



**UBA**  
Universidad de Buenos Aires



# **IX Jornadas de Jóvenes Investigadores**

**6 y 7 de junio de 2019**  
**Buenos Aires – Argentina**





## Índice

Farmacocinética de Levofloxacina en caninos: estudio preliminar <i>Almoño, B; Albarellos, G; Passini, S; Lupi, M; Monfrinotti, A; Montoya, L.</i> .....	57
Comparación de la farmacocinética de la cefalexina al 20% administrada por vía intramuscular en cabras secas y en lactación <i>Alonso, M; Esmoris, S; Vera, V; Suarez Belzoni, F; Dal Verme, B; Ellis, V; Ambros, L; Kreil, V.</i> .....	58
Descripción de un brote compatible con Ectima Contagioso <i>Anacoreto, M; Portillo, F; Giampaolli, C; Veksler Hess, J; Coppola, MI; Sesto, I.</i> .....	59
Desarrollo folicular en <i>Gymnotus carapo</i> <i>Arce, C; Vallejos, E; Ayala, F; Garcia Muzzachiodi, B; Echazarreta, L; Flores Quintana, C.</i> .....	60
Uso de diferentes variedades de lupino en alimentos para acuicultura: efecto de la fitasa sobre la biodisponibilidad <i>in vitro</i> de la proteína y el fósforo <i>Azcuy, RL.; Bari, ML; Ricco, MV; Cornacchioli, C; Ricco, RA; Wagner, ML; Alvarez, MA.</i> .....	61
Evaluación de la influencia de macro y micronutrientes, el aporte orgánico de nitrógeno y el tipo y la concentración de la fuente carbono sobre la inducción de callos de <i>Ligaria cuneifolia</i> (R. ET P.) Tiegh (Loranthaceae) a partir de embriones <i>Bari, ML; Ricco, MVL; Cornacchioli, C; Ricco, RA; Wagner, ML; Alvarez, MA.</i> .....	62
Obtención y caracterización de anticuerpos específicos a antígenos de <i>Mycobacterium avium</i> subsp. paratuberculosis (MAP) <i>Barnech, ML; Jolly, A; Colavecchia, S; Subevic, J; Mundo, SL.</i> .....	63
Obtención de partículas virales de FIV para la optimización de un Western blot como método confirmatorio para su diagnóstico <i>Barrios Benito, M; Novellino, G; Galdo Novo, S; Bratanich, AC; Palacios, CA.</i> .....	64
Evaluación de la actividad de MMP-2 y 9 y fracciones proteicas en leche de vacas y ovejas con mastitis clínica y subclínica <i>Belitzky, N; Caggiano, N; Gonzalez Wulfohn, G; Pedreira Kanter, M; Coppola, M; Veksler Hess, J; De Simone, E.</i> .....	65
Análisis histopatológico de lesiones con diagnóstico macroscópico de tuberculosis bovina procedentes de frigoríficos de La Pampa <i>Bermejo, L; Virginia, S; Fort, MC; Gimenez, HD; Miranda, AO; Garbaccio, SG; Delgado, FO.</i> .....	66
Comparación de dos velocidades de centrifugación para seleccionar espermatozoides de semen fresco de llama utilizando Androcoll-ETM <i>Bertuzzi, ML; Fumuso, FG; Carretero, MI.</i> .....	67

Comparación del patrón de distribución larvaria de <i>Trichinella patagoniensis</i> , <i>T. Pseudospiralis</i> , <i>T. Spiralis</i> en jabalíes ( <i>Sus scrofa</i> ). <i>Bessi, C; Ercole, M; Fariña, F; Acerbo, M; Ribicich, MM; Pasqualetti, MI.</i> .....	68
Variación temporal de la dieta de juveniles y adultos de <i>Odontesthes argentinensis</i> en La Lucila del Mar, Buenos Aires <i>Biolé, FG; Volpedo, AV; Thompson, GA.</i> .....	69
Evaluación de espermatozoides epididimales felinos ( <i>Felis silvestris catus</i> ) comparando dos métodos de congelación <i>Bonaura, MC; Williams, SI; Stornelli, MA.</i> .....	70
Estudio de persistencia ambiental de larvas L1 de <i>T. Spiralis</i> en tejido muscular de jabalí <i>Bonboni, A; Ercole, M; Bessi, C; Fariña, F; Montalvo, F; Ribicich, M; Pasqualetti, M.</i> .....	71
Análisis de cepas diarreogénicas de <i>Escherichia coli</i> provenientes de bovinos de Tierra del Fuego y su posible impacto en salud. Comunicación preliminar <i>Bonino, MP; Bentancor, A; Blanco Crivelli, X.</i> .....	72
Estudio compartimentalizado macroscópico de los músculos estabilizadores de la articulación fémoro-tibio-patelar del canino ( <i>Canis familiaris</i> ) <i>Bosco, A; Paltenghi, A; Graziotti, G.</i> .....	73
Estudio compartimentalizado microscópico de los músculos estabilizadores de la articulación fémoro-tibio-patelar del canino ( <i>Canis familiaris</i> ) <i>Bosco, A; Paltenghi, A, Graziotti, G.</i> .....	74
Obtención y caracterización de anticuerpos de dominio único derivados de camélidos (Nanoanticuerpos o VHH) específicos contra la cepa O1 campos del virus de la Fiebre Aftosa para aplicación diagnóstica <i>Bozzo J.; Marchese F; Mattion N.; Grippo V.</i> .....	75
Incidencia de distintas disponibilidades de azufre sobre el transporte de fotoasimilados vía floema en plantas de cebada <i>Bozzola, ML; Caputo, C; Veliz, CG.</i> .....	76
Estrés oxidativo inducido por el insecticida clorpirifos en células endoteliales <i>Britez Neira, D; Rocco, R; Gazzaniga, S; Cochón, A.</i> .....	77
Susceptibilidad antimicrobiana de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> aisladas de cavidad oral de reptiles. Comunicación preliminar. <i>Britez, JD; Petta, AP; Testorelli, MF.</i> .....	78
Percepción de riesgo de Síndrome Urémico Hemolítico: diferencias entre zona urbana y rural en una comunidad de Buenos Aires. Comunicación preliminar. <i>Broglio, A; Berra, Y; Bentancor, A.</i> .....	79

Búsqueda del mayor rendimiento de una cepa de <i>Artemia persimilis</i> (Piccinelli & Prosdocimi, 1968) de la salina Colorada Grande (La Pampa). Datos preliminares. <i>Bruttomesso, MF; Jañez, J; Schapiro, JH; Fortunato, RH; Argemi, F</i> .....	80
Ocular drug delivery: nanoformulations based on argentinian chitosan for resveratrol encapsulation <i>Buosi, FS; Alaimo, A; Castañeda Cataña, MA; Martínez, KD; Di Santo, MC; Domínguez Rubio, AP; Acebedo, SL; Spagnuolo, C; Pérez, OE</i> .....	81
Identificación de fenotipo de resistencia de <i>Staphylococcus</i> sp. aislados de animales de compañía <i>Buscema, MR; Moreira, J; Sarcone, N; Retamar, GC; Bustos, C; Muñoz, AJ</i> .....	82
Análisis de la fracción proteica del lactosuero de búfalas del NEA para su valorización <i>Bustos, LF; Vasile, FE; Judis, MA; Pérez, OE</i> .....	83
Evaluación de biomarcadores en distintos grados de mastitis subclínica bovina <i>Caggiano, N; De Simone, E</i> .....	84
Puesta a punto de la prueba ELISA- PPA en muestras de leche bovina <i>Calabrese, A; Carrizo, A; Sait, J; Colavecchia, S</i> .....	85
Evaluación ultrasonográfica de la resolución de defectos herniarios umbilicales en terneros Holando con aloinjertos de pericardio <i>Cantatore, SE; Tambella, VM; Viviani, P; Rosatti, JJ; Nejamkin, P; Rivulgo, VM; García, JP; Moscuza, CH</i> .....	86
Etología clínica: análisis de encuestas para mejorar la calidad educativa <i>Carmona, N; de los Santos, F; Mangas, J; Ferrari, HR</i> .....	87
Caracterización de anticuerpos para su uso como reactivo en pruebas diagnósticas <i>Carrizo, A; Sait, J; Calabrese, A; Colavecchia, S</i> .....	88
Hallazgo de micobacterias no tuberculosas en “Osos hormigueros gigantes” en los Esteros del Iberá, Corrientes <i>Carusso, C; Marfil, MJ; Martínez Vivot, M; Peña Martínez, J; Rosas, C; Delmas, L; Zumárraga, JM; Barandiaran, S</i> .....	89
Evaluación de la biodisponibilidad proteica <i>in vitro</i> en dietas para langosta australiana <i>Cherax quadricarinatus</i> <i>Casaretto, ME; Stumpf, L; Timpanaro, S; López Greco, L; Morales, GA</i> .....	90
Caracterización extendida de la respuesta inmune humoral inducida por <i>Brucella melitensis</i> Rev.1 en cabrillas <i>Castaño Zubieta, R; Maurizio, E; García, D; Arenas-Gamboa, AA; Rossetti, CA</i> .....	91
Impacto de la vía intra-rectal en ratones CF1 para la administración de una combinación de acepromazina y midazolam como premedicación anestésica <i>Caturini, E; Bergerou, C; Godoy, M; Pucheta, N; Ribet, E; Gullace, G; Ruiz Díaz, S; Aprea, P</i> .....	92

Persistencia de respuestas aprendidas: una comparación entre perros de intervenciones asistidas con animales y perros mascota <i>Cavalli, CM; Carballo, F; Dzik, V; Bentosela, M.</i> .....	93
Inmunoexpresión de VEGF en neoplasias mamarias caninas de distinto grado de malignidad. Estudio preliminar <i>Caverzan, M; Fiorimanti, M; Cristofolini, A; Merkis, C.</i> .....	94
Obtención de una proteína recombinante como posible candidato vacunal para reducir la colonización de <i>E. coli</i> O157:H7 en bovinos. <i>Celi, AB; Larzabal, M; Vilte, D.</i> .....	95
Efecto de la centrifugación refrigerada como método de concentración sobre la calidad del semen porcino <i>Chapero, LA; Marengo, ML; Rossetto, L; Nicolás, A; Ramos, S; Fernández, F; Aimar-Chiesa, I; Bilbao, MG; Boeris, MA.</i> .....	96
Infectividad del inóculo micorrízico arbuscular y fertilización fosforada en un suelo deficiente en fósforo <i>Chippano, T; Morales, N; Cofré, N; García, I.</i> .....	97
Estudio de la capacidad de conservación de semen porcino a 15°C de dosis homospérmicas vs. heterospérmicas <i>Compagnoni, MV; Bainotti, C; Tittarelli, CM; Williams, SI.</i> .....	98
Impacto del uso de aceite de oliva virgen en la dieta del verraco sobre el daño oxidativo de las membranas celulares <i>Compagnoni, MV; Ventura, MB; Bainotti, C; Tittarelli, CM; Williams, SI.</i> .....	99
Emisión de óxido nitroso en un suelo con aplicación de guano crudo y compostado de aves ponedoras <i>Cosentino, V; Ostinelli, M; Pérez, G; Romaniuk, R; Mortola, N; Costantini, A; Taboada, M.</i> .....	100
Calidad de agua de bebida para equinos en la provincia de Buenos Aires <i>Cosenza, A; Volpe, SM; Carbó, LI.</i> .....	101
Identificación y estudios de resistencia a antimicrobianos en microorganismos aislados de mastitis ovina. Comunicación preliminar. <i>Crespi, E; Srednik, E; Testorelli, MF; Bidone, B; Coppola, M; Gentilini, RE.</i> .....	102
The effect of L-carnitine on the level of late apoptosis of mature porcine vitrified-warmed oocytes <i>Cruzans, PR; Tello, MF; Lorenzo, MS; Teplitz, GM; Maruri, A; Lombardo, DM.</i> .....	103
Estudio de contaminación de carcasas ovinas como posible fuente de infección de <i>Escherichia coli</i> Shigatoxigénico de impacto en la infancia en Tierra del Fuego. <i>Cundon, C; Petrina, J; Disalvo, V; Benetucci, A; Aguilera, A; Reyes Cruz, ES; Degregorio, O; Bentancor, A.</i> .....	104

Efecto neuroprotector de FK506 frente al estrés oxidativo. <i>Daneri-Becerra, C; Rosbaco, ME; Galigniana, MD; Ramos-Hryb, AB.</i> .....	105
Validación de un método inmunoenzimático elisa indirecto para detección de anticuerpos contra la poliproteína 3ABC del virus de la fiebre aftosa (FA). <i>De Conti, E; Pérez Visñuk, M; Maddonni, G; Pedemonte, A; Maradei, E; Malirat, V; Bergmann, I.</i> .....	106
Encapsulating folic acid: characterization of chitosan nano-vehicles as a food additive <i>De Matteo, R; Santagapita, PR; Gómez Andrade, VA; Schebor, CC; Pérez, OE.</i> .....	107
Detección molecular de Rickettsiales en garrapatas que infestan a perros del municipio de Veracruz, México <i>Decker-Franco, C; López Flores, E; Romero-Salas, D; Florin-Christensen, M; Schnittger, L.</i> .....	108
Identificación de nuevos antígenos diagnósticos en <i>Sarcocystis aucheniae</i> a partir de macroquistes obtenidos de carne de llama ( <i>Lama glama</i> ) <i>Decker-Franco, C; De Alba, P; Romero, S; Mamani, R; Soria, M; Ferrari, A; Wieser, SN; Schnittger, L; Florin-Christensen, M.</i> .....	109
Diagnóstico de tuberculosis en calostro de bovinos lecheros a través de Spoligotyping <i>Delmas, L; Marfil, J; Cuerda, MX; Ponce, L; Martínez Vivot, M; Zumárraga, MJ; Falzoni, E.</i> .....	110
Evaluación de la producción de biofilm de cepas <i>Escherichiacoli</i> Shigatoxigénico pertenecientes al serogrupo O174 de diferentes fuentes de infección <i>Desimoni, F; Bentancor, A; Cundon, C.</i> .....	111
Uso de nanopartículas de magnetita para optimizar la simbiosis alfalfa- <i>Sinorhizobium meliloti</i> <i>Di Baggio Vega, EG; De Valois, N; Groppa, MD; Zawoznik, MS; Benavides, MP; Iannone, MF.</i> .....	112
Evaluation of cellular responses in 3T3 and EAhy926 cell lines to PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) with chitosan uptake <i>Di Santo, MC; Alaimo, A; Acebedo, SL; Spagnuolo, C; Pérez OE.</i> .....	113
Caracterización de anticuerpos monoclonales contra <i>Mycobacterium avium</i> subsp <i>Paratuberculosis</i> <i>Duarte, JJ; Mundo, SL; Jar, AM.</i> .....	114
Evaluación de metodologías de preservación e inactivación de <i>Trichinella</i> spp en carnes de origen animal <i>Ercole, M; Bessi, C; Pasqualetti, MI; Ribicich, M; Fariña, F.</i> .....	115
Terapia de ondas de choque y plasma rico en plaquetas ozonizado en el desmitis de la articulación interfalangiana distal en el equino <i>Estrada Canavese, MI; García Liñeiro, JA.</i> .....	116
Desarrollo de biofilm de <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>Zooepidemicus</i> : su interacción con levaduras y comportamiento frente a antimicrobianos <i>Etcheopaz, AN; Bustos, CP; Muñoz, AJ; Mesplet, M; Iovannitti, CA; Guida, N.</i> .....	117

Análisis del SNP A/G del gen MC4R en cerdos de raza Landrace asociados a caracteres productivos. <i>Fassa, VF; Soria, L; Marrube, G.</i> .....	118
Metodología diagnóstica de paratuberculosis en semen bovino <i>Fernández, B; Jolly, A; Colavecchia, S; Cisale, H; Paolicchi, FA; Mundo, SL.</i> .....	119
Caracterización del gen <i>pol</i> del Virus de la Inmunodeficiencia Felina, circulante en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires <i>Fernández, L; Huguet, MJ.</i> .....	120
Resolución de luxofractura tibiotarsal con tutor circular. Reporte de caso <i>Fernández Mendy, M; Savan, MC; Mele, CE; Echeverria, D; Guerrero, JA.</i> .....	121
Congelamiento de semen equino con el agregado de la fracción particulada del plasma seminal <i>Ferrante, A; Caldevilla, M; Neild, D; Miragaya, M; Vazquez Levin, M.</i> .....	122
Evaluación del efecto analgésico de butorfanol tras su administración intranasal e intravenosa en equinos. <i>Ferreira, Landoni MF</i> .....	123
Efecto del trolox en muestras descongeladas de semen bovino en la capacitación con ácido hialurónico y heparina <i>Filosa, A; Córdoba, M.</i> .....	124
Cuantificación de CD31 detectado con inmunohistoquímica en placentas porcinas con ImageJ <i>Fiorimanti, M; Cristofolini, A; Caverzan, M; Cassina, B; Alfonso, A; Pereyra, A; Díaz, T; Barbeito, C; Merkis, C.</i> .....	125
Efecto de la vitrificación y cultivo <i>in vitro</i> post atemperado sobre folículos preantrales porcinos contenidos en láminas de corteza ovárica <i>Gabriel, P; Fratto, MC; Cisale, H; Fischman, ML.</i> .....	126
Metabolismo de lípidos endógenos de ovocitos bovinos durante la maduración <i>in vitro</i> en ausencia de sustratos oxidativos. <i>Gagnetten, P; Breininger, E; Cetica, P; Gutnisky, C.</i> .....	127
Detección de tejido linfoide asociado a conjuntiva de tercer párpado de caprinos para su aplicación en el diagnóstico de Scrapie <i>Gallardo, MJ; Delgado, FO.</i> .....	128
Expresión diferencial de receptores de IGF-1 y leptina en ovarios de alpaca con o sin cuerpo lúteo <i>Gallelli, MF; Bianchi, C; Lombardo, D; Castillo, VA; Miragaya, MM.</i> .....	129
Caracterización <i>in silico</i> y estudio del polimorfismo de las serina proteasas romboidales tipo 4/5 del hemoparásito bovino <i>Babesia bovis</i> <i>Gallenti, R; Schnittger, L; Sibeko, KP; Long, M; Florin-Christensen, M.</i> .....	130

