de *U. diversum*.

Para la identificación de las regiones repetidas en tándem (TR) se utilizó el programa Tandem Repeat Finder (tandem.bu.edu/trf/trf.html), analizando la secuencia del genoma de la cepa ATCC 49782 disponible en GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). De las secuencias TR identificadas fueron seleccionadas aquellas cuyo motivo de repetición fuera menor a 20 pb. Para cada una de ellas se diseñaron cebadores complementarios a las regiones flanqueantes utilizando el programa primers3 Input versión 0.4.0 (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>). Luego se realizó una PCR *in silico* utilizando el programa iPCR Server (embnet.vital-it.ch/software/iPCR_form.html). Finalmente, los productos de PCR *in silico* fueron alineados en BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Se obtuvieron 11 secuencias TR con diferentes tamaños en el motivo de repetición, que varió entre 3pb y 15pb, que se encuentran repetidas entre 2 y 14 veces. Tres de ellas serían secuencias codificantes y los restantes no. De todas las regiones se obtuvieron cebadores específicos capaces de amplificar mediante PCR *in silico*, con tamaños de productos de PCR variables entre 186pb y 577 pb. Los resultados obtenidos hasta el momento permitirían la tipificación genética de *U. diversum* mediante el análisis de secuencias TR. Actualmente se están estandarizando las PCR *in vitro* y se están buscando otras regiones TR.

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

Hermida H, Colavecchia S, Mundo S

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

La paratuberculosis o enfermedad de Johne es una infección crónica producida por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) en los rumiantes. Nuestro desafío es la identificación de animales en etapa subclínica debido a que excretan MAP intermitentemente al ambiente. El cultivo de materia fecal (MF) es largo y engorroso, junto con la confirmación por PCR-IS900 es considerado por la OIE como gold standard. Sin embargo, la presencia de inhibidores y la variable cantidad de MAP en la MF afectan a la

PCR. El objetivo de este trabajo es producir y seleccionar anticuerpos específicos para aplicar en técnicas de separación inmunomagnética a fin de mejorar la identificación de MAP en MF por PCR. Se produjo en ratones un anticuerpo policlonal y uno monoclonal (mAb 3B3), específicos frente a MAP (ATCC 19698). El suero y el líquido ascítico se precipitaron con sulfato de amonio y se caracterizaron por Bradford, electroforesis y ELISA. Se sensibilizaron perlas inmunomagnéticas con los anticuerpos (IMS) y se evaluó su capacidad de extracción de MAP por citometría de flujo. Se ajustaron las condiciones de la PCR para incrementar su sensibilidad. 106 MAP fueron incorporados artificialmente en MF bovina negativa y se realizó en paralelo la IMS con un kit de extracción de ADN comercial. El anticuerpo policlonal arrojó mayor título (3200 vs 400 del mAb 3B3) y mejor captación por citometría de flujo. El límite de detección de la PCR fue 125 pg de ADN. Sin embargo, el procedimiento de concentración con IMS no permitió obtener una PCR positiva. Se logró la selección de anticuerpos e incrementar la sensibilidad de la PCR. Actualmente se discute las posibles mejoras para obtener una IMS-PCR positiva.

INCREMENTO EN EL CONSUMO DE UNA SOLUCIÓN AVERSIVA EN PRESENCIA DE UN OLOR PRE-EXPUERTO: EVIDENCIA DE UN PERÍODO SENSIBLE

IFRAN C, KAMENETZKY G

^a Instituto de Investigaciones Médicas A Lanari, IDIM-CONICET, Universidad de Buenos Aires, Combatientes de Malvinas 3150 (CP 1427), Buenos Aires, Argentina. ^b Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud (CAECIHS-UAI) Universidad Abierta Interamericana - Buenos Aires, Argentina.

Durante los primeros 10 días de vida de la rata existe un período sensible olfatorio, en el cual el aprendizaje de olores se ve facilitado. En este período las crías prefieren olores familiares (i.e., pre-expuestos), aun si estos fueron previamente asociados a estímulos

aversivos moderados. Se desconoce cómo la estimulación con olores familiares afecta el consumo de soluciones dulces o amargas dentro y fuera de este período. El objetivo de este trabajo fue evaluar la interacción entre un olor previamente aprendido, dentro (día post natal - DPN 9) y fuera del período sensible de aprendizaje olfatorio (DPN 15), sobre el consumo de quinina. Se utilizaron ratas Wistar, machos y hembras, de 8 o 14 DPN (pre-exposición) y 9 o 15 días de vida (prueba). Las crías fueron pre-expuestas (Grupo Experimental) o no (Grupo Control) a olor a limón al día postnatal 8 y 14, durante una hora. En el DPN 9 y 15, respectivamente, las crías fueron evaluadas con una bomba de infusión que infundía quinina al 0,1 % durante 10 minutos en presencia del olor a limón. La variable dependiente fue el porcentaje de ganancia de peso. Los animales familiarizados con el olor a limón exhibieron, en relación al grupo control, un incremento significativo en el porcentaje de ganancia de peso al DPN 9, pero no en el DPN 15. Estos resultados sugieren que el olor pre-expuesto genera una exacerbación en el consumo de una solución aversiva con un límite temporal, sugiriendo la existencia de un período sensible para dicho fenómeno. Estos estudios constituyen la base para elaborar un modelo animal que explore los mecanismos de dicha interacción y delimite los límites de este fenómeno.

ULTRASONOGRAFÍA DIAGNÓSTICO PRECOZ DE NECROSIS ASÉPTICA DE CABEZA FEMORAL CANINA

Jurado A¹, Mercado M¹, Gándara E¹, Bosco A², Pallares C¹

¹Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales, Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas. ²Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Cirugía. juradoaxel90@gmail.com

La enfermedad de Necrosis aséptica de cabeza femoral constituye un verdadero desafío para el cirujano ortopédico, a causa de la gran variedad clínica e imagenológica de esta entidad. En algunas ocasiones existen dificultades diagnósticas debido a que no hay coincidencia entre criterio clínico y el de imágenes. Los signos clínicos pueden variar desde

forma asintomática hasta gran limitación y dolor. Los métodos complementarios por imágenes constituyen un pilar para el diagnóstico de esta afección. Sus técnicas pueden incluir desde una simple radiografía hasta una resonancia magnética nuclear, cuyo costo es elevado y requiere sedación del paciente. En pequeños animales con afecciones en el aparato locomotor, la ecografía está relativamente subutilizada. El objetivo de este trabajo fue observar si la ultrasonografía musculoesquelética es de utilidad para el diagnóstico precoz con la finalidad de proporcionar mayor precisión a las dificultades diagnósticas. Asistieron a la Unidad de Fisioterapia del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires 5 caninos raza caniche, 7 meses de edad con signos clínicos de dolor y claudicación de 3 grado, atrofia muscular moderada. Con informe radiológico inicial: pelvis y articulaciones coxofemorales sin particularidades. El control radiológico fue a la cuarta semana, evidenciando la enfermedad. Se utilizó un ecógrafo, SonoScape A6V/A5V con transductor lineal de 7,5-12 MHz y como control el miembro contralateral. La articulación coxofemoral se evaluó desde un abordaje dorsolateral. En las imágenes ecográficas se observó el contorno de la cabeza del fémur normal liso y redondeado, línea hiperecoica; la cápsula articular como una superficie delgada, moderadamente ecogénica. En la exploración ecográfica del miembro afectado se observó la cabeza femoral y el cuello aspecto irregular y lítico con lagunas en los márgenes de los óseos. La cápsula articular engrosada con derrame articular moderado. Se realizaron 4 controles ecográficos de una vez por semana, observando el avance de la enfermedad. Se implementó tratamiento quirúrgico mediante exéresis de cabeza y cuello femoral. Realizándose el último control ecográfico el día de la cirugía. Confirmándose mediante histopatología. En estos pacientes se pudo observar la precisión del diagnóstico precoz ecográfico, con evidencia radiográfica en la cuarta semana y confirmación por histopatología. El interés en el avance en la aplicación de esta modalidad de diagnóstico en los estadios de la enfermedad donde radiológicamente no se evidencian alteraciones, resultando un estudio de bajo costo y que no requiere sedación.

EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO Y ESPORULACIÓN DE CEPAS NATIVAS DEL GÉNERO *TRICHODERMA* EN DIVERSOS ENVASES Y SUSTRATOS

Koch M, Wigdorovitz PI, Borrelli NP

Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires

Los sistemas agrícolas convencionales buscan incrementar los rendimientos manteniendo los cultivos libres de enfermedades, pudiendo aumentar la dependencia al uso de agroquímicos. En ciertos casos los sistemas se tornan inviables en el tiempo, sumándose a ello las posibles contaminaciones ambientales, trazas de agroquímicos en los alimentos cosechados, ocasionando consecuencias negativas sobre la salud de los productores y consumidores. En este contexto, toman relevancia sistemas de manejo alternativos como la agroecología, que busca equilibrar las producciones agrícolas, disminuyendo el uso de

insumos químicos, promoviendo la diversidad de especies favoreciendo así el crecimiento de microorganismos benéficos. Los hongos del género *Trichoderma* tienen la capacidad de promover o estimular el crecimiento vegetal y, mediante diversos mecanismos de acción, mantener a los hongos patógenos en niveles económicos y productivos viables. El crecimiento y esporulación de dos cepas de *Trichoderma* seleccionadas *in vitro* por su capacidad biocontroladora frente a *Sclerotinia sclerotiorum*, se encuentra en evaluación. Se realizarán 18 tratamientos dispuestos en un diseño en 10 bloques completos aleatorizados (DBCA). Se utilizarán tres sustratos provenientes de granos orgánicos -arroz (*Oryza sativa*), maíz (*Zea mays*), y trigo (*Triticum aestivum*) y dos contenedores de distinto tipo (bolsas de polietileno de alta densidad y recipientes de plástico) seleccionados por su capacidad de ser esterilizados en autoclave. Cada tratamiento incluirá 100 gr del sustrato humedecido con agua destilada estéril, dispuestos en los distintos envases y esterilizados en autoclave por 20 minutos, a 120 C° (1 atm), posteriormente se inocularán con 3 ml de una suspensión de 1.10^6 conidios/ml. Los recipientes serán colocados en condiciones controladas de crecimiento (24 +- 2 C° - 70% HR - 12 hs luz/12 hs oscuridad) por siete días. Se realizará el conteo y registro de la concentración de esporas obtenida mediante cámara de Neubauer para cada tratamiento y repetición. Se verificará también la existencia de contaminaciones y/o crecimientos anómalos. Los resultados serán evaluados mediante el software Infostat®, utilizando test de DGC con un nivel de significación del 5%. Se espera seleccionar la mejor combinación sustrato/envase que permita la futura realización de ensayos a campo para evaluar las cepas en relación a su capacidad promotora del crecimiento vegetal o biocontroladora.

CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS –AMBIENTALES DE CRIADEROS PORCINOS Y SEROPREVALENCIA A TOXOPLASMOSIS

Kunic M¹, Menéndez R², Pardini L^{3,4}, Cogo A⁵, Franco A¹, Sommerfelt I¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Salud Pública, Buenos Aires, Argentina. ²Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Argentina. ³Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Parasitología, Laboratorio de Inmunoparasitología, La Plata, Argentina. ⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina. ⁵Agencia de Extensión Luján. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria. Área Metropolitana de Buenos Aires. Argentina.

El objetivo del trabajo fue estimar la seroprevalencia de T.

gondii en cerdos destinados a consumo humano e identificar factores de riesgo presentes en el ecosistema bajo estudio. Se seleccionaron criaderos porcinos de la zona centro oeste de la Provincia de Buenos Aires, y se extrajo sangre de los animales para obtención de suero. Se utilizó la técnica de IFI, cuyo título $\geq 1:50$ se consideró positivo. Se realizó un registro epidemiológico de las características ecológicas-ambientales de cada criadero y del manejo de los animales. Resultados: Los criaderos positivos a *Toxoplasma gondii* fueron 20/27 (74,07%) y la seroprevalencia a *T. gondii* en los porcinos fue de 128/240 (53,33 %). Las características ecológicas ambientales y de manejo fueron: 1) Tipificación de los productores: a) familiares de subsistencia: 18,5% b) familiares capitalizados: 59,26% y c) comerciales 22,22%. 2) Alimentación: a) comercial 96,30 %; desechos 3,70%; 3) Almacenamiento: a) cubierto: 96,30%; no cubierto 3,70 %. 3) Forma de administración: manual 100 %. 4) Tipo de piso: a) cemento: 7,40% b) tierra 88,9%; c) vegetal 3,70%. 5) Presencia de felinos y roedores: 89,90% .6) Medidas de bioseguridad: en ningún criadero. El 11,11% producía otros animales domésticos. De los establecimientos positivos el 70 % eran gestionados por productores familiares capitalizados, el 15% productores familiares de subsistencia y el 15% productores comerciales; el 95% alimentaba a los animales con alimento comercial y se almacenaba en lugar cubierto y los restantes alimentaban con desechos sin resguardo del alimento; el 95 % de los animales eran alojados en piso de tierra y/o barro y se detectaba la presencia de felinos y roedores con libre acceso. El 100 % alimentaba de forma manual y no tenía ningún sistema de limpieza, el 15 % producía otros animales domésticos. La prevalencia de Toxoplasmosis porcina, se relaciona directamente con las características ecológicas y ambientales de los establecimientos estudiados. Medidas de bioseguridad deberán aplicarse para evitar la presencia de esta zoonosis y contribuir a que estos criaderos de gestión familiar puedan producir animales en adecuadas condiciones de salud y evitar que se presente esta zoonosis con el consiguiente riesgo para la población humana.

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD DE PROTEASAS, PROTEÍNAS y GAGs EN EL LÍQUIDO SINOVIAL DE EQUINOS TRATADOS CON LISADO DE PLAQUETAS

Lastra Y¹, Perrone G², Caggiano N¹, Gabriele C³, Soto S¹, Dantín A¹, De Simone EA¹

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Cs. Veterinarias. 1 Cátedra de Fisiología Animal. 2 Producción equina y clínica de grandes 3 Patología Clínica y Enfermedades Médicas.

La osteoartritis (OA) en equinos es un proceso inflamatorio crónico caracterizado por un deterioro del cartílago articular. Esta enfermedad produce importantes pérdidas económicas, ocasionando el alejamiento temprano de la competencia deportiva. La evaluación de proteasas toma importancia ya que se encuentran estrechamente vinculadas a la fisiopatología de la enfermedad. Asimismo, el lisado de plaquetas forma parte de una serie de terapias alternativas que han sido utilizadas en esta patología, sin embargo, aún queda por investigar los mecanismos moleculares mediante los cuales actuaría. El objetivo de este trabajo fue evaluar, en el líquido sinovial de equinos previo y post tratamiento con lisado de plaquetas, de qué manera se modifica el perfil sinovial y la actividad de proteasas. En este trabajo se utilizaron 5 equinos a los cuales se les evaluó el estado clínico mediante un score que incluyó datos de la exploración clínica así como también de la observación del líquido sinovial. Se evaluaron marcadores de inflamación en líquido sinovial de equinos, previo al tratamiento y en los días 10, 30, y 60 de tratamiento. El día 0 se aplicó 1 ml de lisado de plaquetas autólogo por vía intraarticular a los equinos enfermos. El ADAM5 se midió por ELISA, la actividad de MMP-2 y MMP-9 se analizó por zimografía y los GAGs se evaluaron con el test de DMMB. Las proteínas totales y la albúmina se cuantificaron con kits colorimétricos comerciales. En todos los casos se observó mejoría del score clínico (10.42 ± 1.06 día 0, 5.38 ± 0.63 día 30 y 5.68 ± 0.94 día 60) ($p < 0.01$ día 30 y 60 versus día 0). Las proteínas totales y la albúmina no mostraron diferencias significativas durante el tratamiento. En cuanto al resto de los parámetros de laboratorio evaluados resulta necesario incrementar el número de animales tratados para obtener datos con significancia estadística. Sin embargo, parecería que el tratamiento incrementa la actividad de la MMP-2 que presentaría un rol fisiológico ($217.2\% \pm 22.90$ al día 30 versus $148.4\% \pm 22.78$ al día 0). Además se vio una disminución de la proteasa ADAM5 (0.03 DO 490 nm ± 0.02 al día 60 versus 0.21 ± 0.15 al día 0) y un incremento de los GAGs lo que podría estar asociado a una mejoría en la composición del líquido sinovial (1204 mcg/ml ± 202.7 al día 60 versus 877.8 mcg/m ± 120.2 al día 0). La MMP-9 no presentó cambios durante el tratamiento. El lisado de plaquetas por vía intraarticular resulta una terapia alentadora ya que los individuos tratados mostraron mejoría clínica significativa. La aplicación intraarticular del lisado no está ampliamente descripta para el tratamiento de osteoartritis, siendo este resultado alentador para su utilización.

DESARROLLO OVÁRICO EN *MIMUS SATURNINUS* (AVES: MIMIDAE): ANÁLISIS ANATÓMICO E HISTOLÓGICO

Lezcano D¹, Olea G², Cuzziol Boccioni AP¹, Céspedes J¹, Lombardo D³

¹ Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Laboratorio de Herpetología. ² Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM) IQUIBA-NEA UNNE-CONICET. ³ Universidad de Buenos Aires. Facultad de Cs Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA).

El conocimiento de los eventos relacionados a la ontogenia gonadal en aves, resulta fundamental para la interpretación de los procesos involucrados con la diferenciación de las gametas femeninas, sin embargo, existen referencias solo para algunas especies modelo como *Gallus gallus domesticus*, *Coturnix coturnix* y *Columba livia*. La especie en estudio, *Mimus saturninus*, conocida popularmente como calandria, presenta un patrón de desarrollo del tipo altricial, a diferencia de las especies antes mencionadas que presentan patrones precoz y semi-altricial respectivamente. El objetivo del presente trabajo es describir los cambios y sucesos celulares implicados en la diferenciación ovárica y de los folículos ováricos en *Mimus saturninus*, a fin de contribuir con la biología reproductiva para especies silvestres con patrón de desarrollo altricial. Para ello, se colectaron y sometieron al proceso de eutanasia ejemplares de *Mimus saturninus* a partir del estadio 40, neonatos de 2, 5, 8, 14 días, juvenil y adulto. Se procedió a fijarlos en solución de Bouin y posteriormente se conservaron en formol al 10%. Se llevó a cabo un análisis morfológico a nivel ovárico y de conductos asociados, para lo cual se realizaron disecciones de la región urogenital. Se analizó la histomorfología ovárica y se realizaron preparados histológicos siguiendo las técnicas convencionales de deshidratación, inclusión en parafina y coloración con hematoxilina-eosina. Las observaciones realizadas permitieron identificar 4 estadios en la ontogenia ovárica post-eclosión. En el estadio I las ovogonias se encuentran agrupadas en nidos rodeadas por una capa de células pre-foliculares. El estadio II se caracteriza por el inicio de la profase y arresto meiótico de los ovocitos primarios. A partir del estadio III se inicia el reordenamiento de las células foliculares alrededor que cada ovocito que culmina con la organización del folículo primordial (estadio IV). Asimismo, se caracterizó la constitución histológica de ovocitos y folículos en el estado adulto de la especie en estudio. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que en *Mimus saturninus*, a diferencia de las otras especies estudiadas, la foliculogénesis se inicia luego de la eclosión, y plantean nuevos interrogantes sobre los mecanismos de control de este proceso. Teniendo en cuenta que la información es escasa desde el punto de la biología reproductiva en especies residentes en el nordeste de Argentina y particularmente de *Mimus saturninus* en ambientes naturales y periurbanos, este trabajo intenta profundizar en el conocimiento de la biología reproductiva de dicha especie constituyendo un importante aporte al conocimiento para las aves silvestres.

DESARROLLO DE LARVAS DE SÁBALO (*PROCHILODUS LINEATUS*) BAJO DIFERENTES CONDICIONES DE ALIMENTACIÓN: UN ANÁLISIS MORFOLÓGICO

Llamazares Vegh S¹, Volpedo A¹, Fuentes, C²

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), CONICET- Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. ²Laboratorios de la Dirección de Pesca Continental, Ministerio de Agroindustria de la Nación, Buenos Aires, Argentina.

En este trabajo, se estudió el efecto de la alimentación y la inanición en la morfología externa de las larvas de *Prochilodus lineatus* en condiciones experimentales. Las larvas se obtuvieron por reproducción controlada y fueron distribuidas aleatoriamente en 18 acuarios bajo un flujo constante de agua a 22-24 °C. Después de la reabsorción de vitelo en el día seis, las larvas fueron alimentadas con nauplios de *Artemia salina* o no alimentadas durante diez días. Al menos 10 larvas de cada régimen de alimentación (ALIMENTADAS-NO ALIMENTADAS) fueron tomadas al azar por día de tres acuarios y fijadas en alcohol 95% para estudiar la morfometría. Se utilizaron un total de 791 especímenes de *P. lineatus* (ALIMENTADAS, n = 403; NO ALIMENTADAS, n = 388). Se tomó una fotografía digital del lado izquierdo de cada espécimen en un estereoscopio Olympus SZX10 equipado con una cámara digital Olympus U-TV0.5XC-3. Se realizaron mediciones morfométricas en las fotografías digitales de cada individuo. Se registraron diez mediciones lineales (altura anal, altura corporal, longitud cleitro-ano, longitud cleitro-notocorda, diámetro de ojo, altura de cabeza, longitud de cabeza, longitud de la notocorda, longitud pre-anal y longitud de hocico) con el software ImagePro. Se realizó un análisis de componentes principales con la matriz de correlación para describir las principales fuentes de variaciones en los atributos morfológicos. Para este análisis, las medidas morfométricas se expresaron relativizadas a la longitud de la notocorda, como se describe en la literatura para el análisis morfológico de larvas de peces y juveniles. Además, analizamos la altura anal, el diámetro del ojo y la longitud pre-anal de tres grupos (larvas VITELADAS, n = 48, ALIMENTADAS en el día 15, n = 44 y NO ALIMENTADAS en el día 15, n = 48). Luego, las variables se normalizaron y se realizó un análisis discriminante. Encontramos diferencias significativas en las variables morfológicas, como la aparición exclusiva de la flexión de la notocorda, y la longitud de la notocorda, la longitud de la cabeza y la altura corporal más grandes en las larvas ALIMENTADAS. Cuando comparamos las variables morfológicas para las larvas VITELADAS, ALIMENTADAS y NO ALIMENTADAS, el análisis discriminante mostró un alto porcentaje de clasificación correcta de los individuos (72,9-89,6%). Estas variables parecen ser una herramienta útil y efectiva para identificar las condiciones de alimentación de las larvas. El tamaño reducido y los efectos considerables sobre la morfología de las larvas NO ALIMENTADAS en comparación con las larvas ALIMENTADAS indican que las larvas vivas pero privadas de alimento experimentarían una condición considerablemente disminuida. Esto podría representar una gran restricción para la colonización y escapar de los depredadores en condiciones naturales.

EVALUACIÓN DE CORTISOL SANGUÍNEO EN CORDEROS SOMETIDOS A ORQUIDECTOMÍA CON KETOPROFENO

Lopez E, Montoya L, Otero I, Passini S, Robles S, Monfrinotti A

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

El uso de drogas antiinflamatorias no esteroideas (AINES) como terapia analgésica en protocolos quirúrgicos se encuentra ampliamente difundido en pequeños animales. En la especie ovina, el uso de AINES se estudió en menor medida. Su uso podría resultar beneficioso en maniobras zootécnicas, disminuyendo el dolor y de esta forma mejorar las condiciones de bienestar animal. Es rutinario en explotaciones de ovinos el uso del elastrador para castrar corderos, usualmente sin administrar analgésicos. El objetivo del presente trabajo es evaluar si la inclusión de ketoprofeno (KTF) durante la orquidectomía con elastrador (ORQE) produce diferencias en los valores de cortisol en sangre, variable asociada al dolor. Se utilizaron 26 corderos machos ($21,58 \pm 5,19$ kg) al destete (CICUAL 2016/43). Dichos animales fueron separados en forma aleatoria en cuatro grupos (A, B, C, D). Grupo A: control sin castración (n=9); Grupo B: ORQE (n=4); Grupo C: ORQE con AINE local vía subcutáneo escrotal (SCe) (n=7); Grupo D: ORQE con AINE sistémico vía intramuscular (IM) (n=6). Se administró KTF a dosis de 3 mg/kg IM/ SCe. Al grupo C se le administró el AINE posterior inmediato a la colocación de la banda. Al grupo D se le administró el AINE 20 minutos previos a la colocación de la banda. Previo a la experiencia y pasados 7 días luego de la misma se extrajeron muestras de sangre, de la vena yugular, a todos los animales del estudio para realizar hemograma (hematocrito, hemoglobina, fórmula leucocitaria relativa y absoluta y recuento de plaquetas) y bioquímica sanguínea (urea, creatinina, GPT, GOT, FAS, albúminas y proteínas totales), resultados que han sido analizados en trabajos previos. Se tomaron muestras para medir valores de cortisol previo a la experiencia, pasados 90 minutos, 6 horas y finalmente 24 horas post ORQE se analizaron las concentraciones logradas mediante un test estadístico ANOVA, Infostat versión 2008.

Los resultados de chequeos sanguíneos tanto hematológicos como bioquímicos, previos y posteriores al estudio, se encontraron dentro de los parámetros normales en todos los corderos. La cortisolemia, aumentó considerablemente post maniobra, logrando un pico a los 90 minutos, retornando a la línea de base a las 6 h y logrando un segundo pico a las 24 h, si bien no hay diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) que indiquen una disminución de la cortisolemia por la administración de KTF, para todos los grupos sometidos a ORQE. En conclusión el uso de KTF en ovinos sometidos a ORQE no produciría cambios significativos en la cortisolemia, pero podría atenuar la respuesta al estrés generado por el dolor producido por esta maniobra zootécnica al haber presentado, el grupo B, un segundo pico de cortisolemia más elevado al resto de los grupos que recibieron AINE.

EMPLEO DE HIDRÓXIDO DE SODIO EN LA OBTENCIÓN DE CONTROLES POSITIVOS PARA EVALUAR LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO EN BOVINOS. RESULTADOS PRELIMINARES

López MS¹, González LO^{1,2}, Ghirardosi MS^{1,2}, Chenlo PH³, Mendeluk GR³,
Gómez Passanante EM⁴, Cisale HO^{1,2}, Fischman ML^{1,2}

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Física Biológica. Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Dpto. de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas José de San Martín. Buenos Aires, Argentina. (4) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Medicina. Dpto. de Fertilidad Humana, División Ginecología y Obstetricia, Hospital de Clínicas José de San Martín. Buenos Aires, Argentina.

La incorporación de pruebas nucleares al análisis de la calidad seminal permitiría predecir el comportamiento a campo de las dosis comerciales mediante la detección temprana de muestras portadoras de defectos no compensables. Además, la evaluación periódica de la calidad nuclear contribuiría a la detección de toros subfértiles, cuyos espermogramas de rutina resultan aptos para su empleo en inseminación artificial. La técnica de TUNEL es considerada una de las “pruebas de oro” para evaluar la fragmentación del ADN espermático. En nuestro laboratorio se desarrolló una técnica alternativa para evaluar la integridad del ADN espermático bovino, sencilla y económica, basada en la mayor susceptibilidad a la desnaturalización *in situ* que presentan los núcleos espermáticos fragmentados (F) con respecto a los no fragmentados (NF). En dicha técnica, los NF presentan un patrón caracterizado por la presencia de alteraciones morfológicas, compatibles con una alta respuesta a la decondensación y se tiñen de rosa (Giemsa). Los núcleos F se observan de tamaño similar o menor al normal, con morfología conservada, aunque con cierta tendencia a la rectangularidad, cromatina homogénea y coloración violeta (Giemsa). El objetivo del presente trabajo fue validar el método de obtención de controles positivos, utilizando NaOH 0,3M, mediante la técnica de TUNEL. Los controles positivos realizados en la nueva técnica en desarrollo permiten obtener patrones morfológicos repetibles, similares a los núcleos F presentes en las muestras y claramente diferenciables de los núcleos NF. Dosis criopreservadas de semen de 11 toros, en rutina de extracción, fueron procesadas con la técnica de TUNEL (In situ cell death detection kit, Fluorescein-Roche[®] adaptado de Chenlo y col., 2014). Las mismas fueron divididas en dos alícuotas. En una de ellas el control positivo se hizo con NaOH 0,3 M y en la otra con el tratamiento recomendado con DNAsa I recombinante (Roche[®]). El porcentaje de fragmentación del ADN, evaluado por citometría de flujo, fue mayor o igual al 74,7% en todas las muestras tratadas con NaOH. Estos resultados fueron similares a los obtenidos con el tratamiento con DNAsa I. A partir de los resultados obtenidos, el NaOH podría considerarse una alternativa eficaz, confiable y más económica en reemplazo de la DNAsa I para evaluar la fragmentación del núcleo espermático en espermatozoides bovinos.

DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE GRUPOS SANGUÍNEOS EN FELINOS DE LA REGIÓN METROPOLITANA DE BUENOS AIRES QUE CONCURREN A UN BANCO DE SANGRE

Lorenzo Smirnoff A¹, Gabriele C.A², De Simone E.A¹

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. 1 Cátedra de Fisiología Animal. 2 Patología Clínica y Enfermedades Médicas,

El gato doméstico cada vez toma mayor importancia como mascota en las grandes ciudades. Sumado a esto los avances en la medicina veterinaria han aumentado su promedio de vida generando la aparición de patologías de curso crónico y de nuevas opciones de tratamiento como son las transfusiones de sangre. El sistema de grupo sanguíneo AB está formado por 3 grupos: A, B y AB. La prevalencia de los distintos grupos sanguíneos varía según la raza y la distribución geográfica. La presencia de anticuerpos naturales y su detección es de vital importancia para programar el cruzamiento de individuos o para evitar reacciones postransfusionales que pueden amenazar la vida del animal. El objetivo de este trabajo fue realizar un relevamiento de la prevalencia de los grupos sanguíneos de felinos que concurren a un banco de sangre de la Ciudad de Buenos Aires. Se trabajó con un total de 286 felinos de distintos barrios de la Ciudad de Buenos Aires y del Gran Buenos Aires. Se registró la edad, el sexo y la raza. Se extrajo 1 ml de sangre con EDTA. Se realizó la tipificación de grupo sanguíneo mediante el kit comercial RapidVet-H (DMS Laboratories Inc., EE.UU.) y la prueba de compatibilidad (Crossmatch mayor y menor). Se observó una prevalencia total de 96,85% para el grupo A, 3,15% para el grupo B, y 0% para el grupo AB. Dentro de los felinos con grupo A, sólo el 5,4 % eran de raza (Siamés, Bosques de Noruega, Ragdoll, Persa) y el 94,6% eran mestizos. Dado el tamaño de muestra con el que se trabajó, los datos obtenidos de los felinos mestizos podrían ser extrapolados a nivel poblacional. Sumado a esto, se observan congruencias con los datos obtenidos en distintas partes del mundo. En EE.UU. la prevalencia fue de 94,8 a 99,7% de grupo A y 4,7 a 0,3% de grupo B según la región. En Inglaterra se describió una prevalencia de 97% de gatos A y 3% de gatos B. En la Península Ibérica la prevalencia de gatos A fue de 96,9% y de 3,1% para los B. En Río de Janeiro se registró una prevalencia de 94,8% para el grupo A, de 2,9% para el grupo B y de 2,3% para el grupo AB. Dada la poca proporción de felinos de raza muestreados no se puede arribar a conclusiones relevantes con respecto a las mismas. El conocimiento de la prevalencia de los grupos sanguíneos en la población es necesario para evitar reacciones postransfusionales y para programar el cruzamiento de individuos en los criaderos sin hacer peligrar la vida de los animales.