Crianza artificial de cabritos: alternativas de alimentación <i>Galotta, ML; Moscuza, CH; Fernández Cirelli, A.</i> .....	131
El Trolox contribuye a mantener un metabolismo oxidativo y la funcionalidad de las membranas espermáticas de los espermatozoides porcinos refrigerados <i>García, N; Córdoba, M.</i> .....	132
Agrupamiento espacial de enteropatógenos en terneros de rodeos lecheros <i>Garro, CJ; Morici, G; Tomazic, ML; Vilte, D; Encinas, M; Bok, M; Vega, C; Parreño, V; Schnittger, L.</i> .....	133
Detección molecular de <i>Mycobacterium bovis</i> y producción de leche en bovinos <i>Garro, CJ; Tomazic, ML; Celi, A; Garbaccio, SG.</i> .....	134
Complejo respiratorio en una ternera asociado a tuberculosis bovina: reporte de caso <i>Garro, CJ; Bermejo, V; Margineda, C; Morris, W; Delgado, F; Garbaccio, S.</i> .....	135
Identificación Inmunohistoquímica de la acción directa del Virus de la Inmunodeficiencia Felina en el sistema nervioso central de los gatos <i>Germano, P; Boviez, J; Revilla, M; Passeri, C; Suraniti, A; Lombardo, D; Gómez N.</i> .....	136
¿Qué nos cuenta el micro-fitoplancton sobre la laguna urbana del Parque Unzué? <i>Gianello, D; Ávila-Hernández, E; Aguer, I; Crettaz-Minaglia, M.</i> .....	137
Desarrollo de un modelo oviductal <i>in vitro</i> para su implementación en técnicas biotecnológicas reproductivas en la especie equina <i>Gimeno, B; Martínez-León, E; Von Moyeren, M; Mutto, A; Bariani, MV; Osycka-Salut, C.</i> .....	138
Niveles de actividad enzimática de lactato deshidrogenasa en líquido sinovial de equinos con diferentes patologías articulares <i>González, C; Lorenzo Smirnoff, A; Perrone, G; Rendine, E; De Simone, E.</i> .....	139
Efecto de la composición del pastizal sobre la emisión de metano en un suelo ganadero de la Cuenca del Salado <i>González, F; Cosentino, V; Pérez, M; Romaniuk, R; Taboada, M; Costantini, A.</i> .....	140
Producción de fragmento de cadena sencilla dirigidos contra el virus de la fiebre aftosa <i>González, M; Núñez, D; Zivaldo, M; Seki, C; Mattion, N; López, N; D'Antuono, A.</i> .....	141
Garrapatas de interés sanitario en la Reserva Ecológica Ciudad Universitaria-Costanera Norte <i>González, S; Graciano, L; Garaglia, L; Berra, Y; Cicuttin, G; Marcos, E.</i> .....	142
Multilocus-sequence-typing de <i>Pasteurella multocida</i> proveniente de aves comerciales: nuevas perspectivas para el estudio del cólera aviar <i>Gornatti-Churria, CD*; Sguazza, GH; Picotto, LD; Landoni, MF</i> .....	143

Actividad de la enzima Lisil-Oxidasa en el miocardio de bovinos con deficiencia secundaria de cobre. <i>Grecco, A; Postma, GC, Nicastro, C; Valdez, LB, Rukavina-Mikusic, IA; Schapira, A; Minatel, L.</i> .....	144
Evaluación física, histológica, endocrina y esteriogénica de la administración postnatal de esteroides sexuales en gatos machos <i>Grisolia Romero, M; Faya, M; Marchetti, C; Lopez Merlo, M; D 'Francisco, F; Priotto, M; Zurbriggen, G; García, P; Gobello, C.</i> .....	145
Optimización del diagnóstico molecular de leptospirosis animal: un método único de extracción y purificación de ADN <i>Hamer, M; Saraullo, V; Brihuega, B; Watanabe, O, Martinez, M, Grune Loffler, S.</i> .....	146
Influencia ambiental sobre los hábitos alimentarios del lobo marino de un pelo sudamericano <i>Otaria byronia</i> en Promontorio Belén (Río Negro-Argentina). <i>Harrington, A, Daneri GA, Volpedo A.</i> .....	147
Separación inmunomagnética para la mejora del diagnóstico de paratuberculosis por técnicas moleculares en materia fecal <i>Hermida, HS; Colavecchia, S; Mundo, S.</i> .....	148
Un olor pre-expuesto en la etapa prenatal incrementa conductas de consumo en la etapa posnatal <i>Ifrán, C; Suárez, A; Pautassi, R; Kamenetzky, G.</i> .....	149
Fitoesteroides modificados como tensioactivos para uso agropecuario <i>Inostroza Giarratana, JF; Grassi, DA; Ojeda, CA.</i> .....	150
Respuesta antiproliferativa de las células EGPE, provenientes de protoescólicas de <i>Echinococcus granulosus</i> G1 y de los proglótidos terminales grávidos de la <i>Taenia hydatigena</i> a diferentes bisfosfonatos. <i>Valdez, AJ; Gertiser, ML; Jensen, O; Roldán, EJA; Fuchs, AG.</i> .....	151
Exploración ecoanatómica y valoración de funcionalidad dinámica en luxación rotuliana congénita en caninos por ultrasonografía <i>Jurado, A; Mercado, M; Corral, JC; Bosco, A, Gándara, E, Pallares, C.</i> .....	152
Caracterización de felinos seropositivos y seronegativos a toxoplasmosis a partir de la información de sus historias clínicas. Hospital Escuela de la FCV UBA. 2019 <i>Kalbarczyk, N; Loiza, Y, Sierra, MF; Lopez, C.</i> .....	153
<i>Miastenia Gravis</i> Adquirida en caninos asociada a síndrome paraneoplásico neurológico: reporte de un caso. <i>Kim, A; Vitale, V; Mundo, S; Duchene, A; Montoro, A; Marina, L; Garro, F; Maineti, V; Suraniti, A.</i> .....	154
Ajuste en la medición de la emisión de óxido nitroso durante el compostaje de barros cloacales <i>Kucher, H; Cosentino, V; Lupi, A, Romaniuk, R.</i> .....	155

Evaluación de la condición nutricional en hembras de la langosta de agua dulce <i>Cherax quadricarinatus</i> expuestas a distintos alimentos de producción nacional <i>Lamberti, M; Rebagliati Cid, A; Timpanaro, S; Stumpf, L; López Greco, L.</i> .....	156
La hormona antimulleriana en gatas domésticas: resultados preliminares <i>Lapuente, C; D'Francisco, F; López Merlo, M; Marchetti, D; Miceli, A; Teicher, R; Gobello, C.</i> .....	157
Aislamiento de <i>Rhodococcus equi</i> a partir de muestras de yeguas y determinación de la carga ambiental en haras de producción equina <i>Leiva, R; Juorio, G; Garda, D; Gómez, L; Perez Aguirreburualde, MS; Muñoz, A; Mesplet, M; Bustos, C.</i> .....	158
La raza frisona a la cabeza: la mejoría de la producción lechera en el tambo ovino de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. <i>Leto, CF; Sesto, I; Schuh, MA; Venditti, N, Coppola, MI.</i> .....	159
Evaluación del uso de probióticos sobre parámetros biométricos en cultivos de pacú ( <i>Piaractus mesopotamicus</i> ) <i>Lizardo Falcón, S; Mendoza, JA; Guidoli, MG; Boehringer, SI; Sánchez, S.</i> .....	160
Transferencia de elementos tóxicos en juveniles de sábalo ( <i>Prochilodus lineatus</i> ). <i>Llamazares Vegh, S; Volpedo, AV.</i> .....	161
Presencia de mercurio en <i>Prochilodus lineatus</i> (sábalo) del Río de la Plata <i>Llorente, CG; Volpedo, AV.</i> .....	162
Estudio de situación de la contaminación por geohelminintos zoonóticos en espacios públicos y recreativos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (resultados preliminares) <i>Loiza, Y; Repetto, S; Cardillo, N.</i> .....	163
Estudio preliminar “uso de antiinflamatorios no esteroides en cirugías menores en cabritos” <i>López, E; Montoya, L; Otero, I; Passini, S; Robles, S; Monfrinotti, A.</i> .....	164
Valor agregado de las pruebas nucleares en el análisis de la calidad espermática bovina <i>López, MS; González, LO; Ghirardosi, MS; Mendeluk, GR; Cisale, HO; Chenlo, PH; Fischman, ML.</i> .....	165
Genotipificación por PCR- HRM ( <i>High Resolution Melting</i> ) de dos marcadores de calpastatina bovina <i>López Naguil, S; Motter, MM; Corva, PM, Soria, LA.</i> .....	166
Producción de anticuerpos de llama contra la MMP-9 equina <i>Lorenzo Smirnoff, A; Lastra, Y; Caggiano, N; Alvarez, E; Gullace, F; De Simone, E.</i> .....	167
Comparación de diferentes medios de cultivo para el desarrollo de embriones porcinos producidos <i>in vitro</i> <i>Lorenzo, MS; Teplitz, GM; Cruzans, PR; Luchetti, CG; Lombardo, DM.</i> .....	168

Malformaciones congénitas hereditarias de la columna vertebral. Frecuencia de casos y tratamiento con técnicas físicas <i>Luna, M; Corti, L; Rolla, D; Mercado, M.</i> .....	169
Confiabilidad inter-observador en el protocolo de evaluación de bienestar en felinos adultos domésticos (PEBf). Primera etapa <i>Mangas, J; de los Santos, F; Baamonde, G; Pucheta, N; Ferrari, HR.</i> .....	170
Análisis de la aplicabilidad del protocolo de evaluación de bienestar en felinos adultos domésticos ( <i>Felis catus</i> ) (PEBf). <i>Mangas, J; de los Santos, F; Pucheta, N; Baamonde, G; Ferrari, HR.</i> .....	171
Evaluación reproductiva a largo plazo de 3 caninos tratados con acetato de deslorelina en el periodo postnatal <i>Marchetti, C; Grisolia, M; Lapuente, C; Priotto, M; Graiff, D; Gobello, C; Faya, M.</i> .....	172
Evaluación de parámetros de activación del estallido respiratorio en la línea celular monocítica bovina "BoMac" <i>Maurizio, E; Rossi, UA; Rossetti, CA.</i> .....	173
ELISA indirecto como prueba complementaria para potenciar el diagnóstico de la tuberculosis bovina <i>Mc Cormick, T; Griffa, N; Marcaccio, F; De la Orden, J; Gil, S; Martínez Vivot, M; Falzoni, E.</i> .....	174
Importancia de las pruebas complementarias a la tuberculinización para el diagnóstico de tuberculosis bovina: Reporte de caso <i>Mc Cormick, T; Falzoni, E; Marfil, J; Griffa, N; Gil, S; Delmas, L; Martínez Vivot, M; De la Orden, J.</i> .....	175
Estudio de la espermatogénesis en <i>Gymnotus carapo</i> <i>Mendez Galarza, S; Olea, G; Flores Quintana, C.</i> .....	176
Caracterización del crecimiento de la microalga nativa <i>Parachlorella kessleri</i> (Chlorophyta) a dos escalas de cultivo en condiciones de laboratorio <i>Miguez, MB; Viau, VE; Fernandez, RS; Conforti, V; Juárez, AB.</i> .....	177
Evaluación de la signología clínica, perfil eosinofílico y ganancia de peso, en jabalíes ( <i>Sus scrofa</i> ) con trichinellosis, criados en confinamiento total <i>Montalvo, F; Ercole, M; Bessi, C; Acerbo, M; Miguez, M; Pillado, S; Pasqualetti, M; Fariña, F; Ribicich, MM.</i> .....	178
Expresión heteróloga y localización subcelular del candidato vacunal GPI4 de <i>Babesia bovis</i> en el ciliado <i>Tetrahymena thermophila</i> <i>Montes, MG; Flores, D; Rodriguez, AE; González Maglio, DH; Florin-Christensen, M; Nusblat, AD; Schnittger, L.</i> .....	179

Efecto del cobre sobre larvas de <i>Tenebrio molitor</i> <i>Moraga, N; Alvarez Gonçalvez, CV; Vazquez, FJ.</i> .....	180
Crecimiento y simbiosis micorrícica arbuscular en leguminosas ante deficiencia y suficiencia de fósforo <i>Morales, N; Chippiano, T; García, I.</i> .....	181
Nuevas alternativas para minimizar el daño por isquemia-reperfusión en trasplante de órganos y su impacto en el proceso de rechazo, en un modelo experimental de trasplante intestinal <i>Moreira, JE, Rumbo, M; Gondolesi, G.</i> .....	182
Resultados preliminares: resistencia antibiótica en <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> meticilino-resistentes aislados en animales de compañía (perros y gatos) <i>Moreira, JE; Smith, VL; Mas, JA; Srednik, ME; Colombatti Olivieri, MA.</i> .....	183
Evaluación de las buenas prácticas de manejo y control de las parasitosis internas y externas en equinos deportivos <i>Moreno, F; Ercole, M; Pasqualetti, MI; Ribicich, MM.</i> .....	184
Estudio de metilación por MS-HRM del promotor II del gen CAST bovino <i>Motter, MM; Corva, PM; Soria, LA.</i> .....	185
Intervalo parto-parto de ovejas Blackbelly con y sin suplementación mineral criadas en condiciones de pastoreo libre en la Amazonía ecuatoriana <i>Moyano, JC; Marini, PR; Fischman ML.</i> .....	186
Composición histológica de las membranas basales del corazón de bovinos con deficiencia secundaria de cobre <i>Nicastro, CN; Postma, GC; Gazzaneo, PD; Grecco, A; Olivares, RWI; Schapira, A; Minatel, L.</i> .....	187
Edades al primer parto y su relación con indicadores desagregados y agregados en vacas lecheras en un sistema de la cuenca centro de Santa Fe <i>Novaira, B; Novaira, F; Marini, PR.</i> .....	188
Diagnóstico mediante amplificación isotérmica de ADN de parvovirus canino - LAMP <i>Novellino, G; Bucafusco, D; Barrios Benito, M; Bratanich, A; Palacios, C; Galdo Novo, S.</i> .....	189
Nuevas herramientas para el control de la fiebre aftosa <i>Nuñez, D; Ibañez, I; Ziraldo, M; Sperat, W; López, N; Mattion, N, D'Antuono, A.</i> .....	190
Administración de Ciprofloxacina para el tratamiento complementario de otitis externas. <i>Paes Rodríguez, J; Stranges, A; Albarellos, G.</i> .....	191
Determinación de la sensibilidad a clindamicina de estafilococos aislados a partir de infecciones en caninos y felinos. Comunicación preliminar <i>Passini, S; Mas, J; Srednik, M; Albarellos, G.</i> .....	192

Validación de un método analítico por HPLC para la cuantificación de Meloxicam en plasma canino <i>Passini, S; Albarelllos, G; Montoya, L.</i> .....	193
Expresión y purificación de nanoanticuerpos con diferentes formatos para la detección de la proteína HA de influenza y la inhibición de la infección viral <i>Pavan, MF; Gomez, JM; Ibañez, LI.</i> .....	194
Ensayos de biosorción de formulaciones de plaguicidas como una herramienta para predecir eficacia en campo <i>Pedraza, CB; Ojeda, CA; Pessagno, RC.</i> .....	195
Oxidación lipídica y daño en ADN en sangre periférica de perros suplementados en la dieta con aceite de pescado <i>Pellegrino, FJ; Riso, A; Gambaro, R; Corrada, Y; Seoane, AI.</i> .....	196
Participación estudiantil en el registro ecográfico de datos de interés para estimar parámetros gestacionales en la raza frisona del tambo ovino de la FCV-UBA <i>Peña, A; Schuh, MA; Sesto, I; Venditti, N; Carancci, P.</i> .....	197
Estudio genotípico de <i>Streptococcus equi</i> subsp <i>zooepidemicus</i> por medio de herramientas de secuenciación de alto rendimiento <i>Pérez, A; Guillemi, E; Farber, M; Mesplet, M; Muñoz, A.</i> .....	198
Descripción de la efectividad analgésica del vendaje funcional en lesiones sacroilíacas del equino <i>Pérez, D; García Liñeiro, JA.</i> .....	199
Aptitud del agua de bebida para porcinos en La Pampa Ondulada <i>Pérez, SML; Sosa, J; Volpe, SM; Orlando, AA; Carbó, LI.</i> .....	200
Conformación y caracterización de paneles de sueros bovinos para evaluación y monitoreo de parámetros de desempeño en ensayos inmunoenzimáticos para la vigilancia activa de fiebre aftosa (FA) <i>Pérez Visñuk, M; DeConti, E; Maddonni, G; Pedemonte, A; Maradei, E; Bergmann, I; Malirat, V.</i> .....	201
El tratamiento con plasma rico en plaquetas inhibe proteasas del líquido sinovial de equinos con osteoartritis <i>Perrone, G; Lastra, Y; González, C; Caggiano, N; Rendine, E; Giménez, R; Pareja, R; De Simone, E.</i> .....	202
Residuos de pesticidas en té y mezcla de hierbas para infusión: puesta a punto de una metodología analítica por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas en tándem y monitoreo de productos de mercado <i>Pietronave, J; Fuertes, S; Villafañe, M; Maseda, J; D'Espósito, L; Ruarte, S; Garbini, A; Jakubowski, N.</i> .....	203