COCULTIVO DE CÉLULAS EPITELIALES OVIDUCTALES PORCINAS CON EMBRIONES PORCINOS PRODUCIDOS *IN VITRO*: PRIMERAS EXPERIENCIAS

Lorenzo MS^{1,2}, Teplitz GM^{1,2}, Maruri A², Lombardo DM²

¹ CONICET ² Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal, Cátedra de Histología y Embriología. soledadlorenzo@fvet.uba.ar

En trabajos anteriores se obtuvo y caracterizó un cultivo de células epiteliales oviductales porcinas (CEOP) el cual presentó vesículas esféricas (VE) en suspensión y células que se adherieron formando una monocapa. El objetivo de este trabajo fue adaptar las condiciones de cultivo de CEOP a las condiciones de cultivo embrionario y evaluar el desarrollo de embriones porcinos producidos *in vitro* cocultivados con las VE. Para la obtención del cultivo primario de CEOP se utilizaron oviductos de cerdas faenadas en diestro y las células se obtuvieron por presión externa con portaobjetos. Se descongelaron CEOP de pasaje 1 (CEOP-1) y se sembraron en gotas de 50 µL de medio SOF (fluido oviductal sintético) a 50000, 25000 y 12500 cel/mL. Se utilizaron diferentes concentraciones de SFB: 0; 2,5; 5 y 10%. Se cubrieron con aceite mineral y se cultivaron a 39°C en atmósfera saturada de humedad con 5% de CO₂ y 7% de O₂. Cada 48 h se renovó el medio de cultivo y se mantuvo durante 7 días. En el primer cambio, se reemplazó el medio por SOF con 2,5% de SFB. Por otro lado, se seleccionaron VE móviles del cultivo primario y se sembraron a una relación de 5, 10 y 20 VE/gota de 50 µL en medio SOF sin SFB y con 2,5 y 5% de SFB y se cultivaron en las condiciones antes descriptas. Se evaluó el crecimiento de la monocapa de CEOP-1 y la movilidad y viabilidad (tinción con Hoechst-ioduro de Propidio) de las VE. No se observaron diferencias en el crecimiento de las CEOP entre 2,5 y 5% de SFB, al utilizar 10% el crecimiento fue más rápido. La concentración de 12500 cel/mL no llegó a la semiconfluencia, mientras que la de 50000 cel/mL la alcanzó a las 48 h. Independientemente de la cantidad de VE/gota, las VE cultivadas con 5 y 2,5% de SFB permanecieron móviles y solamente presentaron algunas células muertas. Al no utilizar SFB las CEOP-1 y las VE murieron. Posteriormente, se fecundaron ovocitos porcinos madurados *in vitro* con semen fresco, durante 6 h en medio 199 modificado (1x10⁶ espermatozoides/mL). Los presuntos cigotos se cultivaron de a 20 en gotas de 50 µL de SOF con 2,5% SFB y 5 (n=51), 10 (n=74) o 20 (n=18) VE por gota o sin VE (control, n=75). A las 48 h se cambiaron a gotas de SOF con 5% de SFB, sin VE. Se cultivaron en las condiciones antes descriptas durante 8 días. El porcentaje de clivaje en el grupo de 20 VE disminuyó significativamente (11% vs control=38,6%; 5 VE= 33,3% y 10 VE= 47,2%; p<0,05); no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de mórulas. No se obtuvieron blastocistos. Se puede concluir que tanto las VE como las CEOP-1 desarrollan con bajas concentraciones de SFB (2,5%), en medio SOF y en condiciones atmosféricas aptas para el cultivo de embriones porcinos. La concentración 50000 cel/mL alcanzó la semiconfluencia a las 48 h, lo que permite descongelar células el mismo día de la llegada de los ovarios, al coincidir con los tiempos de maduración *in vitro*.

El grupo 20 VE afecta negativamente el desarrollo embrionario. A futuro se evaluará el efecto del cocultivo de embriones porcinos con CEOP-1 y se ampliarán los resultados del cocultivo con VE.

INTERACCIÓN IN VITRO ENTRE AZTREONAM Y OTROS ANTIBIÓTICOS SOBRE CEPAS DE ESCHERICHIA COLI AISLADAS DE CANINOS Y FELINOS

Lupi M¹, Passini S¹, Srednik M², Albarelllos G¹

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. 1. Cátedra de Farmacología. 2. Cátedra de Microbiología.

El aztreonam es un antibiótico monobactamo que incluye en su espectro bacterias gramnegativas aerobias (enterobacterias y pseudomonas). Solo debe utilizarse como último recurso por indicación de pruebas de susceptibilidad cuando el microorganismo es resistente a otros agentes de primera y segunda línea. Para disminuir la posibilidad de desarrollo de resistencia puede ser recomendable el uso de combinaciones antibióticas que cubran el mismo espectro actuando mediante diferente mecanismo de acción. El objetivo del presente trabajo fue investigar interacciones in vitro entre aztreonam y gentamicina, enrofloxacin o colistina sobre cepas de Escherichia coli aisladas de infecciones de perros y gatos. Se trabajó con 3 cepas (2 caninas y 1 felina) que fueron aisladas de infecciones urinarias. Para determinar la sensibilidad in vitro de cada cepa a los 4 antibióticos ensayados se realizó la prueba de susceptibilidad por el método de macrodilución en medio líquido (concentración inhibitoria mínima, CIM) según las técnicas del CLSI (2013). Para establecer las interacciones entre los antibióticos se empleó la técnica de "checkerboard". Para las 3 bacterias, los valores de CIM (mcg/ml) obtenidos para cada antibiótico fueron (cantidad de cepas entre paréntesis): para aztreonam, 0,25 (3); para gentamicina, 1 (1) y 2 (2); para enrofloxacin, 0,015 (2) y 0,06 (1); y para colistina, 0,12 (2) y 2 (1). De las interacciones evaluadas se obtuvieron los valores de concentraciones fraccionales inhibitorias (FIC) que determinan la presencia de sinergismo ($FIC \leq 0,5$), indiferencia (FIC entre 0,5 y 4) o antagonismo ($FIC > 4$) in vitro. Para una cepa canina se detectó sinergismo con la combinación de aztreonam con gentamicina ($FIC=0,37$) y aztreonam con colistina ($FIC=0,25$), e indiferencia para la combinación de aztreonam con enrofloxacin ($FIC=0,56$). Para las otras dos cepas en todas las combinaciones ensayadas se

obtuvo indiferencia como respuesta. Los resultados de este estudio preliminar avalan la conveniencia de combinar aztreonam con otros antibióticos del mismo espectro y con diferentes mecanismos de acción para disminuir la probabilidad de aparición de cepas resistentes. En el caso de las interacciones sinérgicas, se refuerza además la eficacia antibacteriana frente a *Escherichia coli*.

EVALUACIÓN DE RESPUESTAS EMPÁTICAS (CONTAGIO EMOCIONAL) EN EL GATO ADULTO DOMÉSTICO: AJUSTE DE DISEÑO EXPERIMENTAL

Mangas J, Ferrari HR

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

Se propone que las respuestas empáticas en el gato adulto doméstico se pueden evaluar mediante el examen de las expresiones faciales, vocalizaciones y/o posturas corporales exhibidas por gatos adultos (receptores) ante 6 (seis) grabaciones de sonidos seleccionados emitidos por otro gato doméstico (demostrador). Para tal fin, se analizaron 6 sujetos: gatos domésticos hembras y machos mayores de 2 años, neutros o enteros. La condición de salud fue determinada previamente. El lugar de realización fue el hogar donde vive el gato. Todos los animales estaban bajo las condiciones habituales. Se reprodujeron los sonidos mediante un parlante con conexión bluetooth con un volumen 50 % de altavoz por computadora. Fue colocado de manera tal que el gato queda entre el observador y la fuente de sonido. El observador en la computadora que emite los sonidos de frente a la misma de forma de no establecer contacto visual con el animal. Los sonidos se reprodujeron siempre en el mismo orden (1: alarma de reloj; 2: maullidos de solicitud felino en etapa de socialización; 3: de pájaros, 4: gato adulto en condición “estrés”; 5: de ratón; 6: ronroneo de gato adulto). Los sonidos provienen de fuentes de video donde se observan los comportamientos mencionados. La duración promedio de cada sonido fue de 20 segundos. Cada sonido se emitió hasta la aparición de algún cambio que aporte un registro de conducta o hasta tres veces consecutivas (1 minuto por sonido). Los sonidos se emiten uno a continuación de otro, dos veces. Se registró: Posición inicial, Latencia de atención, forma de Atención, Etograma, Expresión facial, Latencia en cambio de conducta y Cambio de conducta. Los

registros se obtuvieron en el momento por escrito y se constataron luego en el procesado del material de video. Todos los gatos mostraron una buena atención visual, auditiva, olfatoria y táctil a los sonidos emitidos. Estos afectaron la producción de conducta, hubo registro de diferentes posturas (28) y expresiones faciales (14) para cada sonido. Los que presentaron mayor latencia de atención promedio fueron los sonidos 1, 4 y 6 y el de mayor latencia de cambio conductual el 4. En el 6 tres de los cinco gatos no mostraron cambio de conducta. Los sonidos 3 y 5 promovieron respuestas del tipo predatorias, exploración auditiva, y visual hacia escondites y especialmente ventanas. En los sonidos 2 y 4 hubo más expresiones faciales. Todas las conductas registradas fueron espontáneas y ninguna se dirigió al observador. Si bien la muestra analizada fue pequeña resultó eficaz para armar y evaluar la utilidad del diseño experimental. El experimento resultó una herramienta eficaz y simple. Si estas diferencias se mantienen pueden dar una clara perspectiva del procesamiento de la información y cambio del estado emocional del receptor (observador) a partir del emisor (demostrador).

ACTIVIDAD DE SUCCINATO DESHIDROGENASA EN COMPLEJOS OVOCITO-CUMULUS PORCINOS

Martinez S¹, Gutnisky C^{1,2}, Cetica P^{1,2}, Breininger E^{1,2}

1 Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Química Biológica., 2 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Investigaciones en Producción Animal (INPA).

Durante el proceso de maduración in vitro del complejo ovocito-cumulus (COC) la glucosa es la principal fuente de energía, la misma es oxidada por las células del cumulus dando como producto piruvato y/o lactato que son utilizados por el ovocito como sustratos energéticos. En esta situación la enzima succinato deshidrogenasa (SDH) toma un papel preponderante ya que forma parte tanto del Ciclo de Krebs como de la cadena respiratoria mitocondrial. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad de la enzima SDH en COCs porcinos inmaduros y madurados in vitro. Los complejos ovocito-cumulus se obtuvieron por punción aspiración de folículos antrales de ovarios provenientes de cerdas de faena. Se seleccionaron bajo lupa estereoscópica aquellos COCs con cumulus denso y compacto. Los mismos fueron madurados en medio 199 suplementado con 10% de fluido folicular porcino (FPP), 0,2 μ g/ml de FSH y 2 μ g/ml de LH, y 50 μ g/ml de sulfato de gentamicina, bajo aceite mineral a 39°C, 5% CO₂ en aire humidificado durante 48 hs. Para extraer la enzima se suspendieron los COCs en solución buffer pH 7,2 y se los congeló/descongeló, se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos a 4°C, se obtuvo el sobrenadante y nuevamente se congeló/descongeló. Se centrifugó por segunda vez a 10000 rpm durante 20 minutos a 4°C, se obtuvo el precipitado y se lo resuspendió en solución buffer. Se utilizaron suspensiones de 100 COCs. La determinación de la actividad de la

SDH se realizó mediante un método espectrofotométrico basado en la disminución de la absorbancia del DCPIP (2,6-diclorofenolindofenol) que actúa como aceptor de electrones. Los datos se compararon mediante la prueba estadística de T-Student (n=5). Se observó un aumento significativo en la actividad de la SDH en los COCs madurados in vitro vs inmaduros ($2,37 \times 10^{-5} \pm 0,89 \times 10^{-5}$ vs $3,48 \times 10^{-6} \pm 0,8 \times 10^{-6}$ UE/COC). De los resultados obtenidos se puede concluir que durante la maduración in vitro de los COCs porcinos la actividad de la enzima SDH aumenta considerablemente, probablemente como consecuencia de los cambios metabólicos que suceden durante este proceso.

EVALUACIÓN DEL USO DE ANTIPARASITARIOS EN GRANJAS PORCINAS DEL SUR DE LA PROVINCIA DE CÓRDOBA

Mayón M, Carranza A, Parada J, Ambrogi R, Di Cola G.

Facultad de Agronomía y Veterinaria. U.N.R.C.

Las consecuencias económicas de las enfermedades parasitarias, están relacionadas con la pérdida de peso, bajos índices productivos y decomisos en la inspección veterinaria de faena. En pocas ocasiones se producen muertes, y en general los procesos cursan sin sintomatología aparente. El control se realiza en base al uso de antiparasitarios, aunque pocas veces se realiza una coprología previa. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el uso de antiparasitarios y su relación con la presencia de estructuras parasitarias en la materia fecal de cerdos en el sur de Córdoba. Para esto, se trabajó a partir de la sistematización de datos obtenidos en una actividad curricular práctica a campo de alumnos del cuarto año de Medicina Veterinaria, durante 2012, 2014, 2015 y 2016. El trabajo consistió en una encuesta de caracterización productiva sobre un total de 64 granjas y realización de análisis coprológico de muestras de materia fecal de animales a distintas edades. Según nuestros resultados, una de cada dos granjas analizadas fue positiva al menos a una estructura parasitaria. Sin embargo, el porcentaje de positivas fue mayor en los sistemas al aire libre (SAL) (63%), respecto a los establecimientos confinados (27%) o mixtos (33%). Las estructuras parasitarias más frecuentemente encontradas fueron huevos de *Áscaris* (33%) y tipo strongylido (31%). Llamativamente, sólo se detectaron estructuras parasitarias compatibles con *Macracantorhynchus hirudinaceus* en una granja confinada. El antiparasitario más utilizado fue ivermectina, en un 68% de las granjas, aunque varió según el tipo de sistema productivos (confinados 64%, mixtos 45% y SAL 71%). Dentro de las granjas que utilizaban ivermectina, se observó un 57% (29/51) de granjas con estructuras

parasitarias, y dentro de estas, las más frecuentemente encontradas fueron huevos de *Ascaris* (34%) seguido de huevos tipo strongylido (32%) y huevos de *Trichuris* (8%). Febendazol se utilizó en segundo lugar, en un 33% de las granjas, y la distribución de utilización según el tipo de sistema productivo fue mayor en los sistemas mixtos (41%), en comparación a los sistemas SAL (20%) y confinados (14%). Las granjas positivas a estructuras parasitarias fueron un 38% (8/21). Las estructuras más encontradas, dentro de las granjas que utilizaban febendazol, fueron huevo tipo strongylido (42%) y en menor proporción huevo de *Áscaris* (17%) y huevos de *Trichuris* (17%). A pesar de la masiva utilización de ivermectina y en menor proporción de febendazol, se encontró un elevado número de granjas positivas. Estos resultados podrían estar dados por erróneos o empíricos métodos y criterios de aplicación de estos antiparasitarios, o la aparición de resistencia. Mayores investigaciones son necesarias para encontrar las causas.

TUBERCULOSIS EN CIERVOS AXIS DE LA MESOPOTAMIA ARGENTINA

Mc Cormick T¹, Martínez Vivot M¹, Falzoni E¹, Zumárraga M²,
Marfil J^{1y2}, Cuerda X², Medrano N, Barandiaran S^{1y3}

¹- Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires, Argentina. ²- Instituto de Biotecnología. CICVyA-INTA. Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. ³-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

El ciervo axis, chital o ciervo moteado (*Axis axis*) es una especie de mamífero artiodáctilo de la familia *Cervidae*. Es de tamaño mediano, presenta manchas blancas sobre su coloración marrón o castaño rojizo, es originario de Asia y se encuentra en la Mesopotamia y la región pampeana. Es una especie exótica invasora, la cual depreda especies nativas y modifica el ecosistema local. En la provincia de Corrientes se está reproduciendo rápidamente y poco se sabe del estatus sanitario de estas poblaciones. La tuberculosis es una enfermedad infecto-contagiosa que afecta a animales silvestres, domésticos y al hombre. Esta enfermedad, en animales, es causada principalmente por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), patógeno intracelular perteneciente al complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Dadas las características demográficas de nuestro país, en la mayoría de los casos, los animales de producción se encuentran compartiendo ecosistemas con las especies silvestres, favoreciendo de esta manera la transmisión de enfermedades comunes. El objetivo del estudio fue evaluar la presencia de tuberculosis en una población de ciervos axis de una zona de los Esteros del Iberá (campo privado) en el marco del control de caza de especies exóticas. Para el estudio se utilizaron siete animales adultos, cazados y necropsiados, de los cuales se obtuvieron muestras de linfonódulos de la cabeza

sin lesiones compatibles con tuberculosis. Dichas muestras se cultivaron en medios Löwenstein-Jensen y Stonebrinck a 37°C durante sesenta días y se procesaron por PCR directa de órgano. La identificación y tipificación molecular de los aislamientos se realizaron por PCR y spoligotyping. A partir de los siete cultivos, se observó desarrollo en dos de ellos, los cuales fueron identificados como *M. bovis*. Mediante la tipificación de las mismas se obtuvieron dos patrones genómicos diferentes (SB0140 y SB0856). La PCR de órgano fue negativa en todas las muestras, excepto en una, que se confirmó con el aislamiento respectivo. A partir de este trabajo se logró detectar la presencia de *M. bovis* en la población de ciervos axis en un campo privado de una zona de los Esteros del Iberá, Corrientes. La tipificación de dos genotipos diferentes indica la existencia y circulación de más de dos cepas en la zona estudiada. Si bien la PCR de órgano fue menos sensible que el cultivo, en esta oportunidad (sólo positivo en una muestra), es un método rápido que podría considerarse de utilidad para un diagnóstico preliminar al cultivo a las muestras. La PCR puede generar interferencia en el diagnóstico por presencia de inhibidores en el tejido, es por esta razón que observamos diferencias entre los resultados de esta prueba, en comparación con el cultivo. Continuaremos trabajando con el fin de optimizar las metodologías utilizadas para lograr un rápido y eficaz diagnóstico de tuberculosis en esta especie silvestre.

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CONTINUA DE PROBIÓTICOS EN PISCICULTURA DE *PROCHILODUS LINEATUS*

Mendoza JA^{1,2}, Lizardo Falcón S^{1,2}, Guidoli MG^{1,2},
Amable VI¹, Boehringer SI¹, Sánchez S²

Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología¹ e Instituto de Ictiología del Nordeste (INICNE)² – Sargento Cabral 2139, Corrientes, Argentina. E-mail: jorge_vet06@hotmail.com

La piscicultura del NEA se ve favorecida por el empleo de especies nativas. Las técnicas de cultivo y el escaso conocimiento acerca de estas especies ocasionan un incremento en el estrés, un lento crecimiento y una elevada mortandad. Si bien el uso de antibióticos mostró ser una solución, se recomienda no administrarlos. Una alternativa es el uso de microorganismos probióticos. Previamente se aisló, seleccionó *in vitro* en base a sus propiedades benéficas, y determinó *in vivo* las dosis y combinaciones ideales de hongos autóctonos del microbioma intestinal, de peces de ambientes naturales y en cautiverio. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la administración de las mezclas seleccionadas en diferentes etapas del proceso de producción, sobre diferentes variables (peso medio, sobrevida, biomasa), en Sábalo (*Prochilodus lineatus*), para determinar el momento más oportuno de suministrarlas. A tal fin, ovocitos fecundados se dividieron en un grupo control y otro al que se le administró dos cepas de *Candida tropicalis* (A y B), una cepa de *Candida lambrica* (C) y una de *Aureobasidium sp* (D), en dosis de 6×10^8 (A), 6×10^6 (B), 6×10^4 (C) y 6×10^4 (D). A los 15 días, las larvas de cada réplica fueron sembradas en estanques a cielo abierto fertilizados, cinco días antes, con aproximadamente 150 g de alfalfa ensilada con o sin microorganismos probióticos. A su vez, los tratamientos se dividieron en un grupo al que se alimentó con balanceado suplementado con probióticos

y otro sin microorganismos. A los 330 días en estanque se tomaron muestras para determinar peso medio, sobrevida y biomasa. Cada tratamiento se realizó por triplicado y los resultados se analizaron por ANOVA y tests post hoc correspondientes mediante Statista e Infostat. Los resultados demuestran que en los tratamientos que no se adicionó probióticos en la fase L (larvicultura), la administración o no de los microorganismos en las otras fases no generaron diferencias significativas en ninguna de las variables. Por su parte en los tratamientos en los que se administró el probiótico en la fase L, la administración de microorganismos en las demás fases solo generó diferencias en el peso medio, sin generar diferencias significativas en biomasa y sobrevida. Como conclusión, si no se administra el probiótico durante la larvicultura, no se recomienda la adición del mismo en las demás etapas. Por otro lado, la presencia del probiótico en el agua de los estanques sin adicionar los microorganismos en el alimento balanceado, mejora significativamente el peso medio de los animales a los que se les suministro el probiótico en la etapa larval. Así el presente trabajo permite seleccionar como el más adecuado al tratamiento en el que se adiciona la mezcla probiótica durante la larvicultura y en el ensilado con el que se fertilizó el estanque.

EVALUACIÓN DEL CONTENIDO NUTRICIONAL DE LA CEPA DE MICROALGAS NATIVA *PARACHLORELLA KESSLERI*: POTENCIAL USO COMO SUPLEMENTO ALIMENTICIO PARA PECES Y CRUSTÁCEOS

Miguez MB^{1,2}, Fernández RS¹, Cretton M³, Mazzuca M³, Juárez AB^{1,2}, Viau VE^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental. ²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, CONICET-Universidad de Aires, Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA), Buenos Aires, Argentina. ³Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

La utilización de microalgas como fuente de compuestos nutritivos y bioactivos constituye una práctica cada vez más difundida en la industria alimenticia, nutracéutica y farmacéutica. Además, en la acuicultura ha demostrado ser un recurso de impacto positivo como aditivo dietario para la elaboración de alimentos acuícolas. Esto se debe a que las microalgas presentan la capacidad de sintetizar y acumular grandes cantidades de nutrientes esenciales y compuestos bioactivos. Asimismo, constituyen un recurso renovable que puede contribuir a la reducción del uso de harina y aceite de pescado en los piensos, sin perder valor nutricional. A fin de evaluar y comparar el contenido nutricional de una cepa nativa de *Parachlorella kessleri* con la cepa de *Chlorella vulgaris* de uso comercial, se desarrollaron cultivos de esta cepa en el laboratorio utilizando medio de cultivo basal de Bold a 24±1°C, luz continua y aireación constante. Alcanzada la fase estacionaria temprana, se cosechó la biomasa total y se liofilizó para su posterior determinación de nutrientes (ácidos grasos, vitaminas, minerales y aminoácidos). Los resultados mostraron que *P. kessleri* presenta un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (62%) de la

serie Omega 6, entre los que se destacan el ácido linoleico (39 mg/g) y el ácido gamma-linolénico (9 mg/g). Además, mostró un elevado contenido de ácido oleico (5 mg/g) de la serie omega 9, y ácido palmítico (20 mg/g) del grupo de los ácidos grasos saturados. Asimismo, se destacó el contenido de vitamina C (ácido ascórbico, 3 mg/g), y entre los minerales preponderan el potasio (10 mg/g) y el magnesio (1,5 mg/g). Estos valores son marcadamente superiores a los citados por otros autores para *Chlorella vulgaris*. En cuanto a la composición de aminoácidos, no se encontraron diferencias con esta última. Actualmente, continuamos analizando la capacidad antioxidante y la composición de compuestos bioactivos (antioxidantes e inmunoestimulantes) de *P. kessleri*, que en conjunto con los resultados obtenidos nos servirá de base para evaluar su potencial uso como suplemento dietario en alimentos acuícolas con alto valor agregado.

DETECCIÓN TEMPRANA DE *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* EN CERDOS DE PIARAS ENDÉMICAMENTE INFECTADAS

Moiso N¹, Degano F¹, Seitz JA¹, Camacho PA¹, Estanguet AA¹, Tamiozzo PJ¹

¹ Departamento Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina, CP 5800.

Mycoplasma hyopneumoniae es el agente causal de la neumonía enzoótica porcina (NEP), una enfermedad respiratoria crónica de los cerdos. La detección temprana del agente es un desafío, puesto que mientras antes sea detectado, más eficaces serían las medidas de control de la enfermedad y menores las pérdidas productivas. Se ha demostrado que la detección del agente por PCR en muestras de hisopados nasales, tiene una buena correlación con la detección en tonsilas y en pulmón, lo que constituye una ventaja para la toma de muestras. Recientemente, se demostró en cerdos infectados experimentalmente, que el hisopado laríngeo permite una detección más temprana del microorganismo. Sin embargo, esto no ha sido demostrado en cerdos infectados naturalmente. Debido a la importancia que implica conocer el estado de infección de los animales a una edad temprana, se comparó la proporción de PCR positivos en muestras de hisopado nasal e hisopado laríngeo en un estudio longitudinal, en cerdos de diferentes edades provenientes de una pira endémicamente infectada. Se realizó un estudio longitudinal en una granja porcina de 1900 madres, parto-terminación, infectada endémicamente con *M. hyopneumoniae*. Se muestrearon tres grupos de 20 cerdos cada uno, de manera consecutiva. De cada cerdo se tomaron muestras de hisopado nasal (HN) e hisopado laríngeo (HL) a las 3, 6, 10, 16 y 22 semanas de edad. Luego de la extracción de ADN, se realizó la PCR anidada para la detección del agente, utilizada de rutina en nuestro laboratorio. Las proporciones totales (y por cada edad en cada grupo) de PCR positivos en HN vs HL fueron comparadas utilizando

el programa EPIDAT 3.1. A nivel global, sin considerar edad ni grupos de animales, hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$. IC95% -0,157 -0,036) entre la proporción de positivos a HL (20%-60/300) vs HN (10,3%-31/300), aunque la mayor proporción de positivos a ambos tipos de muestra se dio a las 22 semanas de edad. La proporción de PCR positivos en cada tipo de muestra varió en cada una de las edades y entre los grupos seguidos. En los grupos 1 y 2 no hubo positivos a ninguna muestra en animales de 3 y 6 semanas de edad, solo en el grupo 3 el 15% de los HN y el 50% de HL fueron positivos a las 3 semanas de edad ($p < 0,05$. IC95% -0,66 -0,03). La dinámica del agente dentro de la misma granja varió entre los grupos seguidos. Aunque a nivel global *M. hyopneumoniae* pudo ser detectado en mayor proporción en HL respecto de los HN, la mayoría de los animales estaban cerca de la edad de faena, por lo que no se puede afirmar la detección temprana del agente en ese tipo de muestra, puesto que el mismo ya había sido detectado antes en HN, excepto en el grupo 3 en donde sí se observó la detección precoz.

ESTUDIO DE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR TRICHINELLA SPP EN JABALÍES (SUS SCROFA)

Montalvo F¹, Acerbo M², Pasqualetti M^{1,3}, Fariña F^{1,3}, Ercole M¹, Bessi C^{1,4}, Pillado S⁵, Bonboni A¹, Ribicich MM^{1,3}

1Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Buenos Aires. Argentina. 2Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Producción Porcina. Av. Chorroarín 280, C1427CWO CABA, Argentina. 3CONICET. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. (INPA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina. 4 CONICET. Buenos Aires. Argentina. 5 Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Criadero de cerdos.

La trichinellosis es una zoonosis causada por el consumo de carne o de productos a base de carne de animales domésticos o de caza, infectada con larvas de *Trichinella* spp. En algunos países de Sudamérica es un problema de difícil solución, debido a los hábitos culturales de consumo de carne y condicionantes que promueven la presencia de la parasitosis en el ámbito rural y silvestre. Son ejemplo de ello deficientes y precarias medidas sanitarias y de manejo en granjas, como también animales silvestres que se dirigen a la región urbana en busca de alimento. En este contexto, los jabalíes (*Sus scrofa*) son protagonistas en el ciclo biológico silvestre participando como consumidores de residuos crudos. Se ha estudiado que la infección es inaparente o asintomática en los cerdos (*Sus scrofa domestica*). También existe información disponible sobre los focos producidos en ésta especie que permite predecir y evitar la diseminación de la parasitosis, pero está ausente para los jabalíes en nuestro país. En el presente trabajo se emplearon 20 jabalíes (*Sus scrofa*) de 60 días de edad, provenientes de un establecimiento de la provincia de Buenos Aires. Se realizó la identificación de los animales con caravanas. Se les realizó la revisión clínica, que

consistió en evaluar el estado general; examen de piel, mucosas y estado nutricional, medición de la temperatura corporal, frecuencia cardiaca y respiratoria, como así también la determinación del peso corporal. Se recolectó materia fecal con guantes descartables y se conservó en frío hasta su procesamiento en el laboratorio parasitológico para corroborar la ausencia de parasitosis intestinales. Con la realización del presente trabajo se espera estudiar la infección experimental y la respuesta clínica de los jabalíes inoculados experimentalmente con *T. patagoniensis*, *T. pseudospiralis* y *T. spiralis* para evaluar el comportamiento de las diferentes especies y determinar la infectividad y el patrón de distribución de larvas en los grupos musculares de interés parasitológico y comercial para evaluar las cargas parasitarias y la capacidad infectante. Estos datos, constituirán valiosos aportes en el conocimiento de esta zoonosis.

EFFECTO DEL TIEMPO DE INCUBACIÓN POST DESCONGELADO SOBRE LA MOVILIDAD Y FUNCIONALIDAD DE MEMBRANA DEL ESPERMATOZOIDE BOVINO

Montes M¹, Malcervelli D^{1,2}, Torres P^{1,2}, Cisale, H^{1,2,3}, Fischman ML^{1,2}

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. ¹Cátedra de Física Biológica. ²Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). ³Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA)

Entre las pruebas funcionales que se utilizan para evaluar la calidad seminal se encuentran la movilidad espermática (ME) y el test de endósmosis (HOST). Para la determinación objetiva de la ME se utilizan los sistemas CASA. Estos permiten clasificar a los espermatozoides en subpoblaciones de acuerdo a su velocidad (rápidos, medios o lentos) y analizar los parámetros de movilidad: velocidad curvilínea (VCL), velocidad lineal (VSL), velocidad media (VAP), linealidad (LIN), rectitud (STR), oscilación (WOB), y frecuencia de batido de la cola (BCF). Es sabido que la incubación a 37 °C de los espermatozoides descongelados altera sus parámetros funcionales. El objetivo de este trabajo fue determinar la ventana de tiempo en la cual es posible evaluar la ME objetiva y el HOST en espermatozoides bovinos. Se analizaron 10 muestras seminales bovinas criopreservadas, realizando evaluaciones cada 5 minutos (0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 min post descongelado). La ME se analizó sobre 1000 espermatozoides por muestra mediante el sistema ISAS[®] Proiser, (cubreobjetos 20 mm x 20 mm; gota de 12 µl, 25 Hz, 100x fase negativo). El HOST se realizó incubando a los espermatozoides en una solución hipoosmolar (100 mOsm) a 37 °C por 10 min., observándose 100 espermatozoides por muestra con contraste de fase (Axiostar Plus[®], Carl Zeiss, x400). Los resultados se expresaron como media y desvío estándar y se aplicó el test de Friedman ($\alpha=5\%$) para comparar los parámetros obtenidos en diferentes tiempos de evaluación (InfoStat[®] 2016p). En el HOST no se observaron

diferencias entre los distintos tiempos de evaluación, pero para la ME, la ME progresiva y el resto de los parámetros de movilidad medidos con CASA, los valores obtenidos fueron consistentes entre los 5 y los 15 minutos de incubación, declinando luego hasta llegar a los 30 min. La ME total fue mayor entre los 10 y 15 min (10: 70,2±13 %; 15: 69,8±10,5 %). La ME progresiva llegó a su máximo entre los 5 y 10 min (5: 48,7±14,7 %; 10: 52,4±10,5 %). Los mayores % de espermatozoides rápidos se determinaron entre los 5 y 10 min (5: 41,7±14,7 %; 10: 45,2±15,3 %). Los tiempos en los cuales se determinaron las mayores velocidades espermáticas fueron entre los 5 y 15 min de atemperado, tanto para VCL (5: 67,1±1 µm/s; 10: 63,3±13,9 µm/s; 15: 65±14,4 µm/s), VSL (5: 32,2±6,1 µm/s; 10: 34,3±6,6 µm/s; 15: 32,4±7,5 µm/s) y VAP (5: 38,7±5,4 µm/s; 10: 38,7±4,4 µm/s; 15: 38,6±5,3 µm/s). Asimismo, a los 5 min y 10 min de incubación, se observaron los mayores valores de BCF (5: 9,1±1,1 Hz; 10: 9,1±1,2 Hz) y el % de LIN fue mayor a los 15 min (50±5 %). Los resultados obtenidos sugieren que la evaluación objetiva de la movilidad da valores más altos al ser medida entre los 5 y 15 min de incubación. Luego los parámetros de movilidad empiezan a decaer paulatinamente. La evaluación inmediata post descongelado o demasiado tardía (más de 15 min de incubación) redundaría en una subvaloración de la movilidad espermática objetiva, llevando a un análisis incorrecto de uno de los componentes esenciales del análisis de calidad seminal.

PRODUCCIÓN DE CÉLULAS DENDRÍTICAS *IN VITRO* A PARTIR DE MÉDULA ÓSEA DE RATÓN

Moreira JE, Kotsias F

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Virología.

Únicas en captura, procesamiento y presentación de antígenos, las células dendríticas (DCs) forman parte del sistema inmune coordinando la respuesta innata y adquirida. Poseen complejos estados entre el inmaduro y el maduro, y tienen un rol central en infecciones virales e inmunidad tumoral al activar la respuesta citotóxica, principalmente a través de la vía de presentación cruzada de antígenos. A su vez, el desarrollo en auge de vectores virales vacunales en veterinaria conlleva implícito el inminente estudio de la relación de éstos con las DCs y su función inmunitaria. Por ello es indispensable la obtención de DCs cuyas características funcionales y fenotípicas contemplen los requisitos necesarios para la actividad de investigación en el laboratorio. Con el objetivo de obtener células dendríticas derivadas de médula ósea (BMDCs) murinas se sacrificaron ratones C57BL/6 por dislocación cervical y se extrajeron las células progenitoras a partir de los fémures y las tibias mediante lavado intramedular. Luego de la lisis de los glóbulos rojos, se resuspendieron en medio IMDM suplementado con la citoquina GM-CSF murino (factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos). Esta última se obtuvo en el laboratorio a partir del sobrenadante de cultivo condicionado del plasmocitoma J558 que expresa GM-CSF bajo selección con geneticina. Las células se incubaron durante 8 días, realizando pasajes de las mismas a los días 3 y 6 sobre placas de Petri estériles no tratadas. Luego de la diferenciación *in vitro*, se verificó la presencia de BMDCs diferenciadas e inmaduras mediante marcación con anticuerpos dirigidos contra CD11c (marcador de DCs), CD86 y CD80 (marcadores de maduración) y MHC clase II a las células en cultivo sin tratar y tratadas con lipopolisacárido (LPS) para inducir la maduración. El fenotipo de

las células marcadas se analizó mediante citometría de flujo, obteniéndose porcentajes de células CD11c⁺ mayor al 75%. Asimismo, las células no tratadas mostraron niveles bajos de los marcadores de maduración, los cuales se incrementaron luego de la incubación con LPS, demostrando que el fenotipo de las células obtenidas corresponde al estado inmaduro y que las mismas pueden ser correctamente activadas. Ensayos preliminares de presentación cruzada antigénica demostraron que las células obtenidas son capaces de presentar correctamente péptidos derivados de ovoalbúmina (OVA) a linfocitos T CD8⁺ *naive*. Estos resultados permiten concluir que se logró establecer exitosamente el cultivo de BMDCs primarias murinas en el laboratorio de Virología, lo cual nos permitirá avanzar con su caracterización y su empleo en ensayos de maduración, presentación antigénica y procesamiento de antígenos de interés en el contexto del proyecto que tiene como objetivo estudiar la modulación que ejercen los vectores virales vacunales en la presentación antigénica.

SCOLEX ULTRASTRUCTURE AND HISTOCHEMISTRY OF THE SCOLEX GLANDS OF *MONTICELLIA MAGNA* AND *PROTEOCEPHALUS PIMELODI* (CESTODA: ONCHOPROTEOCEPHALIDEA).

Mutti LD ^{1,2}, Arredondo N ^{2,3}, Ivanov VA ^{2,3}.

(1)Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Biología de la Reproducción, Crecimiento y Nutrición de Crustáceos Decápodos. Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET- Universidad de Buenos Aires. Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA). Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Sistemática y Biología de Parásitos de Organismos Acuáticos. Buenos Aires, Argentina

Onchoproteocephalidean cestodes are parasites of elasmobranchs, freshwater fishes, amphibians, reptiles and marsupials. In South America, they are mostly found in Siluriformes (Teleostei), mainly in Pimelodidae. The scolex of the tapeworms is the principal attachment organ used to keep their position on the intestinal wall of their hosts. In most onchoproteocephalideans, the scolex is composed of four suckers and usually presents glands. In addition, the tegumental surface of the scolex and strobila is covered by microtriches, which add to the adhesion to the intestinal wall. The objective of the present study was to describe the internal ultrastructure of the scolex microtriches, and the histochemical composition of the apical glands in 2 onchoproteocephalideans. Six scolices of *Monticellia magna* and five scolices of *Proteocephalus pimelodi*, were fixed in 4% hot formalin, and stained with Coomassie brilliant blue, Alcian blue, Toluidine blue, and periodic acid-Schiff (PAS). Additionally, specimens of *M. magna* and *P. pimelodi* were observed with transmission electron microscopy. All worms were collected from catfishes (*Pimelodus* spp.). As a result, two types of glands were observed in the apex and around

the suckers. Both differ in their secretion mechanism, and in the size of the secretion granules. Furthermore, groups of PAS positive cells were noticed around the suckers, in the apex, and in the neck, in the same area as the glands. Based on these results, it is conceivable that these groups of PAS+ cells might be related to several glands described mostly on the scolex apex, but evidently widely distributed on most surfaces of the scolex. Their mucopolysaccharide secretion might be involved in the adhesion to the intestinal mucosa of the catfishes. The microthrix pattern includes gladiate spinitriches and capilliform filitriches with large caps (ratio cap:base 1:0,25-0,74). Which might be involved in the attachment to the intestinal mucosa of the host. Finally, the internal structure of the scolex is described for the first time in South American onchoproteocephalid tapeworms.

MODIFICACIÓN DEL ESTATUS EPIGENÉTICO DE LA TRIPLE METILACIÓN DE LA LISINA 9 DE LA HISTONA 3 (H3K9me3) MEDIANTE EL SISTEMA CRISPR/CAS EN EMBRIONES BOVINOS

Navarro M, Blüguermann C, Von Meyeren M, Mutto AA

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas “Dr Rodolfo Ugalde”. IIB- INTECH.

La epigenética estudia el conjunto de elementos funcionales que regulan la expresión génica de una célula sin alterar la secuencia de nucleótidos del ADN, determinando qué genes deben ser expresados, en qué grado y en qué momento. Las histonas participan en la compactación y organización del ADN en el núcleo celular. Aminoácidos específicos de las histonas pueden ser modificados mediante la adición de grupos acetilo, metilo o fosfato. Las combinaciones de estas modificaciones definen la conformación de la cromatina e influyen en la expresión génica. Hay ciertas modificaciones, como la trimetilación de las lisinas en posición 4 y 36 de la cadena polipeptídica de la histona H3 (H3K4me3 y H3K36me3, respectivamente) que se han asociado clásicamente con permitir la expresión de los genes que controlan, mientras otras, como la trimetilación de las lisinas 9 y 27 de la histona H3 (H3K9me3 y H3K27me3, respectivamente), se han relacionado con el silenciamiento génico. Hay al menos tres metiltransferasas de histonas: SUV39H1, SUV39H2 y SETDB1 que catalizan la generación de la H3K9me3 en células de mamíferos. Trabajos previos han demostrado que en las especies bovina, murina, humana, entre otras, es necesario la remoción de la marca H3K9me3 en embriones obtenidos por fecundación in vitro (FIV) y por transferencia nuclear de células somáticas (TNCS), para lograr un correcto desarrollo embrionario preimplantatorio. Se ha observado que una disminución en la H3K9me3 permite la correcta expresión de genes involucrados en la activación del genoma embrionario. Con el objetivo de disminuir el estado de metilación de la lisina 9 de la histona 3 y evaluar su efecto sobre el desarrollo embrionario, en el presente trabajo

hemos generado el knock out de *suv39h1* en cigotos bovinos obtenidos por FIV mediante el sistema Crispr/Cas9. Para ello, diseñamos ARN guías específicos del gen blanco utilizando el programa CAS DESIGNER. Luego, comprobamos la eficiencia de corte in vitro para cada complejo ARNg-Cas9-ADN blanco. Una vez validados, éstos fueron inyectados en el citoplasma de presuntos cigotos, 18hs post fecundación. Como resultado, observamos que el porcentaje de producción embrionaria incrementó un 17,6% en embriones tratados en comparación al control (42,2% vs 24,6% respectivamente). Con el fin de determinar la eficiencia de edición, realizamos un ensayo de inmunofluorescencia de la H3K9me3 mediante el cual estimamos una eficiencia del 66%. En base a estos resultados, podemos concluir que la delección de la metiltransferasa SUV39H1 aumenta la producción embrionaria por FIV. Esto indicaría que la remoción de la marca H3K9me3 permitiría una mayor relajación de la heterocromatina y por consiguiente, la activación de genes embrionarios.

EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE LA PROTEÍNA PCNA DURANTE LA ESPERMATOGÉNESIS EN *COLUMBA LIVIA* (AVES: COLUMBIFORMES)

Olea G¹, Aguirre MV¹, Lombardo D²

¹ Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM) IQUIBA-NEA UNNE- CONICET. ² Universidad de Buenos Aires. Facultad de Cs Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA).

En las aves, las gónadas se organizan y diferencian a partir un par de crestas genitales en posición ventro-medial a los riñones. Dichas crestas están constituidas por Células Germinales Primordiales (CGPs), de origen extra-gonadal. En los machos, luego de una etapa indiferenciada, en la gónada se organizan en la médula los túbulos seminíferos, los cuales están constituidos por las células de la línea germinal y las células de soporte y esteroideogénicas. Se ha encontrado que la proteína PCNA es un marcador útil para la detección de células mitóticamente activas en órganos reproductores de pez cebra y aves de corral. El estudio de la expresión de la proteína PCNA en la ontogenia testicular de aves ha sido escasamente explorado, siendo reportado solo estudios para *Gallus gallus domesticus*. En este trabajo, se presenta el análisis inmunohistoquímico de la expresión diferencial de la proteína PCNA en neonatos, juveniles y adultos de *Columba livia* en diversas etapas de la morfogénesis gonadal, a fin de establecer el patrón de expresión diferencial de dicha proteína durante la espermatogénesis de la especie en estudio. Para ello se reveló en preparados histológicos de testículo la expresión de la proteína PCNA en neonatos de 7, 10, 14, 25 y 75 días post-eclosión (dpe), utilizando un anticuerpo anti PCNA en una dilución de trabajo 1:100 incubado por 60 min. a 37°C; y revelado según el protocolo indirecto de “L-streptoavidina biotina”. A partir de los resultados obtenidos se pudo observar la presencia de marcación específica en testículos en la zona nuclear y peri nuclear de las células de la

línea germinal la cual se incrementa desde los neonatos de 14 dpe hasta los individuos de 75 dpe. Diferencialmente la expresión de PCNA fue comparada con resultados previamente presentados de la marcación específica en la línea germinal del receptor de GnRH. Futuros estudios se focalizaran en determinar la expresión de la proteína PCNA en explantos testiculares a fin de contrastar los resultados obtenidos con un modelo *in vitro*.

ANTI IL-17A TREATMENT IN MICE INFECTED WITH LACTATE DEHYDROGENASE ELEVATING VIRUS (LDV) CHANGE THE TITER AND ISOTYPES PROFILE OF SPECIFIC ANTIBODIES

Ottobre Saborido MA¹, Aparicio JL¹

¹ CONICET- Universidad de Buenos Aires. Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas (IQUIFIB). Buenos Aires, Argentina.

LDV is a single stranded positive sense RNA enveloped arterivirus, is persistent, non pathogenic and induces NK, macrophages and B- cell activation in mice. It was found that LDV- infection modified Ab specificity to different antigens, depending on the genetic background of the host. This effect was correlated with the release of diverse cytokines after viral infection recently. Recently, we have shown that inhibition of a pro-inflammatory cytokine, interleukin 17A (IL-17A) induce a modification in the specificity of antibodies against conformational epitopes to a given antigen. The purpose of this work was to study, through of monoclonal antibody (MAb) treatment, the relation between the change of specificity in antibodies to an antigen such as, ovalbumin (OVA) and the variation in the immunoglobulin isotype profile. C57BL/6 mice (n = 18) were inoculated subcutaneously with 25 µg of OVA emulsified in phosphate-buffered saline (PBS) and Complete Freund's Adjuvant. At day 15, the mice were boosted with the Ag in Incomplete Freund's Adjuvant. At days 4, 7 and 11, half of the animals (n = 9) were inoculated intraperitoneally with 150 µg of MAb anti-IL-17A (MM17F3) in 200 µl of PBS. A group of mice (n = 9) were treated as before but infected with 2×10^7 50% infectious doses of LDV in saline solution at day 0. As control, a group of mice (n = 5) were only infected with LDV and another group (n=4) without treatment. Bleeding was performed at days 8, 21, and 32. The titer of Ab anti-OVA was determined by Indirect ELISA, whereas the proportion of Ab directed to native OVA epitopes was calculated by ELISA competition

assays. The immunoglobulin isotypes (IgM, IgG1, IgG2a and IgG2b) were measured by Sandwich ELISA. Titers of anti-OVA Ab in LDV-infected animals decreased by MAb MM17F3 treatment ($1/167000 \pm 1/12600$ to $1/68000 \pm 1/4700$, for control and MAb treated mice, respectively, $P < 0.001$). Besides, percent of native anti-OVA Ab in non-infected mice increased by treatment with the MAb (48 to 61%, respectively). Same effect was shown in LDV- infected mice (65 to 87%, for control and treated animals, respectively). The immunoglobulin isotype profile in LDV-infected and OVA-inoculated animals increased by MAb treatment; IgM (43 to 49%, $*P < 0.05$), IgG1 (50 to 57%, $**P < 0.01$) and IgG2a (41 to 52%, $**P < 0.01$) in relation to control mice (without MAb treatment). Whereas non-changes were observed in IgG2b isotype level as well as in non-infected animal treated. Results suggested that change in the specificity of Ab against conformational epitopes affected by IL-17A is related with an increase in the Ig isotype profile.

PRUEBA DE POTENCIA IN VITRO DE CEFOVECÍN LUEGO DE SU CONSERVACIÓN A DISTINTAS TEMPERATURAS

Paes Rodríguez J, Doxandabarat X, Albarellos G

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

El cefovecín es una cefalosporina de tercera generación de uso veterinario que tiene un amplio espectro de actividad contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Difiere de otras cefalosporinas en que presenta una alta unión a proteínas y tiene una larga duración de acción (14 días). Se expende como un liofilizado que una vez reconstituido debe almacenarse en heladera (entre 2-8°C) con un vencimiento de 28 días. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de modificaciones a lo largo del tiempo en la potencia del cefovecín luego de reconstituido y almacenado de tres formas diferentes: en heladera (2-8°C) y congelado a -20°C y a -70°C. Se diluyó el antibiótico (Convenia® Zoetis) con su disolvente (agua destilada) y se lo fraccionó en alícuotas que se almacenaron por 2 meses de tres formas distintas (3 tratamientos): a 4-8°C, a -20°C y a -70°C. Primero se seleccionó, según los criterios de validación para el método microbiológico, el microorganismo que fuera más adecuado para la determinación de la potencia de cefovecín in vitro (*Kokuria rhizophila* ATCC 9341 o *Escherichia coli* ATCC 25922). Para la comparación de potencias entre los 3 tratamientos se emplearon los siguientes criterios de validación: regresión (R²), pendiente, precisión (CV < 15% para todas las diluciones y < 20% para el límite de cuantificación o LOQ) y exactitud (80-120% para todas las diluciones). Estos criterios se aplicaron a cada tratamiento durante los 2 meses que duró el ensayo y se definieron los límites de detección (LOD) y LOQ de cada uno. Se eligió como microorganismo de trabajo para la determinación de la potencia in vitro a *E. coli*. Los resultados de los distintos criterios de validación (media ± DE) de los tratamientos probados (4-8°C, -20°C y -70°C) en los dos meses de estudio fueron, respectivamente: Primer mes

(media±DE): R²: 0,99±0,00, pendiente: 7,02±0,20 y ordenada al origen: 7,16±0,47. Segundo mes (media±DE): R²: 0,99±0,00, pendiente: 6,97±0,25 y ordenada al origen: 7,47±0,42. Se comparó estadísticamente cada uno de los criterios entre tratamientos y no se encontraron diferencias significativas en ningún caso (P<0,05). En todos los ensayos la precisión (CV%) fue <3,90% y la exactitud estuvo entre 91,15% y 114,68%. Los valores de LOD y LOQ fueron coincidentes al primer mes (6,25 ug/ml) y segundo mes (5 ug/ml). Los resultados obtenidos indican que las potencias calculadas fueron equivalentes tanto para la conservación en heladera (4-8°C) como para el producto congelado (a -20°C o a -70°C). Aunque se trata de un estudio preliminar, se puede concluir que el cefovecin reconstituido no perdió su potencia in vitro durante un período de 2 meses.

INFLUENCIA DEL TALLO COMO FUENTE DE AZÚCARES Y AMINOÁCIDOS PARA EL CRECIMIENTO DEL GRANO DE CEBADA CERVECERA

Pandol Avalos FA^{2*}, Abeledo LG¹, Caputo C^{1,2}

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía. ²Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales, INBA CONICET. *E-mail: fpandol@agro.uba.ar

El principal destino de la cebada es la industria maltera y cervecera, cuyos requerimientos de calidad incluyen un tamaño de grano (calibre) y porcentaje de proteínas específicos, básicamente determinados por el contenido de carbono (C) y nitrógeno (N) de los granos, el cual no siempre se alcanza. El C y N requerido por el grano para su crecimiento, dependen en gran medida de la removilización de azúcares y aminoácidos desde los tejidos fuente, representados mayormente por las hojas pero también por el tallo. El objetivo del trabajo fue analizar el efecto del defoliado sobre la tasa de removilización (TR) de C y N a las espigas, para lo cual en la etapa de antesis se removieron totalmente las hojas (DEF) o no (control; CTR) de plantas cultivadas a campo; y a los 1, 10, 20 y 28 días después de antesis se realizaron muestreos de los tallos y del exudado floemático de las espigas. Los resultados obtenidos mostraron una disminución del 45% de la TR de azúcares con DEF respecto al CTR; acompañado por una caída del 40% del contenido de azúcares en el tallo. En cambio, la TR de aminoácidos disminuyó menos del 20% sin cambio en el contenido de proteínas y aminoácidos en el tallo. Por otro lado, se observó una disminución superior al 30% en el contenido de nitrato en el tallo que no puede ser explicado por un aumento de la capacidad asimiladora del N ya que las actividades de nitrato reductasa y glutamina sintetasa no sufrieron cambio. Se puede concluir que al defoliar completamente una planta, el tallo no puede compensar la TR de azúcares que las hojas hubiesen aportado por fotosíntesis, mientras que la TR de aminoácidos solo se ve levemente afectada, indicando que, o bien el tallo posee una influencia más relevante que lo supuesto, o que el mismo

posee la capacidad asimiladora suficiente como para sintetizar los aminoácidos de exportación demandados por las espigas a través de la utilización del nitrato presente, que puede provenir tanto de la absorción post anthesis como del almacenado en el estadio vegetativo.

LOS POTENCIALES EVOCADOS: PRUEBA DIAGNÓSTICA FUNCIONAL DE LA INTEGRIDAD NEUROLÓGICA EN GATOS CON INMUNODEFICIENCIA FELINA

Passeri MC, Suranti A, Castillo V, Fontanals A, Espina C, Gómez N

1- Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires. Argentina. mcpasseri@fvet.uba.ar

El virus de inmunodeficiencia felina (VIF) se asocia con un deterioro progresivo de la respuesta inmune en los gatos domésticos. En este estudio se empleó una técnica electrofisiológica para demostrar que en la fase asintomática de la enfermedad el VIF, además de tener afinidad por diferentes tipos de tejidos, invade el SNC y puede causar alteraciones neurológicas en el gato. El objetivo general de este estudio fue identificar que el Virus de la inmunodeficiencia felina promueve alteraciones en la conducción neurológica central en los gatos enfermos espontáneamente con trastornos neurológicos. Materiales y métodos: se trabajó con 2 grupo de gatos infectados naturalmente con VIF: 7 gatos con signos neurológicos y 7 gatos sin signos neurológicos. Se utilizó gatos VIF + determinados por PCR y test de Elisa. Se estadifica que se encuentren en la etapa asintomática de la enfermedad mediante la relación CD4+/CD8+. Se registraron los signos clínicos neurológicos los cuales fueron: convulsiones parciales, tics y cambios de comportamiento como acicalamiento excesivo. Se utilizó el equipo ATI Nautilus del servicio de electrofisiología del Hospital Escuela de la FCV-UBA para determinar los potenciales evocados auditivos (PEA) y visuales (PEV). Se usó electrodos de aguja subdérmica colocados en los PEA el negativo sobre el cráneo (vértice) y el positivo en rostral en la base del oído en estudio y tierra rostral al otro oído. Sonido de tonos de 80 decibeles (dB) fueron los estímulos para estos potenciales mediante auriculares. Para los PEV los electrodos se ubicaron el negativo en la línea media caudal a los ojos, el positivo

en la línea media de la cresta nugal con tierra en el vértice. La estimulación visual fue mediante un flash estroboscópico. Este trabajo fue aprobado por un Comité de Ética. En el grupo de gatos VIF+ sin signos neurológico los resultados de los PE auditivos y visuales se mantuvieron dentro del rango de valores conservados a lo largo del estudio. En cambio en los gatos con signos neurológicos los potenciales evocados mostraron cambios en cuanto a la latencia, medidas en milisegundos (VN hasta 3 mseg). Las alteraciones de los potenciales evocados en este grupo fue un aumento del tiempo de conducción central de hasta el doble de lo normal en los PEA. La disminución de la amplitud y aumento significativo de la latencia en la onda P 100 (VN hasta 100 mseg) fue característico en los PEV de estos. Al compararse los resultados de ambos grupo de gatos VIF+ con y sin signos neurológicos se concluyó que hubo diferencias significativas entre ambos. En los gatos VIF + con signos neurológicos los potenciales evocados auditivos y visuales dieron resultados retardados demostrando una inadecuada conducción del estímulo a nivel de la vía neurológica central. Los resultados obtenidos confirman que existen alteraciones de la integridad de la conducción nerviosa a nivel del sistema nervioso central en gatos VIF+ con signos neurológicos.

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS HPLC Y MICROBIOLÓGICO PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE CLINDAMICINA EN PERROS

Passini S, Stranges A, Aramayona S, Lorenzini P, Albarellos G

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

Clindamicina es un antimicrobiano indicado en caninos para el tratamiento de infecciones producidas por bacterias gram-positivas, anaerobios y protozoarios como *Toxoplasma gondii*. Admite tanto su administración oral como parenteral, tiene amplia distribución y se elimina por metabolismo hepático mediante metabolitos activos e inactivos. Para establecer una correcta posología es necesario conocer la farmacocinética del antimicrobiano en la especie a utilizar. Existen 2 métodos analíticos para determinar las concentraciones plasmáticas de clindamicina, cromatografía líquida de alta performance (HPLC) basado en separación por propiedades físico-químicas y el método microbiológico (mb) que emplea un microorganismo estándar y la cuantificación de la inhibición de su crecimiento. Particularmente éste último mide actividad antimicrobiana, al ser incapaz de discriminar entre el antibiótico y sus posibles metabolitos activos. Esto traería como consecuencia una modificación en los perfiles farmacocinéticos de la droga según el método de cuantificación que se utilice. El objetivo de este trabajo es comparar la farmacocinética de clindamicina administrada por vía endovenosa (ev) y oral (po) a perros a partir de las concentraciones plasmáticas obtenidas mediante el método HPLC y mb. Se emplearon 6 caninos de raza Beagle a los que se les administró clindamicina ev (10 mg/kg) y po (8,3±1,1 mg/kg). Se tomaron muestras en tiempos predeterminados, se separó el plasma y se fraccionó en 2 microtubos para su posterior análisis. Para determinar las concentraciones de clindamicina en plasma se emplearon los métodos HPLC y mb, puestos a punto anteriormente. Se

obtuvieron los principales parámetros farmacocinéticos mediante el programa Phoenix® WinNonlin® 8.0. Se compararon estadísticamente los parámetros obtenidos aplicando una prueba t de student para muestras pareadas, utilizando el programa Graph Pad Prism® 5.00. Para la vía ev se compararon entre sí área bajo la curva (ABC), vida media ($t_{1/2}$), concentración plasmática inicial, volumen de distribución y clearance, obtenidos por el método mb y HPLC. Para la vía oral se compararon ABC, $t_{1/2}$, concentración máxima y tiempo máximo, también entre ambos métodos. No se observaron diferencias significativas para ninguno de los parámetros estudiados. La similitud entre los perfiles farmacocinéticos, en base a la comparación de los parámetros obtenidos a partir de ambos métodos de detección mb y HPLC, demuestran que ambas técnicas resultan equivalentes para la cuantificación de clindamicina en plasma canino.

INGENIERÍA DE NANOANTICUERPOS PARA LA DETECCIÓN DE LA PROTEÍNA HA DE INFLUENZA

Pavan MF¹, Gomez JM¹, Paredes Rojas Y, Mattion N², Ibañez LI¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein, CONICET. ²Centro de Virología Animal, CONICET.

La región variable de los anticuerpos de cadena pesada de camélidos, conocidos como Nanoanticuerpos (NAcs), tienen un gran potencial para diversas aplicaciones en investigación, diagnóstico y como moléculas terapéuticas. Estos fragmentos de anticuerpos poseen características como pequeño tamaño, gran estabilidad, alta solubilidad y especificidad, además se pueden producir a un menor costo que los anticuerpos monoclonales. En nuestro laboratorio hemos generado NAcs con capacidad de reconocimiento de la proteína HA de diferentes serotipos del virus de influenza A. En este trabajo proponemos realizar diferentes construcciones que permitan mejorar y ampliar el uso de estos anticuerpos tanto para el estudio como para la inhibición de la infección causada por el virus de Influenza A. Los objetivos propuestos fueron I)-mejorar la afinidad de los NAcs producidos mediante aumento de la valencia, generando NAcs bivalentes. II)-acoplar los NAcs a proteínas fluorescentes para permitir su uso en microscopía de fluorescencia (chromobodies). III)-Agregar la región Fc de anticuerpos convencionales con el fin de mejorar el efecto antiviral por activación de la inmunidad celular. Para construir NAcs bivalentes se generó un vector que contiene las secuencias de dos NAcs flanqueados por sitios de restricción únicos que permiten intercambiar fácilmente las secuencias clonadas. Se generaron secuencias de NAcs mono- y bi-específicos utilizando las secuencias de los NAcs 2 y 4 previamente seleccionados para reconocer a la proteína HA de influenza. Dichas secuencias fueron separadas por *linkers* de Glicinas-Serinas que codifican 5 o 10 aminoácidos. Las mismas secuencias de NAcs fueron utilizadas para

acoplar a las proteínas GFP y mCherry utilizando un vector para expresión en células eucariotas que contiene además una secuencia de secreción para su purificación desde sobrenadante de células transfectadas que será utilizado para detectar la proteína HA en células MDCK infectadas con diferentes virus de Influenza utilizando microscopía confocal. Para la construcción de los vectores que permiten expresar los NAc acoplados a las regiones Fc se utilizaron las secuencias de las inmunoglobulinas de ratón de los isotipos IgG1, IgG2a e IgG2b. Se obtuvieron clones positivos que podrán ser expresados en células HEK-293 y purificados utilizando columnas de afinidad, de modo que permitan posteriormente su aplicación en experimentos *in vitro* e *in vivo*. En este trabajo demostramos que es posible modificar NAc mediante la generación de construcciones en forma de casetes que permiten clonar cualquier secuencia de NAc y ampliar, de este modo, su rango de aplicación.

PROPIEDADES INTERFACIALES DE MEZCLAS DE TENSIOACTIVOS AMIGABLES CON EL AMBIENTE

Pedraza CB¹, Pessagno RC^{1,2,3*}, Ojeda CA^{1,2,3}, Fernández Cirelli A^{1,2,3}

1 Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra Química Orgánica de Biomoléculas. Buenos Aires, Argentina. 2 Universidad de Buenos Aires. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA). Buenos Aires, Argentina. 3 CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina. *rpessagno@fvet.uba.ar

Los plaguicidas deben aplicarse con co-adyuvantes para poder cumplir su función. Dentro de dichos compuestos se encuentran los tensioactivos. Desde el punto de vista de nuestro interés una de las propiedades más importantes que tienen estos compuestos es la de disminuir la tensión superficial de un líquido. Para ejercer dicha acción la molécula debe ser anfipática, es decir, debe poseer una porción afín con la grasa y otra con el agua. Los tensioactivos habitualmente asociados a herbicidas sistémicos son las aminas grasas etoxiladas (AGEO). Los datos toxicológicos disponibles muestran que las AGEO son las principales causantes de toxicidad en organismos acuáticos. Esta alta toxicidad ha llevado a países como Australia, Canadá y Estados Unidos a prohibir la aplicación directa de productos que contengan AGEO en lagos, ríos y arroyos. Otro problema asociado a su uso es la habitual contaminación con 1,4-dioxano, un compuesto clasificado por la International Agency for Research on Cancer como un posible carcinógeno humano (2B). Las saponinas (S) son productos naturales, altamente biodegradables y se presentan seguras para el ambiente. Además presentan la ventaja de atravesar la cutícula de las hojas que son su blanco de acción. Otro tipo de tensioactivos no-iónicos obtenido de materia prima renovable son los alquilglucósidos. Estos compuestos presentan excelentes propiedades

interfaciales, total biodegradabilidad y una toxicidad prácticamente nula para el ambiente. El objetivo del trabajo fue evaluar la utilidad de la saponina y los alquilglucósidos como coadyuvantes para formulaciones de plaguicidas. El análisis de las propiedades interfaciales permite determinar la relación entre la capacidad de disminuir la tensión superficial y la eficiencia del uso en campo de las formulaciones desarrolladas. Las propiedades interfaciales determinadas fueron: CMC (concentración micelar crítica), γ CMC (tensión superficial en CMC), γ 3% (tensión superficial en concentración utilizada a campo) y pC20 ($-\log$ de la concentración molar de tensioactivo requerida para disminuir la γ del solvente en 20 mN/m), ángulo de contacto y factor de ensanchamiento. Se utilizó saponina Sigma 84510 (S), una mezcla de alquilglucósidos (AG) y un producto comercial vigente. Se determinó la γ mediante el método de la presión máxima de burbuja, el ángulo de contacto y el factor de ensanchamiento se midieron en el Instituto de Física del Plasma de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UBA. Las formulaciones desarrolladas en nuestro laboratorio presentaron excelentes propiedades interfaciales, siendo los valores de ángulo de contacto 64,4° y factor de ensanchamiento 1,58, mejores a los del producto comercial 105,9° y 1,35 respectivamente. Los resultados obtenidos muestran que las mezclas de saponinas con alquilglucósidos son un potencial reemplazo de tensioactivos perjudiciales para el ambiente, mitigando el impacto sobre el mismo. La capacidad de la saponina para atravesar la cutícula posibilitaría además disminuir las dosis de principio activo utilizado.