Efecto del agregado de distintas concentraciones de EDTA a diluyentes de equino a base de leche descremada. Resultados preliminares <i>Plaza, JP; Gonzales del Pino, F; Remezovski, NC; Apichela, S; Miragaya, MH.</i> .....	204
Tuberculosis en animales silvestres. Optimización de técnicas diagnósticas para mejorar la sensibilidad y especificidad de detección <i>Ponce, L; Martinez Vivot, M; Carusso, C; Rosso, MP; Petta, A; Marfil, MJ; Barandiaran, S.</i> .....	205
Evaluación morfológica y morfométrica de espermatozoides congelados/descongelados de <i>Mazama gouazoubira</i> <i>Pontón, A; Torres, P; Rivolta, M; Fischman, ML; Cisale, H.</i> .....	206
Tratamiento y prevención de la Queratosis Actínica a causa de radiaciones ultravioletas en <i>Ovis orientalis aries</i> <i>Portillo, FA; Sesto, I; Postma, GC; Coppola, MI.</i> .....	207
Caracterización del gen <i>groEL</i> en <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>Equi</i> y su relación con el fenotipo y el genotipo de los aislamientos <i>Portillo, FA; Bustos, CP; Mesplet, M; Fernández-Garayzábal, JF; Vela, AI.</i> .....	208
Inclusión del Meloxicam en el destartraje canino: monitoreo de sus concentraciones <i>Posse, L; Passini, S; Lupi, M; Monfrinotti, A; Albarells, G; Montoya, L.</i> .....	209
Evaluación del desarrollo gonadal en hembras de la langosta de agua dulce <i>Cherax quadricarinatus</i> expuestas a distintos alimentos de producción nacional <i>Rebagliati Cid, A; Lamberti, M; Timpanaro, S; Stumpf, L; López Greco, L.</i> .....	210
Efecto crioprotector del Dodecil Sulfato de Sodio sobre la célula espermática en caballos criollo argentino <i>Remezovski, NC; Miragaya, MH; Corva, S; Plaza, J; Stornelli, MA.</i> .....	211
Evaluación del bienestar animal en ratones nude con un trasplante tumoral subcutáneo mediante el análisis de las frecuencias comportamentales en la caja <i>Resasco, A; Klug, K; Ayala, MA; Carbone, C; Diaz, SL.</i> .....	212
Estudio de sensibilidad antibiótica de <i>Streptococcus equi</i> subsp <i>zooepidemicus</i> aislados de útero de yeguas <i>Retamar, GC; Bonofiglio, L; Mollerach, M; Muñoz, AJ; Mesplet, M.</i> .....	213
Mortalidad en endoscopia respiratoria en 218 perros y 107 gatos realizadas en CABA y GBA (2010-2019) <i>Ricart, MC; Rodríguez, S; Fernández, V.</i> .....	214
Mortalidad anestésica en endoscopias digestivas en 230 perros y 36 gatos realizadas en CABA y GBA (2010-2019) <i>Ricart, MC; Rodríguez, S; Fernández, V.</i> .....	215

Análisis histoquímico de polifenoles de la planta medicinal <i>Ligaria cuneifolia</i> <i>Ricco, MV; Bari, ML; Bagnato, F; Varela, BG; Wagner, ML; Álvarez, MA; Ricco, RA.</i> .....	216
Manipulación de la apertura estomática por bacterias fitopatógenas del género <i>Xanthomonas</i> <i>Rios, CA; Conforte, V; Malamud, F; Vojnov, A; Gudesblat, GE.</i> .....	217
Imiquimod genera estrés oxidativo en células endoteliales normales y de hemangioma murino <i>Rocco, Rodrigo; Wainstok, Rosa; Cochón, Adriana; Gazzaniga, Silvina</i> .....	218
Actividad diferencial en ovarios y evaluación de la proliferación de ovocitos y células de la granulosa de un murciélago sudamericano, <i>Eumops patagonicus</i> (Chiroptera: Molossidae) <i>Rodríguez, FE; Olea, GB; Aguirre, MV; Lombardo, DM.</i> .....	219
Análisis filogenético y expresión génica en distintos tejidos de la familia de subtilisinas de cebada <i>Rodríguez, MI; Wirth, SA; Roberts, IN.</i> .....	220
Determinación de atrazina en aguas subterráneas del norte de Grecia <i>Rodríguez, MS; Parlakidis, P; Vryzas, Z; Pérez Carrera, A; Fernández-Cirelli, A.</i> .....	221
Análisis de riesgo por consumo de agua y pescado del arroyo Ramos (Misiones, Argentina) <i>Rolón, ME; Avigliano, E; Rosso, JJ; Mabragaña, E; Volpedo, AV.</i> .....	222
Protective effects of dexmedetomidine in early experimental sepsis <i>Ronchi, J; Olea, G; Huespe, L; Farizano, D; Schelover, E; Aguirre, MV; Stoyanoff, TR.</i> .....	223
Áreas urbanas y periurbanas de la región metropolitana de Buenos Aires: evaluación de los efectos ambientales en los usos del suelo <i>Rositano, F; Civeira, G.</i> .....	224
Desarrollo de una nueva herramienta diagnóstica para detectar tuberculosis en fauna silvestre <i>Rosso, P; Marfil, MJ; Eirin, ME; Bucafusco, D; Tammone, A; Peña Martínez, J; Stempler, A; Barandiaran, S.</i> .....	225
Estudio retrospectivo de la presencia de <i>Trichinella</i> en muestras de cerdos, jabalíes y productos porcinos en Argentina <i>Ruarte, MT; Morici, GE; Dominguez, MG.</i> .....	226
Conjugación de un anticuerpo específico frente a suero de ciervo con peroxidasa para su uso como reactivo. <i>Saiet, J; Calabrese, A; Carrizo, A; Colavecchia, S.</i> .....	227
Ensayo ecotoxicológico: exposición de <i>Armadillidium sp</i> a Zn presente en sustrato y agua del sistema agropecuario <i>Sánchez Fulgueiras, L; Alvarez-Goncalvez, CV; Arellano, F; Pérez Carrera, A.</i> .....	228
Descripción de caso: osteopatía hipertrófica pulmonar (enfermedad de Pierre Marie) secundaria a bronconeumonía en un equino de salto <i>Sánchez Parra, Erick Alexander; García Liñeiro, José Alberto.</i> .....	229

Primera detección de <i>Leptospira</i> spp. En <i>Tadarida brasiliensis</i> y <i>Eptesicus</i> spp. <i>Saraullo, V; Hamer, M; Watanabe, O; Grune, S; Martinez, M; Brihuega, B.</i> .....	230
Diferente perfil fermentativo de hidratos de carbono de <i>Streptococcus equi</i> subsp <i>zooepidemicus</i> de muestras clínicas <i>Sarcone, N; Etchevarne, C; Perez, AE; Buscema, MR; Bustos, CP; Muñoz, AJ.</i> .....	231
Aptitud de agua de bebida para ganado bovino de cría en la Cuenca del Salado <i>Sassano, NA; Carbó, LI; Volpe, SM; Gil, SB; Orlando, AA.</i> .....	232
Osteosíntesis de fractura de ilion mediante placa de bloqueo cónico. Reporte de caso. <i>Savan, C; Fernandez Mendy, M; Corra, J; Mele, E; Guerrero, J.</i> .....	233
Estudio morfológico y morfométrico de espermatozoides de peces autóctonos de la Cuenca del Plata <i>Schulman, E; Rivolta, MA; Torres, P; López, G; Cisale, H; Fischman, ML.</i> .....	234
Cambios alométricos en la forma del caparazón del camarón ornamental <i>Neocaridina davidi</i> <i>Sganga, DE; Tomas, AL; López Greco, LS.</i> .....	235
Evaluation of three commercial diets in relation to offspring quality for the culture of the ornamental shrimp “Red Cherry” <i>Neocaridina davidi</i> <i>Sganga, DE; López Greco, LS.</i> .....	236
Identificación fenotípica de estafilococos coagulasa positivos aislados de animales de compañía (perros y gatos) <i>Smith, VL; Moreira, JE; Mas, JA; Srednik, ME; Colombatti Olivieri, MA.</i> .....	237
Osteomielitis: diagnóstico y control evolutivo con ecografía musculoesquelética <i>Soriano, M; Fort, S; Bruzzone, C; Corral, J; Mercado, M; Pallares, C.</i> .....	238
Análisis de perfiles de proteínas en líquido sinovial de equinos con diferentes patologías articulares <i>Soto, SA; Perrone, G; Gonzalez, C; Rendine, E; Ive, P; De Simone, EA.</i> .....	239
Generation and characterization of nanobodies against the lotp protein of <i>Candidatus</i> ‘ <i>Liberibacter asiaticus</i> ’, agent of citrus greening <i>Sperat, W; Gomez, J; Pagliali, F; Gonzalez, C; Vojnov, A; Ibañez I.</i> .....	240
Farmacocinética de ciprofloxacina (comprimidos de administración oral) en caninos <i>Stranges, A; Passini, S; Lupi, M; Lorenzini, P; Almoño, B; Albarells, G.</i> .....	241
Evaluación del efecto toxicológico de flúor mediante el uso del bioensayo <i>Allium cepa</i> <i>Tacchella, PR; Rodriguez, MS; Pérez Carrera, AL; Fernández Cirelli, A.</i> .....	242
Procesamiento de pericardio bovino como bioprótesis para la resolución de defectos cavitarios en grandes animales <i>Tambella, VM; Cantatore, SE; García, JP; Nejamkin, P; Viviani, P; Rosatti, JJ; Rivulgo, VM; Moscuizza, CH.</i> .....	243

Cocultivo de células luteales porcinas y complejos cumulus ovocito porcinos durante la MIV: efecto sobre el endurecimiento de la zona pelúcida Post-MIV <i>Teplitz, GM; Lorenzo, MS; Cruzans, PR; Lombardo, DM.</i> .....	244
Evaluación de la condición nutricional de los juveniles de la langosta de agua dulce <i>Cherax quadricarinatus</i> expuestos a distintos alimentos de producción nacional <i>Timpanaro, S; Battista, A; Wicki, G; López Greco, L; Stumpf, L.</i> .....	245
Evaluación de parámetros zootécnicos en hembras pre adultas de la langosta de agua dulce <i>Cherax quadricarinatus</i> alimentadas con 2 dietas nacionales. <i>Timpanaro, S; Rebagliati Cid, A; Lamberti, M; Stumpf, L; López Greco, L.</i> .....	246
Dinámica de las reservas energéticas en juveniles de la langosta de agua dulce <i>Cherax quadricarinatus</i> durante condiciones de restricción alimenticia y bajo alta densidad <i>Timpanaro, S; Cárdenas Sarmiento, P; López Greco, L; Stumpf, L.</i> .....	247
Reproducción experimental de la infección de <i>Eimeria</i> spp. en pollos parrilleros a partir de un aislamiento de campo <i>Tomazic, ML; Delgado, F; Balbiani, F; Jauregui, G; Chacana, P; Schapiro, JH; De Franceschi, M; Palacios, L; Rodríguez, AE.</i> .....	248
Detección de <i>Mycobacterium bovis</i> en leche bovina a través de bacteriología y PCR <i>Tomazic, ML; Celi, AB; Garro, CJ; Garbaccio, SG.</i> .....	249
Detección y diferenciación molecular en simultáneo de especies de <i>Eimeria</i> spp. que infectan aves comerciales <i>Tomazic, ML; Delgado, F; Balbiani, F; Jauregui, GR; Schapiro, JH; Palacios, L; De Franceschi, ME; Rodríguez, AE.</i> .....	250
Frecuencia de los diferentes tipos de lesiones en la columna lumbar de caninos <i>Toscano, J; Rolla, D; Mercado, M; Corti, L.</i> .....	251
Evaluación de tres tiempos de observación de los parámetros comportamentales en vicuñas durante captura comunitaria <i>Vaca, A; Ferrari, HR; Marcoppido, GA.</i> .....	252
Caracterización de comportamiento en situación de captura comunitaria de la especie <i>Vicugna vicugna</i> <i>Vaca, A; Ferrari, HR; Marcoppido, GA.</i> .....	253
Caracterización anatómica e histológica del cerebro y cerebelo de la morena atigrada <i>Vallejos, E; Arce, CA; Garcia Muzzachiodi, B; Echazarreta, L; Flores Quintana, C.</i> .....	254
<i>Escherichia coli</i> productor de diarrea infantil: persistencia ambiental y virulencia <i>Vasquez Pinochet, S; Sanin, M; Bentancor, A; Blanco Crivelli, X.</i> .....	255
Evaluación clínica del efecto de aceite de cannabis como terapia complementaria en casos de epilepsia refractaria a fármacos convencionales en caninos <i>Vaz, S; Leone, F; Andrinolo, D; Daniela, S; Landoni, MF.</i> .....	256

Evaluación del perfil metabólico de la cerda lactante utilizando como suplemento a la dieta convencional forraje verde hidropónico de avena <i>Velásquez Amores, S; Lorenzo Smirnoff, A; Pillado, S; De Simone, E; Acerbo, M; De Luca Sarobe, Verónica.</i> .....	257
Evaluación de parámetros productivos en cerdas lactantes usando forraje verde hidropónico como suplemento a la dieta convencional. Resultados preliminares. <i>Velásquez Amores, S; Caggiano, N; Pillado, S; Acerbo, M; De Luca Sarobe, V.</i> .....	258
Estudio <i>in vitro</i> de la permeabilidad de butorfanol a través de mucosa nasal equinas <i>Velloso, MI; Vita, M; Andreetta, A; Landoni, MF</i> .....	259
Desarrollo de una PCR dúplex para el diagnóstico diferencial de leptospirosis en animales: primer reporte de detección de leptospiras intermedias en suero bovino <i>Watanabe, O; Hasenauer, FC; Saraullo, VR; Hamer, M; Martínez, ML; Brihuega, BF; Grune Loffler, S.</i> .....	260
Identificación <i>in silico</i> de blancos inmunoterapéuticos y diagnósticos para el coccidio <i>Sarcocystis aucheniae</i> en el metabolismo del glicosilfosfatidilinositol <i>Wieser, SN; Decker Franco, C; Soria, M; de Alba, P; Florin-Christensen, M; Schnittger, L.</i> .....	261
Ultrasonografía Doppler color como método precoz de diagnóstico de gestación en la llama ( <i>Lama glama</i> ) <i>Zampini, EG; Gallelli, MF; Gambarotta, M; Miragaya, MH; Trasorras, VL.</i> .....	262
Desarrollo de un vector adenoviral optimizado como candidato vacunal contra la fiebre aftosa <i>Ziraldó, M; Bidart, J; Seki, C; Periolo, O; De Vincenzo, C; Robiolo, B; Zamorano, P; Mattion, N; D'Antuono, A.</i> .....	263
Estrategias de optimización de vectores adenovirales recombinantes para mediar la generación de partículas similares al virus de la fiebre aftosa <i>Ziraldó, M; González, M; Nuñez, D; Mattion, N; D'Antuono, A.</i> .....	264



# Farmacocinética de Levofloxacin en caninos: estudio preliminar

ALMOÑO, B; ALBARELLOS, G; PASSINI, S; LUPI, M; MONFRINOTTI, A; MONTOYA, L.

La Levofloxacin (LVF) es un antimicrobiano perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas. Es el isómero S-(-) de la sustancia racémica ofloxacin. En su amplio espectro incluye gramnegativos, algunos grampositivos, *Mycoplasma spp*, *Leptospira spp*, *Chlamydia spp*, y algunas micobacterias. Puede administrarse por vía parenteral u oral y su biodisponibilidad varía según la especie. Se hallan pocos estudios farmacocinéticos en medicina veterinaria para este fármaco. Este trabajo propone poner a punto el método microbiológico para la determinación de LVF en plasma canino y por otro lado, comparar la biodisponibilidad de dos formas de administración oral, caninos ayunados versus la administración junto con alimento balanceado. Se empleó el método microbiológico que se basa en relacionar las concentraciones de antibiótico en las muestras con su actividad antimicrobiana *in vitro*, basándose en la inhibición del crecimiento de los microorganismos. Para la puesta a punto se emplearon *Escherichia Coli ATCC 25922* y *Klebsiella pneumoniae ATCC 10031*. Las curvas estándar fueron analizadas para obtener los parámetros de validación: linealidad, precisión y exactitud. Las experiencias se realizaron siguiendo un diseño cruzado en 3 caninos de raza Beagle, clínicamente sanos, recibiendo los 3 tratamientos (A-B-C) en orden aleatorio: A) LVF (10 mg/kg) comprimidos vía PO en ayuno, B) LVF (10 mg/kg) comprimidos vía

PO previa ingesta de alimento, C) LVF (2,5 mg/kg) IV. Posteriormente se obtuvieron muestras sanguíneas seriadas entre los 5 minutos y 24 horas post-administración. Luego se separó el plasma por centrifugación y se conservó a -20°C hasta su procesamiento. En función del límite de cuantificación del método (LOQ) y según la precisión y exactitud del mismo se decidió que la *Klebsiella pneumoniae* era el microorganismo más adecuado para la determinación de este antibiótico. El método fue lineal ( $r^2:0.99$ ) de 25-0.04 ug/ml, siendo 0.04ug/ml el LOQ. Los coeficientes de variación intra e inter-día fueron menores al 5% para todas las concentraciones y la exactitud tuvo un valor menor al 15%. La administración de LVF oral y en ayuno mostró un alto valor de AUC (área bajo la curva), prediciendo tener una alta biodisponibilidad comparada con la vía IV para ambas formas de administración. El agregado de comida mostró un pequeño retraso en la absorción no hallando concentraciones plasmáticas en el primer tiempo de extracción. En función de un análisis farmacocinético no compartimental preliminar efectuado, no parecerían modificarse en gran escala la vida media (C: 8,41h, B: 9,06h, A: 7,72 h) y el AUC (C:52,80, B:54,26, A: 54,40 h\*ug/ml) por las distintas vías. Se espera finalizar con el análisis de los restantes caninos muestreados para poder concluir las posibles variaciones complementarias que pudieran encontrarse en el perfil farmacocinético de la LVF.

# Comparación de la farmacocinética de la cefalexina al 20% administrada por vía intramuscular en cabras secas y en lactación

ALONSO, M; ESMORIS, S; VERA, V; SUAREZ BELZONI, F; DAL VERME, B; ELLIS, V; AMBROS, L; KREIL, V.