ESTRÉS OXIDATIVO EN EL ESPERMATOZOIDE PORCINO CRIOPRESERVADO CON ALFA TOCOFEROL: RESULTADOS PRELIMINARES

Pereyra V, Breininger E

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

Los espermatozoides, como cualquier célula que posee un metabolismo aeróbico, se encuentran ante la “paradoja del oxígeno”: el mismo es indispensable para el metabolismo, pero algunos de sus metabolitos (especies reactivas del oxígeno, EROs) pueden alterar funciones celulares y afectar su supervivencia. La criopreservación disminuye la viabilidad y motilidad de los espermatozoides. Esto podría ser explicado por el aumento del nivel de ERO, la disminución de las defensas antioxidantes y la consecuente generación de estrés oxidativo. El alto contenido de ácidos grasos insaturados en los fosfolípidos de membrana espermática, la hacen muy susceptible a la peroxidación lipídica y por ende a la criopreservación. En contraposición, este tipo celular cuenta con un sistema antioxidante dentro del cual, en la especie porcina, destaca la enzima Superóxido Dismutasa. El alfa tocoferol podría disminuir los efectos deletéreos debidos al estrés oxidativo generado por la criopreservación. El objetivo fue comparar la actividad de la enzima Superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1), la peroxidación lipídica y el nivel de EROs entre espermatozoides porcinos frescos y criopreservados en presencia y ausencia de alfa tocoferol. Para cada determinación se evaluaron 4 muestras de 3 verracos de la Unidad de Producción Porcina de la Facultad de Ciencias Veterinarias. La actividad de SOD se midió por inhibición de la autooxidación de la epinefrina, mediante espectrofotometría (480 nm). Se definió como

unidad enzimática a la cantidad de SOD necesaria para inhibir en un 50% la autooxidación de la epinefrina. La peroxidación de lípidos de membrana se determinó por el ensayo del ácido 2-tiobarbiturico, expresándose como nmol de TBARS /10⁸ esp. El nivel de EROs se determinó según la técnica fluorescente de 2'-7'-diclorofluoresceína (DCHF-DA), evaluándose por espectrofluorimetría (488 nm excitación-525 nm emisión) y expresando los resultados en μM de EROs/10⁸ esp. Los resultados fueron evaluados por ANOVA-Test de Bonferroni con un nivel de significancia de $p < 0,05$. La actividad de SOD fue mayor en los espermatozoides frescos que en las muestras congeladas, sin diferencias entre muestras congeladas con y sin alfa tocoferol. Los niveles de peroxidación fueron menores en fresco y alfa tocoferol con respecto a las muestras congeladas sin alfa tocoferol. La determinación de EROs permitió observar diferencias entre espermatozoides frescos y congelados sin alfa tocoferol, aunque dichos valores no se diferenciaron con las muestras con alfa tocoferol. Estos resultados indican que la criopreservación altera el estado oxidativo del espermatozoide porcino tanto por afectar su contenido de SOD así como los niveles de peroxidación lipídica y de EROs, aunque aún no se puede asegurar el efecto protector del alfa tocoferol contra estos daños.

RELACION CLONAL Y VIRULENCIA DE LAS CEPAS *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *ZOOEPIDEMICUS* AISLADAS DE UN CUADRO RESPIRATORIO EN POTRILLOS

Dávalos CV¹, Guillemi EC¹, Retamar G¹, Castillo K¹, Perez A¹, Pallarois N²,
Guglielminetti A², Bustos CP^{1,3}, Mesplet M¹, Muñoz AJ¹

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires. Argentina ²Atención ambulatoria Hospital Equino Kawell.

³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es el agente piógeno más aislado de los equinos, puede afectar el tracto respiratorio provocando grandes pérdidas económicas en la industria ecuestre, siendo los animales jóvenes los más propensos a ser afectados. Existen reportes recientes en los que se ha aislado a *S. zooepidemicus* como único agente en brotes de enfermedad respiratoria alta en equinos, provocando un cuadro denominado falsa adenitis. Entre los múltiples factores de virulencia, la cápsula antifagocítica y la capacidad de producir biofilm son considerados como forma de resistencia y persistencia aumentando la virulencia de los aislamientos que lo producen. El objetivo de este trabajo fue estudiar fenotípica y genotípicamente aislamientos de *S. zooepidemicus* obtenidos de un grupo de animales con sintomatología respiratoria. Se muestrearon 13 potrillos y una yegua conviviente con enfermedad respiratoria alta con signos similares a la adenitis equina mediante hisopado nasofaríngeo. Las muestras fueron sembradas en agar sangre y se seleccionaron las colonias β hemolíticas para su identificación a través de capacidades bioquímico-metabólicas y por PCR. El análisis genotípico se realizó mediante la técnica de *Multilocus Sequence Typing* (MLST). Para la caracterización fenotípica de los aislamientos se realizó la observación de cápsula a las 4 y 24 hs de crecimiento con tinción negativa con el método de tinta china, y para la detección

de adherencia y formación de biofilm a las 24, 48 y 72 hs mediante el método de portaobjetos. Se aisló *S. zooepidemicus* en 6 de los 13 potrillos (44%), lo que representa una prevalencia mayor a la obtenida en animales sanos en nuestro país (12-14%). Tres de los 6 aislamientos resultaron ser la misma cepa (ST96) y los otros 3 fueron cepas diferentes y no presentes en la base de datos internacional. Se observó presencia de cápsula en 5 de los 6 aislamientos a las 4 horas de incubación. Todos los aislamientos presentaron adherencia (formación de aglomerados de gran tamaño) y formación de biofilm a partir de las 48 horas de incubación. La presencia de cápsula en un 83% de los aislamientos y la producción de biofilm en todos los aislamientos podrían estar relacionados a una mayor patogenicidad, y capacidad de sobrevivir y mantenerse en el ambiente respiratorio por más tiempo. El hecho de haber aislado una misma cepa de *S. zooepidemicus* (ST96) en varios animales, resulta relevante teniendo en cuenta que otros investigadores han reportado la presencia de cepas más virulentas capaces de transmitirse horizontalmente y causar enfermedad en un grupo de animales.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020150200205BA

APLICACIÓN DE GC-MS/MS EN LA INVESTIGACIÓN DE UNA INTOXICACIÓN AGUDA POR CARNE CONTAMINADA EN CANINOS DE LA CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES EN AGOSTO DEL 2017

Pietronave J, Villafañe M, Maseda J, D'Espósito L, Ruarte S, Garbini A, Jakubowski N

Instituto Nacional de Alimentos (INAL – ANMAT)

El objetivo del presente trabajo fue identificar las sustancias que ocasionaron una intoxicación letal de curso agudo en caninos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, durante el mes de agosto de 2017. En el marco de las actuaciones judiciales originadas por una denuncia, se remitieron al Departamento Control y Desarrollo del Instituto Nacional de Alimentos, muestras de alimento (compatible con trozos de carne cocida) y material biológico (compatible con secreción salival), las cuales fueron derivadas al Laboratorio de Contaminantes para investigar la presencia de tóxicos que habrían causado el envenenamiento en los canes. Las mismas fueron procesadas siguiendo la metodología QuEChERS, del acrónimo en inglés Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe, utilizando en la etapa de extracción el método modificado por la AOAC (6 g de MgSO₄ y 1,5 g de acetato de sodio) con acetonitrilo:ácido acético (99:1). En la posterior fase de dispersión, o “clean-up”, se utilizaron 1200 mg MgSO₄, 400 mg PSA, 400 mg C18, 400 mg GCB. El extracto así obtenido, fue analizado por cromatografía gaseosa (Agilent 7890 A) acoplada a espectrometría de masas en tándem (Agilent 7000. GC-MS/MS) utilizando un método de screening de 222 compuestos, entre los que se incluyeron pesticidas organofosforados, organoclorados, piretroides, carbamatos y drogas de uso veterinario, junto con algunos de sus metabolitos secundarios. Se observó la presencia de señales características con los tiempos de retención y espectros de masas de los compuestos

carbofurán y 7-fenolcarbofurán en las dos muestras analizadas. Posteriormente, su presencia fue confirmada mediante comparación con patrones estándares de ambos analitos. Estos compuestos, pertenecientes al grupo de los carbamatos, son capaces de producir envenenamiento a muy bajas dosis, tanto en animales como en humanos. Los principales síntomas de intoxicación incluyen náuseas, vómitos, sialorrea, espasmos musculares, depresión, ataxias, incoordinación e, incluso, la muerte. Su mecanismo de acción implica la inhibición reversible de la enzima acetilcolinesterasa, encargada de hidrolizar la acetilcolina, neurotransmisor involucrado en la transmisión de impulsos nerviosos y neuromusculares. La metodología empleada demostró ser una herramienta rápida y eficaz para identificar los tóxicos responsables del envenenamiento descrito, con altos niveles de sensibilidad y especificidad, y dar aviso a las autoridades intervinientes para la oportuna toma de decisiones.

DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA EL ANÁLISIS DE RESIDUOS DE PESTICIDAS Y DROGAS DE USO VETERINARIO EN FÓRMULAS INFANTILES, POR CROMATOLOGRAFÍA GASEOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM

Pietronave J, Maseda J, Villafañe M, D'Espósito L, Ruarte S, Garbini A, Jakubowski N

Instituto Nacional de Alimentos (INAL – ANMAT)

El objetivo del presente trabajo consistió en desarrollar una metodología analítica para la determinación de multiresiduos de pesticidas y drogas veterinarias en fórmulas infantiles, por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas en tándem. Fueron seleccionados 17 principios activos para incluir en el método de análisis, teniendo en cuenta la legislación de la Unión Europea para fórmulas infantiles. Éstos fueron: aldrín, cadusafós, clorpirifós metil, DDE, DDT-O'P', diazinón, dieldrín, endosulfán alfa, endosulfan beta, endosulfan sulfato, endrín, etopropofós, heptacloro, paratión etil, paratión, pirimifós metil y terbufós. Se utilizaron estándares de pureza mayor a 95% (Fluka®) y acetato de etilo para cromatografía gaseosa (Merck®) como diluyente para preparar diferentes soluciones. Se trabajó con el método QuEChERS, acrónimo de Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe, (Restek®). La etapa de extracción, se realizó con acetonitrilo (Sintorgan®), acidificado con ácido acético glacial (Anedra®) al 1% y sales del método modificado por la AOAC (6 g de sulfato de magnesio y 1,5 g de acetato de sodio). Para la fase de purificación, se utilizaron 1200 mg de sulfato de magnesio, 400 mg de PSA y 400 de C18. Se utilizó un cromatógrafo gaseoso (CG) con detector de masas de triple cuadrupolo, marca Agilent Technologies®, modelo 7890 A y 7000. Se prepararon soluciones stock de cada principio activo, a partir de las cuales se optimizaron los parámetros del CG y del detector de masas para obtener una separación adecuada y las transiciones más abundantes de cada compuesto. Se utilizó una solución mix de los compuestos para realizar la curva en matriz,

la cual se construyó con seis niveles entre 5 ug/kg y 120 ug/kg. En los cromatogramas de los puntos de la curva en matriz, se observaron las señales características de los analitos bajo estudio, lo cual demostró la selectividad del método. La ausencia de respuesta en los blancos de reactivo y de matriz, comprobó la especificidad de la metodología. Se obtuvieron adecuados coeficientes de correlación (R^2) entre la concentración de los analitos y las señales obtenidas en los distintos puntos de la curva. El desarrollo de metodologías analíticas para la detección de estos contaminantes en fórmulas infantiles es una herramienta fundamental para generar evidencia científica que justifique la necesidad de incorporar Límites Máximos de Residuos (LMR) en la legislación vigente, ya que, actualmente, el Código Alimentario Argentino no establece LMR de estos contaminantes en estos productos. La posterior validación de esta metodología será fundamental para asegurar la calidad de los futuros resultados que surjan del análisis de estos alimentos.

HALLAZGO EN NECROPSIA DE LESIONES COMPATIBLES CON TUBERCULOSIS EN UN AGUARÁ POPE (PROCYON CANCRIVORUS) Y CONFIRMACIÓN DE LA ENFERMEDAD POR PCR

Ponce L¹, Carusso C¹, Martinez Vivot M¹, Petta A¹,
Marfil J^{1y2}, Eirin M^{2y3}, Barandiaran S^{1y3}

1- Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de enfermedades infecciosas. 2- Instituto de Biotecnología, CICVyA-INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. 3-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Procyon es un género de mamíferos carnívoros de la familia Procyonidae conocidos comúnmente como mapaches u osos lavadores. Es un animal nativo de América central y del Sur, perteneciente a la familia de los mapaches. Se encuentra distribuido en las regiones tropicales a ambos lados de los Andes y actualmente habita desde Costa Rica hasta Brasil, Paraguay, Uruguay y noreste de Argentina (Santa Fe, Entre Ríos, Chaco, Salta, Formosa y Misiones). Esta especie figura como de preocupación menor, tiene un amplio rango de distribución y es probablemente estable en toda Sudamérica donde existen áreas viables (IUCN). Se sabe muy poco sobre su ecología o comportamiento, aunque se dispone de información limitada de estudios en animales en cautiverio. De hábitos nocturnos, vive a nivel del suelo y se alimenta de moluscos, artrópodos, anfibios, reptiles, aves, peces y frutos. La tuberculosis en animales silvestres es causada principalmente por *Mycobacterium bovis* (M. bovis), micobacteria patógena de transmisión zoonótica perteneciente al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT). Su lesión característica es el granuloma tuberculoso y su ubicación, en una primera instancia, está asociado a la vía de ingreso del bacilo. El objetivo del presente trabajo fue confirmar en lesiones compatibles con tuberculosis, halladas durante una necropsia de un Aguara Popé, la presencia de

micobacterias, mediante diferentes técnicas diagnósticas. Se procesó en el laboratorio una muestra proveniente de una necropsia realizada en un ejemplar muerto de Aguará pope. El material recibido fueron trozos de pulmón con lesiones nodulares, de bordes irregulares, consistencia firme y aspecto caseoso. Las muestras fueron procesadas por métodos bacteriológicos utilizando el método de decontaminación de Petroff y cultivadas en Stonebrink y Löwenstein Jensen. Paralelamente las mismas fueron analizadas por PCR sobre tejido utilizando como blanco a la secuencia de inserción IS6110. La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el kit comercial “Dneasy blood and tissue” (Qiagen). La PCR de tejido resultó positivo al CMTB, mientras que el cultivo bacteriano fue negativo aun habiéndolo practicado en dos ocasiones. La tuberculosis bovina constituye un problema para la salud pública ya que, al tratarse de una zoonosis, es de transmisión al hombre. La confirmación de la sospecha de esta enfermedad es siempre importante ya que permite tomar medidas preventivas, sobre todo cuando se trata de especies silvestres, debido a la escasa información en lo referente a su participación epidemiológica en el mantenimiento de la tuberculosis. En este caso no se logró obtener el aislamiento de la bacteria y solo se pudo evidenciar mediante PCR. Esto pudo haber sucedido por la inviabilidad del bacilo en la muestra remitida así como también por causa del proceso de decontaminación, en el que mueren gran número de microorganismos. Es importante desalentar las costumbres de alimentar y aún más grave adquirir como mascota, éste tipo de animales silvestres.

EFFECTO DE LA FERTILIZACION NITROGENADA Y AZUFRA DA EN LA GERMINACION DE LOS GRANOS DE CEBADA

Pugliese P¹, Galotta MF², Gutiérrez Boem FH²³, Prystupa P²³, Roberts IN¹²

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Biología Aplicada y Alimentos. Cátedra Microbiología Agrícola. ² Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales, INBA-CONICET. ³Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Cátedra de Fertilidad y Fertilizantes. iroberts@agro.uba.ar

El poder germinativo de los granos de cebada y el contenido de reserva de los mismos son factores determinantes para la obtención de una malta aceptable. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización con nitrógeno (N) y azufre (S) aplicada durante el desarrollo de un cultivo de cebada sobre la germinación de los granos. Se realizaron tres ensayos en lotes productivos en las localidades de Arribeños, 25 de Mayo y Junín, provincia de Buenos Aires. En Arribeños y 25 de Mayo los tratamientos consistieron en: la fertilización base aplicada por el productor (Control) y 150 kg de N (como urea) por ha (N150). Para la localidad de Junín se agregaron dos tratamientos: 15 kg de S por ha (S15) y la fertilización combinada con ambos nutrientes (NxS). Se trabajó con un diseño en bloques aleatorizados con cuatro bloques por tratamiento y los granos (400 g) se recolectaron en madurez de cosecha. Para su germinación, los granos se incubaron en bandejas plásticas a 22°C, luego de una imbibición a 19°C durante 32 h. Se contabilizó el porcentaje de semillas germinadas cada 24 h y se midió la longitud de los coleóptiles y raicillas durante 5 días. Al evaluar el porcentaje de germinación entre tratamientos para cada sitio, no se observaron grandes diferencias entre las semillas del control respecto de N150 para los sitios 25 de Mayo y Arribeños (95% de germinación), mientras que los granos del sitio Junín

presentaron una dinámica de germinación diferente, alcanzando el control un 87,5% y N150 un 27,5% de germinación. En cuanto a la longitud del coleóptile y de las raicillas, no se evidenciaron diferencias para el tratamiento control entre sitios. Sin embargo, para el tratamiento N150, el sitio Junín presentó una menor longitud promedio de raicillas y de coleóptiles, respecto de los sitios restantes. Para profundizar en el entendimiento de estas diferencias, se evaluó el porcentaje de germinación de los tratamientos S15 y NxS del sitio Junín, observándose que el tratamiento S15 permitió recuperar la capacidad germinativa a los niveles de las muestras control, mientras que el tratamiento NxS presentó un comportamiento intermedio entre el control y N150 (62,5% de germinación). A continuación, se realizó un test de viabilidad de semillas por el método del tetrazolio observándose que la tinción de los embriones fue del 100% en todos los tratamientos, por lo que el mecanismo involucrado en la pérdida de poder germinativo no estaría mediado por una pérdida de viabilidad. Los valores de rendimiento registrados previamente mostraron que el sitio Junín presentó una condición de deficiencia de S inducida por la alta disponibilidad de N para el tratamiento N150. Teniendo en cuenta esta información y en conjunto con los resultados obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir que la deficiencia de S durante el desarrollo de los granos afectó significativamente su capacidad germinativa, lo cual pudo ser total o parcialmente subsanado por la fertilización con S en los tratamiento S15 y NxS, respectivamente.

CRIOPRESERVACIÓN SEMINAL EN EQUINOS: EFECTO DE LA TREHALOSA SOBRE LA CÉLULA ESPERMÁTICA

Remezovski NC^{1,3}, Azcurra M¹, Ferrante A³,
Corva S², Benitez N⁴, Miragaya M³, Stornelli MA¹

1Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP).
2Bioestadística, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). 3-Cátedra de Teriogenología,
Facultad de Ciencias Veterinarias, INITRA (UBA).4-Estancia la República, Luján.

E-mail: nadiareme@hotmail.com

El objetivo fue evaluar el efecto protector de diferentes concentraciones de trehalosa (TREA) que no modifiquen la osmolaridad del diluyente base (Lactosa-EDTA-yema de huevo – Dimetilformamida) sobre el espermatozoide durante el proceso de congelación-descongelación. Se utilizaron 6 padrillos de raza Criolla Argentina de entre 5 y 8 años, clínicamente sanos y fértiles. Se obtuvieron 2 eyaculados de cada animal a través de la estimulación con una yegua en celo y el semen fue recolectado en una vagina artificial tipo Missouri. Luego del filtrado se evaluaron las características Macroscópicas: Color, Aspecto, Volumen (ml) y Microscópicas: Motilidad (M) (AndroVision®, Minitüb GmbH, Tiefenbach, Germany) Motilidad progresiva (MP); M Rápida (MR); M Lenta (ML); M en círculo (MCIR); M Local (MLOC); Espermatozoides Inmóviles (EI); Velocidad Curvilínea (VCL); Velocidad Rectilínea (VSL); Velocidad Media (VAP); Índice de Rectitud (STR); Índice de Linealidad (LIN); Índice de Oscilación (WOB); Porcentaje de vivos (PV; [% de vivos]; tinción de Eosina-nigrosina); prueba de HOS ([% de colas enrolladas] post incubación en solución de lactosa 50mOsm) y Acrosomas intactos ([AI]; conjugado de Pysum sativum aglutinin-isotiocianato de fluoresceína). El semen fue diluido 1:1 en un diluyente tipo Kenney, dividido en alícuotas, centrifugado y resuspendido a 200 x 10⁶ esp/mL en el diluyente de congelamiento con diferentes concentraciones de trehalosa:

TREA0 (0%); T1,6 (0,156%); T3,3 (0,312%); T6,3 (0,624%), sin modificar la osmolaridad del diluyente base. El semen descongelado fue sometido a las mismas pruebas que el semen fresco. Las comparaciones entre tratamientos (diluyente) se realizaron mediante el análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS® versión académica para mediciones repetidas en tiempo en relación a las tomas de muestra. El modelo matemático para analizar las variables dependientes continuas incluyó los efectos principales de animal, eyaculado anidado en animal, diluyente, replicación y las interacciones correspondientes. Se observaron diferencias significativas en todos los parámetros (MP, PV, HOS y AI) al comparar el semen fresco (SF) con el semen congelado-descongelado (SF vs TREA0, T1,6, T3,3, T6,3, [79,8±16,7vs 34,1±16,3, 88±0 vs 65,7± 2,8, 64±0 vs 31,7±4,5, 84±0 vs. 63,2±4,5; P <0.05]). No se observaron diferencias en ninguno de los parámetros seminales al comparar los diferentes diluyentes pos-descongelado. Nuestros estudios concuerdan con resultados obtenidos en estudios previos, en los cuales no se observó efecto protector del diluyente sobre la motilidad espermática post-descongelado al incorporar trehalosa en altas o bajas concentraciones. El efecto protector de trehalosa incorporada al diluyente de congelamiento ha sido observado en ovinos, caprinos y búfalos pero no en caninos, felinos y bovinos. Probablemente estos resultados estén relacionados con la composición fosfolipídica específica de cada especie.

ESTUDIO GENOTÍPICO Y DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP *ZOOEPIDEMICUS* AISLADOS DE ÚTERO DE YEGUAS

Retamar GC^{1,2}, Muñoz AJ¹, Mesplet M¹, Guida N¹

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires. Argentina ²Becaria Maestría UBACyT. infeccio@fvvet.uba.ar

Streptococcus equi subsp zooepidemicus (*S. zooepidemicus*) forma parte de la microbiota de nasofaringe y vagina de los equinos y es considerado un patógeno oportunista. Las endometritis causadas por *S. zooepidemicus* ocasionan una gran pérdida económica en la industria equina. En los últimos años, debido al uso masivo de antimicrobianos sin un correcto estudio de susceptibilidad previa, se observó un aumento de la resistencia de *S. zooepidemicus* a diferentes antibióticos. Asimismo, estudios recientes postulan que ciertos genotipos podrían estar adaptados al ambiente uterino y encontrarse en estado silente, utilizando mecanismos como ser la producción de biofilm, resistencia a los antimicrobianos, entre otros. Por ello, el objetivo de este plan de trabajo es determinar los genotipos y analizar la sensibilidad antibiótica de aislamientos uterinos de *S. zooepidemicus* y compararlos con datos de otros países y de animales sanos. Se prevé trabajar con 30 aislamientos de útero de yeguas con problemas reproductivos obtenidos entre 2005-2017. Mediante la metodología de difusión con discos se evaluará el perfil de sensibilidad antimicrobiana a: Penicilina, Ceftiofur, Trimetoprim sulfametoxazole, Enrofloxacin, Eritromicina, Tetraciclina y Clindamicina, y mediante el test doble disco (D-Test) se determinarán los fenotipos de resistencia a macrólidos-lincosamidas-estreptograminas B (MLSB), según recomendaciones del CLSI. Asimismo, se evaluará la presencia de genes de

resistencia a macrólidos (*ermB*, *ermTR* y *mefA*) y tetraciclinas (*tetM*, *tetO*, *tetT*, *tetW*, *tetL*, *tetQ*, *tetK* y *tetS*) utilizando la técnica de PCR. Para la genotipificación se utilizará la técnica de MLST en 7 genes constitutivos: carbamato kinasa (*arcC*), ribonucleosido-difosfato reductasa (*nrdE*), propyl-tRNA sintetasa (*proS*), signal peptidasa I (*spi*), thymidylato kinasa (*tdk*), triosefosfato isomerasa (*tpi*) y acetyl-CoA acetyltransferasa (*yqiL*). Los genotipos identificados serán ingresados a la base de datos internacionales de MLST. El estudio de la resistencia antibiótica cobra importancia debido a que *S. zooepidemicus* es capaz de intercambiar material genético por transferencia horizontal pudiendo así transmitir genes de resistencia antibiótica. La presencia de cepas resistentes en el útero podría originar infecciones persistentes, produciendo inflamación crónica con los consecuentes problemas reproductivos que genera. El estudio genotípico y la detección de cepas uterinas específicas de *S. zooepidemicus* en nuestro medio local permitirán comprender mejor la patogenia de este agente en el tracto reproductor, lo que contribuirá al desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento de las enfermedades reproductivas en las yeguas.

Este trabajo es financiado por el proyecto UBACyT 20020130100299BA

CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE AISLAMIENTOS ARGENTINOS DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP *ZOOEPIDEMICUS*

Retamar GC^{1,2}, Sarcone N¹, Castillo K¹, Perez AE¹, Etchecopaz AN¹, Bustos CP^{1,3},
Guillemi EC¹, Muñoz AJ¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires. Argentina. ²Becaria Maestría UBACyT ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

Streptococcus equi subsp *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es un patógeno oportunista, considerado parte de la microbiota normal de nasofaringe y vagina de equinos. Se lo asocia con enfermedades como endometritis, placentitis, abortos, neumonías, abscesos, falsa adenitis, entre otras. Posee gran capacidad de permanecer en diferentes mucosas y ocasionar signología clínica en diversas especies produciendo brotes en perros, cerdos, equinos, cabras, ovejas y humanos. Dada su alta variabilidad genética, la técnica de *Multilocus sequence typing* (MLST) permite tipificar diferentes aislamientos. El objetivo de este trabajo fue caracterizar cepas de *S. zooepidemicus* provenientes de equinos sanos y enfermos por medio de la técnica de MLST. Se utilizaron 22 aislamientos de *S. zooepidemicus* del cepario de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas (FCV, UBA): 13 provenientes de animales enfermos y 9 de animales sanos, obtenidos a partir de muestras de mucosa vaginal, clítoris, útero, mucosa nasofaríngea, pulmón y linfonódulos. Se amplificaron por PCR los fragmentos de siete genes de *S. zooepidemicus* según fue descrito por Webb (2008): *arcC*, *nrdE*, *proS*, *spi*, *tdk*, *tpi* y *yqiL*. Para uno de los genes (*proS*) fue necesario realizar un diseño nuevo de primers para ser utilizados en 3 aislamientos. Posteriormente se procedió a la purificación de los productos de PCR para su posterior secuenciación por electroforesis capilar en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología CICVyA del INTA Castelar. Para la edición, el análisis y el alineamiento de

las secuencias nucleotídicas se trabajó con el software Vector NTI. Para determinar los alelos de los aislamientos locales se utilizó la base de datos internacional disponible en <http://pubmlst.org/szoepidemicus/>. Se detectaron 8 aislamientos con *Sequence Type* (ST) publicados previamente (ST 92, ST 96, ST 138, ST 178) y 14 aislamientos con ST nuevos que serán incluidos en la base de datos. Algunos de los STs identificados en este trabajo han sido reportados previamente en otros países, en otras especies animales y en el hombre según la base de datos internacional. Los genotipos de *S zooepidemicus* presentes en el equino en nuestro país podrían ser potencialmente patógenos para los humanos y para otras especies. Encontramos genotipos idénticos o muy similares en diferentes sitios anatómicos de la misma yegua; esto difiere de publicaciones previas que proponen que las cepas aisladas del útero tienen diferencias genéticas de las normalmente aisladas en la vagina. Además, en un mismo establecimiento, se identificó un mismo ST en 3 equinos que presentaban signología respiratoria, lo cual podría indicar transmisión horizontal como fue descrito en una publicación anterior. El estudio comparativo de estas secuencias permitirá estudiar la diversidad de variantes presentes en cada ubicación anatómica, considerar la posible transmisión a otras especies y saber si las cepas productoras de enfermedad son exactamente iguales a las que se encuentran normalmente en las mucosas.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020150200205BA.

INMUNOHISTOQUÍMICA EN BIOPSIAS DE INTESTINO DE 9 GATOS CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Ricart MC, Gómez NV

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Clínica Médica de Pequeños Animales. E-mail: ricart@fvet.uba.ar

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) es el término colectivo que describe al grupo de trastornos caracterizado por signos gastrointestinales recurrentes, de evolución mayor a 3 semanas, evidencia de inflamación en la histopatología, inadecuada respuesta a dieta, antibióticos o a terapias antihelmínticas y respuesta clínica a drogas anti-inflamatorias. Se cree que existe una respuesta inflamatoria exagerada por un desbalance en la tolerancia antigénica digestiva. El objetivo fue comparar las determinaciones de inmuno-histoquímica (IHQ) en muestras de biopsia de intestino de gatos con EII (GEII) y gatos sanos (GC). Se evaluó la expresión de TGF- β , TNF- α , IL-1 β , IL-10, IL-12, Th-17, CD3+ y FoxP3+ en muestras de biopsia tomadas por endoscopia digestiva alta y baja de 9 GEII y en biopsias de 3 GC. Se analizó un sólo portaobjetos por cada sector del intestino por gato, los resultados se expresan en mediana y rangos de cantidad de células positivas a cada IHQ por 62,500 μm^2 , 5 determinaciones por gato. Se realizó Test de Mann-Whitney ($p < 0,001$). Al comparar las muestras de biopsia de los GC y los GEII se hallaron diferencias significativas en el sector proximal del intestino delgado en: TNF- α : GC 0 (0-5), GEII 12 (0-321); IL-1 β : GC 0 (0-5), GEII 11 (0-215); IL-12: GC 0 (0-2), GEII 19 (1-241); CD3+: GC 5 (0-11), GEII 124,5 (26-507). Se hallaron diferencias significativas en el sector distal del intestino delgado en: TNF- α : GC 0 (0-2), GEII 12 (0-376); IL-1 β : GC 0 (0-2), GEII 11 (0-275); IL-12: GC 0 (0-3), GEII 15 (0-215); CD3+: GC 3 (0-11), GEII 167 (68-525). Se hallaron diferencias significativas en el colon en la expresión de: TNF- α : GC 1 (0-7), GEII 15 (0-

371); IL-1 β : GC 1 (0-7), GEII 9 (0-246); IL-12: GC 1 (0-4), GEII 14 (2-324); CD3+: CG 2 (0-9), GEII 161 (32-495). Se evidenció en los tres sectores un aumento de linfocitos Th-17 en los GEII, no se observó marcación en los GC. Los marcadores que mostraron diferencias significativas (TNF- α , IL-1 β e IL-12 y de linfocitos CD3+) poseen una función primordialmente proinflamatoria. A su vez, se evidenció un aumento de linfocitos Th-17 en los tres sectores del intestino analizados, resultado no comparable estadísticamente ya que en los GC no se hallaron estas células, pero su aumento fue evidente en los GEII. La presencia linfocitos CD3+ en los GEII demostraría el flujo de linfocitos en respuesta a la inflamación intestinal. En cambio, no se observaron diferencias significativas en los marcadores reguladores estudiados: TGF- β , IL-10 y FOXP3, por lo que esto contribuye a considerar como parte de la etiopatogenia un desbalance en la tolerancia antigénica, ya que estas interleuquinas serían las encargadas de los efectos inhibitorios necesarios para la misma. Estos resultados sustentan que existiría un desbalance en la regulación de la respuesta inmunológica que estaría directamente involucrado en la etiopatogenia de la EII.