En los sistemas de explotación extensivos y semiextensivos de cabras, la ocurrencia de enfermedades infecciosas puede disminuir la rentabilidad, siendo necesario implementar tratamientos terapéuticos racionales para esta especie. La cefalexina es un antibiótico betalactámico del grupo de las cefalosporinas de primera generación, activa contra microorganismos gram positivos y algunos bacilos gram negativos sin embargo, el uso de antibióticos en animales de producción puede traer asociado la presencia de residuos en los subproductos (carne y leche), por lo que es importante establecer intervalos posológicos adecuados en busca de lograr la eficacia clínica minimizando la presencia de residuos. Los preparados de depósito tienen la ventaja de permitir espaciar el intervalo posológico, facilitando el cumplimiento del tratamiento, especialmente en producciones extensivas o semiextensivas, pero pueden modificar los períodos de retirada de los fármacos. Los diferentes momentos productivos pueden modificar el perfil farmacocinético de las drogas por los cambios fisiológicos que se producen en los animales, y, en el caso de la lactación, por ser la leche una posible vía de eliminación de fármacos. Estos cambios pueden verse reflejados en la eficacia clínica de los antibióticos, especialmente en aquellos que son tiempo-dependientes como la cefalexina. El objetivo del presente trabajo fue comparar

la farmacocinética de la cefalexina al 20% administrada por vía intramuscular en cabras secas y en lactación. Las concentraciones plasmáticas se determinaron mediante el método microbiológico, utilizando *Kocuria rizophila* ATCC 9341 como microorganismo patrón. La curva fue validada en plasma para linealidad ( $r^2$ : 0,988 y 0,994), exactitud (13,72% y 21,41%) y precisión (3,72% y 2,23%) para concentraciones entre 50 y 0,39  $\mu\text{g/ml}$ . Los resultados fueron analizados utilizando Graph Pad Prism, Excel y Topfit. Los límites de cuantificación y de detección del método fueron de 0,78  $\mu\text{g/ml}$  y 0,39  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente. Los parámetros farmacocinéticos para la administración intramuscular fueron:  $C_{\text{máx}}$ : 11,57  $\pm$  5,08 y 18,44  $\pm$  4,62;  $T_{\text{máx}}$ : 1  $\pm$  0,5 y 1,13  $\pm$  0,31;  $t_{1/2}$ : 2,72  $\pm$  0,63 y 0,92  $\pm$  0,16 y  $\text{TMR}_{\text{inf}}$ : 4,337  $\pm$  1,9 y 2,12  $\pm$  0,22;  $T > \text{CIM}$ : 9,03  $\pm$  2,46 y 5,26  $\pm$  0,43, para cabras secas y en lactación, respectivamente. Los resultados obtenidos demostraron que no hubo una diferencia significativa al comparar ambos estados fisiológicos para la vía intramuscular ( $p \leq 0,05$ ). Esto nos permite concluir que no se requiere realizar modificaciones en la posología para la cefalexina de depósito al 20% cuando se administre por vía intramuscular en cabras secas o en lactación, proponiendo que un intervalo posológico adecuado sería la administración cada 12 h.

# Descripción de un brote compatible con Ectima Contagioso

Anacoreto, M<sup>1,2</sup>; Portillo, F<sup>1,3</sup>; Giampaolli, C<sup>1,2</sup>; Veksler Hess, J<sup>2</sup>; Coppola, MI<sup>1,2</sup>; Sesto, I.<sup>1,2</sup>

El siguiente trabajo tiene como objetivo describir la presentación de una enfermedad compatible con Ectima Contagioso en un brote atípico durante el mes de enero del año 2018. El Ectima Contagioso (EC) es una enfermedad infecciosa de origen viral que afecta principalmente ovinos y caprinos. Se caracteriza por generar lesiones costrosas y proliferativas en la piel y uniones mucocutáneas. La vía de ingreso es a través de pequeñas laceraciones o heridas en piel o mucosas para multiplicarse en el estrato espinoso de las células epidérmicas. Tradicionalmente se observan presentaciones anuales de tipo estacional postparto. Sin embargo, la que aquí se describe corresponde a una manifestación atípica de verano. Al momento del brote, en el establecimiento se encontraban 48 animales de raza Frisona y Pampinta. Se inició en la categoría borrega y se diagnosticó mediante evaluación clínica. Como primera medida se aislaron a los animales afectados, sin embargo, la enfermedad se diseminó rápidamente comprometiendo otras categorías. Para el registro de la enfermedad se confeccionaron planillas de seguimiento donde se registró categoría afectada, cantidad de animales con y sin lesiones y la ubicación de las mismas. Con esta información se obtuvieron datos de prevalencia y clasificación del tipo de presentación. Se realizó un registro fotográfico de los animales afectados y se recolectaron muestras de costras provenientes de las lesiones. Estas fueron conservadas a -80° C según la

bibliografía consultada para confirmar el diagnóstico definitivo. Para evitar infecciones secundarias y miasis se aplicó clorhexidina y antimiasmico en las áreas afectadas. Del análisis de los registros se obtuvieron datos de prevalencia, siendo del 100% tanto en la categoría borrega como corderos y del 90% en animales adultos. Las zonas afectadas fueron morro, abarcando labio y ollares, ojo, oreja, rodete coronario y ubre. Las lesiones, en su mayoría, alcanzaron altos grados de desarrollo en la zona del morro. Los animales fueron controlados periódicamente hasta la finalización del brote. El mismo tuvo una duración aproximada de 30 días. La categoría que tardó más tiempo en resolver la enfermedad fue la de los corderos. Según los registros del establecimiento, los animales en estudio habían presentado la enfermedad años anteriores, pero siguiendo los patrones de una presentación tradicional postparto. Las particularidades de este brote estuvieron dadas en primer lugar por las categorías afectadas. Se esperaba que, ovejas y crías, hubiesen adquirido inmunidad frente al virus. A su vez, resulta interesante resaltar que la severidad de las lesiones también se aleja de las descritas en la bibliografía. En esta oportunidad tuvieron mayor desarrollo en la forma facial, con lesiones muy exuberantes. Por último, las localizaciones fueron más extendidas registrándose lesiones en morro, periferia ocular, parte externa del pabellón auricular y presentación podal.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Tambo de Pequeños Rumiantes. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Producción de Ovinos. <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Biológica.

# Desarrollo folicular en *Gymnotus carapo*

ARCE, C<sup>1</sup>; VALLEJOS, E<sup>2</sup>; AYALA, F<sup>1</sup>; GARCIA MUZZACHIODI, B<sup>1</sup>; ECHAZARRETA, L<sup>2</sup>;

FLORES QUINTANA, C<sup>2</sup>.

En los trabajos científicos, existe una gran variación de la nomenclatura de las células germinativas ovarianas. Muchas clasificaciones se hicieron agregando u omitiendo algunas fases del desarrollo o nombres o números diferentes para designar las fases del desarrollo oocitario, causando dificultades de interpretación y comprensión del proceso. El objetivo del presente trabajo fue describir el desarrollo folicular de *Gymnotus carapo*. Para ello, se capturaron ejemplares hembras en diferentes estadios de desarrollo gonadal. Los mismos fueron anestesiados con solución de Benzocaína al 2 % y sacrificados por sección medular. Muestras de ovario fueron fijadas en formol al 10 % y procesadas con técnica histológica de rutina. Los cortes histológicos fueron analizados con el programa computacional Software Image-Pro Plus, versión 4.5 Media Cybernetics, Inc. Los ovocitos cromatina nucléolo son de forma irregular, citoplasma basófilo y núcleo grande, esférico y numerosos nucleolos. La fase perinucleolar presenta forma redondeada, núcleo oval y de disposición central, con citoplasma abundante y basófilo. Se observó un corpúsculo fuertemente teñido, el cuerpo de Balbiani, formado por organelas citoplasmáticas. La fase alveolo cortical o pre-vitelogénica, presentaron forma redondeada y núcleo voluminoso, con varios nucleolos basófilos, nucleoplasma acidófilo y citoplasma pálido. En este estadio aparecen alvéolos corticales que son estructuras vacuolares eosinófilas que ocupan la región periférica

del ovocito. La presencia de las estructuras vacuolares indica el inicio de la vitelogénesis endógena, donde las células foliculares secretan proteínas que se concentran en gránulos de vitelo, desde la periferia hacia el centro del ovocito. Los ovocitos en vitelogénesis proteica macroscópicamente presentaron coloración amarilla. Histológicamente presentaron citoplasma acidófilo, por el depósito de gránulos de vitelo. La membrana vitelinica se presentó más gruesa y las células foliculares tomaron un aspecto más alargado sobre la membrana ovular, consecuencia del aumento del volumen del folículo. A nivel de la membrana vitelina se observaron numerosas estrías transversales. Los ovocitos en vitelogénesis completa o maduros se caracterizaron por citoplasma completo de placas de vitelo y núcleo excéntrico. Los folículos atrésicos se caracterizaron por disminución progresiva del tamaño, fragmentación de la zona pelúcida e hipertrofia de las células foliculares. En este estadio ocurre desorganización de la célula reproductiva, generando como consecuencia la reabsorción del vitelo. El conocimiento del desarrollo folicular en teleósteos, es una herramienta primordial para la formulación de una escala de maduración ovariana. La información obtenida hasta el momento contribuye al conocimiento para entender el proceso de reproducción de esta especie para comenzar a generar tecnologías dirigidas a la producción de este recurso a fin de disminuir la extracción en los ambientes naturales.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Histología Animal. <sup>2</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Veterinarias. Histología y Embriología Animal.

# Uso de diferentes variedades de lupino en alimentos para acuicultura: efecto de la fitasa sobre la biodisponibilidad *in vitro* de la proteína y el fósforo

AZCUB, RL<sup>1</sup>.

Las legumbres son una importante fuente proteica, lipídica y de otros nutrientes. El interés por incluirlas en dietas para acuicultura asciende debido al crecimiento de la actividad, la alta demanda de proteína y lípidos y la necesidad de reducir la utilización de harina (FM) y aceite de pescado. Entre las legumbres, el lupino ha sido identificado como una fuente con potencial para reducir la inclusión de FM en países como Australia, Chile y la Unión Europea. Para aprovechar esta legumbre es necesario conocer perfil nutricional, características generales y existencia de factores anti-nutricionales. En este sentido, diferentes variedades de lupino y una de soja de referencia (procesados, con cáscara y sin cáscara) con y sin inclusión de una dosis de fitasa fueron evaluadas en su composición nutricional, contenido de ácido fítico y perfil de solubilidad de proteína y fósforo (P) en un rango de condiciones de pH (2.0 a 9.0). Se implementó un sistema de simulación gastrointestinal *in vitro* que reproduzca las condiciones digestivas de trucha arcoíris (pH, temperatura, enzimas digestivas, relaciones enzima:sustrato, duración de las fases) para evaluar el aprovechamiento de nutrientes, el rol de los factores anti-nutricionales y el efecto de la fitasa (enzima que actúa sobre el fitato) como aditivo en la dieta sobre la bioaccesibilidad proteica y del fósforo en dos cultivares de lupino con alto (*Lupinus mutabilis* E44) y bajo (*Lupinus angustifolius* LILA) contenido de ácido fítico nativo. En vasos de 50 mL en agitador magnético múltiple se incluyó 100 mg

de distintos lupinos y soja en 20 mL de agua destilada. Mediante el uso de soluciones buffer con diferentes concentraciones de NaOH y HCl (0,1 M; 1 M y 10 M) se controló el pH desde 2 hasta 9, tomando muestras de 0,7 mL con micropipeta. Las variables valoradas fueron proteína soluble, fósforo soluble y aminoácidos (AA) totales. La inclusión de fitasa 2.500 FTU/kgMS elevó los niveles de  $PO_4^{3-}$  liberados durante la fase intestinal en un 122,7 % para E44W; 115,6% para E44D; 63,8% para LILAW; 57,9% para LILAD y 91,6% para soja respecto de los controles sin fitasa. La variedad E44 sin cáscara (E44D) presentó la mayor liberación de  $PO_4^{3-}$  al final de la fase intestinal ( $4,098 \pm 0,02$  mg/g) no evidenciándose diferencias significativas en ANOVA respecto de la misma variedad con cáscara ( $4,096 \pm 0,37$  mg/g) al ser tratadas con fitasa 2.500 FTU/kgMS. La soja de referencia tratada con fitasa mostró menor respuesta fitasa que E44 ( $3,272 \pm 0,09$  mg/g) superando la respuesta de LILA ( $2,398 \pm 0,2$  y  $2,561 \pm 0,2$  mg/g para LILAW y LILAD, respectivamente). La liberación de  $PO_4^{3-}$  en E44D fue 25% superior mientras que LILAD un 22% inferior a la soja al ser tratadas con fitasa. En cuanto a la biodisponibilidad de aminoácidos, el incremento respecto del control fue de 2,1% para E44W; 1,1% para E44D; 5,2% para LILAW; 1,2% para LILAD y 3,1% para soja. La variedad de lupino E44 podría ser una alternativa viable como fuente proteica de buena calidad destinada a la fabricación de alimentos para acuicultura con bajo impacto ambiental.

# Evaluación de la influencia de macro y micronutrientes, el aporte orgánico de nitrógeno y el tipo y la concentración de la fuente carbono sobre la inducción de callos de *Ligaria cuneifolia* (R. ET P.) Tiegh (Loranthaceae) a partir de embriones

BARI, ML<sup>2,3</sup>; RICCO, MV<sup>1,2</sup>; CORNACCHIOLI, C<sup>5</sup>; RICCO, RA<sup>4</sup>; WAGNER, ML<sup>4</sup>; ALVAREZ, MA.<sup>1,2</sup>

Muchas plantas hemiparásitas de la familia Loranthaceae son usadas en medicina popular en distintos lugares del mundo. El muérdago criollo (*Ligaria cuneifolia*) es una especie nativa de nuestro país representativa de esta familia con una distribución desde Entre Ríos hasta la precordillera andina y desde el Norte hasta La Pampa. Tradicionalmente se la utiliza como hipotensora y, en investigaciones recientes, se demostró que tiene actividad hipolipemiente, antioxidante y antitumoral. El cultivo agronómico de especies hemiparásitas es dificultoso lo que hace de la biotecnología vegetal una alternativa para la producción de sus compuestos. En ensayos anteriores, nuestro grupo de trabajo logró la inducción de callos a partir del cultivo de embriones en medio de cultivo White con hidrolizado de caseína 500 mg/L como aporte orgánico de nitrógeno, con ácido naftalenacético (ANA) 0,5 ppm y kinetina (Kin) 2 ppm como reguladores de crecimiento, con sacarosa 4% P/V como fuente de carbono y con vitaminas Gamborg B5; sin embargo, la mayoría de los callos presentaron un crecimiento lento (índice de crecimiento =  $1,16 \pm 0,08$ ). Teniendo en cuenta lo antedicho, el objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de: 1) diferentes combinaciones de macro y micro nutrientes, 2) el aporte orgánico de nitrógeno, y 3) el tipo y la concentración de la fuente carbono; sobre la inducción, el crecimiento y el mantenimiento de callos de *Ligaria cuneifolia* a partir de embriones. Para ello se ensayaron

4 combinaciones de macro y micro nutrientes (correspondiente a los medios de cultivo White, Gamborg B5, Murashige & Skoog y Lloyd & Mc Cown), 2 fuentes de carbono (glucosa y sacarosa) en dos concentraciones (1% y 3% P/V) y una fuente orgánica de nitrógeno (hidrolizado de caseína) lo que dio un total de 20 tratamientos. Los cultivos se desarrollaron bajo fotoperíodo de 16 horas a  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ . Se trabajó con un n=20 para cada tratamiento y el experimento se diseñó utilizando el programa informático Design Expert para valoración estadística de la significancia relativa de resultados en ensayos de variables dicotómicas múltiples. La combinación del medio White con hidrolizado de caseína 500 mg/L y glucosa 1% P/V fue con la que se obtuvo la mayor frecuencia de formación de callo (82%) y la menor tasa de oxidación y muerte de los embriones. En base a estos resultados se puede concluir: que la combinación de macro y micro nutrientes ideal para la formación de callos a partir de embriones es la del medio White; que el aporte orgánico de nitrógeno a través del hidrolizado de caseína es necesaria para que los embriones de *Ligaria cuneifolia* den callos friables (puesto que en su ausencia los embriones elongan pero dan callos con muy baja frecuencia -20 %- y de crecimiento limitado); y que los embriones pueden utilizar tanto sacarosa como glucosa como fuente de carbono en las 2 concentraciones ensayadas, obteniéndose mayor frecuencia (20%) de callos con glucosa 1%.

<sup>1</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. <sup>2</sup>CEBBAD-Cátedra de Farmacobotánica y Farmacognosia, Carreras de Farmacia y Bioquímica, Universidad Maimónides, <sup>3</sup>Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. <sup>4</sup>Cátedra de Farmacobotánica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. <sup>5</sup>Universidad de Morón, Buenos Aires.