INFLUENCIA DE REGULADORES DE CRECIMIENTO EN LA INICIACIÓN DE CULTIVOS *IN VITRO* DE *LIGARIA CUNEIFOLIA*

Ricco MV^{1,2}, Bari ML^{2,3}, Bagnato F⁵, Cornacchioli C⁶, Spairani LU⁷, Posadaz A⁸, Ricco RA⁴, Wagner ML⁴, Alvarez MA^{1,2}

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. ²CEBBAD-Cátedra de Farmacobotánica y Farmacognosia, Carreras de Farmacia y Bioquímica, Universidad Maimónides, Hidalgo 775, lab 603, CABA. ³Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. ⁴Cátedra de Farmacobotánica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Junín 956, 4° piso, CABA. ⁵Universidad de San Martín, Buenos Aires. ⁶Universidad de Morón, Buenos Aires. ⁷Instituto Antártico Argentino. ⁸Facultad de Turismo y Urbanismo, Universidad Nacional de San Luis.

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales tiene gran aplicación en Angiospermas, aunque está poco estudiado en plantas hemiparásitas. *Ligaria cuneifolia*, vulgarmente conocida como “liga” o “muérdago criollo”, es una hemiparásita de la familia Loranthaceae nativa de nuestro país, con una distribución desde el Norte hasta La Pampa, y desde Entre Ríos y el noreste de Buenos Aires hasta la precordillera. La importancia de su estudio radica en su demostrada actividad medicinal tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*: antioxidante, antimicrobiana, antihipertensiva o hipertensiva según el hospedante, citostática, inmunomoduladora y anticolesterolémica. Su explotación para la obtención de los polifenoles, responsables de dichas actividades, acarrearía la extinción de la especie, pues su cultivo aún no es factible. El objetivo de este estudio fue analizar las condiciones óptimas (tipo de explanto, medio de cultivo base, reguladores de crecimiento) para establecer sus cultivos *in vitro*. Para ello se partió de haustorios o de embriones como explanto inicial, los cuales fueron desinfectados durante 5 min con una solución acuosa de Tween 20, 1 min con EtOH 96° y por último 15 min con lavandina 4 % de Cl activo. Se

utilizaron 690 segmentos de haustorios provenientes de semillas cultivadas en MS/2 + vit.RT durante 15 días. Dichos explantos fueron sembrados en medio B5 + sacarosa 3 % como fuente de carbono y 33 tratamientos con distintas combinaciones y concentraciones tanto de auxinas como de citoquininas: 2,4-D; KIN; AIA; ANA; BAP; ZEA; IBA. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un test de chi-cuadrado. Para el ensayo de la formación de callos a partir de embriones éstos se sembraron en ANA, KIN y sacarosa (con White + hidrolizado de caseína 500 mg/L como medio base), empleando un diseño factorial completo de tipo 2³. La significancia del modelo se evaluó mediante un test ANOVA. El tratamiento más exitoso para la inducción de callos a partir de haustorios fue el de 2,4-D: ZEA (0.45 µM: 0.46 µM), obteniéndose un 35% de callos viables (p<0.001). En el caso de los embriones se observaron mayores porcentajes de callos viables en el medio White con el agregado de hidrolizado de caseína 500 mg/L, sacarosa al 4% (p/v) como fuente de carbono y ANA: KIN (2.50 µM: 9.20 µM) como reguladores de crecimiento, siendo este valor de un 85% (p<0.05). Si bien los medios en los que se sembraron los embriones y los haustorios no son los mismos, podemos concluir que los embriones en estas condiciones son el explanto ideal para la iniciación del cultivo *in vitro* de *L. cuneifolia*. Además, otras ventajas derivadas del uso de embriones son que éstos no producen *browning* en el medio y que están menos expuestos a los contaminantes externos disminuyendo así las probabilidades de infección por microorganismos.

PRODUCCIÓN DE UN ANTISUERO ESPECÍFICO PARA IgA BOVINAS POR MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS

Rigo V¹, Díaz Silva H¹, Gutierrez B², Zurita M², Mundo SL¹, Jar, AM¹

Universidad de Buenos Aires. ¹Cátedra de Inmunología, ²Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica de Rumiantes y Cerdos. Facultad de Ciencias Veterinarias.

veronica_rigo83@hotmail.com

Uno de los desafíos para controlar la paratuberculosis bovina es identificar los animales en estadio subclínico. Se observó que la sensibilidad y precisión del diagnóstico serológico pueden aumentar si se combinan los resultados de IgG e IgA. El objetivo de este trabajo es producir un anticuerpo específico para la IgA bovina, que se aplicará para desarrollar un IgA-ELISA-PPA como prueba diagnóstica complementaria de la paratuberculosis. Se planteó un abordaje biotecnológico, que consiste en la producción de la cadena pesada de la IgA (cadena alfa) como proteína recombinante para ser utilizada como inmunógeno. Amplificamos, clonamos y expresamos un fragmento correspondiente a la cadena pesada completa (1032 pb). Se realizó RT-PCR a partir de ARN total de células mononucleares de bazo, utilizando cebadores que insertan un sitio BamHI en el extremo 5' y un sitio HindIII en el extremo 3' de cada secuencia. Los amplicones se clonaron en el vector pRSET-A y la identidad de todas las secuencias se confirmaron por electroforesis capilar. Luego de haber optimizado las condiciones de producción, se logró la expresión del fragmento completo alfa en células competentes BL21(DE3)pLysS, como una proteína de fusión de aproximadamente 41 kDa, con una cola de poli-histidinas. Se determinó que la proteína se expresa y almacena en cuerpos de inclusión y su extracción se realizó con tratamiento con

urea. Se realizó la purificación mediante cromatografía de afinidad utilizando columnas de Níquel y finalmente se dializó en columnas Amicon®. La proteína alfa recombinante purificada se formuló con adyuvante incompleto de Freud y se utilizó para inmunizar cuatro ratones por vía subcutánea, con un programa estándar de inoculaciones quincenales. Luego de la cuarta inmunización, se realizó la toma de muestra de sangre y se caracterizó el antisuero por DOT-ELISA. Se probó el antisuero con reacciones positivas, contra la proteína alfa recombinante purificada y contra muestras de suero bovino, mucus nasal, lágrimas y saliva. Se probó el antisuero contra patrones de IgG1 e IgG2 y BSA, y no se evidenciaron reacciones cruzadas. Actualmente, se está poniendo a punto las condiciones del ensayo de IgA-ELISA-PPA. Se obtuvo un suero policlonal en ratón específico anti-IgA bovina que constituye un desarrollo local para utilizarse en las pruebas diagnósticas que se realizan en la Cátedra de Inmunología y que se utilizará para profundizar el conocimiento sobre el papel de la IgA en la respuesta inmune del bovino en estados de salud y enfermedad.

EVALUACIÓN DE CORTISOLEMIA EN RESPUESTA A ESTRÉS QUIRÚRGICO EN FELINOS DOSIFICADOS CON FIROCOXIB

Robles S, Monfrinotti A, Passini S, Lupi M, Albarellos G, Montoya L

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

Es de conocimiento que la utilización de analgésicos en protocolos quirúrgicos disminuye el estrés producto de la inflamación generada por la agresión quirúrgica. Uno de los indicadores de estrés utilizado en medicina veterinaria es el cortisol sanguíneo. El dosaje en sangre de esta hormona esteroidea es uno de los indicadores que podría ayudar a identificar si el animal presenta dolor. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia del firocoxib (FCX), en protocolos quirúrgicos mediante la valoración de cortisol en sangre. Se utilizaron 6 felinos mestizos de 6 años (4.180 ± 0.87 kg) clínicamente sanos (CICUAL2013/5), cuyas cavidades bucales presentaban Enfermedad Periodontal precisando su resolución mediante un destartraje. Dicho procedimiento se hizo bajo un protocolo anestésico por infusión continua intravenosa de propofol y remifentanilo en dos tiempos separados por 20 días 1 y 2 (1: maxilares izquierdos y 2: derechos), divididos aleatoriamente en dos grupos de 3 animales cada uno A y B, siendo

cada grupo premedicado con FCX por vía oral (3 mg/kg) 2–3 h previo al procedimiento, en uno de los tiempos (1 o 2). Previo y durante la infusión de ambas drogas se monitoreó glucemia, parámetros hemodinámicos y neurológicos. Luego de la cirugía se estudió el tiempo y forma de recuperación mediante la filmación del patrón de comportamiento durante períodos preestablecidos por 24h. Dichos parámetros y valores fueron analizados y presentados en trabajos anteriores. Se tomaron muestras de sangre entera al inicio, final, 1, 6 y 24 h terminada la cirugía y se evaluó cortisolemia por quimioluminiscencia. Se analizaron los resultados mediante un test estadístico (ANOVA, Infostat) ($p \leq 0.05$). El destartraje se realizó en forma eficiente, el protocolo anestésico fue adecuado y la inclusión del FCX no produjo modificaciones colaterales al mismo. Se pudo observar importante variación de la cortisolemia entre los gatos pero en la mayoría de los tiempos evaluados los valores se hallaron dentro del rango de referencia (hasta 4 ug/dl), salvo un felino a las 24 hs (5,1 ug/dl) y otro a la hora y 6 horas de finalizado el procedimiento (4.1 y 4.2 ug/dl respectivamente). Los valores tendieron a ascender a medida que se procedió a realizar la maniobra disminuyendo para la evaluación sanguínea de las 24 horas. Si bien se midieron valores mayores de cortisol en los pacientes no tratados con FCX, no se hallaron diferencias significativas entre los dos grupos (tratados y no tratados) cuando se les realizó análisis de varianza para las diferencias de cortisol comparado al valor basal (inicio de cirugía). En conclusión, el uso de FCX en felinos sometidos a destartraje no produciría cambios significativos en la cortisolemia, pero podría atenuar la respuesta al estrés generado por el dolor producido por esta maniobra.

SELECTIVE HEMANGIOMA CELL DYSFUNCTION AND APOPTOSIS TRIGGERED BY IN VITRO TREATMENT WITH IMIQUIMOD

Rocco R, Cochón A, Wainstok R, Gazzaniga S

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Dpto. de Química

Infantile hemangiomas (IH) are benign vascular tumors. In severe cases lacking of spontaneous involution, a therapeutic intervention is needed. Imiquimod (IQ) is a Toll-like receptor (TLR) 7/8 agonist and an immunomodulator, which has been approved for cutaneous pathologies other than IH. The aim of this work was to characterize IQ cytotoxicity and selectivity on transformed and normal endothelial cells in absence of an immunological microenvironment. Murine hemangioma (H5V) and normal endothelial (lG11) cells were treated with IQ (0–100 µg/mL). Melanoma cells (B16F-1) were assayed as sensitive control. Cytotoxicity was assessed estimating the EC₅₀. Apoptosis, necrosis or senescence were detected after 24 h-treatment, either performing Nuclear Morphometric Assay (NMA) or by flow-cytometry. Hemangioma cells suffered a dramatic loss of viability at 10 µg/mL whereas melanoma and normal endothelial cells had higher EC₅₀ (20 and 37 µg/mL, respectively). At 10 µg/mL IQ induced 60% apoptosis on H5V cells while lG11 cells presented low apoptosis (12–15%). NMA concomitantly revealed an apoptotic population (65–75%) for hemangioma cells but also evidenced a senescent-like group of nuclei (25%) for lG11 which were undetected by cytometric determinations. As early as 2–4 hs treatment, an increase in reactive oxygen species was detected on H5V cells, probed with DCF-DA and analyzed through flow cytometry. After 14 hs treatment, hemangioma and melanoma cells lacked migratory capacity (assessed by scratch assay) for concentrations ≥ 5 µg/mL. Only H5V cells displayed a complete unpolarized stress fibers arrangement with rounded cell morphology. lG11 cells migrated without changes in actin cytoskeleton evidenced with phalloidin-TRITC. These findings revealed a direct and selective cytotoxic action of IQ on transformed cells in the absence of immune microenvironment. IQ prevented migration and triggered apoptosis in hemangioma but not in normal endothelial cells. These results encourage us to further characterize IQ mechanism on endothelial cells, specially hemangiomas.

**ESTUDIO PRELIMINAR DE LOS ASPECTOS REPRODUCTIVOS E
HISTOLÓGICOS EN HEMBRAS DE
EUMOPS PATAGÓNICUS (CHIROPTERA: MOLOSSIDAE)**

Rodríguez FE¹, Olea GB², Aguirre MV², Lombardo DM³

⁽¹⁾ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencia Exactas y Naturales y Agrimensura. ⁽²⁾ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM). ⁽³⁾ Universidad de Buenos Aires Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA).

Dentro del orden Chiroptera las especies del suborden Microchiroptera son de pequeño tamaño y por ello fueron objeto de numerosos estudios de biología reproductiva. Sin embargo, poco se ha realizado en especies sudamericanas. *Eumops patagonicus*, es una especie sudamericana que abunda en zonas urbanizadas pero es escasa la información con que se cuenta sobre su biología reproductiva. En el presente trabajo se describe la estructura histológica del ovario de *E. patagonicus* en diferentes estaciones del año, analizando el período comprendido entre abril de 2016 a marzo de 2018 (n=60). Se usaron redes de niebla próximas a los refugios, los individuos fueron capturados manualmente, anestesiados y eutanasiados para muestrear el tracto reproductor. El material fue procesado siguiendo la técnica histológica convencional y coloración con hematoxilina - eosina. Se analizaron el ovario derecho (OD) e izquierdo (OI), en ambos se distinguió la zona cortical con folículos y la región medular con tejido intersticial glandular (TIG) escaso. En cuanto a la composición del córtex, en el OI solo se encontraron ovocitos desnudos formando nidos, folículos primordiales y primarios. La región medular resultó escasa. En el OD, tanto en verano, otoño e invierno se pudo observar las estructuras de la foliculogénesis además de un folículo biovular en invierno. Con respecto al TIG, se encontró en mayor cantidad que en el OI pero en menor proporción a lo que se describe para *M. rufus*. En primavera se encontraron hembras preñadas, el OD con un cuerpo lúteo ocupando gran parte del ovario. Estos resultados preliminares concuerdan con la asimetría ovárica y funcional. En el OD se observan los estadios de la foliculogénesis, inclusive un cuerpo lúteo en el mismo lado del cuerno gestante. Concluimos de forma preliminar que en relación a la estructura histológica del ovario de *E. patagonicus*, se observa una asimetría ovárica a nivel morfológico y funcional, similar a *M. rufus*, pero a diferencia de este posee escaso TIG. En relación a la biología reproductiva se puede establecer que la temporada de cópula de *E. patagonicus* es en los meses de invierno, pariendo una sola cría y solo poseen una preñez por año.

INCLUSIÓN EN HISTORRESINA DE VESICULAS ESFEROIDALES OBTENIDAS DE LA MUCOSA DE OVIDUCTOS DE CERDA

Rodríguez JLA¹, Lorenzo MS^{1,2}, Tello MF¹, Lombardo DM¹

1 Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Histología y Embriología. 2 CONICET

Los medios de inclusión en base plástica fueron introducidos al mundo de la ciencia a finales de la década de 1940 con el objetivo de facilitar la realización de cortes ultra finos para microscopía electrónica (50-150 nm). Poco tiempo después se descubrió que los cortes semifinos (0,5 a 2µm) eran útiles para microscopía óptica aplicando diferentes técnicas de coloración. Resultó evidente que los cortes semifinos de tejidos incluidos en medios de base plástica ofrecían ventajas sustanciales respecto de los realizados en medios de parafina o por congelación en criostatos. Estos cortes al ser mucho más finos que los que se pueden realizar por los medios convencionales ofrecen una mejora de la resolución de imagen. El objetivo de este trabajo fue obtener cortes semifinos de vesículas esféricas (VE) de mucosa oviductal de cerda para su caracterización morfológica. Las VE se utilizaron posteriormente en experimentos de cocultivo con embriones porcinos para estudiar su interacción. Las VE se recuperaron a partir de un cultivo primario obtenido por raspado de la mucosa de oviductos de cerdas faenadas. Se tomó una alícuota de sobrenadante conteniendo las VE en suspensión de la placa de cultivo y se centrifugó 5 min a 1500 rpm. Las VE contenidas en el fondo del tubo, se fijaron con paraformaldehído al 4% 30 minutos y se mantuvieron en PBS/PVA a 4°C hasta su uso. Posteriormente, se deshidrataron con acetona durante 1 h a 4°C. Para la microinclusión se utilizó la resina Jung Histo Resin Plus (dihidroxietilmetacrilato, Leica) trabajando bajo microscopio estereoscópico. Las VE se colocaron primero en la solución de infiltración (resina base con activador) 1 h a 4°C en las cápsulas de inclusión BEEM. Luego se reemplazó la solución de infiltración por la de inclusión (solución de infiltración con el agregado del endurecedor) llenando la cápsula casi completamente, luego se mantuvieron a 4°C toda la noche para su polimerización. Los cortes semifinos (1-2 µm) se realizaron con un ultramicrotomo LKB, modelo Ultratome III 8800 y se tiñeron con Hematoxilina de Mayer (2 min) y Eosina alcohólica (2 min). Para la observación se utilizó el microscopio DMLS (Leica), las imágenes se tomaron con una cámara DFC310FX, software LAS V4.12 Leica. Se observaron las VE revestidas por un epitelio cilíndrico con borde festoneado con la presencia de vesículas de secreción en su borde apical. Esta técnica permitió obtener cortes semifinos de las VE y realizar tinciones de rutina para su caracterización morfológica. A futuro, se utilizarán estos cortes para la puesta a punto de técnicas de inmunocitoquímica que complementarán las características

histoquímicas de estas VE. Es una técnica aplicable a tejidos menores a 1 mm (embriones, oviducto) de gran importancia para la investigación biotecnológica reproductiva.

UTILIDAD DE LACTUCA SATIVA COMO BIOINDICADOR DE TOXICIDAD DEL ARSÉNICO EN AGUA DE BEBIDA ANIMAL

Rodríguez MS^{1,2}, Fernández Cirelli A^{1,2}, Pérez Carrera A^{1,2}

1Universidad de Buenos Aires, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Buenos Aires, Argentina. 2Universidad de Buenos Aires – CONICET. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. Chorroarin 280. CABA. E-mail: solerodriguez@gmail.com

El agua es un recurso natural indispensable para el desarrollo de la producción agropecuaria. En los sistemas de producción ganadera, la disponibilidad y calidad del agua, en cuanto a su composición y cantidad de nutrientes, es fundamental para el crecimiento, desarrollo y salud del ganado. Entre las características que deben analizarse al momento de evaluar la aptitud del recurso se encuentran los elementos traza inorgánicos. Uno de los más significativos a considerar en la evaluación de la calidad de agua para consumo animal es el arsénico (As). Este elemento se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y posee una elevada toxicidad para los seres vivos. Los ensayos de toxicidad basados en la germinación de semillas y la elongación radicular son indicadores toxicológicos simples utilizados para obtener información complementaria a las determinaciones físico-químicas tradicionales, además, permite evaluar los efectos sinérgicos y antagónicos de distintos componentes del agua. El bioensayo con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*) se utiliza como prueba de toxicidad aguda (120 horas) para determinar el posible impacto de compuestos puros o mezclas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la exposición de *L. sativa* a diferentes concentraciones de As, tomando como referencia el límite máximo aceptable de As establecido en las guías de calidad de agua de bebida animal. Los bioensayos se realizaron por triplicado durante 120 horas utilizando 3 concentraciones de As (tratamiento 1: 250 µg/l, tratamiento 2: 500 µg/l y tratamiento 3: 1000 µg/l). Las concentraciones de los tratamientos fueron definidas considerando como referencia el límite máximo aceptable en las guías de calidad de agua de bebida animal, se calculó una concentración superior y una inferior. Se efectuó un control positivo con dicromato de potasio y un control negativo con agua destilada. Se colocaron 20 semillas en cada placa de Petri acondicionadas sobre papel de filtro, en las que se agregó 2,5 mm de cada concentración. Se incubó en oscuridad a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 5 días. Se midió la elongación de la radícula de las plántulas. Pasadas 120 horas del bioensayo, se contó el número de semillas germinadas y se midió la longitud de la radícula de las plántulas. Se consideró como semilla germinada aquella en la cual la radícula superó los 2 mm. Las variables que se evaluaron fueron el porcentaje de la germinación relativa de semillas

(GRS), el crecimiento relativo de la radícula (CRR) y el índice de germinación (IG). Finalmente, para el análisis de datos, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con Infostat ® aplicando la transformación Arcsin previo al análisis. Todos los tratamientos presentaron diferencias significativas ($<0,05$) con el control negativo. A su vez, se observó que los tratamientos 1 y 2 no fueron significativamente diferentes entre sí, pero si presentaron diferencias significativas respecto al tratamiento 3. Los resultados obtenidos confirmaron que *L.sativa* es un bioindicador recomendable, ya que posee una gran sensibilidad a la presencia de concentraciones de arsénico agua de bebida animal.

USO DE LA MORFOMETRÍA DEL OTOLITO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE TRES ESPECIES SIMPÁTRICAS Y MORFOLÓGICAMENTE SIMILARES DE MOJARRAS DEL GÉNERO *ASTYANAX* DE MISIONES

Rolón ME¹, Avigliano E¹, Rosso JJ², Mabragaña E², Volpedo AV¹

¹ Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA-UBA-CONICET), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. ² Grupo de Biotaxonomía Morfológica y Molecular de Peces, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC-CONICET), Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina

En muchos estudios de la fauna ictícola Neotropical, las mojarra del género *Astyanax* son identificadas hasta nivel de género. Esto obedece a la plasticidad fenotípica de los caracteres morfológicos usados para su determinación. En consecuencia, disponer de herramientas adicionales que contribuyan a mejorar la identificación específica de *Astyanax* es altamente deseable. En las últimas décadas, la forma del otolito ha permitido discriminar entre especies emparentadas. Este trabajo se propone evaluar los índices de forma y el contorno (análisis de descriptores de Fourier) del otolito *lapillus* para discriminar entre tres especies simpátricas que habitan en arroyos de la selva paranaense (Misiones, Argentina). Se colectaron peces mediante redes de enmalle, arrastre y trampas en el arroyo Ramos (cuenca del Acaraguá, departamento Oberá), y en los arroyos Florida, Fortaleza, Garibaldi y Yabotí Miní (reserva de Biosfera Yabotí, cuenca del Yabotí, departamentos de Guaraní y San Pedro). Los peces fueron identificados a nivel específico mediante claves taxonómicas y se extrajeron los otolitos. Se seleccionaron 146 *Astyanax saguazu* (LS= 87,7±13,9 mm), 110 *Astyanax paris* (LS= 61,4±12,4 mm) y 35 *Astyanax xiru* (LS= 77,2±18,7 mm). Los índices relación de aspecto, redondez y elipticidad de los otolitos fueron significativamente diferentes ($p<0,05$) entre especies, mientras que no se encontraron diferencias significativas para los índices de circularidad, rectangularidad y factor de forma ($p>0,05$). A diferencia de los índices morfométricos, el análisis de PERMANOVA mostró diferencias significativas entre especies al considerar los descriptores de Fourier ($F=96,7$; $0,0001<p<0,02$), mientras que el análisis discriminante cuadrático mostró elevados porcentajes de clasificación (82,7% y 88,6%). Los resultados sugieren que el análisis de contorno del otolito es una herramienta potencialmente útil para la identificación de algunas especies morfológicamente similares de *Astyanax*. Esta herramienta podría contribuir a futuros estudios taxonómicos y filogenéticos, además podría aportar información de interés para identificar especies en trabajos paleontológicos y de ecología trófica.

LIQUIDOS SINOVIALES DE EQUINOS POSITIVOS A MMP-9 SE ENCUENTRAN RELACIONADOS CON BAJOS NIVELES DE GLICOSAMINOGLICANOS (GAGS)

Rubatino F¹, Perrone G, Caggiano N, Lastra Y, Gullace F, De Simone E

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Cs. Veterinarias. 1 Cátedra de Fisiología Animal. 2 Producción equina y clínica de grandes 3 Bioterio Central.

La osteoartritis es una enfermedad inflamatoria de gran incidencia en equinos deportivos. La inflamación intraarticular se puede estudiar mediante el análisis de enzimas catabólicas en el líquido sinovial. Previamente evaluamos la actividad inflamatoria mediante citoquinas y proteínas de fase aguda sin embargo las mismas permanecen elevadas por un breve periodo de tiempo dependiendo del estadio de la enfermedad y la gravedad de la misma. Por tal motivo uno de los biomarcadores más confiables de enfermedad articular resultó ser la actividad de la MMP-9. En este trabajo nos proponemos cuantificar los GAGs sinoviales y relacionarlos con la actividad de MMP-9. El nivel de GAGs siempre ha sido controversial ya que se ha especulado que los valores bajos u altos podrían estar relacionados con enfermedad articular. La MMP-9 ha sido relacionada previamente con el catabolismo de la matriz extracelular en procesos patológicos pero no se la ha relacionado con los niveles de GAGs en el líquido sinovial. El objetivo de este trabajo fue relacionar en líquido sinovial los niveles de GAGs con la actividad de MMP-9. Las articulaciones del carpo y el tarso fueron seleccionadas para este estudio, ya que las mismas son de fácil acceso y es donde se producen las mayores patologías articulares. Se extrajeron por punción sinovial 98 líquidos sinoviales de animales de diferente procedencia y usos, muchos de los cuales se encontraban retirados de la actividad deportiva por diferentes motivos. Los líquidos sinoviales se centrifugaron y se conservaron a -20°C hasta su uso. Los GAGs fueron cuantificados mediante la prueba de 1,9-dimethylmethylenblue (DMMB) y la MMP-9 por zimografía en SDS-PAGE con el agregado de gelatina. Estas pruebas fueron validadas previamente para uso en equinos. Para el análisis estadístico se usó la prueba de Ji cuadrado. Al relacionar la presencia de MMP-9 con el valor de GAGs articular en líquido sinovial se obtuvieron los siguientes resultados: cuando los GAGs fueron menores a 700 mcg/ml 19/34 animales fueron positivos a MMP-9. Mientras que cuando la medición de GAGs fue mayor a 700mcg/ml la proporción de animales positivos a MMP-9 fue de 10/64. Cuando se realizó el análisis de Chi cuadrado se observó una diferencia significativa de $p < 0.05$ ($p = 0,0031$). Estos resultados podrían estar indicando que para los valores de GAGs menores a 700mcg/ml la probabilidad de tener MMP-9 positiva es significativamente mayor y por lo tanto que se trate de una articulación con enfermedad articular. Los

resultados obtenidos sugieren que la actividad de MMP-9 estaría relacionada con los bajos niveles de GAGs. Este trabajo de alguna manera estaría demostrando que los valores bajos de GAGs están asociados a mayor probabilidad de enfermedad articular.

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE CEPAS DE *LACTOBACILLUS PLANTARUM* ANTE *SALMONELLA* SPP. AISLADAS DE CERDO IBÉRICO

Ruiz MJ¹, García M¹, Colello R¹, Medina LM², Etcheverría AI¹

¹Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET-UNCPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Argentina. ²Laboratorio de Microbiología de Alimentos (*MICAL*), Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, Córdoba, España.

Salmonella spp. es un patógeno común en los alimentos relacionado con las intoxicaciones alimentarias provocando graves problemas en la salud pública. La producción de cerdo Ibérico en España ha tomado gran relevancia por la calidad de sus productos y *Salmonella* representa una amenaza respecto a la seguridad de los productos elaborados en base a esta producción. El género *Lactobacillus* spp. se ha utilizado a lo largo del tiempo en la industria para dar características tecnológicas a los alimentos. En los últimos años se ha destacado también por su capacidad antagonista ante diferentes bacterias patógenas. Por lo tanto, *Lactobacillus* spp. representa una alternativa de control, específicamente ante *Salmonella*, a lo largo de la cadena productiva de cerdo ibérico. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano de cepas de *Lactobacillus* ante cepas de *Salmonella* spp. aisladas de cerdo ibérico. En este estudio se utilizaron ocho cepas de *Lactobacillus* spp. aisladas de distintas etapas de la cadena de producción de cerdo intensiva en Argentina. El análisis se realizó ante cuatro cepas de *Salmonella* aisladas de producción extensiva de cerdo en España. El ensayo se realizó siguiendo el procedimiento de inoculación por picadura. Los *Lactobacillus* se sembraron por puntura en placas de Man Rogosa Sharpe agar (MRS). Luego de la incubación a 37 °C por 48 h en anaerobiosis las placas se expusieron a vapores de cloroformo por 1 h para inactivar las bacterias que hubieran crecido. Luego se cubrieron con una capa de Xylose Lysine Desoxycholate agar (XLD) blando (0,75% de agar) conteniendo los microorganismos patógenos sobre los cuales se va a evaluar la actividad inhibitoria. La lectura se realizó mediante la observación de zonas translúcidas indicativas de inhibición de crecimiento de las patógenas por acción de los *Lactobacillus*. La presencia de halos de inhibición mayores de 1 mm, alrededor de las picaduras, se consideró como prueba positiva. Se observaron halos de inhibición de 10 mm de promedio en el 100% de las cepas de *Lactobacillus* ante las cuatro cepas patógenas de *Salmonella* spp. Los resultados obtenidos reflejaron una alta capacidad antimicrobiana de los *Lactobacillus* seleccionados ante las cuatro cepas patógenas. Esta aptitud los convierte en sumamente atractivos para ser aplicados en los sistemas de producción de cerdo Ibérico como potenciales bacterias biopreservadoras y así obtener productos seguros.

El alto consumo por habitante de los productos cárnicos de cerdo, exigen calidad organoléptica y sobre todo seguridad microbiológica. De esta forma se contribuirá a la rentabilidad y sustentabilidad del sistema productivo como a la salud pública.