# Obtención y caracterización de anticuerpos específicos a antígenos de *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (MAP)

BARNECH, ML<sup>1,2</sup>; JOLLY, A<sup>2</sup>; COLAVECCHIA, S<sup>2</sup>; SUHEVIC, J<sup>3</sup>; MUNDO, SL<sup>2</sup>

La paratuberculosis es una enfermedad crónica intestinal granulomatosa causada por *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (MAP), que afecta a rumiantes en todo el mundo. Para contribuir en la mejora de la detección de animales infectados con MAP en su estadio temprano, evaluaremos en suero y materia fecal, la presencia del lipoarabinomano (LAM) y otros componentes antigénicos del soma bacteriano o de secreción y la respuesta inmune humoral específica frente a los mismos, en el marco de una beca doctoral. El objetivo en esta etapa fue desarrollar los anticuerpos específicos necesarios. Inmunizamos conejos con: extracto de pared bacteriana conteniendo LAMs de MAP (LAM\_MAP) o de *M. phlei* (LAM\_PH), antígenos de secreción de MAP (SN\_CULTIVO) y MAP inactivada por calor (MAPi). Cada animal recibió 250 µg de hidratos de carbono en 500 µL totales/dosis, distribuidos en dos sitios de aplicación subcutánea. Se aplicaron 3-4 dosis, con intervalos de 15 días. Luego, se realizó una sangría preliminar para evaluar título de anticuerpos específicos y se decidió concluir con el plan de inmunización en los animales con títulos  $\geq 6400$ . Diez días luego de la tercera/cuarta dosis se realizó la sangría total (Protocolo CICUAL FCV/UBA N° 2018/26). Los sueros obtenidos se evaluaron mediante ELISA. Frente a los antígenos secretorios de MAP, se identificaron altos niveles de anticuerpos específicos en los animales inmunizados con SN MAP y MAPi (DO450nm  $1,92 \pm 0,07$  y  $1,84 \pm 0,01$ ; respectivamente). Respecto al

antígeno LAM MAP, todas las estrategias de inmunización presentaron alta positividad, incluso la inmunización con LAM\_PH, sugiriendo interacción cruzada entre estos antígenos. A través del Westernblot pudimos caracterizar la reactividad de los sueros obtenidos. Todos reaccionaron con una banda de 30-40 kDa PM, compatible con LAM\_MAP al enfrentarlos con el extracto LAM\_MAP (DO450nm  $1,80 \pm 0,23$ ;  $1,3 \pm 0,05$ ;  $1,18 \pm 0,37$  y  $1,20 \pm 0,03$ ; para inmunizados con LAM\_MAP, LAM\_PH, MAPi y SN\_CULTIVO, respectivamente). Estos resultados indican que logramos obtener reactivos que identifican al LAM de MAP. Frente a los Ag de secreción de MAP, los animales inmunizados con SN\_CULTIVO y MAPi presentaron un patrón de bandas semejante: 3 regiones de reconocimiento de PM superior a 100 kDa, una banda compatible con LAM y una banda intensa entre 50-70 kDa PM, compatible con la albúmina sérica bovina (BSA). A fin de confirmar la reactividad frente a BSA, realizamos un ensayo de titulación por ELISA y obtuvimos títulos de 6400 para inmunizados con MAPi y 25600 para SN\_CULTIVO. La presencia de altos títulos de anticuerpos anti-BSA podría interferir en los resultados de las pruebas diagnósticas que pretendemos desarrollar y aplicar en la especie bovina. Por lo tanto, proponemos realizar un nuevo esquema de inmunización en conejos con estos dos antígenos micobacterianos empleando un medio de cultivo libre de BSA para el crecimiento bacteriano.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Becaria Doctoral, Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, MINCyT. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Escuela de Educación Técnico Profesional de nivel medio en Producción Agropecuaria y Agroalimentaria. Buenos Aires, Argentina.

# Obtención de partículas virales de FIV para la optimización de un Western blot como método confirmatorio para su diagnóstico

BARRIOS BENITO, M<sup>1</sup>; NOVELLINO, G<sup>1</sup>; GALDO NOVO, S<sup>1</sup>; BRATANICH, AC<sup>1</sup>; PALACIOS, CA<sup>1,2</sup>. \*

El virus de la Inmunodeficiencia Felina (VIF) es un virus perteneciente a la familia Retroviridae, género lentivirus que, si bien presenta características morfológicas y biológicas semejantes a las de otros miembros de esta familia, sus características antigénicas son distintas. En nuestro país las poblaciones de gatos domésticos presentan una incidencia de FIV de aproximadamente el 45%. Existen diferentes metodologías para el diagnóstico de VIF, entre ellos se incluyen; detección por métodos moleculares directamente del genoma viral o del provirus, inmunodetección de antígenos virales, o de anticuerpos específicos en muestras del huésped infectado. En la Cátedra de Virología de nuestra facultad se encuentra en desarrollo una técnica de inmunoensayo enzimático para la detección de anticuerpos específicos. El objetivo del presente trabajo es desarrollar un sistema de inmunodetección basado en Western blot, como herramienta confirmatoria a las metodologías de diagnóstico provistas por nuestro laboratorio. En esta etapa inicial de la estandarización de la técnica de Western blot, se deben producir partículas virales con un bajo contenido de proteínas del huésped, para

esto se utilizará el clon infeccioso FIV-34TF10. Este clon infeccioso se encuentra inserto en un plásmido que se propagó en *Escherichia coli*, la integridad del ADN plasmídico purificado se controló parcialmente mediante la secuenciación de los LTRs (Long Terminal Repeats) virales (GenBank: M2538.1). El ADN de FIV-34TF10 se utilizó para la transfección de un cultivo de células CrFK, y a las 72 horas post-transfección se pudieron observar sincicios típicos de la infección por este virus. La expresión de proteínas virales se detectó por inmunofluorescencia específica utilizando los anticuerpos monoclonales primarios PAK3-2C1 (MAb anti-p24), PAK3-2B2 (MAb anti-p26) y SU1-30 (SuFc1-30), seguidos del anticuerpo secundario anti-ratón conjugado con el fluorocromo Alexa 488<sup>®</sup>. Con estas producciones iniciales se infectaron nuevos cultivos de CrFK generando stocks de células infectadas, los cuales fueron positivos por PCR a la detección del provirus de VIF. Como conclusión, a partir de un clon infeccioso, se pudieron obtener stocks de virus y de células infectadas con VIF, las que serán utilizadas para el escalado de la producción de VIF destinadas al ensayo confirmatorio mencionado.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Virología Animal, Buenos Aires, Argentina <sup>2</sup>Fundación Pablo Cassará, Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. C. Milstein – CONICET, Buenos Aires, Argentina. \*cpalacios@fundacioncassara.org.ar

# Evaluación de la actividad de MMP-2 y 9 y fracciones proteicas en leche de vacas y ovejas con mastitis clínica y subclínica

BELITZKY, N<sup>1</sup>; CAGGIANO, N<sup>1</sup>; GONZALEZ WULFSOHN, G<sup>1</sup>; PEDREIRA KANTER, M<sup>2</sup>; COPPOLA, M<sup>2</sup>; VEKSLER HESS, J<sup>2</sup>; DE SIMONE, E<sup>1</sup>.

La mastitis bovina es una afección que afecta seriamente la industria láctea. Es por eso que el conocimiento de su fisiopatología es de suma importancia para generar métodos diagnósticos más certeros y tratamientos más eficientes. El estudio de ésta, muchas veces se dificulta en las explotaciones comerciales, por ende la utilización de especies con ciclos productivos más cortos como la oveja podría facilitar su estudio. Por este motivo nos propusimos comparar la actividad de distintas proteasas e indicadores de calidad de leche tanto en vacas como en ovejas. Se tomaron muestras de leche de vacas y vaquillonas de distintos tambos de la Provincia de Buenos Aires, los animales fueron divididos en los siguientes grupos: SANAS (VS), MASTITIS SUBCLÍNICA (VMS) y MASTITIS CLÍNICA (VMC). Los mismo grupos fueron formados con ovejas pertenecientes al tambo escuela de FCV-UBA, quedando los grupos OS, OMS y OMC. Las muestras fueron tomadas de cuartos individuales y de forma aséptica para luego determinar la actividad de las MMP-2 y 9 mediante el método zimográfico. Luego se evaluaron las proteínas en leche mediante SDS-PAGE en un gel con 12% de acrilamida. La

concentración de proteínas totales de la leche se determinó mediante la utilización del kit Proti 2 de Wiener lab., Argentina. Se realizó ANOVA de una vía como análisis estadístico. La actividad de la MMP-2 no tuvo diferencias significativas en las vacas, pero las ovejas sí presentaron diferencias significativas, donde las clínicas tuvieron niveles superiores a las subclínicas y a las sanas ( $p < 0,001$ ). En cuanto a la MMP-9, sí se observaron diferencias significativas entre todos los grupos ( $p < 0,001$ ) tanto en vacas como en ovejas. En lo que respecta a proteínas totales no se observaron diferencias significativas entre los grupos, tanto en vacas como en ovejas. Por otra parte, las concentraciones de alfa y kappa caseína disminuyeron en el grupo VMC ( $p < 0,001$  versus VMS), en el ovino no se observaron diferencias entre los grupos para alfa y kappa caseína. En la oveja la lactoalbúmina disminuyó significativamente en el grupo OMC ( $p < 0,05$  versus OS). Estos resultados nos permiten concluir que las ovejas podrían ser utilizadas como un modelo para evaluar la actividad de la MMP 9 que es la MMP más involucrada en la patogenia de la enfermedad, siendo que tienen un comportamiento similar al bovino.

# Análisis histopatológico de lesiones con diagnóstico macroscópico de tuberculosis bovina procedentes de frigoríficos de La Pampa

BERMEJO, L; VIRGINIA, S<sup>1,2</sup>; FORT, MC<sup>1</sup>; GIMENEZ, HD<sup>1</sup>; MIRANDA, AO<sup>1</sup>; GARBACCIO, SG<sup>2</sup>;

DELGADO, FO<sup>2</sup>.

La Tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad crónica causada por la infección con *Mycobacterium bovis*, quien produce inflamación granulomatosa en los tejidos. Macroscópicamente se observan uno o varios nódulos, blanquecinos, rodeados de tejido conectivo conteniendo material necrótico, mineralizado o no. Microscópicamente, se caracteriza por la acumulación de macrófagos activados, linfocitos, plasmocitos, neutrófilos y/o células gigantes, con un centro necrótico (con o sin mineralización), envuelto por una cápsula de tejido conectivo. En Argentina, dada su importancia económica y sanitaria, se implementa el Programa Nacional de control y erradicación, en el cual la inspección veterinaria en frigoríficos permite la detección de las lesiones macroscópicas compatibles con la enfermedad. El objetivo del presente trabajo fue realizar el diagnóstico histopatológico de lesiones macroscópicamente compatibles con TBB colectadas por el personal de frigoríficos de La Pampa. Se procesaron mediante la técnica histológica de rutina, 76 muestras de órganos (pulmón, hígado, ganglio linfático y músculo esquelético) de bovino colectadas durante la inspección *post mortem*. Los resultados microscópicos se clasificaron en 3 categorías: lesiones compatibles con TBB (LC), lesiones NO compatibles con TBB (LNC), y sin lesiones. En 22 muestras (29%) se observaron LC. Quince de las mismas correspondieron a: ganglio linfático, 4 a hígado y 3 a pulmón. En todas se encontró necrosis con mineralización y

células gigantes, 9 presentaron una lesión única y en 13 se observaron lesiones granulomatosas múltiples en diferentes estadios de desarrollo. En 45 muestras (59%) se observaron LNC. La mayoría se ubicaron en hígado, identificándose hepatitis crónica: con fibrosis e hiperplasia de conductos biliares (13), supurativa focal (10), linfocitaria multifocal (3), y granulomatosa infecciosa no necrotizante focal (2). En ganglio linfático se observó linfadenitis crónica: supurativa focal (4) y piogranulomatosa focal (2). En pulmón se encontró, bronconeumonía crónica: fibrinosupurativa multifocal (4) y piogranulomatosa multifocal (2); y neumonía intersticial (2). En músculo esquelético se observó miositis supurativa (1), necrosis coagulativa (1) y fibrosis (1). Finalmente, 9 muestras de ganglio linfático, pulmón e hígado no tuvieron lesiones (12%). Los resultados obtenidos indican que sólo el 29% de las muestras sospechadas de TBB mediante examen macroscópico fueron microscópicamente compatibles con la enfermedad, siendo esta proporción menor que la reportada por otros autores. El diagnóstico macroscópico de TBB podría impactar tanto sobre el decomiso total o parcial de una canal como en el estatus sanitario de una región. Por ello resulta fundamental que el veterinario inspector esté suficientemente entrenado en la detección de lesiones compatibles con TBB y sus diagnósticos diferenciales, como así también en la toma y envío de las muestras para el diagnóstico de laboratorio.

<sup>1</sup>Área de Sanidad Animal, E.E.A. Anguil. <sup>2</sup>Área de Patología, Instituto de Patobiología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. INTA.

# Comparación de dos velocidades de centrifugación para seleccionar espermatozoides de semen fresco de llama utilizando Androcoll-ETM

BERTUZZI, ML<sup>1,2</sup>; FUMUSO, FG<sup>1,2</sup>; CARRETERO, MI<sup>1,2</sup>.

La filancia y elevada viscosidad estructural que presentan los eyaculados de los camélidos sudamericanos dificultan la separación de los espermatozoides del plasma seminal (PS), siendo necesario para ello centrifugaciones a elevada velocidad o la incubación enzimática de las muestras. Recientemente, logramos separar espermatozoides de semen fresco de llama del PS utilizando diferentes tamaños de columna de Androcoll-ETM (AE) mediante centrifugación a baja velocidad (800 g) y prescindiendo del uso de enzimas, no obteniendo una mejora de la calidad seminal. El objetivo de este trabajo fue comparar diferentes velocidades de centrifugación en muestras de semen fresco de llama no tratado enzimáticamente y sometidas al pasaje a través de AE, con la finalidad de mejorar la calidad espermática y lograr una mayor recuperación de espermatozoides. Se obtuvieron 25 eyaculados de 5 machos mediante electroeyaculación bajo anestesia general. Se trabajó con una concentración  $\leq 50 \times 10^6$  espermatozoides/ml y un volumen de 2 ml, diluyendo los eyaculados con HEPES-Ham (H-Ham) cuando era necesario. Luego, se armaron dos columnas de 4 ml de AE y 1 ml de muestra que se centrifugaron durante 20 min, a 600 y 1000 g, respectivamente. El pellet se resuspendió en H-Ham y se evaluaron las siguientes características espermáticas: movilidad (oscilatoria, progresiva, circular

y total), concentración, funcionalidad e integridad de las membranas, morfología, grado de condensación de la cromatina e integridad acrosomal. Para el análisis estadístico se utilizó un diseño factorial de un factor (tratamiento) con 3 niveles: fresco, 600 y 1000 g. No se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la movilidad oscilatoria, progresiva, circular y total ni en el número total de espermatozoides recuperados, entre los tratamientos. Tampoco se observaron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) en la viabilidad, funcionalidad de la membrana, integridad acrosomal, ni en el grado de condensación de la cromatina, entre las diferentes velocidades, ni entre ellas y el semen fresco. Se encontró una disminución ( $p < 0,05$ ) en el porcentaje de espermatozoides con piezas intermedias anormales en ambas velocidades con respecto al semen fresco, a pesar de no observarse diferencias significativas en cuanto a la cantidad de espermatozoides con morfología normal. En conclusión, las velocidades de centrifugación utilizadas no permitieron aumentar el número de espermatozoides recuperados ni mejorar la calidad espermática del semen fresco de llama no tratado enzimáticamente. Sin embargo, ambos protocolos lograron separar los espermatozoides del PS, permitiendo su uso para biotecnologías reproductivas como la fertilización in-vitro.

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

# Comparación del patrón de distribución larvaria de *Trichinella patagoniensis*, *T. Pseudospiralis*, *T. Spiralis* en jabalíes (*Sus scrofa*)

Bessi, C<sup>1,2</sup>; Ercole, M<sup>1</sup>; Fariña, F<sup>1,2</sup>; Acerbo, M<sup>3</sup>; Ribicich, MM<sup>1,2</sup>; Pasqualetti, MI<sup>1,2</sup>.

La trichinellosis es una enfermedad zoonótica y endémica en Argentina producida por parásitos del género *Trichinella* que genera brotes humanos y focos en porcinos y animales silvestres, debido principalmente al consumo de carne cruda o insuficientemente cocida. En nuestro país se han aislado cuatro especies de *Trichinella*: *T. spiralis*, *T. pseudospiralis*, *T. britovi* y *T. patagoniensis*. Hasta el momento, esta última especie sólo fue hallada en Argentina. El consumo de carne de caza proveniente de diferentes animales silvestres se ha visto involucrado como fuente de infección en muchos casos de trichinellosis humana. El jabalí es un animal frecuentemente cazado en la Argentina, que incluso es considerado plaga en múltiples regiones. Por ello, el objetivo del presente estudio fue determinar el patrón de distribución muscular de las larvas (L1) de *T. patagoniensis*, *T. pseudospiralis* y *T. spiralis* en jabalíes (*Sus scrofa*). Se utilizaron cinco jabalíes para cada especie de *Trichinella*, y tres animales como grupo control no infectado. Los animales fueron inoculados por vía oral con 20000 L1/animal. Luego de 19 semanas post infección (pi) fueron sacrificados. De cada animal, se tomaron muestras de nueve músculos y grupos musculares de interés parasitológico y comercial.

Los mismos fueron: masetero, lengua, esófago, bondiola, paleta, diafragma, solomillos, jamón e intercostales. Se procesaron 20 g de músculo para *T. spiralis* y *T. pseudospiralis* y 100 g para *T. patagoniensis*, libres de grasa y fascias, y fueron analizados de manera individual por medio de la técnica de digestión artificial. Los valores de L1 recuperadas se expresaron en larvas por gramo (lpg). Los músculos que presentaron mayor carga larvaria fueron lengua y diafragma para las tres especies bajo estudio. La carga parasitaria fue mayor en los jabalíes infectados con *T. spiralis*, seguidos por aquellos infectados con *T. pseudospiralis*, y por último aquellos con *T. patagoniensis*. La distribución muscular promedio en el diafragma de jabalíes infectados con *T. spiralis* fue de 672 lpg, para *T. pseudospiralis* fue de 63 lpg, mientras que en animales infectados con *T. patagoniensis* fue de 0,016 lpg. Estas diferencias en la densidad larvaria entre las especies fueron estadísticamente significativas ( $p < 0,04$ ). El rol de los jabalíes en la transmisión de las especies de *Trichinella* halladas en la Argentina, los métodos de diagnósticos adecuados y el aporte de nuevos conocimientos de estas especies es fundamental para el control y prevención de esta importante zoonosis en la región.

La presente investigación fue aprobada por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la FCV-UBA, bajo el número N° 2015/16. Este trabajo fue financiado por los siguientes proyectos: UBACyT20020130100336BA, UBACyT20020170200331BA, PICT- 2015-2350 y PICT-2015 -3469

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

# Variación temporal de la dieta de juveniles y adultos de *Odontesthes argentinensis* en La Lucila del Mar, Buenos Aires

BIOLÉ, FG<sup>1</sup>; VOLPEDO, AV<sup>1</sup>; THOMPSON, GA<sup>1</sup>.

El presente trabajo tiene como objetivo analizar la variación temporal de la dieta de individuos juveniles y adultos del pejerrey marino *Odontesthes argentinensis* provenientes de la localidad de La Lucila del Mar (Buenos Aires). Se colectaron un total de 429 ejemplares (juveniles, N=321; adultos, N=108) bimestralmente desde octubre de 2015 hasta marzo de 2017. Se extrajeron los estómagos de los peces y los mismos se preservaron en alcohol 80% para su posterior análisis en laboratorio. Se analizaron los contenidos estomacales y se identificaron las presas al mayor nivel taxonómico posible. Posteriormente, se estimó 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  $FO_i\%$  es la frecuencia de ocurrencia,  $N_i\%$  el porcentaje en número y  $P_i\%$  el porcentaje en peso de cada ítem presa  $i$ . Para analizar la estrategia alimentaria, se utilizó el método gráfico de Amundsen el cual se obtiene a partir de la abundancia específica de la presa ( $P_i\%$ ) vs. la frecuencia de ocurrencia de la misma ( $FO$ ). A partir de dicho análisis se puede establecer si los peces son generalistas (se alimentan de un gran número de presas) o especialistas (se alimentan de unas pocas presas). Luego del análisis de los contenidos

estomacales de *O. argentinensis* se hallaron un total de 25 ítems presa identificables a distintos niveles taxonómicos (orden, género o especie) y tres reconocidos como restos orgánicos indeterminados, restos de insectos y peces. Los juveniles se alimentaron de un total de 23 presas diferentes, mientras que los adultos lo hicieron de 20 ítems. Los copépodos harpacticoides, el langostino *Pleoticus muelleri*, las larvas de anélidos poliquetos y los insectos tisanóperos fueron ítems exclusivos de juveniles, en cambio los isópodos se registraron exclusivamente en los contenidos de los adultos. Los copépodos calanoideos fueron el grupo más abundante en los contenidos de juveniles con IIR% entre 5,9% y 59,87%. En cambio, los insectos fueron más abundantes en los contenidos de adultos con IIR% que variaron entre 5,02% y 99,54%. La dieta y la estrategia alimentaria de *O. argentinensis* presentaron una variación estacional e interanual tanto en juveniles como en adultos y también entre ambos estadios. Además, los gráficos de Amundsen mostraron que *O. argentinensis* posee una estrategia alimentaria generalista ya que además se alimenta de las presas disponibles en el ambiente, independientemente de la abundancia (raras o dominantes) de las mismas.

<sup>1</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), CONICET- Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. [ferbiole@gmail.com](mailto:ferbiole@gmail.com)

# Evaluación de espermatozoides epididimales felinos (*Felis silvestris catus*) comparando dos métodos de congelación

BONAURA, MC<sup>1,2</sup>; WILLIAMS, SF<sup>3</sup>; STORNELLI, MA<sup>1</sup>.

La criopreservación es una herramienta que permite detener el metabolismo espermático y conservarlo en el tiempo potencialmente fértil. Sin embargo, durante el mismo se pierde aproximadamente el 50% de la población inicial de espermatozoides. Los cambios más evidentes son la pérdida de la motilidad espermática y la pérdida de la integridad acrosómica. Recientes estudios muestran a la vitrificación como una alternativa útil para conservar espermatozoides epididimales (EE) en el gato. 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 los espermatozoides atraviesan rápidamente las temperaturas críticas, evitando la formación de cristales de hielo y los daños asociados a este proceso. El objetivo de este trabajo fue comparar el efecto de la congelación sobre vapores y la vitrificación (V) sobre la supervivencia espermática en felinos. Para cumplir con el objetivo propuesto se utilizaron noventa y seis (n=96) 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 termostatzado a 37°C 10' en DPBS. Los EE diluidos fueron centrifugados y el pellet obtenido se re-suspendió en un DIL DPBS con 1% de albumina sérica bovina (ASB) y 0,4M de SAC, para obtener una concentración final de 50x10<sup>6</sup> esp/ml en alícuotas de 30µL se envasaron en pajuelas de 0,25 ml, para la V. Mientras que para la congelación tradicional (CT) los EE diluidos fueron centrifugados y el pellet obtenido se re-suspendió en un Tris Base para obtener una concentración final de 50x10<sup>6</sup> esp/ml, el volumen recuperado promedio fue de

1063 ml. El DIL TRIS utilizado fue formulado con la siguiente composición: Tris (2,4g), ácido cítrico (1,4 g), fructosa (0,6g), glicerol (5g), yema de huevo (20% v/v), penicilina sódica (0,06g), sulfato de estreptomocina (0,1g) y agua destilada (cantidad suficiente para [csp] 100ml). Luego de su dilución los EE se envasaron en pajuelas de 0.25 ml. Al material seminal fresco y pos congelación 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 congelación y entre técnicas se realizaron mediante el análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS<sup>®</sup>. Se observaron diferencias significativas en todos los parámetros evaluados entre las muestras frescas y post-conservación con ambas técnicas: para vitrificación MI 60±4,1 vs. 5,8±2,06; VI 4,1±0,46 vs. 2,27±0,49; IM 62,5±3,2 vs. 41,1±4,6; AI 66,1±2,9 vs. 41,2±0,005; P < 0.05); para congelación tradicional: MI 59,92 ± 4,07 vs. 12 ± 2,13, IM 61,42 ± 2,29 vs. 15,45 ± 3,72, AI 41,52 ± 6,18 vs 38,47 ± 3,39, P < 0,05). Al comparar los resultados obtenidos mediante las dos técnicas pudo observarse que el proceso de congelación tradicional permitió obtener mayor porcentaje de MI. Por otro lado, la vitrificación permitió obtener un mayor porcentaje de IM (P < 0,05). Podemos concluir que los EE felinos pueden conservar las membranas plasmática y acrosomal integras en un gran porcentaje en la vitrificación. Sin embargo, los valores de MI obtenidos son demasiado bajos para uso en IA. Estos espermatozoides podrían usarse para la ICSI o fertilización *in vitro*. Futuras investigaciones son necesarias para mejorar esta biotecnología.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Reproducción Animal. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>3</sup>Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Facultad de Ciencias Veterinarias. Producción porcina.. [bonaura874@hotmail.com](mailto:bonaura874@hotmail.com)

# Estudio de persistencia ambiental de larvas L1 de *T. Spiralis* en tejido muscular de jabalí

BONBONI, A<sup>1</sup>; ERCOLE, M<sup>1</sup>; BESSI, C<sup>1,2</sup>; FARIÑA, F<sup>1,2</sup>; MONTALVO, F<sup>1</sup>; RIBICICH, M<sup>1,2</sup>;  
PASQUALETTI, M<sup>1,2</sup>.

*Trichinella* spp es un género de parásitos que se encuentra ampliamente distribuido en todos los continentes, afectando a la salud humana no sólo por su potencial zoonótico, sino también por presentar un gran gasto económico. El ciclo de vida doméstico de este parásito tiene como principal hospedador al cerdo. Las infecciones por *T. spiralis* también fueron detectadas en jabalíes (ciclo selvático) pudiendo actuar como reservorio para los humanos y los animales domésticos. La capacidad de sobrevivir en los músculos de animales infectados, luego de su muerte, incrementa la probabilidad de ser consumida por otro hospedador y la propagación del parásito. Tanto en ciclos domésticos y selváticos, como en su interacción (ciclo sinantrópico), la infección suele ser transmitida por consumo de la carne en descomposición. Actualmente Argentina posee un estatus endémico en trichinellosis, siendo el cerdo la especie comúnmente involucrada en los brotes de dicha enfermedad. El objetivo del presente trabajo fue determinar la capacidad de las larvas L1 de *T. spiralis* de sobrevivir en tejido muscular de jabalí (*Sus scrofa*) en descomposición expuesto a condiciones ambientales. Para ello se obtuvieron las extremidades anteriores y posteriores de carcasas de Jabalíes infectados experimentalmente con *T. spiralis*, las cuales fueron muestreadas durante 16 semanas. Cada muestra se realizó tomando 30 gr de músculo

de diferentes sectores. Las mismas fueron procesadas mediante la técnica de digestión artificial. Para comprobar la viabilidad de las larvas obtenidas del músculo de jabalí, se inocularon 3 ratones CF1 de 25-30 gr. vía oral con 300 larvas de *T. spiralis*, realizándose eutanasia y digestión artificial a los 45 días post infección para luego calcular el índice de capacidad reproductiva (RCI). Durante el estudio se registró de forma semanal la temperatura y pH de las extremidades. En el transcurso de las semanas la carne fue perdiendo sus características modificando su color, consistencia, pH y temperatura. El rango de temperaturas registradas fue de 12°C-17°C y el pH entre 5,08-8,21. Bajo estas condiciones el RCI estimado se redujo de 89,45 a 0,0056 desde la semana 1 hasta la semana 11. A partir de la semana 12 no se obtuvieron larvas viables. Los datos procesados sugieren que bajo éstas condiciones ambientales, las larvas musculares de *T. spiralis* presentes en carne en descomposición de jabalíes permanecieron infectivas en el ambiente hasta la semana 12. La supervivencia en la carne putrefacta de su hospedador, debido a su metabolismo anaeróbico, es un mecanismo que aumenta la viabilidad del parásito en la naturaleza y su propagación. Este estudio podría resultar en un valioso aporte para la comprensión del ciclo selvático de *T. spiralis*.

El presente trabajo fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la FCV-UBA bajo el número 2015-16. Este trabajo fue financiado por los siguientes proyectos: UBACyT20020130100336BA, UBACyT20020170200331BA, PICT-2015-2350 y PICT-2015-3469

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

# **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.

*Escherichia* shigatoxigénico (STEC), con presentación endémica en Argentina, y *E. coli* enteropatógena (EPEC) son patovares de impacto en la niñez. La patogenia de STEC incluye cuadros asintomáticos, de diarrea leve y severa, síndrome urémico hemolítico (SUH), y en ocasiones la muerte del paciente. Se ha documentado como principal reservorio al bovino. EPEC es productor de diarreas y constituye la segunda causa de muerte en niños menores a 5 años. En Tierra del Fuego (TDF), la tasa de SUH y diarreas es elevada. TDF no cuenta con estudios de portadores ni reservorios de STEC ni EPEC. El objetivo de este estudio ha sido determinar la portación de STEC y EPEC en bovinos de TDF destinados a faena. Se realizó un estudio epidemiológico transversal observacional en Julio 2016 para la detección de STEC y EPEC, diferenciando producción (campo o feedlot) y playa de faena. El muestreo fue dirigido por accesibilidad en las dos playas de faena existentes (Ushuaia y Río Grande). Para cada animal se tomó una muestra por hisopado rectal. Para la detección de cepas STEC (O157 y no-O157) y EPEC se realizó pre-enriquecimiento en caldo, con posterior separación inmunomagnética (O157) seguido de siembra en agar Mac Conkey (EPEC y no-O157) y MacConkey sorbitol (O157). Se realizó PCR múltiple de *stx2*, *stx1*, *rfb*O157 y PCR *eae* de la zona de confluencia de colonias. Las cepas aisladas fueron caracterizadas bioquímicamente y serotipificadas con antiseros específicos de conejo. Los resultados fueron analizados mediante test de diferencia de proporciones. Se

analizaron 194 muestras de bovinos de TDF. Se detectó una portación de STEC no O157 en muestras de feedlot de Río Grande del 17%. En muestras de campo de Río Grande fue 15%, mientras que en campo de Ushuaia fue 0,07%. Siguiendo la ruta para EPEC, en muestras de feedlot de Río Grande se identificó una portación del 0,06%. En muestras de campo de Río Grande y Ushuaia encontramos 0,05% y 0,06%, respectivamente. No se detectaron cepas STEC O157 en este estudio. Se aislaron 25 cepas *stx+* que pertenecieron a los siguientes serotipos: O1:H21 (1/25), O6:H34 (1/25), O113:H21 (1/25), O130:H- (1/25), O130:H11 (1/25), O171:H2 (1/25), O174:H28 (1/25), O178:H19 (5/25), O179:H8 (1/25), O185:H7 (6/25), O185:H19 (5/25), O187:H7 (1/25). La cepa *eae+* aislada perteneció al serotipo O152:H25. Todas las cepas mostraron el perfil bioquímico clásico de *E. coli*. No se observaron diferencias estadísticas significativas en la detección de cepas STEC y EPEC considerando tipo de producción y playa de faena. Los serotipos aislados fueron reportados en bovinos en Argentina, destacándose el serotipo O178:H19, asociado a SUH. Si bien TDF se destaca por altas prevalencias de SUH y diarreas agudas, la detección STEC-EPEC fue menor a la descripta para el resto del país. Teniendo en cuenta la dinámica epidemiológica de la región debe considerarse 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.

# Estudio compartimentalizado macroscópico de los músculos estabilizadores de la articulación fémoro-tibio-patelar del canino (*Canis familiaris*)

BOSCO, A; PALTENGLI, A; GRAZIOTTI, G.

Los músculos esqueléticos poseen compartimentos neuromusculares (CNM) determinados macroscópicamente por la distribución de las ramas primarias del nervio correspondiente. El objetivo fue realizar un estudio compartimentalizado macroscópico de los músculos asociados a la articulación fémoro-tibio-patelar del canino. Se trabajó en 11 cadáveres caninos, mestizos, peso entre 9 y 30 kg y sin patologías del aparato locomotor. Los músculos estudiados fueron cuádriceps (C), bíceps femoral (BF), semitendinoso (ST), semimembranoso (SM), poplíteo (Po) y gastrocnemio (G), conservando intactos los pedículos nerviosos y seguidamente se fijaron en solución de formol al 10% durante 30 días, lavado en agua corriente por goteo durante cuatro días, inmersión en solución de ácido nítrico al 25% durante siete días y enjuague en agua durante cinco días para identificar los CNM; en cada compartimento se determinó el ángulo de penación de las fibras musculares mediante un goniómetro. Se midieron la longitud de al menos 10 fascículos mediante calibre y fueron normalizados de acuerdo a la longitud del sarcómero. Se obtuvo la masa de cada músculo usando balanza de precisión. Se registraron los siguientes parámetros funcionales: Área de sección fisiológica del músculo (SF), índice arquitectónico (IA), fuerza máxima (Fmax), velocidad máxima de contracción (Vmax), poder del músculo (W). El SM presenta el IA más elevado, con valores de 0,893 y 0,862 en sus dos compartimentos,

mientras que los valores más bajos son 0,262 y 0,251, correspondientes al G medial (GM) y G lateral (GL) respectivamente, indicando un alto grado de penación. Los músculos que presentan el ángulo de penación más desarrollado son el G y el P. Los valores de SF más elevados corresponden al G y BF y los más bajos al ST, SM y BF compartimento c (BFc) y Po. Los músculos que realizan mayor fuerza isométrica son el G con un valor de 485,1 N y el BF con un valor de 367,2 N. Los compartimentos a y b del BF (BFa y BFb) presentan valores similares (173,25 N y 192,6 N), mientras que el compartimento c (BFc) presenta una fuerza isométrica menor (32,4 N). La Fmax producida por el ST presenta un valor de 152,1 N. El valor de Vmax más elevado es el del SM, seguido en orden decreciente por el ST, con valores diferentes en sus dos CNM, el compartimento b del ST (STb) con un valor más elevado (0,7746 m/seg). El BF presenta CNM con Vmax diferentes, el BFc 0,8208 m/seg y el BFa 0,3996 m/seg. Se encontraron valores intermedios en el grupo muscular C, mientras que en el G y el Po los valores son menores. El W lo encontramos elevado principalmente en el BFb con un valor de 13,123 w, mientras que el Po es el músculo que presenta el valor más bajo (0,8590 w). Estudiar los parámetros arquitectónicos de estos músculos redundará en un mayor conocimiento de su anatomía y fisiología lo que nos permite un abordaje clínico y quirúrgico integral de las patologías que afectan a esta articulación.

# Estudio compartimentalizado microscópico de los músculos estabilizadores de la articulación fémoro-tibio-patelar del canino (*Canis familiaris*)

BOSCO, A; PALTENGI, A, GRAZIOTTI, G.

Los músculos cuádriceps (C), semitendinoso (ST), semimembranoso (SM), poplíteo (Po), gastrocnemios (G) y bíceps femoral (BF) poseen compartimentos neuromusculares (CNM) determinados macroscópicamente por la distribución de las ramas primarias del nervio correspondiente. Cada CNM presenta una población de fibras musculares con características propias. Las fibras musculares en el canino se clasifican en tipos I, IIA y IIX. La distribución diferencial de estas fibras musculares sugiere la función muscular y es importante para ayudar a comprender la acción biomecánica del músculo. El objetivo de este estudio es determinar la población fibrilar de cada CNM. Las muestras fueron tomadas de los compartimentos musculares del miembro pelviano derecho de cuatro cadáveres de caninos mestizos sin patologías del aparato locomotor. Cada muestra fue cubierta con polvo de talco y luego inmersa en nitrógeno líquido durante 40 segundos y almacenada a -80°C hasta análisis. A partir de cada muestra se realizaron cortes seriados (10 µm) en criostato a -27°C y montados en portaobjetos tratados con polilisyna al 1%. Los cortes fueron incubados con los anticuerpos monoclonales (AcMo) A.474, BA-F8, S5-8H2 y BF-35 contra MHC, utilizando el método de avidina-biotina peroxidasa indirecta. Otro corte seriado fue utilizado para medir la actividad de la enzima nicotinamida-dinucleótido-tetrazolium reductasa, indicadora del metabolismo

oxidativo. Las fibras fueron identificadas por tipos, comparando idénticos campos, de acuerdo a la reactividad con cada AcMo y al metabolismo predominante a partir de imágenes digitales captadas. En el compartimento a y c del BF (BFa y BFc) predominan las fibras de tipo I con acción antigravitatoria o de estabilización. El compartimento b del BF (BFb) presenta características fibrilares intermedias ya que predomina el tipo fibrilar IIA. El ST presenta características microscópicas similares en los compartimentos a y b (STa y STb) con predominio de fibras IIA. Esta característica de presentar una acción antigravitatoria parcial realzaría la función de estabilizador de la articulación de los músculos isquiotibiales, contrarrestando la acción del C. El SM presenta en todos sus CNM un comportamiento similar al ST respecto de su composición fibrilar ya que predominan las fibras tipo I y IIA. La presencia de fibras lentas otorgarían a estos compartimentos características similares a las encontradas en el ST. El C y sus CNM presentan un mayor contenido de fibras tipo I y IIA y un contenido muy bajo de fibras IIX excepto en el VL donde se observa un leve incremento de fibras IIX. El G y el Po presentan un predominio de fibras IIA. Estudiar los parámetros fibrilares redundaría en un mayor conocimiento de su anatomía y fisiología, y también inferir su anormalidad en patologías o identificar factores predisponentes, acercando programas adecuados de prevención o rehabilitación muscular en pacientes afectados.