CIRCULACIÓN DEL SUBGRUPO GENÉTICO A DEL VIRUS PARAINFLUEZA TIPO 3 BOVINO EN TERNEROS DE CRIANZAS ARTIFICIALES DEL SUR DE CÓRDOBA (ARGENTINA)

Sambuceti NG¹, Raviolo JM¹, Orías F¹, Spilki FR²

¹Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Dpto. Producción Animal, Río Cuarto, Córdoba. ²Laboratorio de Microbiología Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale, Brasil.

E-mail: nsambuceti@ayv.unrc.edu.ar.

El Virus Parainfluenza 3 Bovino (VPI3-b) es uno de los principales agentes etiológicos primarios del Complejo Respiratorio Bovino (CRB), afectando terneros durante el período de crianza y recría y produciendo cuantiosas pérdidas económicas. Estudios genéticos basados en distintos genes del VPI3-b han determinado la existencia de tres diferentes subgrupos genéticos (A, B y C). El objetivo del presente trabajo fue la secuenciación parcial y análisis filogenético del gen hemaglutinin-neuraminidasa (HN) de cepas de VPI3-b circulante en crianzas artificiales de terneros (CAT) de tambos. Las muestras fueron obtenidas mediante hisopados nasales de terneros que mostraban sintomatología clínica, en diferentes CAT de la región centro-sur de Córdoba. Seis amplímeros de 1009pb correspondientes al gen HN del VPI3-b, amplificados por RT-PCR, provenientes de muestras clínicas de tres CAT, fueron purificadas y luego secuenciadas en el laboratorio de INTA Castelar. Los alineamientos de las secuencias de nucleótidos fueron realizadas por Clustal W y la reconstrucción filogenética por el método de Neighbor-Joining, Kimura 2 a través del programa MEGA5. Las secuencias obtenidas se compararon con otras, homólogas de aislados internacionales. De las seis muestras secuenciadas, cinco fueron analizadas, de las cuales una perteneció a una CAT y las restantes, dos a cada una de las otras CAT. Los alineamientos de bases y el análisis filogenético permitieron clasificar a las cinco muestras dentro del genotipo A de VPI3-b. Este hallazgo confirma la circulación del mismo patrón genético (genotipo A) en distintas CAT de la región centro sur de Córdoba, coincidiendo con reportes previos para este virus en otros sistemas de producción bovina de Argentina. A partir de este estudio se podrá conocer y comparar la epidemiología molecular de otras cepas de VPI3-b circulante en otros establecimientos ganaderos de Argentina.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO EN PLANTINES HORTÍCOLAS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE CEPAS DE TRICHODERMA SPP.

Santomil F, Brambilla G, Cuadrado A, Wigdorovitz P, Borrelli N

Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.
Arandu Recursos Biológicos.

Aislados de *Trichoderma* spp. pueden actuar como biocontrolador de patógenos, colonizando rápidamente la rizosfera, produciendo metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas que causan cambios estructurales a nivel celular del patógeno (vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular). La inoculación con *Trichoderma* spp. puede actuar promoviendo el crecimiento mediante múltiples factores, descomposición de materia orgánica, la cual libera nutrientes en formas disponibles para su absorción, secreción de sustancias en la zona rizosférica que actúan como factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) provocando un aumento en la producción de materia húmeda y seca. El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto de 5 cepas de *Trichoderma* spp. en el desarrollo de plantines de remolacha (*Beta vulgaris*), cebolla de verdeo (*Allium fistulosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*) y lechuga (*Lactuca sativa*). Para cebolla de verdeo y remolacha los ensayos se realizaron en plantineras de productores agroecológicos de la Unión Trabajadores de la Tierra (UTT); para el caso de los cultivos de lechuga se encuentra en realización el ensayo en las instalaciones de Arandu Recursos Biológicos en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. La siembra se realizó en bandejas para plantines dentro de un invernáculo, donde la disponibilidad de agua y humedad relativa eran controladas y reguladas por un sistema de pulverización de agua Mist. Se dividieron las plantas en seis grupos, (5 tratamientos y 1 testigo) y se les asignaron aleatoriamente los tratamientos, siendo uno de ellos un testigo positivo de la marca comercial Tiffi®. Se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorio (DBCA). Las distintas cepas se aplicaron como suspensión de esporas a la siembra, con una aplicación posterior a los diez días. Para remolacha y cebolla de verdeo las mediciones se realizaron a los 20 días. Con posterioridad a la medición se transplantaron las plantas restantes a macetas. A los 35 días luego del transplante, se volvió a aplicar una dosis de *Trichoderma* spp. Finalmente a los 120 días de la siembra, se realizaron mediciones de clorofila en las hojas (mediante SPAD), altura de la planta, peso fresco y seco de raíz y tallo por separado. Para el análisis de los datos se utilizó el software Infostat®, utilizando test de DGC con un nivel de significación del 5%. La aplicación de *Trichoderma* spp. produjo diferencias significativas de biomasa total y de altura en el tallo. Se encuentra en realización el ensayo

en plantines de tomate y lechuga. Los resultados obtenidos son alentadores en cuanto a la posibilidad de utilizar las cepas de *Trichoderma* spp. de mejor comportamiento como promotoras del crecimiento en plantineras comerciales.

DETECCIÓN DEL NIVEL DE ANTICUERPOS IGG DE LLAMA (LAMA GLAMA) CONTRA LEPTOSPIRA SPP., MEDIANTE TÉCNICAS SERODIAGNÓSTICAS. (RESULTADOS PRELIMINARES)

Saraullo V^{1,3}, Martínez M¹, Leiva C^{1,3}, Grune S^{1,3}, Aduriz M^{2,3}, Auteri C¹, Romero G¹, Hamer M⁴, Azpeitia J¹, Brihuega Bibiana¹

1-Instituto de Patobiología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. 2-Instituto de Virología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. 3-Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires, Argentina. 4-Becaria PICT Startup 2016-4815

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica causada por una bacteria del género *Leptospira* spp. que se transmite a través del contacto con orina o agua contaminada con el patógeno. Iniciada la infección, la detección de anticuerpos en suero será positiva aproximadamente a partir del cuarto día. Los miembros de la familia Camelidae tienen un alto porcentaje de IgG que no poseen cadenas livianas (Heavy Chain Antibodies, HCAs por sus siglas en inglés). Hasta la actualidad, se conocen al menos 2 subclases de IgG con dicha estructura, IgG2 e IgG3, mientras que IgG1 mantiene la estructura convencional. El objetivo de este trabajo fue medir los niveles de anticuerpos específicos contra *Leptospira* spp., en llamas vacunadas contra el patógeno a través de dos métodos serológicos, ensayo por inmovinabsorción ligado a enzimas (ELISA) y la técnica de microaglutinación (MAT). Para este estudio se vacunó una llama (*Lama glama*) perteneciente al campo experimental de INTA Castelar, con 4 dosis de una vacuna comercial contra *Leptospira* spp., con intervalos de 15 días entre ellas, y tomando previo a cada dosis, una muestra de sangre. Las mismas se centrifugaron y el suero obtenido se conservó a -20 °C hasta su análisis. Las muestras de sueros se analizaron por MAT, enfrentandolas a 8 serovares de *Leptospira* spp. para determinar la seroespecificidad, y por ELISA indirecto para medir los niveles de anticuerpos específicos contra *Leptospira* spp., utilizando un anticuerpo anti IgG de llama conjugado a peroxidasa. Se lograron detectar niveles significativos de anticuerpos contra *Leptospira* spp. La titulación para la técnica MAT fue positiva a *L. interrogans* serovar Pomona Pomona presentando títulos de 1/800, 1/1600, 1/3200, 1/800 para las muestras 1, 2, 3 y 4 respectivamente, mientras que el análisis por ELISA arrojó títulos menores, con valores de 1/200, 1/400, 1/1600 y 1/800 para las mismas muestras. Este es el primer reporte de dosaje de anticuerpos anti *Leptospira* spp. post vacunales en camélidos sudamericanos, medidos por dos técnicas serológicas diferentes.

PERCEPCIÓN DE LOS ESTUDIANTES DE BASES AGRÍCOLAS PARA LA PRODUCCIÓN ANIMAL DE LA CARRERA DE CIENCIAS VETERINARIAS (UBA) SOBRE EL MANEJO DE EFLUENTES Y ESTIÉRCOL

Sassano NA, Herrero MA, Sardi GMI

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

En distintas provincias de Argentina están surgiendo nuevas regulaciones para el manejo del estiércol. El objetivo fue evaluar la percepción, las necesidades y barreras sobre el manejo de efluentes y estiércol en estudiantes de Bases Agrícolas para la Producción Animal de la Facultad de Cs. Veterinarias de la UBA. Se diseñaron y aplicaron encuestas (143) voluntarias y anónimas durante el año 2017. Contenían dos secciones, la primera con siete preguntas de tipo cerradas de única respuesta, y escala tipo Likert de 5 puntos. Se abordaron temas relacionados con calidad de agua, contaminación, generación de olores, valor fertilizante, producción de biogás, y estiércol como vehículo de patógenos. En la segunda sección debían indicar su interés o no por la reutilización de residuos ganaderos (efluentes y estiércol) como abono, y seleccionar una o más opciones entre Necesidades y Barreras para su reutilización como abono a campo. Los estudiantes indicaron edad, lugar de residencia y su relación con el medio rural. Respecto a la percepción sobre manejo de efluentes y estiércol, expresaron en mayor proporción que el efluente es vehículo de patógenos y que la laguna contamina a las aguas subterráneas. La menor percepción fue acerca de que la calidad de agua utilizada en la sala de ordeño condiciona el uso de efluentes como fertilizantes. El 25% de los estudiantes respondió que utilizaría los residuos ganaderos para abonado, siendo un valor menor a otros estudios realizados con productores y asesores ganaderos del país. Se observó una mayor

actitud para su reúso en los estudiantes de más edad (≥ 26 años), pero no se observaron relaciones con su lugar de residencia (urbana (25%) o rural (18%)), ni tampoco a su posible relación con el medio rural. Los que usarían el efluente como fertilizante expresaron diferentes Necesidades para realizar dicha tarea, siendo la maquinaria específica para su distribución considerada como la de mayor importancia, seguida la de disponer personal capacitado. Los encuestados que no usarían el efluente (75%) consideraron, sin embargo, las siguientes necesidades: de disponer un laboratorio para su análisis, disponibilidad de un manual de uso, contar con normas que regulen la forma de uso y disponer de personal capacitado. En las Barreras seleccionadas, se observó en el grupo que usarían el efluente como fertilizante la falta de normas que regulen su uso como principal limitante (37%), y en el grupo que no los utilizaría, el manejo engorroso (81%). Los estudiantes tuvieron una mejor percepción de algunos aspectos sobre otros. La mayoría no cree en utilizar estos “residuos como recursos”, enfatizando la falta de conocimiento sobre la práctica (73%). Los resultados obtenidos sirven para resaltar algunos aspectos en los programas de la currícula de la carrera de veterinaria.

SLIDING HUMERAL OSTEOTOMY (SHO) PARA EL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DEL COMPARTIMIENTO MEDIAL DEL CODO. REPORTE DE DOS CASOS.

Savan C¹, Corral J¹, Bruzzone C¹, Guerrero J¹, Mele E²

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, ¹Cátedra de Cirugía y ²Primera Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas, Buenos Aires, Argentina.

La displasia de codo es la incongruencia entre las superficies articulares proximales del radio y cúbito con el húmero distal, está relacionada con enfermedades del desarrollo como el proceso ancóneo no unido, el proceso coronoides fragmentado y la ostrocondritis disecante. El mayor contacto entre la superficie humeral y la cubital se produce en el compartimiento medial. La técnica SHO busca trasladar el peso hacia el compartimiento lateral. En el presente trabajo se describen dos casos clínicos. Caso 1: Canino, macho, Golden Retriever, 3 años. Se presentó a consulta clínica con claudicación de ambos miembros posteriores y flexión limitada de codo izquierdo, atrofia muscular en ambos miembros anteriores, presentando crepitación a los movimientos pasivos y manifestando

dolor a la rotación externa de ambos codos, siendo más marcado en el codo derecho. Los diagnósticos presuntivos fueron proceso coronoides fragmentado en codo derecho y displasia de cadera. En las radiografías (incidencias mediolateral, anteroposterior y oblicua) se evidenciaron cambios degenerativos en relación al proceso coronoides medial, más relevante en el codo derecho, en el que se visualizó mayor incongruencia articular. Se solicitaron análisis prequirúrgicos y se realizó la cirugía del miembro anterior izquierdo, en un primer tiempo quirúrgico, retirando el proceso coronoides. Cuatro meses después se realizó la cirugía del miembro anterior derecho llamada sliding humeral osteotomy, (SHO) que consiste en un abordaje medial a la diáfisis humeral, colocación de los tornillos proximal y distal para fijar la placa en z bloqueada 4.5 mm, de 8 orificios con escalón entre los orificios 4 y 5. Se realizó un lavado abundante con solución fisiológica y la síntesis de los diferentes planos. Se indicó reposo, medicación y controles postquirúrgicos. La evolución fue favorable, el paciente comenzó con un rápido apoyo del miembro, con disminución progresiva de la artrosinovitis, el dolor y la claudicación. Caso 2: Canino, macho, Golden Retriever. Se presentó a consulta con claudicación de ambos miembros anteriores. Se solicitaron radiografías y se derivó a consultorio quirúrgico donde se le diagnosticó displasia del codo derecho. Al mes, se realizó la cirugía mediante la técnica SHO: abordaje medial de la diáfisis del húmero. Se realizó una osteotomía de traslación con placa en z bloqueada 3.5 mm de 8 orificios con escalón entre orificios 4 y 5 y se complementó la fijación ortogonal con placa 2,7 mm en la cara craneal del húmero. Se realizó la síntesis de los planos en forma rutinaria. Se indicó reposo, medicación, controles postquirúrgicos y fisioterapia. La recuperación fue rápida con una pronta utilización del miembro y disminución progresiva del dolor y de la claudicación. La aplicación de la técnica SHO, con la utilización de placas bloqueadas con escalón en osteotomías mediohumerales, logró un cambio en el eje mecánico del hueso, aliviando las presiones en el compartimiento medial de la articulación del codo. En ambos pacientes se observó una pronta recuperación, con disminución del dolor a los movimientos de flexión de la articulación del codo y de la claudicación a las primeras semanas.

ESTUDIO MORFOLÓGICO Y MORFOMÉTRICO DE ESPERMATOZOIDES DE PECES AUTÓCTONOS DE LA CUENCA DEL PLATA

Schulman E¹, Rivolta MA^{1,2}, Torres P^{1,2}, López G³, Cisale H^{1,2,4}, Fischman ML^{1,2}

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Física Biológica. Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Medicina, Producción y Tecnología de Fauna Acuática y Terrestre. Buenos Aires, Argentina. (4) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina.

Los peces teleósteos presentan en general fertilización de tipo externa, en la mayoría de los casos estacional. Los espermatozoides son inmóviles en el tracto genital, y se activan al tomar contacto con el agua. Tienen una estructura más sencilla que la de los mamíferos: cabeza desprovista de acrosoma y flagelo. La morfología normal del espermatozoide, junto

con otros parámetros como movilidad, viabilidad, concentración e integridad de membranas, son determinantes de la calidad del semen. Dado que no existe suficiente información en peces autóctonos, la evaluación morfológica y morfométrica de sus espermatozoides no se realiza. Los objetivos de este trabajo son estandarizar métodos que permitan evaluar la morfología normal de los espermatozoides de peces autóctonos de la Cuenca del Plata y determinar los parámetros morfométricos de la cabeza espermática mediante un sistema computarizado para el análisis de semen (CASA). Para ello se trabajó en una primera etapa con tilapias (*Oreochromis niloticus*). La ventaja de esta especie exótica es que su ciclo reproductivo se puede inducir mediante el manejo de las condiciones ambientales (horas luz y temperatura del agua), lo que permite contar con muestras durante todo el año. Hasta el momento se utilizaron 5 machos, los que se sacaron de las piletas, se secaron y se les extrajo semen por masaje en la zona ventral. El semen fue aspirado en forma directa con una pipeta automática. Las muestras se diluyeron 1:2 en agua de las piletas donde se encontraban los peces. Se realizaron frotis in situ con Eosina-Nigrosina y Rosa de Bengala, y se conservaron muestras en solución salina formolada para observación directa mediante microscopía de contraste de fase. Para la evaluación morfométrica de la cabeza espermática se están evaluando las coloraciones de Giemsa y T15, y la Reacción de Feulgen para el núcleo. Una vez estandarizadas, las técnicas más apropiadas se aplicarán a espermatozoides de especies autóctonas de la Cuenca del Plata, cuyo ciclo reproductivo es mucho más acotado -generalmente de agosto a octubre-. Se espera que estas determinaciones constituyan una herramienta de utilidad a la hora de analizar la calidad espermática de las especies en cuestión.

DETECCIÓN DE *UREAPLASMA DIVERSUM* EN PULMONES DE CERDOS

Seitz JA¹, Camacho PA¹, Estanguet AA¹, Bautista SO², Tamiozzo PJ¹

Departamento Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, República Argentina. Ruta 36 Km 601, Río Cuarto, Córdoba, República Argentina, CP 5800.² Gerente unidad de negocios porcinos para cono sur, CEVA Salud Animal. Camila O'Gorman 412, piso 12. CABA, Buenos Aires, Argentina. C1107.

El Complejo Respiratorio Porcino (CRP) ha sido identificado como uno de los principales síndromes que afectan al ganado porcino y se asocia con pérdidas en la ganancia de peso, eficiencia alimenticia y mortalidad, entre otros. Entre estos agentes se encuentran virus y bacterias cuyo rol patógeno es bien claro. Un reciente estudio informó acerca de la presencia de *Ureaplasma diversum* en pulmones de cerdos con y sin neumonía. Aunque esta bacteria se ha asociado con desórdenes reproductivos en bovinos, poco se conoce acerca del rol patogénico de *U. diversum* en el CRP. *U. diversum* posee ciertos factores de

virulencia presentes en otros micoplasmas, como *Mycoplasma pulmonis* y *Mycoplasma bovis*, que afectan el pulmón de ratas y bovinos respectivamente, por lo que sería probable que *U. diversum* cause enfermedades respiratorias en cerdos. El presente trabajo se realizó para determinar la prevalencia de *U. diversum* en pulmones de cerdos enviados a faena. Se realizó un estudio transversal en frigorífico, se muestrearon 20 pulmones de cerdos (n calculado con una prevalencia estimada del 5% y una precisión del 10%) de cada una de tres grupos -semanas de producción- ($n=60$), provenientes de cuatro granjas porcinas (Granjas A, B, C y D) de Córdoba y San Luis ($n=240$). De cada pulmón se tomó muestras de lavado bronquio-alveolar (LBA) para PCR. El ADN de los LBA fue extraído utilizando un kit comercial y se realizó una PCR específica de la especie. Se utilizaron el programa Epidat para efectuar la inferencia sobre la proporción de positivos y el programa FreeCalc para estimar la prevalencia verdadera utilizando tests imperfectos. La prevalencia de positivos varió entre granjas, siendo 16,6% (IC95%: 6,4- 26,9), 18,3% (IC95% 7,7-28,5), 1,6% (IC95% 0,05-8,9) y 76% (IC95% 65,1-88,2) para las granjas A, B, C y D respectivamente. En las granjas B y C hubo uno y dos grupos (semanas), respectivamente, en las que todas las muestras resultaron negativas. A nivel global, el 28,3% (68/240) de las muestras fueron positivas. La prevalencia verdadera fue estimada entre 23% y 34,3% (95% de confianza). La prevalencia estimada en el presente trabajo es mayor a la anteriormente informada en cerdos, que fue del 6,6 %. El hecho de que hubo diferencias en la proporción de positivos entre granjas y que dentro de cada granja hubo algunos grupos negativos, sugiere que la dinámica del agente es particular en cada establecimiento y que se puede encontrar de manera intermitente. Se necesitan estudios enfocados en determinar el rol del agente en el CRP.

SELECCIÓN DE CEPAS NATIVAS DE TRICHODERMA PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE BOTRYTIS CINEREA EN ESPECIES HORTÍCOLAS

Senini NA, Serigos V

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Cátedra de Fitopatología. Buenos Aires, Argentina.senini@agro.uba.ar

El tomate (*Lycopersicon* spp.) y la frutilla (*Fragaria* spp.) son especies cultivadas de alto valor económico, producidos en pequeñas unidades productivas como una opción de diversificación agrícola y fuente de ingresos de equilibrio para los productores en algún momento del año. Ambos cultivos son altamente susceptibles al ataque del hongo patógeno *Botrytis cinerea*. Para su control uno de los métodos ampliamente utilizados son los fungicidas, no obstante, la exposición a éstos sigue siendo un importante problema de salud y ambiental. En este sentido, surge la necesidad de buscar alternativas para el manejo sustentable. El objetivo del presente trabajo es evaluar la capacidad biocontroladora de algunos aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *B. cinerea*, donde su uso contribuiría a la sostenibilidad agrícola de las pequeñas unidades y a un valor agregado al producto final. El

trabajo se realizará con productores hortícolas en transición agroecológica. Se utilizarán semillas de tomate y plantines de frutilla y tomate con cepas evaluadas previamente en cultivos in vitro. La selección de antagonistas se realizará utilizando ensayos in vitro en discos de hojas de las especies, asperjados por los hongos potencialmente antagonistas en una concentración de 1×10^8 conidias/mL e inoculados con *B.cinerea* en concentración de 1×10^6 conidias/mL. Se evaluará la efectividad de los tratamientos estimando la esporulación del patógeno a través de una escala. La selección de antagonistas en almácigos se realizará inoculando tierra con la suspensión de esporas del patógeno, sembrando las semillas de tomate al voleo y regando con la suspensión de *Trichoderma*, determinando el número de plantas sanas emergidas. En el control de *B.cinerea* en ensayos sobre plantines de tomate y frutilla en invernadero, los tratamientos aplicados serán las cepas seleccionadas de mejor comportamiento. La suspensión de esporas de los antagonistas se aplicará en las plantas y al día siguiente el patógeno. Se evaluará severidad de la enfermedad en las plantas, elaborando una escala porcentual para tal medición. Se espera que cepas nativas de *Trichoderma* ejerzan control sobre *Botrytis cinerea*, produciendo una reducción en la totalidad de tejido afectado en los discos vegetales y en planta, y mayor número de plantas sanas emergidas en los almácigos en comparación con los testigos, demostrando la eficacia de *Trichoderma* sobre el control de *Botrytis cinerea*.

Este proyecto de beca es financiado por la Sociedad Científica Latinoamericana de Agroecología (SOCLA) y cuyo tutor es el Dr.E.Wright.

ASOCIACIÓN ENTRE COLORACIÓN MATERNA Y CALIDAD DE PROGENIE EN EL CAMARÓN ORNAMENTAL “RED CHERRY” (*NEOCARIDINA DAVIDI*) (BOUVIER)

Sganga DE, López Greco LS

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Laboratorio de Biología de la Reproducción y el Crecimiento de Crustáceos Decápodos. Buenos Aires, Argentina. CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA). Buenos Aires, Argentina.

Algunas especies de camarones carideos son utilizados como especies ornamentales para el comercio en acuarios debido a su atractiva coloración. Usualmente los acuaristas prefieren aquellos ejemplares que poseen una coloración marcadamente rojiza, anaranjada o amarilla. El camarón ornamental *Neocaridina davidi* var. “red cherry” es uno de las especies ornamentales más populares. En el presente estudio se analizó la relación entre la coloración materna y la calidad de progenie en el camarón red cherry. Se seleccionaron y

fotografiaron hembras de 90 días de edad cubriendo todo el rango de coloración observado, desde hembras poco coloreadas hasta hembras intensamente coloreadas. Las mismas fueron asignadas al azar a un acuario que contenía un macho poco coloreado de la misma edad. Las dos primeras puestas fueron comparadas. Se revisaron diariamente las parejas de reproductores para la detección de hembras ovígeras. Al producirse la eclosión, los juveniles I fueron contados y se pesó una muestra de 10 individuos para el cálculo del peso promedio de los JI. Se tomó otra muestra de 15 individuos para evaluar su crecimiento luego de 30 días. Una tercera muestra de 15 individuos fue pesada a los 60 días y luego al día 90 se seleccionaron 3 hembras al azar para ser fotografiadas. A partir de las fotografías se calculó el área coloreada del cefalotórax. Se calculó además el incremento en peso para crías hembras y machos para los períodos 0-30 y 30-60 días. Se encontró que el número de juveniles I por hembra por puesta (fecundidad actual) está asociado al peso materno pero no así a la coloración materna. Por otro lado, la supervivencia de la progenie no estaría asociada a la coloración materna, al igual que el incremento en peso para los períodos 0-30 y 30-60 días. Sin embargo, el incremento en peso en el período 30-60 días fue mayor para las crías hembra que para las crías macho. No se encontró asociación entre la coloración de las crías hembra y la coloración materna, evaluadas a la misma edad.

Financiamiento: PICT 2016-0759, PIP 2015-2017 nro 11220150100544, UBACYT 2014-2017 nro. 20020130100186BA

GENERATION OF A LAMA GLAMA IMMUNE LIBRARY AGAINST ANTIGENS OF CANDIDATUS LIBERIBACTER ASIATICUS, THE HLB PATHOGEN

Sperat W¹, Gomez JM¹, Torres P¹, Bianco MI¹,
Gudesblat G², Vojnov A¹, Gonzalez C³, Ibañez LI¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein, CONICET. ²Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada, UBA, ³University of Florida, Estados Unidos

Organisms of the genus “*Candidatus Liberibacter*”, all vectored by psyllids, are generally recognized as the cause of four serious plant diseases: HuangLongBing (HLB), Zebra Chip, Psyllid Yellows and Yellows Decline, which currently threaten and destroy the citrus, potato, tomato and carrot industries, respectively. *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas) is one of the three etiological agents of the citrus HLB disease and is transmitted by the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri*. During insect feeding, the bacteria are introduced into the phloem and colonize sieve tubes; though they eventually develop severe chlorosis and die, infected trees may remain asymptomatic for many years. After the onset of the

symptoms (smaller, deformed fruit with uneven coloration, leaves and shoots develop yellow patches and branch dieback), citrus producers discard the plants and need to re-plant the affected area. Further complicating the issue, research on the genus is extremely difficult, for none of the HLB pathogens can be grown in culture. Even though the disease still hasn't reached the Argentine lemon producers, the development of both research and diagnostic tools are of the utmost importance to be able to stay ahead of the disease. In this context, our objective was to develop immunological tools that will allow the study and early diagnosis of HLB. To this end we selected, expressed and purified three proteins from CLAs; once the proteins were obtained, we immunized a single lama every two weeks, for two and a half months. After that, an ELISA using the sera corresponding to the pre-immune condition, as well as the 4th and 5th immunizations was done. Three days after the last immunization, we purified lymphocytes from full blood, extracted and retrotranscribed RNA. We subsequently amplified all the V_H genes and purified the smallest band (≈700bp), which corresponds to the V_HH antibodies. A second PCR using the purified DNA as template was done to further amplify the V_HH segments and the PCR product was ligated into a phagemid vector. TG1 bacteria were transformed and colonies expressing the VHH were obtained. Following the production, purification and immunization of the selected antigens, elevated antibody titers were attained, this together with the results of retro-transcription, PCRs and transformation, allowed us to conclude that the lama was correctly immunized and the library was successfully built.

AI SLAMI ENTO DE MYCOPLASMA SP. A PARTIR DE MUESTRAS DE LECHE DE CABRAS

Sticotti E¹, Tamiozzo P¹; Chanique A¹, Mació M¹, Magnano G¹, Schneider M¹, Giraudó J¹

1: Departamento de Patología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta 36 km 601, Río Cuarto, Córdoba, Argentina, CP 5800.

En cabras, las infecciones por micoplasma son causadas predominantemente por *Mycoplasma capricolum subsp. capricolum*, *Mycoplasma capricolum subsp. capripneumoniae*, y *Mycoplasma mycoides subsp. capri*. Estos pueden causar enfermedad respiratoria, mastitis, artritis, problemas reproductivos y lesiones oculares en caprinos. Se describe la pleuroneumonía y la agalactia como los dos síndromes principales. En Argentina son escasos los antecedentes sobre la presencia *Mycoplasmas* en cabras, puesto que se han realizado pocos trabajos que confirmen su presencia. Nuestro grupo realizó un relevamiento utilizando técnicas moleculares que reveló que en el 42,5% (17/40) de las muestras de leches de cabras estudiadas hubo *Mycoplasma sp.* Aún no se han informado

aislamientos del agente. El objetivo del estudio fue aislar *Mycoplasma sp*, a partir de muestras de leche de cabras de Córdoba, Argentina. Se utilizaron muestras de leche de 125 cabras de 29 establecimientos caprinos de cría extensiva de Córdoba. Se sembraron en medios sólidos y fueron cultivados en estufa gaseada con dióxido de carbono. Se observó crecimiento de colonias compatibles con *Mycoplasmas*, (típica forma de huevo frito) en 24 de las muestras (19,5%) sembradas. De acuerdo con nuestro conocimiento, este es el primer informe sobre el aislamiento de *Mycoplasma sp*. en cabras de hatos ubicados en la provincia de Córdoba. Se están completando los estudios para determinar la/s especie/s identificada/s. Los resultados sugieren que la prevalencia de mastitis causadas por micoplasmas en caprinos en Córdoba sería media o quizás alta, por lo que debería ser investigado en profundidad, ya que los escasos antecedentes documentados sugieren que *Mycoplasma sp*. está presente en los hatos de la región. Actualmente se está trabajando en la identificación de las especies mediante técnicas moleculares.

INVESTIGACIÓN DE TUBERCULOSIS EN UNA MAJADA OVINA

Sticotti E¹, Macias A¹, Macio M¹, Zumárraga M²,
Marfil MJ², Schneider M¹, Giraudo J¹, Magnano G¹

1 Departamento de Patología Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. esticotti@ayv.unrc.edu.ar 2 Instituto de Biotecnología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Hurlingham, Argentina.

Debido a que no existe demasiada información sobre el comportamiento de la tuberculosis en la especie ovina, el presente trabajo tuvo por objetivo investigar tuberculosis en una majada sin antecedentes de la enfermedad ni síntomas clínicos compatibles. El establecimiento, ubicado al sur de la provincia de Córdoba, poseía 35 ovinos. Se utilizó la técnica de intradermorreacción (IDR) con tuberculina bovina (DPP bovino) en el pliegue axilar, a 30 animales mayores de 6 meses. Se realizó cultivo de micobacterias a partir de los hisopados nasales tanto de los ovinos reactores positivos como de los negativos a la IDR. Tres animales reaccionantes fueron necropsiados para observar lesiones macro y

microscópicas y realizar cultivo de micobacterias en los medios Löwenstein-Jensen y Stonebrink. Además se cultivaron muestras de agua de bebida, suelo y comederos. Las micobacterias aisladas se tipificaron mediante la secuenciación de un fragmento del gen 16S ARNr. En resultado de la IDR fue: 14 (46,6%) animales negativos a la prueba y 16 (53,4%) reactores positivos. De estos últimos, 12 presentaron reacciones con diferencias mayores de 5 mm entre la medida pre y posinoculación y 4 con reacciones entre 3 y 5 mm de diferencia, los cuales se consideraron positivos por haber detectado animales positivos en la majada durante el muestreo. De los 10 hisopados nasales (7 IDR+ y 3 IDR-), se obtuvieron 4 aislamientos de micobacterias, todos correspondientes a ovinos IDR+, identificados como: *Mycobacterium rhodesiae*, *M. nonchromogenicum*, *M. terrae* y *M. flavescens*. En ninguno de los 3 animales necropsiados se observaron lesiones macroscópicas ni microscópicas compatibles, ni se aislaron micobacterias de ganglios retrofaríngeos, gastrohepáticos, mesentéricos y mediastínicos. De muestras de agua de bebida se aisló *M. avium*, mientras que de los cultivos de las muestras de tierra y comederos fueron negativos. De acuerdo a los resultados de las necropsias y de los cultivos de las diferentes muestras, se podría inferir que habrían existido reacciones cruzadas a la tuberculina bovina, causadas por micobacterias no tuberculosas (que fueron detectadas tanto en hisopados nasales como en el agua de bebida) y por ser oportunistas explicaría la ausencia de lesiones. Estos resultados estimulan a profundizar las investigaciones en el tema.