# Obtención y caracterización de anticuerpos de dominio único derivados de camélidos (Nanoanticuerpos o VHH) específicos contra la cepa O1 campos del virus de la Fiebre Aftosa para aplicación diagnóstica

BOZZO J.; MARCHESI E.; MATTION N.; GRIPPO V.

La Fiebre Aftosa (FA) es una enfermedad viral del ganado de graves repercusiones económicas. Existen siete serotipos del Virus de la FA (VFA): O, A, C, SAT1, SAT2, SAT3 y Asia1; habiendo los tres primeros circulado en Argentina. El desarrollo de herramientas diagnósticas innovadoras que respondan a las necesidades de control de la FA es de gran interés debido a la elevada variabilidad que presenta el virus, la facilidad de contagio y la susceptibilidad de varias especies de interés económico. A su vez, los anticuerpos (Acs) de dominio único derivados de camélidos (denominados Nanoanticuerpos o VHH) representan una herramienta novedosa con características únicas en comparación con los Acs convencionales. Se caracterizan por su alta especificidad, estabilidad, afinidad por el blanco y reducido tamaño. Esto último permite fijar mayor densidad de Acs incrementando notablemente la sensibilidad diagnóstica. Por esta razón, el presente trabajo tuvo como objetivo obtener, expresar y caracterizar preliminarmente VHH específicos contra la cepa O1/Campos (O1C) del VFA para su potencial aplicación en la innovación diagnóstica. Para lograr tal objetivo, se construyeron dos bibliotecas de Nanoanticuerpos en el vector fagémido pHEN4 a partir de la sangre total periférica de dos llamas (*Lama glama*) inmunizadas con la vacuna tetravalente (cepas O1/Campos,

A24/Cruzeiro, A/Arg/2001 y C3/Indaial). Partiendo de estas bibliotecas inmunes, se seleccionaron fagos que expresaron en su superficie VHH específicos contra la cepa O1C por la metodología de "Phage Display". Luego de dos rondas de selección, se obtuvieron 32 nanoanticuerpos que presentaron reactividad específica contra la cepa O1C en ELISA. Estos nanoanticuerpos no mostraron reactividad frente a las otras cepas del VFA presentes en la vacuna. Posteriormente, se estudió la diversidad de los 17 nanoanticuerpos más reactivos obtenidos. Para esto, se amplificó el fragmento correspondiente a cada VHH por PCR y se digirió este producto de PCR con la enzima de restricción HinfI. Luego, se confirmó que 13 de estos 17 VHH eran únicos por secuenciación. Estos 13 nanoanticuerpos se expresaron como proteína soluble en bacteria (*E. coli*, cepa WK6) y su reactividad contra la cepa O1C se confirmó mediante ELISA y Western Blot (WB). En conclusión, obtuvimos 13 VHH diferentes que mostraron una alta reactividad contra la cepa O1C en ELISA. Aún más, estos nanoanticuerpos no reaccionaron contra las otras cepas de VFA (A24/Cruzeiro, A/Arg/2001 y C3/Indaial). Estos VHH representan una herramienta potencial para la caracterización de la cepa O1 Campos del VFA e innovación de métodos diagnósticos actuales en FA.

<sup>1</sup>Centro de Virología Animal (CEVAN), CONICET-SENASA.

# Incidencia de distintas disponibilidades de azufre sobre el transporte de fotoasimilados vía floema en plantas de cebada

BOZZOLA, ML<sup>1,2</sup>; CAPUTO, C<sup>1b,2</sup>; VELIZ, CG<sup>2</sup>.

El azufre (S) es un macronutriente esencial para el apropiado crecimiento y desarrollo de las plantas. Deficiencias de este nutriente en los suelos restringen el rendimiento y la calidad de los cultivos. La cebada se destaca dentro de los cultivos de cereales por la creciente demanda internacional que ha sufrido durante las últimas décadas. En los cereales, la tasa de llenado de azúcares en los granos, componente mayoritario del rendimiento, depende del tamaño potencial de estos y de la disponibilidad de fotoasimilados en los tejidos vegetativos, así como de la capacidad de removilización desde los mismos. Se ha postulado que la removilización de azúcares podría contribuir en más de un 40% del peso del grano bajo condiciones desfavorables de crecimiento. Dado que el mero uso de fertilizantes no siempre se traduce en una alta productividad y calidad de los cultivos, es importante estudiar los factores que regulan la removilización de asimilados desde los tejidos vegetativos hacia los granos en desarrollo a fin de lograr altos rendimientos sin el uso excesivo de fertilizantes. Debido a que en los últimos años el S se ha convertido en una limitante importante de la producción agrícola en diversas regiones del mundo, nos propusimos estudiar el efecto de distintos tipos de deficiencias de este nutriente sobre la removilización de azúcares vía floema y la expresión del transportador de sacarosa *HvSUT1*, clave en la carga de azúcares al floema en cebada. Para ellos se trabajó con plantas de cebada (*Hordeum*

*vulgare* L.) de la variedad Scarlett cultivadas bajo dos condiciones de cultivo: en cámara de cultivo (condiciones controladas) o en invernáculo (condiciones semicontroladas). Se aplicaron distintos tratamientos de deficiencia de S variando la dosis de MgSO<sub>4</sub> y/o K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> presentes en la solución de riego. De este modo se obtuvieron los siguientes tratamientos: curva de S con dosis de 0,1, 1, 2, 5, 10 y 100% de S aplicados desde la siembra y un hambreado de S con una condición de bajo (S-) y alto (S+) S aplicados después de los 10 y 51 días después de siembra para cámara de cultivo e invernáculo, respectivamente. Bajo todas las condiciones analizadas la deficiencia de S generó una inhibición de la removilización de azúcares vía floema respecto al control (plantas 100% o S+), aunque para el caso de la curva de S no se observaron diferencias significativas entre las plantas 10% y las 100% y en el caso del hambreado de S en cámara de cultivo el efecto se registró recién a los 28 días post tratamientos (DDT). Al analizar la expresión del gen *HvSUT1* por Real Time RT-PCR en el tejido fuente de los ensayos en cámara de cultivo, se observó una represión del gen en las plantas S- del ensayo de hambreado de S a los 28 DDT y una tendencia a ese mismo efecto en las plantas 0,1% respecto a las 100% del ensayo de curva de S. Estos resultados remarcan la importancia de un adecuado suministro de S para promover el proceso de removilización de fotoasimilados que podría generar repercusiones sobre el rendimiento del cultivo.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Departamento de Biología Aplicada y Alimentos, <sup>2</sup>Cátedra de Microbiología; <sup>b</sup>Cátedra de Bioquímica. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET – Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA). Buenos Aires, Argentina. Av. San Martín 4453, C1417DSE, Buenos Aires, Argentina.

# Estrés oxidativo inducido por el insecticida clorpirifos en células endoteliales

BRITZ NEIRA, D; ROCCO, R; GAZZANIGA, S\*; COCHÓN, A.\*

Durante las últimas décadas, el uso de plaguicidas ha aumentado constantemente en un esfuerzo por aumentar la producción de alimentos y controlar las enfermedades transmitidas por vectores. El clorpirifos (O,O'-dietil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato, CPF) es un insecticida organofosforado (OP) de amplio uso en la actividad agrícola y doméstica en la Argentina y en todo el mundo. La exposición a contaminantes ambientales como el CPF produce en los organismos inhibición de la enzima acetilcolinesterasa y una cascada de respuestas biológicas y múltiples efectos tóxicos. En particular, los OPs tienen el potencial de generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y/o dañar el sistema de defensa antioxidante celular, lo que deriva en estrés oxidativo. Recientemente varios autores han reportado disfunción endotelial inducida en roedores por la exposición a CPF. Sin embargo, poco se sabe sobre el papel del endotelio en las intoxicaciones con insecticidas OPs. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de diferentes concentraciones de CPF (0, 10, 30 y 50  $\mu\text{M}$ ) sobre biomarcadores de estrés oxidativo en células endoteliales de ratón (H5V). Las células se cultivaron a 37°C y al 5%  $\text{CO}_2$  en estado de subconfluencia con medio DMEM suplementado con glutamina y 5% de suero fetal bovino (FBS) de complementado. El CPF fue disuelto en acetona y el tratamiento se realizó por 24 horas. El rango de concentraciones seleccionado para el diseño experimental se

encuentra dentro de los rangos utilizados en estudios *in vitro* previamente publicados. Los parámetros bioquímicos analizados fueron la actividad de la enzima antioxidante catalasa (CAT) y los niveles de glutatión reducido (GSH) y oxidado (GSSG). La actividad CAT se midió espectrofotométricamente monitoreando la descomposición del peróxido de hidrógeno. Los niveles de GSH y GSSG se determinaron utilizando el método de reciclado. Se observó que luego del tratamiento de las células con 10 y 30  $\mu\text{M}$  de CPF la actividad CAT aumentó en 49±12% y 21±10%, respectivamente. En cambio a 50  $\mu\text{M}$  el pesticida produjo una significativa disminución del 69±1% de la actividad enzimática. En el caso del antioxidante no enzimático, se observó una disminución de la relación GSH/GSSG del 44±22% y del 55±6% para las concentraciones de CPF de 30 y 50  $\mu\text{M}$ , respectivamente, sin modificaciones a 10  $\mu\text{M}$ . En cuanto a la morfología celular, a las concentraciones más bajas no se observaron cambios significativos mientras que a 50  $\mu\text{M}$  se observó cierta pérdida de la adherencia pero aún sin evidencias de muerte. En conclusión, a 24 h de tratamiento, los cambios en CAT, estado redox y la ausencia de muerte celular sugieren la existencia de una injuria oxidante que las células lograron controlar. Estudios a tiempos más largos permitirán evaluar si el pesticida induce modificaciones en funciones relevantes de la célula endotelial o eventualmente la muerte celular.

# Susceptibilidad antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de cavidad oral de reptiles. Comunicación preliminar.

BRITZ, JD<sup>1</sup>; PETTA, AP<sup>2</sup>; TESTORELLI, MF<sup>1</sup>.

En los últimos años en la Argentina, se registró un aumento en la tenencia de animales denominados “especies no tradicionales”, siendo los reptiles una gran proporción de éstos. Esta circunstancia, en ocasiones, lleva al aumento de la exposición de estas especies a tratamientos con antimicrobianos (ATM) y una de las causas que explica la resistencia antimicrobiana (RAM) y falla terapéutica, es el incremento y uso inapropiado de los mismos. En la cavidad oral de los reptiles habitan microorganismos (mo) gram positivos y gram negativos. Entre los últimos, enterobacterias y bacilos gram negativos no fermentadores, como *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. ae*). Este patógeno oportunista, puede expresar múltiples mecanismos de resistencia (R) a ATM pudiendo ser letal en poblaciones susceptibles. La exposición de mo a ATM puede derivar en RAM eventualmente transferible a otras bacterias de animales y humanos, un grave problema a nivel mundial en el contexto “un mundo, una salud”. El objetivo del presente trabajo fue aislar, identificar y caracterizar fenotípicamente los perfiles de susceptibilidad a ATM de *Ps. ae*, residente en la cavidad oral de reptiles. Los hisopados de cavidad oral de n=29 reptiles (n=11 tortugas de tierra, n=2 tortugas de agua, n=4 iguanas, n=7 serpientes, n=5 lagartos)

procedentes de Gran Buenos Aires y CABA se cultivaron e identificaron fenotípicamente, según técnicas microbiológicas convencionales. La susceptibilidad de las *Ps. ae* se evaluó por el método Kirby-Bauer según CLSI 2013, frente a Piperacilina-tazobactam (TZP) 110µg, Colistina (CT ) 10µg, Gentamicina (CN) 10µg, Ciprofloxacina (CIP) 5µg, Imipenem (IPM) 10µg , Cefotaxima (CTX) 30µg . Hasta el momento se obtuvieron 5 aislamientos de *Ps. ae* en 5 animales. Las *Ps. ae* aisladas hasta el presente, resultaron sensibles a todos los ATM evaluados. Si bien *Ps. ae* es considerada en muchos casos como patógeno oportunista, en individuos inmunocomprometidos, la infección con cepas multiresistentes podría ser letal. Trabajos recientes informan la existencia de *Ps. ae* aisladas de cavidad oral de serpientes (en cautiverio y silvestres) resistentes a Colistina. El creciente uso y la incorporación de nuevos ATM en el campo veterinario convierte también a los animales de compañía no tradicionales, en potenciales reservorios de bacterias resistentes. Lo que justifica el monitoreo en relación a la RAM. Se requieren más estudios para dilucidar si los aislamientos de *Ps. ae* en reptiles en cautiverio y silvestres de Argentina, representan una amenaza para la salud pública y animal.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Microbiología. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Servicio de Animales no convencionales. Hospital Escuela.

# Percepción de riesgo de Síndrome Urémico Hemolítico: diferencias entre zona urbana y rural en una comunidad de Buenos Aires. Comunicación preliminar.

BROGLIO, A<sup>1,3</sup>; BERRA, Y<sup>2,3</sup>; BENTANCOR, A<sup>1</sup>.

Argentina presenta la incidencia más alta de casos de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) a nivel mundial que se manifiesta en el área pediátrica como la primera causa de insuficiencia renal aguda y la segunda causa de falla renal crónica. Las fallas en la percepción de riesgo de SUH por parte de la sociedad se deben a hábitos, costumbres y prácticas incorrectas realizados en forma cotidiana. Ante esto es necesario generar medidas de prevención. El objetivo del trabajo es evaluar la percepción de riesgo de SUH en zonas urbano-rural de una comunidad de Buenos Aires. Durante enero de 2016 se realizaron encuestas para evaluar conocimientos, actitudes y prácticas (CAP) a habitantes del partido de Exaltación de la Cruz. Las encuestas se analizaron mediante el programa estadístico EPIINFO y se buscaron diferencias significativas entre zonas urbano (ZU) y rural (ZR) mediante el programa STATISTIX. Se trabajó con un nivel de significación del 5% ( $p < 0,05$ ). Se analizaron un total de 71 encuestas. En ambas zonas, respecto a conocimiento sobre SUH, el 81,43% desconoce con exactitud la enfermedad, el 55% no sabe conservar los alimentos cocidos en forma adecuada para su posterior consumo y el 26,77% desconoce el tiempo correcto para mantener la cadena de frío en carne. Se registraron actitudes riesgosas en la conservación de alimentos refrigerados en menos del 10% de la población. El 52,12% de los encuestados considera no riesgoso a la carne cruda y congelada e ignora prácticas ligadas a la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) tanto en ZU como en ZR.

Las diferencias significativas encontradas entre ZU y ZR se manifiestan en el abastecimiento de agua de consumo, limpieza de la fuente de su suministro, y la producción y forma de fertilización de la huerta. El abastecimiento del agua de consumo en todo el partido es de pozo, en ZU es provisto por el municipio mediante red que alcanza el 83,3% y en ZR el 33,3%. Se detectó que 7,4% de ZU anexa la opción de bidones comerciales para el consumo diario. Respecto a los cuidados basados en la frecuencia de limpieza de la fuente de suministro, 83,3% de ZU y 78,5% de ZR lo hace de forma inadecuada. La huerta para autoconsumo se identificó en menos de un tercio de la población encuestada, un 18% de ZU y un 31,25% de ZR. Se observa una gran disparidad en la fertilización de la misma donde las prácticas riesgosas alcanzan el 75% de ZU versus el 30% de ZR. Las encuestas manifiestan riesgos evidentes sobre conocimientos, actitudes y prácticas diarias en la comunidad, especialmente en la ZR. En respuesta a los riesgos evidenciados por las encuestas se plantea la importancia de trabajar con la comunidad para adecuar la percepción del riesgo sobre ETA en general y SUH en particular. En ese sentido, desde 2016 se iniciaron talleres escolares de prevención de SUH, ETA y refuerzo de buenas prácticas de manufactura en colegios públicos del partido. Su impacto a la comunidad será evaluado luego de un trabajo sostenido en 8 cohortes escolares mediante encuestas y su comparación con este primer análisis.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Microbiología. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Salud Pública. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET. Buenos Aires, Argentina.

# Búsqueda del mayor rendimiento de una cepa de *Artemia persimilis* (Piccinelli & Prosdocimi, 1968) de la salina Colorada Grande (La Pampa). Datos preliminares.

BRUTTOMESSO, MF<sup>1,2,3</sup>; JAÑEZ, J<sup>4</sup>; SCHAPIRO, JH<sup>1,2</sup>; FORTUNATO, RH<sup>3,5</sup>; ARGEMI, F<sup>4</sup>.