FARMACOCINÉTICA DE CIPROFLOXACINA (COMPRIMIDOS DE ADMINISTRACIÓN ORAL) EN CANINOS

Stranges A, Passini S, Lupi M, Páes Rodríguez J, Porta N, Albarellos G

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

La ciprofloxacina (CPX) es un antibiótico perteneciente a las fluoroquinolonas, que actúa inhibiendo la subunidad A de la ADN girasa. Su CIM es < 0,5 ug/ml para la mayoría de los microorganismos sensibles. Es activa frente a bacterias gram-negativas (enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*), algunos gram-positivos (*Staphylococcus* spp.), *Mycoplasma* spp., *Leptospira* spp., *Chlamydia* spp y algunas micobacterias. Acepta la vía oral o intravenosa para su administración. Es un antibiótico

de eficacia “concentración-dependiente” por lo que es importante que las concentraciones plasmáticas sean elevadas para obtener éxito terapéutico. El trabajo se realizó siguiendo un diseño cruzado (2x2x2), en el que 6 perros de raza Beagle clínicamente sanos, recibieron cada uno de forma aleatoria 3 tratamientos: A. CPX (10mg/kg) vía endovenosa; B. CPX (25 mg/kg) comprimidos por vía oral; y, C. CPX (25 mg/kg) comprimidos por vía oral disgregados y mezclados con una porción de balanceado húmedo para perros. Luego se obtuvieron muestras sanguíneas (2ml/muestra) seriadas entre los 5 minutos y 24 horas post-administración. Se centrifugaron, y el plasma se conservó a -20°C hasta su procesamiento. Las concentraciones plasmáticas se determinaron por el método microbiológico utilizando *Klebsiella pneumoniae* ATCC10031 y se calcularon los principales parámetros farmacocinéticos mediante un programa computarizado (WinNonlin 6.3). Se compararon estadísticamente los distintos tratamientos (test de t para datos pareados, $p < 0,05$) (GraphPadPrism 5.0). Los principales parámetros farmacocinéticos obtenidos para la vía endovenosa fueron AUC (ug/h/ml): $13,82 \pm 3,58$, vida media (h): $2,85 \pm 0,10$. Aquellos obtenidos para la vía oral sin comida, fueron: AUC (ug/h/ml): $18,30 \pm 10,14$, vida media(h): $2,85 \pm 0,97$, $T_{\text{max}}(\text{h}): 2,28 \pm 0,64$, $C_{\text{max}}(\text{ug/ml}): 2,37 \pm 1,06$, biodisponibilidad (%): $53,76 \pm 16,26$. Mientras que para la vía oral con comida fueron: AUC(ug/h/ml): $9,64 \pm 2,29$, vida media(h): $2,30 \pm 0,57$, $T_{\text{max}}(\text{h}): 2,43 \pm 1,00$, $C_{\text{max}}(\text{ug/ml}): 1,54 \pm 0,76$, biodisponibilidad(%): $30,25 \pm 7,14$. Se observaron diferencias significativas en los siguientes parámetros: biodisponibililidad, C_{max} y AUC. Se concluye que en el tratamiento C la absorción de CPX fue menor, obteniendo una menor biodisponibilidad y C_{max} , que tras el tratamiento B. Sin embargo, al analizar los predictores de eficacia terapéutica más adecuados para este antimicrobiano ($C_{\text{max}}/\text{CIM} = 8-10$ y $\text{AUC}(0-\text{inf}) = 125 \text{ h}$) para ambos tratamientos, se determinó que para las bacterias más sensibles (enterobacterias), $\text{CIM} \leq 0,01 \text{ ug/mL}$, ambos predictores se cumplen. Así mismo, para bacterias con menor sensibilidad, $\text{CIM} = 0,5 \text{ ug/mL}$ (*Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus* spp.) ninguno de los dos predictores se cumple en ambos tratamientos, infiriendo así que la ciprofloxacina no sería efectiva contra estos microorganismos.

EFFECTOS DE LA CONGELACIÓN EN LOS COMPONENTES INTRÍNSECOS Y LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EN LECHE DE OVEJA

Swatovski¹, Marey¹, Lopez Barrios¹, Argibay², Calzetta Resio¹

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias ¹Cátedra de Tecnología, Protección e Inspección Veterinaria de los Alimentos /²Cátedra de Bioestadística

Las leches finas son clave en el desarrollo económico y social en ciertas regiones de nuestro país. Por su escala, las producciones obtienen bajos volúmenes productivos generando la necesidad de acopio en congelación para la elaboración de subproductos. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la congelación de leche ovina en la composición y parámetros fisicoquímicos como estrategia de acopio. Se relevaron dos tambos ovinos de la Provincia de Buenos Aires, se extrajeron 2 muestras duplicadas del tanque de recolección, al inicio, pico y final de la lactancia, conservándose refrigeradas hasta su análisis. Cada muestra se subdividió en 4 fracciones procesándose el día 1, y descongelando luego de 15, 60 y 90 días de almacenamiento a -20°C. La descongelación se efectuó en refrigeración (4°C), durante 24 horas. Los análisis físico-químicos se realizaron con el analizador de leche ultrasónico LAC- SA Milk Analyzer BOECO, Alemania. La determinación de la acidez se realizó por método de Mann y la medición del pH se efectuó con un peachímetro digital Testo 205. En este estudio preliminar, se obtuvieron parámetros estadísticos descriptivos, ya que se comparan 2 muestras de leche, una de cada tambo, para cada momento de lactancia. Al examen visual, la leche conservada a -20°C se observó fluida y homogénea, sin floculaciones ostensibles. Los valores de la leche cruda fueron en promedio, expresados en porcentaje: grasa 4,2±1,5; proteínas 3,8±0,1; sólidos 10,2±0,2; lactosa 5,6±0,1. Tras los ciclos de congelación y descongelación, se observó una declinación en los contenidos de proteínas, sólidos totales y lactosa, similar en los tres componentes con valores de pérdida de 1,3-1,4% al inicio; 2,1-2,2% en el pico y ascendió a 4,9-5% hacia el final de la lactancia. Similarmente, la grasa declinó aunque con mayor amplitud, hallándose pérdidas del 6% al pico de la lactancia, aumentando la merma a 8.4% hacia el final de la misma. En cuanto a la densidad no se observaron diferencias significativas. De los resultados obtenidos puede concluirse que la conservación de leche fresca de oveja a -20°C, resulta una estrategia viable de acopio sin compromiso sensible de proteínas, lactosa y sólidos totales. No obstante, respecto de la grasa, se deberá considerar el almacenamiento de leche especialmente al inicio y pico de lactancia. La opción de congelar hacia el final de la lactación, cuando los porcentajes de grasa resultan máximos, deviene en una pérdida sensible de este componente, por lo cual convendría sobre la base de estos resultados, congelar únicamente en los dos primeros tercios de la lactancia. Este estudio debe ser complementado con estudios funcionales para corroborar el impacto de las pérdidas observadas.

COCULTIVO DE CÉLULAS LUTEALES PORCINAS Y COMPLEJOS *CUMULUS* OVOCITO PORCINOS DURANTE LA MIV: EFECTO SOBRE LAS CÉLULAS DEL *CUMULUS*

Teplitz GM^{1,2}, Lorenzo MS^{1,2}, Cruzans PR^{1,2}, Maruri A², Lombardo DM².

¹ CONICET. ² Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Cátedra de Histología y Embriología. E-mail: gnteplitz@gmail.com.

La producción *in vitro* de embriones porcinos es una biotecnología poco eficiente, con bajos porcentajes en la formación de los pronúcleos y altos porcentajes de polispermia. La utilización de un cocultivo recrearía de una mejor forma el ambiente en el cual se desarrollan estos procesos *in vivo*, mejorando sus resultados. Existe un estrecho contacto entre las células del *cumulus* y el ovocito mediante uniones *gap*, que son bidireccionales permitiendo el intercambio de moléculas entre los mismos. Las células del *cumulus* se encuentran en gran cantidad en los complejos *cumulus* ovocitos (COC) post-maduración *in vitro* (MIV) y son removidas en muchos protocolos de FIV, pudiendo ser utilizadas como un enfoque no invasivo para evaluar la competencia ovocitaria. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del cocultivo de células luteales porcinas y COC porcinos sobre la apoptosis y los niveles de especies reactivas derivadas del oxígeno (ERO) en las células del *cumulus*. Para la obtención del cultivo de células luteales porcinas (CLP) y de los COC se utilizaron ovarios provenientes de faena. Los COC se obtuvieron por aspiración folicular y luego se maduraron *in vitro* durante 44 h. La MIV se realizó en gotas de 100 µL utilizando TCM 199 suplementado. Los grupos experimentales fueron el control con gonadotrofinas (C+hMG) y cocultivo con CLP pasaje 1 (CLP-1), sembradas en una concentración de 2×10^4 cél/mL, 24 h previas a la MIV. Los COC post-MIV de ambos grupos se desnudaron con hialuronidasa y luego se evaluó la apoptosis en las células del *cumulus* con Anexina V/ioduro de propidio (IP) mediante citometría de flujo. Por otro lado, se evaluaron los niveles de ERO mediante la determinación de 2',7'-diacetato de diclorodihidrofluoresceína (DCHFDA) por citometría de flujo. El porcentaje de células vivas fue significativamente mayor en el C+hMG ($p=0$). La necrosis disminuyó significativamente en el sistema de cocultivo ($p=0$). Por otro lado, la apoptosis temprana en las células del *cumulus* fue significativamente menor en el sistema de cocultivo ($p=0$), pero de forma contraria, el porcentaje de apoptosis tardía en el cocultivo aumentó significativamente ($p=0$). Se observó un porcentaje significativamente mayor de células del *cumulus* positivas a DCHFDA en el C+hMG (75%; $n=16311$) con respecto al cocultivo (26%; $n=14270$) ($p=0$). Podemos concluir que la apoptosis en las células del *cumulus* no constituye una forma fiable para predecir el efecto del cocultivo con células luteales sobre los ovocitos. La medición de los niveles de ERO en las células del *cumulus* podría utilizarse como un enfoque no invasivo para evaluar la competencia ovocitaria.

EVALUACIÓN DE DOS DIETAS DE PRODUCCIÓN NACIONAL EN LOS ÍNDICES CORPORALES DE JUVENILES DE LA LANGOSTA DE AGUA DULCE *Cherax quadricarinatus*

Timpanaro S¹, Wicki G², López Greco L¹, Stumpf L¹

1 Universidad de Buenos Aires - CONICET. Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Laboratorio de Biología de la Reproducción y el Crecimiento de Crustáceos Decápodos, C1428EGA, Buenos Aires, Argentina. 2 Centro Nacional de Desarrollo Acuícola – CENADAC.

La acuicultura es el cultivo de organismos acuáticos, ya sea de origen animal, vegetal u otro, cuyo aprovechamiento está destinado principalmente para el consumo humano. Entre los grupos de organismos más cultivados en el mundo se encuentran los crustáceos que ocupan el 3° puesto en volumen de producción y el 2° en valor comercial. En Argentina hay registros de producción de un crustáceo decápodo de agua dulce, la langosta de pinzas rojas *Cherax quadricarinatus* que estuvo aportando toneladas de carne hasta el año 2008. Sin embargo, debido a la falta de inversión y los altos costos involucrados, cesó su producción. El gasto económico ocasionado con el alimento es responsable en gran parte de estos altos costos de producción. En este contexto, es necesario encontrar alternativas para reducir dichos costos en la alimentación y que ésta no perjudique la nutrición del organismo, para así fomentar el cultivo de crustáceos en nuestro país. De acuerdo a lo planteado, el estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de 2 dietas de producción nacional, formuladas por el Centro de Desarrollo Acuícola (CENADAC), sobre el índice hepatosomático (IHS, %) e índice del pleon (IP, %) de juveniles de *C. quadricarinatus*. Estos índices son una medida indirecta de la condición nutricional. Para ello, fueron evaluadas tres dietas: la dieta control-Tetra (TE), Con ensilado (CE), y Sin ensilado (SE). La composición nutricional fue 49,5%, 33,5%, y 33,6% respectivamente para proteína bruta; y 4,6%, 7,7%, y 6,8% para lípidos. Para cada tratamiento se utilizaron 20 juveniles (0,9±0,2 g), provenientes de 5 madres diferentes (4 juveniles/madre). Se individualizó a los mismos en frascos de vidrio (1350 ml de agua) con un tubo de PVC (7 cm de largo x 2,5 cm de diámetro) en forma de refugio, con aireación constante y temperatura controlada (27±1°C). Se realizó recambio del agua 3 veces a la semana y se alimentó diariamente a cada langosta con aproximadamente el 2,7% de su masa corporal. El experimento finalizó luego de que cada langosta alcanzara la cuarta muda, a su término se registró la masa final para el cálculo de la ganancia en masa (GM, %), así como el tiempo transcurrido (TM, días), y se las sacrificó. Se extrajo el hepatopáncreas y el pleon, registrando su masa para el cálculo de los IHS e IP. No se observaron diferencias significativas entre las dietas para el IHS e IP, siendo sus valores promedio 6,9% y 31,2% respectivamente. Para la GM solamente se encontraron diferencias al contrastar TE (509,9%) con CE (414,6%). Respecto al TM, los juveniles alimentados con ambas dietas nacionales alcanzaron la cuarta muda aproximadamente 12 días después que el control (78 días). Los primeros resultados de las 2 dietas estudiadas son prometedores para la especie estudiada en esta etapa de alto crecimiento, ya que no estarían afectando su condición nutricional. Además, el uso de estas

dietas fomenta la producción nacional y sería económicamente beneficioso ya que utiliza ingredientes autóctonos y algunos de descarte (ensilado).

Financiamiento: PICT 2016-0759, PIP 2015-2017 nro 11220150100544, UBACYT 2014-2017 nro. 20020130100186BA.

ESTRUCTURA ESPERMÁTICA EN ATYIDAE: EL CAMARON “RED CHERRY” Neocaridina davidi

Tomas AL¹, García Bento MA², Mutti L¹, Zara FJ², López Greco LS¹

1Universidad de Buenos Aires, DBBE, FCEN e IBBEA, CONICET-UBA

2Universidade Estadual Paulista, Departamento de Biología Aplicada (CAUNESP), Brasil

*ana.tomas@bg.fcen.uba.ar, [*laura@bg.fcen.uba.ar](mailto:laura@bg.fcen.uba.ar).

Los crustáceos decápodos presentan, entre otras particularidades reproductivas, espermatozoides inmóviles y de variada morfología. Caridea es un taxón muy diverso de crustáceos decápodos, representados por camarones marinos y de agua dulce principalmente. Pocos estudios se han desarrollado en cuanto a su anatomía reproductiva, particularmente en la familia Atyidae. El objetivo principal de este trabajo fue describir por primera vez la ultraestructura espermática en un Atyidae, *Neocaridina davidi*, una especie ornamental con gran relevancia comercial. Para ello, se anestesiaron en frío machos maduros sexualmente a los cuales se les realizó la disección de su sistema reproductor para realizar un análisis histológico, tanto para microscopía óptica como microscopía electrónica de transmisión. Las coloraciones utilizadas fueron Hematoxilina-Eosina, Ponceau de xilidina, PAS y Sudan Black B. Los primeros resultados indican que la morfología del espermatozoide de *N.davidi* no presenta la forma típica de ‘tachuela’, característica de muchas especies de camarones carideos, sino que el cuerpo principal muestra una forma esférica. Como rasgo distintivo la membrana del cuerpo principal se encuentra muy plegada alrededor de todos sus márgenes y presenta bajo contenido de glicoconjugados neutros. Dentro del cuerpo principal se encuentra el núcleo de gran tamaño rodeado por una membrana ondulada con alto contenido lipídico y proteico. En posición anterior al núcleo se encuentra una región denominada “cap región” que presenta dos proyecciones que emergen lateralmente y otra proyección más prominente de entre 5-8 μm , conocida como “spike”, que nace en forma perpendicular a la superficie convexa del cap región. El “spike” presenta estriaciones transversales a lo largo de toda su longitud. A partir de estos primeros resultados se propone que el super plegamiento de la membrana del cuerpo principal podría estar participando en el reconocimiento espermatozoide-oocito y el “spike” podría contener los componentes acrosómicos necesarios para la penetración de este último.

Financiamiento:

UBACYT-2014-2017-20020130100186BA, PIP-2015-2017-11220150100544, PICT 2016-0759

COMPARACIÓN DE DOS TINCIONES PARA ANALIZAR MORFOMETRÍA DE ESPERMATOZOIDES BOVINOS DESCONGELADOS. RESULTADOS PRELIMINARES

Torres P^{1,2}, Pontón A¹, Rivolta M^{1,2}, Cisale H^{1,2,3}

⁽¹⁾Universidad de Buenos Aires. Fac. de Cs. Veterinarias. Cátedra de Física Biológica. Bs As, Argentina. ⁽²⁾Universidad de Buenos Aires. Fac. de Cs. Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Bs As, Argentina.

⁽³⁾Universidad de Buenos Aires. Fac. de Cs. Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Bs As, Argentina.

El análisis de la morfología espermática se considera una parte esencial en la valoración de calidad seminal. Sin embargo, las estimaciones subjetivas de este parámetro suelen ser poco precisas y de baja repetibilidad. Para mejorar este aspecto se desarrollaron los sistemas automatizados de análisis de la morfometría espermática (CASMA: Computer Assisted Sperm Morphology Analysis). La evaluación morfológica y morfométrica resulta de gran utilidad para predecir la fertilidad tanto *in vivo* como *in vitro*. La evaluación morfométrica por medio de sistemas CASMA requiere la tinción del espermatozoide para maximizar el contraste y la definición con el fin de facilitar este análisis. El tipo de tinción depende del software a utilizar. Pueden utilizarse tinciones simples (Hematoxilina de Harris, Giemsa, Azul de Toluidina) o kits comerciales, (Hemacolor[®], Sperm Blue[®], Diff-Quick[®], Tinción 15[®]). Debido a la variedad de sistemas CASMA y de tinciones utilizadas hay una alta dispersión en las características morfométricas del espermatozoide en una misma especie, ocasionando que los resultados de diferentes equipos no sean comparables. El objetivo del presente trabajo fue comprobar la utilidad de dos tinciones comerciales, Tinción 15[®] (T15) y SpermBlue[®] (SB) para el análisis morfométrico mediante el sistema CASMA ISAS[®] de espermatozoides bovinos descongelados y evaluar las posibles diferencias entre ambas técnicas. Se evaluaron 4 muestras. Se realizaron extendidos de 10 µl en portaobjetos y se siguió el protocolo indicado para cada técnica de tinción. En cada caso, se obtuvieron los parámetros directos (área, longitud, ancho y perímetro), y los derivados (elipticidad, elongación, rugosidad y regularidad). Se detectaron *a priori* 150 presuntos espermatozoides (n=4), para luego eliminar las imágenes consideradas erróneamente por el software. Se calculó el % de detección correcta para cada técnica, realizando el cociente entre espermatozoides detectados en forma adecuada y los totales. Para comparar las tinciones se utilizó el test de Wilcoxon para muestras apareadas (NS: 5%). Los porcentajes de detección correcta promedio para la T15 fueron de 89% y para SB de 79%. En cuanto a los parámetros directos, sólo se encontraron diferencias significativas en los valores de ancho (T15: 4,92 ± 0,14 µm; SB: 4,55 ± 0,31 µm) y perímetro (T15: 26,21 ± 0,27 µm; SB: 24,87 ± 0,40 µm). En los parámetros indirectos no se encontraron diferencias significativas entre ambas técnicas. En base a los resultados, en forma preliminar, podemos sugerir que ambas tinciones resultaron adecuadas para ser analizadas utilizando el sistema CASA ISAS[®]. Tanto la T15 como SB permitieron un buen contraste y una adecuada detección de los

espermatozoides, siendo tinciones rápidas y sencillas de realizar. Si bien es necesario continuar la evaluación de ambas técnicas para aumentar el número de muestras analizadas, *prima facie* resultaría factible la utilización de SB y T15 para el análisis morfométrico de espermatozoides bovinos descongelados.

EVALUACIÓN DE LA COMPATIBILIDAD *IN VITRO* DE CEPAS NATIVAS DE *TRICHODERMA* SPP. CON UN FUNGICIDA COMERCIAL

Valdettaro RA, Borrelli NP, Wigdorovitz PI

Cátedra de Fitopatología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

Actualmente la agricultura se practica mayoritariamente bajo un sistema de producción de tipo convencional, basado en la aplicación de paquetes tecnológicos impulsados por la Revolución Verde. Tales sistemas enfatizan en la aplicación de tecnologías de insumos y maximización de rendimientos. En muchos aspectos el paradigma de la Revolución Verde ha sido cuestionado, reconociéndose sus falencias y externalidades generadas por el uso intensivo de agroquímicos para el control de plagas y enfermedades. El uso excesivo e indiscriminado de plaguicidas conlleva riesgos para la salud y el ambiente, comprometiendo la sostenibilidad de los sistemas agrícolas. El control biológico de enfermedades, realizado dentro de un plan de manejo integrado, se presenta como una alternativa para reducir dicho uso. La incorporación de controladores biológicos junto a técnicas de manejo convencionales puede ser una herramienta adecuada para minimizar los riesgos antes mencionados. Para eso, se torna necesario estudiar la viabilidad de combinar estas técnicas. Ya fue probada la capacidad *in vitro* de aislados del género *Trichoderma* spp. como biocontroladores de *Sclerotinia sclerotiorum*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la compatibilidad *in vitro* de cuatro aislados nativos preseleccionados de *Trichoderma* spp. con el fungicida sintético Iprodione[®] para futuros planteos de manejo integrado en el control de *S. sclerotiorum*. A su vez, se evaluó la persistencia de la capacidad biocontroladora luego de la exposición al fungicida, del aislado con mayor crecimiento. Para ello se colocaron discos de agar con tejido miceliar de *Trichoderma* spp. de siete días de crecimiento, en placas de Petri con agar papa glucosa (APG) y el fungicida Iprodione a dos dosis (de campo y el doble de la misma). Se pusieron a prueba 12 tratamientos con 8 repeticiones cada uno dispuestos en un diseño completo aleatorizado, registrando el radio de crecimiento fúngico a los 2-3-5 y 7 días desde la siembra. La prueba de antagonismo *in vitro* luego de la exposición al fungicida se realizó mediante técnicas de cultivos duales, sembrando discos de agar con tejido miceliar de siete días de crecimiento del aislado de *Trichoderma* spp. de menor sensibilidad al fungicida y del patógeno en placas de Petri con APG registrando el radio de crecimiento fúngico hacia el centro de la placa, a los 2-3-5 y 7 días desde la siembra en cada caso. Los análisis preliminares indican que durante las 72 hs iniciales la inhibición del crecimiento de la mayoría de las cepas de *Trichoderma* fue superior al 90%. A partir de las 72 hr los radios de crecimiento midieron desde 15 a 33 mm en promedio, que corresponden a entre 20 y 60% de inhibición en el crecimiento, variando entre cepas y dosis con diferencias significativas en relación al testigo, incrementando hacia el día 7 el ritmo de crecimiento. El aislado de menor sensibilidad al fungicida no vio alterada su capacidad antagonista *in vitro* inhibiendo un 91% el crecimiento del patógeno.

TRATAMIENTO QUIRÚRGICO EN CACHORRO OVEJERO ALEMÁN CON LUXACIÓN ROTULIANA DE CUARTO GRADO. REPORTE DE UN CASO

Vanoli M¹, Zumbo J², Guerrero J², Mele E³, Corral J²

¹Veterinario UBA Practica privada.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, ²Cátedra de Cirugía y ³Primera Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas, Buenos Aires, Argentina.

La mayoría de las luxaciones rotulianas se denominan congénitas porque se producen en edades tempranas y no están asociadas con traumas. Las luxaciones patelares mediales se producen característicamente por coxa vara (disminución del ángulo de inclinación del cuello femoral) y una reducción en la anterversión (retroversión relativa). Estos cambios esqueléticos básicos se consideran causa de la compleja serie de trastornos del miembro pélvico que caracterizan las luxaciones mediales de la rótula. Se considera una enfermedad heredada y no se recomienda la reproducción de animales afectados. El paciente, canino macho de 3 meses de edad, raza ovejero alemán, se presentó a consulta con trastornos durante la marcha (caminaba con el miembro pélvico derecho hiperextendido). El diagnóstico radiológico informó en la incidencia V-D luxación coxo-femoral (Displasia grado 4) y luxación rotuliana medial en miembro pélvico derecho. El paciente recibió tratamiento preoperatorio con campo magnético semanalmente. Se realizó la cirugía de la rodilla y cadera del miembro derecho, en el mismo tiempo quirúrgico. Se eligieron como técnicas quirúrgicas la surcoplastia femoral combinada con transposición de la tuberosidad tibial y la sutura antirotacional femoro-tibial, finalizando la cirugía del miembro con una exéresis de cabeza y cuello femoral. En el postquirúrgico inmediato se manejó al paciente con vendaje y valva en flexión (ángulos fisiológicos de rodilla y tarso), evitando la hiperextensión de ambas articulaciones. La exéresis mejoró la tendencia hacia la rotación lateral del miembro pélvico, relajando la musculatura glútea y del muslo. Se recuperó el mecanismo de extensión de la rodilla con las técnicas utilizadas. El paciente recibió el alta con una correcta funcionalidad luego de 3 meses de rehabilitación con fisioterapia. Pacientes cachorros con enfermedades ortopédicas del desarrollo pueden presentar deformidades anatómicas en el eje del miembro pélvico, afectando el mecanismo de extensión de la rodilla. En muchos casos es necesario resolver esta alteración, antes de finalizar el crecimiento, para evitar cambios óseos y musculares irreversibles (contractura de musculo cuádriceps), por lo tanto realizar ambas cirugías, cadera y rodilla en el mismo tiempo quirúrgico es una alternativa válida, a pesar de que no sea idealmente lo recomendado.

AISLAMIENTO, SELECCIÓN Y ESTUDIO DE CEPAS DE *TRICHODERMA* SPP. Y HONGOS ENTOMOPATÓGENOS NATIVOS PARA EL CONTROL DE *BOTRYTIS CINEREA*, *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* (HELOTIALES: SCLEROTINACEAE) Y *BEMISIA TABACI* (HOMIPTERA: ALEYRODIDAE) EN CULTIVO DE TOMATE (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL.)

Varela Pardo RA

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Fitopatología.
Buenos Aires, Argentina.

Proyecto de doctorado en curso, consiste en aislar, seleccionar y caracterizar molecularmente cepas de *Trichoderma* spp. y de hongos entomopatógenos con buen desempeño como Agente de Control Biológico (ACB). Se basa en la obtención de microorganismos *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, *Trichoderma* spp. y hongos entomopatógenos, para ello se utilizarán cepas de *B. cinerea* y *S. sclerotiorum* aisladas de producciones locales que ya se encuentran en el banco de cepas de la Cátedra de Fitopatología de la FAUBA. Para la obtención de las cepas de *Trichoderma* spp., se tomarán muestras de suelos y de tejidos vegetales aéreos de plantas sanas en lotes sin aplicación de agroquímicos. Se procesarán las muestras en laboratorio y se aislarán mediante sucesivos “repiques” las cepas de *Trichoderma* spp. reconocidas visualmente. Para el aislamiento de hongos entomopatógenos de muestras de suelo se utilizará la técnica de insecto trampa con larvas de *Tenebrio molitor* L. Las larvas de *T. molitor* depositadas en bandejas de plástico con 400 g aprox. de suelo se incubarán a 18° C y 65% de HR. Las larvas que presenten micosis externas se lavarán con agua destilada estéril y los hongos serán aislados con punta de ansa en un medio de cultivo selectivo. Se procederá a la selección de cepas de *Trichoderma* spp. como controladoras de *B. cinerea* y *S. sclerotiorum*. Los aislamientos de las cepas de *Trichoderma* serán evaluados como posibles antagonistas de *B. cinerea*, *S. sclerotiorum* a través de técnicas *in vitro* de cultivo dual sobre placas de Petri y ensayos a campo. Se efectuarán pruebas de patogenicidad en laboratorio con los aislamientos de hongos entomopatógenos y los aislamientos de *Trichoderma* spp. recolectados en insectos (*B. tabaci* especialmente). Para el aprovisionamiento de insectos para pruebas de patogenicidad, se realizará una instalación y mantenimiento de cría artificial de mosca blanca (*B. tabaci*), la que se desarrollará en plantas de tomate. Una vez seleccionados los aislamientos de *Trichoderma* spp. y hongos entomopatógenos con mejor desempeño en el control de hongos e insectos blanco, se procederá a realizar la identificación molecular de estos aislados. Los aislamientos de *Trichoderma* spp. y de hongos entomopatógenos encontrados a campo con mejor aptitud como ACB y/o que presenten aptitudes como parásitos de insectos, serán depositados y preservados como cultivos de referencia en la Cátedra de Fitopatología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires y la Colección Micológica del Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE) (CONICET-UNLP), La Plata,

Argentina.

Proyecto financiado por beca doctoral CONICET 2017.

ESTANDARIZACIÓN DE LAS TÉCNICAS PARA EVALUAR EL EFECTO DE DIFERENTES PRODUCTOS SOBRE EL BIOFILM DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP *ZOOEPIDEMICUS*

Varon Molano J, Muñoz AJ, Guida N

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

Las endometritis bacterianas son una de las principales causas de infertilidad en yeguas, *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es uno de los agentes más aislado en estas patologías, constituye la flora normal de la mucosa vaginal de las yeguas. Este agente puede acceder al útero ante problemas de conformación, por maniobras en la toma de muestra uterina y ante la falla de los mecanismos naturales de defensa. A la vez se cree que sólo ciertos genotipos tienen la capacidad de sobrevivir en el ambiente uterino y permanecer de manera silente generando endometritis crónica. Una de las causas de esta cronicidad sería la capacidad de la bacteria de formar *biofilm*, éste es descrito como una comunidad microbiana sésil que se adhiere irreversiblemente a una superficie orgánica o inorgánica, se encuentra encerrada en una matriz denominada matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS). Esta capacidad de formación de *biofilm* le confiere una amplia supervivencia a mecanismos físicos como temperatura y pH inapropiados, además de otras ventajas como la capacidad de resistir a los mecanismos de defensa del hospedador, resistencia a algunos agentes antimicrobianos y a desinfectantes. Tratamientos nuevos han sido sugeridos ante la sospecha de formación de *biofilms* bacterianos, basados en la posible adición de sustancias a los lavajes uterinos que faciliten romper la matriz extracelular, el mucus y posiblemente desactivar el *biofilm* pudiendo ayudar a que agentes antimicrobianos logren penetrarlo. Es por ello, el objetivo de este trabajo es poner a punto las técnicas para demostrar la capacidad de la Penicilina G, Ácido Tetracético, EtilenDiamina (EDTA) y N-acetilcisteína (NAC) de disminuir o eliminar la formación de *biofilm* de *S. zooepidemicus*, de manera individual o en asociación. Para la obtención de los resultados se seleccionaron tres cepas aisladas de útero de yeguas que presentaban endometritis pertenecientes al cepario del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas (FCV-UBA). Estas cepas fueron clasificadas de acuerdo a su producción de *biofilm* por medio de espectrofotometría con cristal violeta. Las concentraciones a utilizar se estimaron para cada producto y con cada cepa por medio de la técnica de conteo de unidades formadoras de colonia viendo el efecto sobre las células planctónicas. Estos productos se pondrán a prueba con cada uno de los *biofilm* preformados de cada cepa y se comparan los resultados para evidenciar el efecto de cada producto y sus respectivas combinaciones sobre el *biofilm in vitro*. Ésto permitirá proponer en futuras investigaciones *in vivo* un tratamiento en yeguas con endometritis ocasionadas por *S. zooepidemicus*. Además este trabajo ampliará y generará conocimiento acerca de la capacidad de los diferentes productos testeados en la interacción con el *biofilm* y su comportamiento.

**ESCHERICHIA COLI PRODUCTOR DE DIARREA INFANTIL:
PERSISTENCIA AMBIENTAL Y VIRULENCIA**

Vasquez Pinochet S, Bentancor A, Blanco Crivelli X

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

Las enfermedades diarreicas agudas son un problema a nivel mundial, es especial para la población infantil. Entre las bacterias causales se destacan cepas patógenas de *Escherichia coli* tales como *E.coli* shigatoxigénico (STEC) presentes en la interfase humano-animal-ambiente. En el presente trabajo se buscó evaluar la persistencia de STEC en una matriz definida, arena, sometida a condiciones ambientales estresantes como calor, desecación y falta de nutrientes. Se realizó una inoculación experimental de cepas STEC; O145:NM, O174:H28; y *E. coli* NCTC19200 como control negativo en arena autoclavada y sin autoclavar. La dosis del inóculo se estableció entre $2-9 \cdot 10^7$ UFC/ml mediante diluciones sucesivas en base 10 y posterior cultivo en agar tripteína soja. La proporción “suspensión bacteriana:arena” utilizada fue 1:5. La mezcla fue secada a 37°C hasta la sequedad establecida por pesaje constante. La determinación de la persistencia, se evaluó tomando semanalmente 2 g de arena los cuales fueron suspendidos en 4 ml de caldo Mac Conkey y cultivados a 37°C una noche (ON) y se evaluó la presencia de acidez y gas. Además se cultivó 2 g de arena en 4 ml de caldo tripteína soja ON con posterior repique en agar Mac Conkey 37 °C 24h y amplificación de los genes *stx* y *uidA* por PCR. Los estudios se realizaron por triplicado. La persistencia del patógeno varió según la cepa analizada observándose que O174:H28 aún está viable al día 57 de análisis. Se observaron diferencias estadísticas significativas entre los ensayos en arena autoclavada y arena sin autoclavar. La persistencia fue mayor en arenas sin autoclavar. Las condiciones de estrés generaron en algunos casos cepas viables no cultivables a las que fue necesario resucitar, para poder corroborar su identidad mediante técnicas de biología molecular. Estos resultados preliminares, permiten considerar el riesgo que constituye la arena seca como fuente de infección de STEC, particularmente para los niños quienes desarrollan actividades lúdicas en areneros. La dosis infectiva en el caso de STEC es muy baja (<100 bacterias), ello sugiere la necesidad de medidas específicas para asegurar el estado sanitario de la misma. Se espera determinar las condiciones óptimas de resucitación de cepas STEC viables no cultivables. A fin de comprender la dinámica del patógeno e iniciar los estudios *in vitro* e *in vivo* que permitan identificar si se observaron modificaciones en su virulencia.

EFICACIA DEL ACEITE DE CANNABIS EN UN CASO DE ESTATUS EPILEPTICUS CANINO

Vaz S¹, Casas L¹⁻², Landoni MF¹

¹Cátedra de Farmacología General y Clínica; ²Catedra de Clínica de Pequeños Animales.
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

La utilización del cannabis con fines terapéuticos pone en relieve la acción de los fitocannabinoides obtenidos a partir de la planta cannabis sativa; dichos compuestos median sus acciones como agonistas de los receptores del sistema neuromodulador endocannabinoide. Se reportan dos receptores para este sistema el CB1 y CB2; estos están ampliamente distribuidos en el sistema nervioso central y periférico, células del sistema inmune, tejido subcutáneo y piel. Ha sido demostrado, aunque de manera empírica, que la administración oral de aceite de cannabis a pacientes epilépticos conduce a la disminución significativa del número de convulsiones diarias. Aun cuando estas observaciones, como mencionamos, son empíricas, los importantes resultados ameritan el diseño de estudios rigurosos a efectos de demostrar su eficacia clínica. El presente caso, forma parte de un proyecto de investigación sobre la eficacia clínica de esta molécula en cuadros convulsivos refractarios caninos de origen variado. Se presentó a la consulta un canino, mestizo, macho entero de nueve años por presentar episodios convulsivos. El examen clínico, las pruebas de imagen y los hallazgos en los análisis sanguíneos, fueron sin particularidades. Ante el diagnóstico de epilepsia primaria, se inició terapia con fenobarbital 3 mg/kg/12h, sin respuesta favorable. Ante la falta de respuesta se suma al tratamiento diazepam 0,5 mg/kg/12h. El paciente continuaba con episodios convulsivos, a intervalos cada vez menores; se aumentan las dosis de fenobarbital a 5 mg/kg/12h y la frecuencia del diazepam a 0,5 mg/kg/8h. Los episodios se reiteraban cada 20 a 30 minutos, llegándose al estatus epiléptico sin respuesta a los fármacos. Se decide iniciar terapia empírica con aceite de cannabis una vez al día manteniendo la terapia farmacológica convencional. Durante los primeros 5 días de tratamiento, el paciente no presentó convulsiones, excepto al quinto día donde presentó un solo episodio de corta duración. Se continua con el tratamiento cannabis, fenobarbital y diazepam, lográndose reducir las dosis de estas últimas drogas a las originales. Habiendo transcurrido 6 semanas del inicio del tratamiento el paciente no volvió a presentar crisis convulsivas. La utilización empírica de cannabis, en forma de aceite, con fines terapéuticos condujo a la reducción significativa del número de episodios convulsivos, hasta la remisión completa tras una semana de tratamiento. El aceite de cannabis es una alternativa en casos refractarios a los tratamientos antiepilépticos clásicos.

CONCENTRACIÓN DE IFN- γ , IL-2 E IL-4 EN SUERO Y PLACENTA PORCINA

Vélez C^{1,3}, Williamson D¹, Garro A¹, Clauzure M^{2,3},
Barbeito C^{3,4}, Santa-Coloma T.A^{2,3}, Koncurat M¹.

¹FCV- UNLPam, General Pico, La Pampa, Argentina; ²BIOMED-UCA, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina. ³CONICET. ⁴FCV – UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina.
karovel@yahoo.com.ar

Durante la gestación, el diálogo que se establece entre el *conceptus* y el endometrio involucran una amplia variedad de citoquinas que se expresan tanto a nivel sérico como placentario. El IFN- γ , citoquina proinflamatoria, se sintetiza en células de trofoblasto de cerdos donde podría participar en la implantación de los embriones. La IL-2 es una potente citoquina Th1 que en ratones inhibe la viabilidad de la gestación. La IL-4 es una citoquina Th2 antiinflamatoria. En humanos fue demostrado que la IL-4 contribuye a la implantación del embrión, el desarrollo de la placenta y la supervivencia del feto hasta el término de la gestación. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de estas citoquinas a nivel placentario y sistémico durante la gestación porcina, especie que posee una placenta de tipo epiteliocorial y no invasiva. Mediante la técnica de ELISA se determinó la concentración de IFN- γ , IL-2 e IL-4 en muestras séricas y placentarias (n=25) de cerdas mestizas de 17, 30, 60, 70, 114 días de gestación (dg) y de útero no gestante (n=5). En placenta materna y fetal, el IFN- γ presentó un pico de concentración a los 17 dg (12924,78 pg/ml y 4113,07 pg/ml, respectivamente), disminuyendo significativamente hacia los 114 dg (p=0,0001). En suero, esta citoquina se halló elevada significativamente a los 60 dg (84,64 pg/ml; p=0,0054). La IL-2 se halló aumentada significativamente en placenta fetal a los 30 y 70 dg (915 y 2298 pg/ml, respectivamente; p<0,0001) disminuyendo a término (114 dg), periodo en que se elevó significativamente en suero (1476,67 pg/ml). La IL-4 aumentó significativamente en placenta materna a los 17 dg (p=0,0347) y en placenta fetal a los 30 y 70 dg (2574 y 5260,5 pg/ml, respectivamente; p=0,0081), disminuyendo en ambos tejidos a los 114 dg. A nivel sistémico se observó un aumento significativo de la concentración desde los 60 dg (710 pg/ml) hasta el momento del parto (3929,67 pg/ml). Estos resultados sugieren que la presencia elevada de IFN- γ en la interfase feto-materna a los 17 dg permitiría los eventos moleculares que se establecen entre el endometrio y el trofoblasto para una correcta implantación. Este ambiente proinflamatorio estaría siendo regulado por la presencia en placenta materna de IL-4. Asimismo, la IL-2 e IL-4 se hallan presentes fundamentalmente en la placenta fetal a los 30 y 70 dg, etapas en la gestación porcina donde se producen cambios estructurales placentarios que permiten el crecimiento exponencial de la placenta y de los fetos, por lo que estas citoquinas serían necesarias para favorecer los mecanismos moleculares y celulares que permiten la remodelación placentaria. A nivel sistémico, el pico de concentración de INF- γ en suero a los 60 dg cumpliría un rol crucial proinflamatorio, coincidente con la mayor remodelación de la

estructura placentaria, que acontece en la gestación media en esta especie. El aumento sérico de IL-2 e IL-4 al final de la gestación podría estar activando y regulando el sistema inmune pro-inflamatorio para el desencadenamiento del parto y expulsión de las placentas.

PUESTA A PUNTO DE UN MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO UV/Vis EN MICROPLACA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE BUTORFANOL.

Velloso MI, Andreetta A, Landoni MF

Cátedra de Farmacología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

La cuantificación de fármacos en matrices biológicas requiere métodos específicos, sensibles y robustos. Los métodos espectrofotométricos en tubo involucran grandes volúmenes de reactivos, lo que encarece la realización de los estudios. Los métodos en microplaca mantienen la sensibilidad pero utilizan volúmenes pequeños de reactivos y permiten realizar mayor número de repeticiones. Su practicidad y menor costo los hacen de elección especialmente en estudios que involucran gran número de muestras. El butorfanol es un analgésico opioide de uso extendido en la clínica equina. Su excelente perfil farmacocinético permite su administración por todas las vías incluida la intranasal. El método espectrofotométrico UV/Vis para la cuantificación de butorfanol se realizó en placas de 96 pocillos. Se realizaron patrones del fármaco en el rango de 60 a 0.5 mcg/ml. La solución stock de butorfanol (1 mg/ml) fue preparada en metanol. El resto de las diluciones fueron realizadas en buffer acetato pH 4.4. Las diluciones fueron sembradas en octuplicado en placas de 96 pocillos. La detección de butorfanol fue realizada a 280 nm utilizando un espectrofotómetro de lectura horizontal (Thermoscientific Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific) Se realizaron 2 placas diarias (estimación de reproducibilidad) durante 3 días consecutivos (evaluación de la repetitividad). Asimismo, se estimó linealidad, exactitud, límite de detección (LD) y límite cuantificación (LC). El análisis estadístico de los datos fue realizado mediante el test de t de Student. El límite de significación fue establecido en 5%. El método resultó práctico y de bajo costo. Se determinó la linealidad en el rango de 60 a 0.5 mcg/ml. El coeficiente de regresión promedio (\pm DE) fue 0.993 ± 0.004 . El porcentaje de recuperación fue de 98.3 ± 3.6 %. La repetibilidad (8.5%) y la reproducibilidad (11.0%) estuvieron dentro de los límites aceptables. Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) fueron 0.5 y 1 mcg/ml. El método desarrollado cumplió con los requerimientos estandarizados internacionalmente. La baja variabilidad intra-día (repetibilidad) e inter-día (reproducibilidad), la exactitud y LC lo hacen aplicable para la cuantificación de butorfanol en estudios de penetrabilidad a través de la membrana nasal equina.

CENTELLOGRAFIA DE PERFUSION PULMONAR COMO METODO DE DETECCION PRECOZ DE TROMBOEMBOLISMO PULMONAR EN PERROS CON ENFERMEDAD DE CUSHING

Vidal PN, Castillo VA

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra Clínica Médica de Pequeños Animales-Hospital Escuela Medicina Veterinaria, Unidad de Endocrinología. 1427, Av. Chorroarín 280, Argentina

La Enfermedad de Cushing (EC) es una endocrinopatía común en el perro. Dentro de las alteraciones asociadas se encuentra el tromboembolismo pulmonar (TEP), con alta tasa de mortalidad. La centellografía de perfusión pulmonar es un método de imagen que permite evaluar la perfusión sanguínea en el mismo y detectar aéreas no perfundidas, compatibles con trombos. En este estudio se determinó la utilidad de la centellografía como método para detectar tromboembolismo pulmonar insipiente y su asociación con marcadores de coagulación. Se estudiaron 12 perros con EC (edad entre 7 y 12 años, mediana 8.3 años) que fueron referidos a la Unidad de Endocrinología del Hospital Escuela de Medicina Veterinaria, 8 fueron hembras castradas (4 mestizas, 2 poodle, 1 schnawzer mini, 1 Labrador) y el resto machos sin castrar (2 mestizos, 1 Golden Retriever, 1 Jack Russel). Todos presentaban los signos clínicos característicos de la patología (poliuria-polidipsia, polifagia, abdomen prominente, piel inelástica y fina, atrofia muscular, diferentes grados de alopecia). 4 perros (3 hembras y 1 macho) manifestaron jadeo continuo en reposo que se acentuaba al momento de caminar. Según los propietarios dicho jadeo se presentó posteriormente a la aparición de los signos clínicos de la EC y con un tiempo estimado de 1 a 3 meses previos a la consulta. A todos los perros se les indicó centellografía pulmonar y se evaluó el dímero D (DD) como marcador de presencia de coágulos, fibrinógeno, antitrombina III (AT-III) y factor VIII (F-VIII). Estos valores fueron comparados entre los 4 perros con problemas respiratorios y los 8 animales restantes. La comparación se realizó por medio del test de Mann-Whitney considerándose significativo $P < 0,05$. Los resultados se expresan como mediana y rangos mínimo y máximo. Los 4 perros con el jadeo intenso presentaron en la centellografía imagen de lesión pulmonar (falta de perfusión) compatible con TEP. Los 4 perros con TEP presentaron valores estadísticamente menores de Fibrinógeno, AT-III y F-VIII respecto a los 8 sin dificultad respiratorio ($P=0,02$; $P=0.008$ y $P=0.017$ respectivamente), siendo el DD positivo (>400) en los 4 perros con TEP. La centellografía pulmonar es un método de imagen de gran utilidad para evaluar la perfusión del mismo y detectar aéreas no perfundidas compatibles con presencia de trombos. Un DD positivo junto con una actividad de AT-III y F-VIII disminuidos demuestran un estado de hipercoagulabilidad, siendo útiles como marcadores de presencia de trombos. En pacientes con EC que presenten jadeo intenso en reposo y taquipnea, se recomienda utilizar la centellografía de perfusión pulmonar para detección precoz de TEP.

ESTUDIO TRIDIMENSIONAL DE LA CAVIDAD NASAL DE LOS EQUINOS

Vita M¹, Landoni MF², Zucollili G¹

¹Cátedra de Anatomía; ²Cátedra de Farmacología General y Clínica. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP

La compleja estructura de la cavidad nasal de los equinos, sumado a la escasa bibliografía de estudios morfométricos de la misma, hace necesario un estudio detallado en cadáveres, para obtener datos que puedan ser transpolados a los animales vivos. La tomografía computada es un método de análisis utilizado para determinar detalles seccionales de diferentes partes del cuerpo, obteniendo a partir de éstas imágenes tridimensionales. Aunque la tomografía computada tiene un uso generalizado en medicina veterinaria, sobre todo en pequeños animales, en equinos su uso es debido a la falta de disponibilidad de equipos adecuados. El objetivo del presente trabajo fue obtener valores morfométricos básicos de la cavidad nasal de los equinos (superficie y volumen), utilizando técnicas anatómicas sencillas que permitan relacionar estos datos con las medidas externas de la nariz y realizar un modelo tridimensional anatómicamente correcto alternativo a la tomografía computada y de bajo costo. Se utilizaron 5 cabezas de equinos de diferentes edades y pesos. Se tomaron medidas externas desde el ángulo medial del ojo a la comisura dorsal del ollar, desde el ángulo lateral del ojo a la comisura ventral del ollar y la distancia entre los ángulos mediales de los ojos. Se procedió a cortar las cabezas con sierra sin fin dejando el tabique nasal en una de las mitades. A la mitad que no presentaba el tabique nasal se la fotografió tomando imágenes cada 10° hasta completar los 360° alrededor de la cabeza. A las imágenes obtenidas se las adjunto en la aplicación Autodesk®RECAP360, la cual compila las fotos mostrando una imagen tridimensional. La mitad de la cabeza en la que se mantuvo el septum nasal se rellenó con espuma de poliuretano, previo lavado de la misma, tanto por ollar como por coanas. Se dejó en reposo durante 24 hs permitiendo la expansión de la espuma. Se procedió a cortar el tabique nasal, obteniendo de esta forma un modelo positivo de la cavidad nasal. La imagen obtenida del programa Autodesk®RECAP360 fue un modelo tridimensional de la sección de la cabeza que permite rotarla en las tres dimensiones del espacio y realizar mediciones de la misma. Del modelo positivo de la cavidad nasal de espuma de poliuretano se obtuvieron medidas de volumen y a partir de una impresión cuidadosa en papel se pudo obtener la superficie de la cavidad. Las imágenes tridimensionales obtenidas son precisas, aunque menos detalladas que las obtenidas por tomografía. La espuma del poliuretano, al expandirse, ocupa la cavidad nasal obteniendo un modelo detallado que permite calcular la superficie y el volumen de la misma. El presente modelo es aplicable al estudio detallado de la cavidad nasal.

SINCRONIZACIÓN DE HEMBRAS DONANTES DE EMBRIONES Y CARACTERIZACIÓN DE LA IRRIGACIÓN UTERINA COMO MÉTODO PRECOZ DE DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN EN LA LLAMA

¹Zampini, E.G.; ¹Miragaya M.H.; ^{1,2}Trasorras, V.L.¹

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

El estudio de la aplicación de biotecnologías reproductivas en la llama (*Lama glama*), persigue dos propósitos fundamentales: uno de ellos es utilizarla como modelo para su posterior implementación en especies silvestres, y el otro es mejorar la calidad de los animales en aquellos planteos productivos basados en esta especie. El objetivo del trabajo fue desarrollar un protocolo simple y económico para la sincronización de llamas donantes de embriones y analizar la irrigación uterina previo a la recuperación embrionaria. Se utilizaron hembras no gestantes y no en lactancia (n=7), las cuales fueron divididas en cuatro grupos según la fase de la onda folicular: Grupo I (fase de crecimiento): folículos en crecimiento < 7 mm de diámetro, grupo II (fase de dominancia): folículo dominante en crecimiento ≥ 7 mm, grupo III (fase de estática): folículos con variaciones menores a 0,5 mm en dos mediciones diarias sucesivas y grupo IV (fase de regresión): folículos que disminuyen su diámetro en dos mediciones sucesivas. El día 0 se aplicó una dosis de 8 µg de buserelina (análogo sintético de GnRH) vía endovenosa a todas las hembras. Diariamente se realizó el monitoreo ovárico por palpación y ultrasonografía transrectal desde un día previo al inicio del ensayo, para determinar la fase de la onda folicular en que se encontraba cada animal. Ocho días posteriores, se administró una nueva dosis de buserelina seguida de una dosis de 250 µg de cloprostenol (prostaglandina sintética) vía intramuscular. El día 15 cada grupo recibió una dosis de cloprostenol y a aquellas hembras que respondieron al protocolo y presentaron un folículo ≥ 6 mm, se les indicó servicio natural con un macho de fertilidad probada junto con una dosis de

buserelina. Ocho días luego del servicio natural, se realizó la evaluación de la irrigación de las diferentes zonas uterinas mediante eco-Doppler color (siendo las imágenes y videos capturados y guardados para su posterior análisis). Se aplicó el protocolo de sincronización en 9 hembras donantes de embriones (Grupo I: 1; Grupo II: 4; Grupo III: 2; Grupo IV: 2), respondiendo en forma positiva y recibiendo servicio natural 6 de ellas, 3 del grupo II, 1 del grupo III y 2 del grupo IV. Se realizó el control de la vascularización uterina en esas seis hembras y se lograron recuperar tres embriones (dos de calidad I y uno de calidad II) y una mórula detenida. Para alcanzar el objetivo planteado, queda pendiente la aplicación del protocolo a las hembras restantes para completar el n=5 en cada grupo, así como también el análisis final de las imágenes y videos obtenidos. Hasta el momento se concluye que la aplicación de dos dosis de buserelina separadas por 8 días, lograría sincronizar la onda folicular en hembras donantes de embriones, pudiendo resultar un protocolo de fácil aplicación a campo, independizando del uso de la ultrasonografía.

EVALUACIÓN DE LA FORMACIÓN DE BIOFILM DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *ZOOEPIDEMICUS* DE MANERA CUALITATIVA Y CUANTITATIVA.

Zeni Coronel EM^{1,2}, Etchecopaz AN¹, Retamar GC¹,
Castillo K¹, Bustos CP^{1,3}, Mesplet M¹, Muñoz AJ¹

¹Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires. Argentina. ²Cátedra de Bioestadística. ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

El *biofilm* se puede definir como una comunidad de células bacterianas adherida a una superficie y envueltas en una matriz extracelular producida por ellas mismas. La matriz extracelular o *slime* está compuesta principalmente por agua e hidratos de carbono. Esta forma de desarrollo permite resistencia a condiciones adversas del medio, a agentes antimicrobianos, desinfectantes y germicidas. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es el patógeno oportunista aislado con mayor frecuencia de procesos endometriales en yeguas. La posibilidad de desarrollo en forma de *biofilm* podría explicar la permanencia de la bacteria en mucosas y el progreso como patógeno ante cambios ambientales. El objetivo de este trabajo fue la evaluación de *biofilm* de *S. zooepidemicus* de manera cualitativa y cuantitativa. Se utilizaron 13 aislamientos de *S. zooepidemicus* provenientes de yeguas con endometritis. Se evaluó la producción de biofilm por un método cualitativo en portaobjetos, se generó un inóculo con un cultivo *overnight* diluido

1/10 en medio fresco, se colocó 1 ml de esa dilución sobre un portaobjeto nuevo y estéril. Cada uno se incubó dentro de una placa de Petri estéril a 37°C en atmósfera enriquecida con CO₂ durante 24 horas. Luego se realizaron 2 lavados con agua destilada estéril, se fijó con metanol y se tiñeron los portaobjetos con Alcian Blue al 2% durante 10 minutos y luego se agregó Cristal Violeta al 4% por 30 segundos. Se observaron en microscopio óptico la adherencia bacteriana, la agrupación y la presencia de polisacárido extracelular (PSE). El método cuantitativo se realizó ajustando el inóculo a una turbidez correspondiente al 1 de Mc Farland. Luego se sembraron 200 ul de cada inóculo en placas de 96 pocillos de fondo plano (Nunc Maxisorp), se incubaron por 24 horas a 37°C en atmósfera enriquecida con CO₂ y luego se realizaron 3 lavados con agua estéril y se coloreó el biofilm formado con Cristal Violeta al 1% por 15 minutos. Se repitieron los lavados y el colorante adherido se solubilizó con alcohol 96° y se midió por espectrofotometría a 570 nm. Por ambas técnicas se logró observar la capacidad de *S. zooepidemicus* para producir *biofilm*. Esto evidencia la versatilidad de la bacteria para desarrollar biofilm en distintas superficies inertes. El método cualitativo reveló una agrupación en cadenas formando aglomerados de distintos tamaños y con la presencia de PSE. El método cuantitativo permitió clasificar a las cepas en altas productoras de *biofilm*, de producción media o baja. El 71,4% de las cepas fueron categorizadas como altas productoras de biofilm, en tanto que el 28,6% restante fueron clasificadas como de producción media. La formación de *biofilm* tiene un rol en la supervivencia de la bacteria, permitiéndole permanecer en diferentes mucosas y ser más resistente a diferentes tratamientos, inclusive lavajes uterinos con antimicrobianos. El conocimiento del proceso de formación de *biofilm* y la búsqueda de inhibidores podrían prometer una atractiva vía para la prevención y tratamiento de enfermedades que involucren este proceso. Este trabajo es financiado por el proyecto UBACyT 20020130100299BA

DESARROLLO DE VACUNAS NUEVAS CONTRA LA FIEBRE AFTOSA BASADAS VECTORES ADENOVIRALES OPTIMIZADOS

Ziraldó M, González M, Seki C, N. Mattion N, D'Antuono A

Centro de Virología Animal (CEVAN) - CONICET

La Fiebre aftosa (FA) es considerada la enfermedad infecciosa más importante del ganado, causante de los mayores perjuicios económicos para la actividad ganadera. Su agente etiológico, el virus de fiebre aftosa (VFA), afecta a una amplia variedad de animales de pezuña hendida, junto con especies silvestres que pueden actuar como reservorios. En la última década han aparecido epizootias en diferentes países libres de FA, que ocasionaron cuantiosas pérdidas económicas. Es por ello que existe un continuo interés en desarrollar vacunas de emergencia capaces de inducir barreras tempranas de inmunidad frente al VFA, que permitan distinguir a un animal vacunado de uno infectado y que confieran un amplio espectro de inmunidad contra diferentes tipos y subtipos virales. En los últimos años, los virus recombinantes han llamado la atención dado que brindan la posibilidad de dirigir la expresión simultánea de las proteínas estructurales necesarias para generar partículas similares a virus. En particular, los vectores adenovirales (Ad) representan un sistema novedoso que se caracteriza por la facilidad de producción, la posibilidad de insertar fragmentos grandes de ADN y la estimulación de una respuesta inmune celular y humoral. El objetivo general del

proyecto es generar prototipos vacunales basados en Ad que induzcan una protección rápida y duradera contra la enfermedad. Previamente en nuestro laboratorio se obtuvo el Ad-P12A3C que dirige la expresión de las proteínas estructurales VP1, VP2, VP0 y las proteasas 2A y 3C del VFA serotipo O1 Campos. Se determinó que animales inoculados con dos dosis de este Ad no resultan protegidos contra el desafío homólogo. En este contexto nos propusimos obtener una nueva generación de Ad capaces de expresar mayores niveles del antígeno de interés y así inducir una respuesta inmune protectora contra VFA. Para ello se generó el Ad-P12A3C_{INV} donde la unidad Promotor-P12A3C-Terminador está dispuesta en sentido opuesto a la del Ad-P12A3C. Además se incluyó una secuencia intrónica entre la región promotora y la secuencia que codifica para P12A3C. Este virus recombinante fue caracterizado molecularmente mediante técnicas de PCR y RT-PCR. La expresión de proteínas del VFA se analizó por gradientes de sacarosa y ELISA. El perfil antigénico de las subunidades del VFA generadas se caracterizó utilizando un panel de mAb dirigidos contra epitopes específicos de la cepa O1 Campos. El Ad-P12A3C_{INV} desarrollado es capaz de expresar mayores niveles de las proteínas estructurales del VFA. Los experimentos de gradiente de sacarosa seguidos de ELISA indicaron que las proteínas forman un complejo proteico con un grado ordenamiento superior. Además, dado que sus epitopes fueron reconocidos por la mayoría de los mAbs empleados, los determinantes antigénicos se encontrarían en una conformación similar a la del virus entero. Es por ello que este Ad optimizado será utilizado para evaluar y comparar la respuesta inmune generada respecto al vector convencional, Ad-P12A3C, en pruebas de desafío con VFA en el modelo ratón.

TRICHINELLOSIS: EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE VIGILANCIA CENTRADO EN LA INTERRELACIÓN HUMANO-ANIMAL-AMBIENTE

Zumpano RC¹, Ríos Hudson C², Pasqualetti M³, Degregorio OJ²

(1) Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). Sanidad Animal. Centro Regional Buenos Aires Norte. (2) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra Salud Pública. (3) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Parasitología y Enfermedades parasitarias.

Argentina posee estatus endémico para la presentación de trichinellosis. Se trata de una zoonosis, se transmite al hombre por la ingestión de carne o derivados cárnicos crudos o insuficientemente cocidos, que contengan larvas musculares viables (L1). El cerdo es el animal más comúnmente implicado en brotes; sin embargo, carne proveniente de caballos, jabalíes y otros animales silvestres han tomado relevancia. Para un eficiente programa de prevención y control es fundamental identificar a tiempo casos sospechosos, su presentación y ubicación, así como la identificación oportuna y sistemática de las probables fuentes de infección. Otro requisito es la veracidad y calidad de los datos que recopila, dependiendo de los actores del sistema de salud y de la comunidad que percibe el problema y de las alternativas para actuar ante la enfermedad. El actual Sistema de Vigilancia de trichinellosis no ha desarrollado en forma acabada procesos destinados a evaluar, mejorar y

controlar la recolección de la información o procesos específicos para su integración. Otro inconveniente es el gran número de actores del área de salud, salud animal y de la sociedad implicados directa o indirectamente, lo que dificulta implementar, ordenada y eficientemente, medidas de prevención y control. A la vez, la importancia económica de la producción y la comercialización de productos y subproductos, hacen más dificultoso el abordaje del tema. El objetivo es evaluar el sistema de vigilancia (SV) centrado en la interrelación humano-animal-ambiente: describiendo los flujos de información, analizando la interacción e integración; evaluando la calidad y oportunidad y evaluando la percepción de riesgo de los actores del SV y de la comunidad. El ámbito de realización del estudio es el partido de Alberti, Bs. As. El mecanismo de recolección de la información es a través de encuestas a los usuarios oficiales del SV y a grupos sociales relacionados en forma directa o indirecta. Se completa realizando entrevistas a los efectores del programa en cada una de las etapas administrativas del mismo. El análisis se realiza a través de indicadores de atributos del SV, de indicadores administrativos del programa e indicadores de resultados directos y de impacto social. En la primera etapa se realizaron 160 encuestas en los grupos de la comunidad: carniceros (9), productores porcinos del tipo familiar (16) y consumidores (135). El 78% de los carniceros, el 94% de los productores y 85% de los consumidores mencionan conocer la enfermedad. El 78%, 75% y 64% de cada grupo sabe cómo se transmite; el 45%, 62% y 36% respectivamente conoce los signos clínicos; el 11%, 69% y 19% respectivamente sabe que no hay signos evidentes en porcinos; el 22%, 31% y 32% respectivamente sabe cómo se diagnostica en humanos y 33%, y 62% y 24% en cerdos. Actualmente se realizan las entrevistas a profesionales de salud y salud animal relacionados con el SV. Estos estudios proveen un modelo de abordaje para la evaluación integral de los sistemas de salud pública y animal a través de sus interacciones profesionales, administrativas y sociales que permitirá proponer un SV integrado con la participación de todos los actores sociales relacionados con el problema.