El género *Artemia* es un pequeño invertebrado marino muy utilizado como fuente de alimento vivo, es así que su producción en cautiverio tuvo un crecimiento del 20% anual. A pesar de poseer una gran resistencia al medio, varios autores afirman que el origen de la cepa de *Artemia* es la que condicionaría el crecimiento, supervivencia y reproducción según las condiciones de temperatura y salinidad. El objetivo de este trabajo fue establecer los parámetros óptimos para la eclosión de unos quistes de *Artemia persimilis* proveniente de la salina Colorada Grande (La Pampa) y realizar una caracterización morfológica de los primeros estadios. Esta experiencia se realizó en el acuario del Bioparque Temaikén (Escobar, Buenos Aires). Se colocaron dos peceras de incubación con agua de red y calentadores para alcanzar temperaturas de 25 y 30°C. Se construyeron incubadoras artesanales (artemieros) utilizando botellas plásticas de 500 ml. A cada una de ellas se le adicionó 400 ml de agua de mar artificial en concentraciones de salinidad de 20, 30 y 35 UPS (Unidades Prácticas de Salinidad), luego se agregó 1 g de quistes secos y se dejó incubar durante 48 h. Luego, se tomaron 6 muestras de 174 µl/artemiero y se realizó el conteo de nauplios en un microscopio óptico. Se pudieron caracterizar morfológicamente

4 estadios larvales juveniles hasta las 72 h de incubación. En cuanto a los porcentajes de eclosión obtenidos de los quistes cultivados a 30°C en salinidades de 20, 30 y 35 UPS, se obtuvieron un 43,67 ± 9,13%, 37,12 ± 8,77 y 35,11 ± 6,68% respectivamente; mientras que las quistes cultivados a las mismas salinidades pero a 25°C dieron porcentajes promedios superiores de 52,50 ± 8,02%, 59,06 ± 1,98 y 44,44 ± 8,79%. El análisis estadístico arrojó diferencias significativas entre la temperatura de 25 y 30°C, con una media de 52 y 38,63% respectivamente (p>0,05). Así mismo, la salinidad de 35 UPS obtuvo la media más baja para la eclosión (39,78%), y las medias más altas a 20 y 30 UPS (48,08 y 48,09% respectivamente) sin ser diferentes entre sí. En la actualidad se consideran aceptables los porcentajes de eclosión superiores al 70%, aunque en el mercado internacional se comercializan quistes con un 50% de eclosión o con valores inferiores. Sobre esta base, en las condiciones de cultivo obtenidas hasta el momento no solo se logró un nivel de producción acorde a los estándares del mercado internacional, sino que además se superó en un 10% los porcentajes de eclosión ya reportados de la misma cepa de *Artemia*, localizada en la misma zona geográfica.

<sup>1</sup>Área de Parasitología, Inst. de Patobiología, CICVyA INTA Castelar, Bs. As. <sup>2</sup>Escuela de Veterinaria, Universidad del Salvador, Champagnat 1599, Pilar, Buenos Aires. <sup>3</sup>CONICET. <sup>4</sup>Fundación Temaikén, Acuario, Ruta Provincial 25 Km, Escobar, Buenos Aires. <sup>5</sup>Instituto de Recursos Biológicos, CNIA, INTA Castelar, Buenos Aires. bruttomesso.mia@inta.gob.ar

# Ocular drug delivery: nanoformulations based on argentinian chitosan for resveratrol encapsulation

BUOSI, FS<sup>1</sup>; ALAIMO, A<sup>1</sup>; CASTAÑEDA CATAÑA, MA<sup>1</sup>; MARTÍNEZ, KD<sup>2</sup>; DI SANTO, MC<sup>1</sup>; DOMINGUEZ RUBIO, AP<sup>1</sup>;  
ACEBEDO, SL<sup>3</sup>; SPAGNUOLO, C<sup>4</sup>; PÉREZ, OE<sup>1</sup>.

The retinal tissue has the highest oxygen uptake and glucose oxidation relative to any other tissue, which makes it more susceptible to oxidative stress. Constant light irradiation, atmospheric oxygen and environmental chemicals contribute to oxidative stress as the key factor for the ocular degenerative diseases. Whenever the antioxidant defense systems are depleted or not functional, vision impairment might be observed. For this reason antioxidants are fundamental agents in prophylactic forms of oxidative diseases. However, considering its sensitive structure, nanotechnology becomes an option in antioxidant protection, stability, bioavailability, and therapeutic efficacy. Therefore, the aim of this work is to develop nanoparticles (NPs) as carriers of antioxidants for the ocular diseases prevention. Particularly, there is an increased interest in the therapeutic effects of Resveratrol (RSV). RSV is a naturally occurring polyphenolic compound, mainly found in black grapes and peanuts. Previous studies have demonstrated the various beneficial effects of RSV on human health, including its neuroprotection, anti-inflammatory action, potent antioxidant activity and anti-aging effects. Chitosan (CHI) is a naturally occurring and abundantly available polysaccharide extensively studied for drug delivery systems due to the biological properties such as its relative non toxicity, biocompatibility, biodegradability, cationic properties and

mucoadhesive characteristics. CHI and the cross-linking agent tripolyphosphate-sodium (TPP) can form biocompatible spheres that can be efficiently employed in bioactives delivery. Hence, we designed and developed chitosan-based nanocarriers for RSV encapsulation to overcome this physicochemical and pharmacokinetic limitations. Our results included the design of colloidal NPs of CHI-TPP obtained by ionic gelation. The particle size distribution and the Z-potential were recorded by dynamic light scattering (DLS). The peak of the majority population was located at 144 nm and the obtained value of the Z-potential was  $21 \pm 4$  mV, indicating that the suspension of the NPs is relatively stable. We registered CHI-RSV interactions by fluorescence quenching. In addition, the protective effect of CHI against UV-induced photodegradation of RSV was determined. Also, we obtained TEM images for NPs size and shape characterization. They were rounded. Biological studies performed in human retinal pigment epithelial cells (ARPE-19 cells, ATCC) revealed that both free CHI and NPs were not cytotoxic. Also, uptake and intracellular incorporation was monitored through fluorescence microscopy. Finally, RSV loading- efficiency of the NPs was measured using spectrophotometry. RSV nanoencapsulation could be a potential carrier for the bioactive, opening the possibility of its application for ophthalmic uses.

<sup>1</sup>Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. IQUBICEN-CONICET. Argentina. <sup>2</sup>Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. IQUBICEN-CONICET. Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. UMYMFOR-CONICET. Argentina. <sup>4</sup>Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. CIHIDECAR-CONICET. Argentina.

# Identificación de fenotipo de resistencia de *Staphylococcus* sp. aislados de animales de compañía

BUSCEMA, MR; MOREIRA, J; SARCONI, N; RETAMAR, GC; BUSTOS, C; MUÑOZ, AJ.

Las bacterias del género *Staphylococcus* (*S*) sp. son bacterias patógenas oportunistas de piel y mucosas en la mayoría de los mamíferos. Las alteraciones en la integridad de las barreras anatómicas y la depresión del sistema inmune son factores predisponentes necesarios para la aparición de enfermedad. Las especies con mayor importancia clínica son: *Staphylococcus pseudintermedius* (*S. pseudintermedius*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). El objetivo fue detectar el fenotipo de resistencia a macrólidos-lincosamidas-estreptograminas B (MLSb) y a antibióticos betalactámicos en aislamientos de *Staphylococcus* sp. provenientes del cepario de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA, que se detectaron como resistentes a tres o más grupos de antibióticos, desde el año 2017 al 2019. Mediante el test doble disco (D-Test) se detectó el fenotipo de resistencia a MLSb, observando la presencia de cMLSb resistencia constitutiva a la eritromicina y a la clindamicina, iMLSb resistencia inducible a la eritromicina y sensibilidad a la clindamicina y MSB, resistencia a la eritromicina, pero con sensibilidad a clindamicina; y la resistencia a la metilicina por medio de la técnica de difusión con discos de oxacilina y/o cefoxitina. El disco de cefoxitina se utilizó para predecir resistencia a metilicina en *S. aureus* y estafilococos coagulasa negativos y el disco de oxacilina para *S. pseudintermedius*, dado que es el adecuado para detectar la metiliclorresistencia según recomendaciones del CLSI. Se utilizaron 26 aislamientos de muestras correspondientes a

21 caninos, 4 felinos y 1 equino. Siendo 46% provenientes de lesiones de piel, 19% de oído, 11% de contenido nasal, 7% de orina y 11% de punciones de linfonódulos. Se realizaron pruebas para confirmar la identificación de los aislamientos pruebas de manitol, coagulasa, ONPG (Orto Nitro Fenil Galactopiranosido) y Pyr (pirridonil β-naftilamida), identificándose: 24 *S* coagulasa positivo (SCP) y 2 *S* coagulasa negativos (SCN). De los SCP, 12 *S. aureus*, 6 *S. pseudintermedius* y 6 *Staphylococcus* sp. El 46% de las muestras resultaron resistentes a oxacilina y sensible a cefoxitina y el 15,3% resistente a ambos (cepas heterorresistentes). En el caso de *S. pseudintermedius* se observó la misma sensibilidad y resistencia a ambos discos en la mayoría exceptuando un aislamiento. Para el caso del fenotipo de resistencia a MLSb se detectó sólo una cepa con iMLSb de *S. aureus*. Resultaron tener fenotipo de resistencia cMLSb 9 *S. aureus*, 5 *S. pseudintermedius*, 4 *Staphylococcus* sp. y 1 *Staphylococcus* sp presentó MSB. Estos resultados remarcan la necesidad de realizar toma de muestras y estudios de susceptibilidad antimicrobiana en la clínica diaria antes de realizar un tratamiento empírico. El mal uso de antimicrobianos podría acelerar el surgimiento y proliferación de organismos resistentes a los antibióticos. Este trabajo contribuye a la vigilancia de la resistencia bacteriana en cepas bacterianas de origen clínico en veterinaria y alerta sobre la necesidad de implementar medidas que contribuyan al uso racional de los antimicrobianos.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Laboratorio Escuela Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires. Argentina.

# Análisis de la fracción proteica del lactosuero de búfalas del NEA para su valorización

BUSTOS, LF<sup>1,2</sup>; VASILE, FE<sup>1</sup>; JUDIS, MA<sup>1</sup>; PÉREZ, OE<sup>2</sup>.

El lactosuero de búfala constituye el principal subproducto en los procesos de elaboración de quesos. Éste es un concentrado de nutrientes (lactosa y proteínas) de gran interés para la industria alimentaria. A pesar de ello, es comúnmente descartado, particularmente en la región noreste de Argentina (NEA) donde tiene lugar la producción y aprovechamiento de esta leche en la manufactura de quesos. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar el lactosuero de búfalas del NEA desde el punto de vista fisicoquímico y su perfil proteico. Con esta finalidad, la leche se filtró, pasteurizó y coaguló enzimáticamente. El lactosuero fue obtenido con un rendimiento en sólidos del 47%, densidad ( $1,04 \pm 0,01$  g/ml), pH (6,0) y ES ( $8,95 \pm 0,11\%$  b.h.) comparables a los reportados en la literatura. Luego, el lactosuero se liofilizó y el sólido obtenido (BWP) se caracterizó en términos de humedad ( $2,70 \pm 0,02\%$  b.s.), cenizas ( $6,92 \pm 0,15\%$  b.s.), proteínas ( $14,37 \pm 0,65\%$  b.s.), lactosa ( $72,66 \pm 1,81\%$  b.s.) y grasas ( $1,16 \pm 0,04\%$  b.s.), cuyo valor fue menor a los encontrados en la literatura. Adicionalmente, se utilizaron las técnicas analíticas: electroforesis en gel de

poliacrilamida y capilar zonal, y cromatografía líquida rápida de proteínas con columnas de exclusión por tamaño e intercambio aniónico. Las técnicas electroforéticas y la cromatografía de exclusión permitieron obtener el perfil de proteínas mayoritarias, las cuales corresponden a las siguientes fracciones:  $\alpha$ -lactoalbúmina (37%),  $\beta$ -lactoglobulina (40%) y albúmina de suero (6%); siendo sus PM: 12,2 KDa, 15,7 KDa y 66,3 KDa, respectivamente. Además, se detectaron otras fracciones minoritarias, de las cuales se identificaron 28 proteínas por LC-MSMS a partir de un concentrado proteico del lactosuero de búfala (BWPC) obtenido por diálisis y posteriormente digerido con tripsina. A partir de los resultados obtenidos se concluye que el lactosuero de búfala del NEA constituye una fuente de componentes valiosos para la industria alimentaria, especialmente por su contenido proteico, el cual podría ser utilizado como un ingrediente funcional. A su vez, su utilización permitiría reducir la carga orgánica de los efluentes generados durante la elaboración de quesos y agregar valor a este subproducto actualmente desaprovechado.

<sup>1</sup>CONICET. Universidad Nacional del Chaco Austral, Laboratorio de Alimentos Funcionales. Pcia. Roque Sáenz Peña, Chaco, Argentina. <sup>2</sup>CONICET. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Química Biológica, Laboratorio Interdisciplinario de Dinámica Celular y Nano-Herramientas. CABA, Argentina.

# Evaluación de biomarcadores en distintos grados de mastitis subclínica bovina

CAGGIANO, N; DE SIMONE, E.

La mastitis subclínica (MS) ocasiona grandes pérdidas económicas en las explotaciones lecheras. Con lo cual el conocimiento de cómo ésta impacta en la salud mamaria y la calidad de la leche es de suma importancia. Por este motivo evaluamos la actividad de las metaloproteasas (MMPs) 2 y 9, la actividad caseinolítica, los perfiles proteicos y biomarcadores relacionados a esta afección en distintos grados de MS. Para este trabajo se muestrearon 100 vacas provenientes de diferentes tambos de la Pcia. de Bs. As. A las muestras se les realizó el Test Mastitis California (TMC) y así se conformaron 4 grupos: Sanas (S), Grado 1 (G1), Grado 2 (G2) y Grado 3 (G3). Luego se determinaron proteínas totales (PT) por kit comercial, fracciones proteicas por SDS-PAGE, glicosaminoglicanos (GAGs) por test de DMBB y MMPs y actividad caseinolítica por zimografía. El TIMP-1 fueron evaluados mediante ELISA. Como método estadístico utilizamos ANOVA de una vía. De las muestras obtenidas, 30 correspondieron a vacas sanas y el resto a vacas con MS, estas últimas clasificadas según el grado de mastitis en G1, G2 y G3. Con relación a la actividad de

la MMP-2 vemos una disminución significativa en los grupos G1 y G2 respecto al grupo S ( $p < 0,05$ ). Respecto a la MMP-9 encontramos diferencias significativas entre los grupos S y G3 ( $p < 0,001$ ) y en relación a la actividad caseinolítica total se observaron diferencias significativas entre los grupos G1 y G2. TIMP-1 no presentó diferencias significativas entre los grupos. Al evaluar la caseína total no se encontraron diferencias significativas pero sí hubo diferencias al evaluar la  $\kappa$ -caseína, entre los grupos S con respecto a G1 y G2 ( $p < 0,001$ ) y entre el G3 con respecto a G1 ( $p < 0,01$ ) y a G2 ( $p < 0,05$ ). En relación a los GAGs solo encontramos diferencias significativas entre S y G1 ( $p < 0,001$ ). Como conclusión podemos afirmar que la actividad de las MMPs aumenta con el grado de severidad de la mastitis subclínica, la actividad caseinolítica no presenta una correlación directa con el grado, igual a lo observado con el TIMP-1, fracciones proteicas y los GAGs. En estos últimos resulta importante el aumento en los niveles en el grupo G1, lo cual lo hace interesante a la hora de utilizarlo como método diagnóstico temprano de las mastitis subclínicas.

# Puesta a punto de la prueba ELISA- PPA en muestras de leche bovina

CALABRESE, A; CARRIZO, A; SAJET, J; COLAVECCHIA, S.

La Paratuberculosis es una enfermedad infecciosa bovina de curso crónico y distribución mundial, siendo el agente etiológico *Mycobacterium avium* sp. *paratuberculosis* (MAP). La enfermedad se caracteriza por tener un largo período de incubación, generando enteritis progresiva grave en rumiantes y se asocia con la enfermedad de Crohn si bien su carácter zoonótico aún es discutido. El diagnóstico de la enfermedad se realiza mediante diferentes técnicas diagnósticas como cultivo de materia fecal, PCR y ELISA. El objetivo de este trabajo fue poner a punto una técnica ELISA para diagnóstico de paratuberculosis en muestras de leche. De esta forma se podría lograr el diagnóstico utilizando muestras menos invasivas incluso muestras de leche de tanque. Se utilizaron leches provenientes de rodeos de animales infectados, se procesaron 36 muestras de leche individual y 3 provenientes de tanque. Para ello se separó el suero de la leche por centrifugación a 4°C, luego se retiró la capa grasa, obteniendo así el suero lácteo que se utilizó para la prueba de ELISA-PPA que permite determinar anticuerpos específicos frente a PPA (antígeno proteico protoplasmáticos de MAP). Se pre absorbieron las leches con *Mycobacterium phlei*, (100 ul de *M. phlei* a una densidad óptica (DO) de 1 a 600 nm) y se incubaron con 25 ul de suero de leche, luego se incubó durante 1 hora a 37°C en agitación (6-8 rpm) y a 4°C durante 16 h sin agitación. Se centrifugaron las muestras a 10000 rpm durante 30 minutos a 4°C y se utilizó el sobrenadante. Se sensibilizó la placa con 50

ul de PPA (2 mg/mL) en buffer carbonato-bicarbonato pH 9,6 y se incubó a 37°C por 1h. Luego se realizaron 3 lavados con 100 ul de buffer PBS, 0.05% Tween 20. Se bloqueó la placa con solución de bloqueo (leche al 10% en PBS) y luego se incubó a 37°C por 1 h. Luego de 3 lavados (bajo las mismas condiciones anteriores) y se colocaron 50 ul de los sueros preabsorbidos a una dilución final de 1/40. Se colocaron 50 ul del anti-IgG bovino conjugado con peroxidasa (KPL) 1/4000 en PBS leche 5%, luego se realizó una nueva incubación a 37°C por 1 h. Se agregó el sustrato (TMB), se incubó en oscuridad por 60 minutos y se frenó la reacción con ácido sulfúrico 1N. Se realizó la lectura en espectrofotómetro a 450 nm. Se utilizó el valor de corte estipulado para nuestro laboratorio (Valor de corte: promedio de sueros controles negativos+2DS). De este valor de corte surgen los valores positivos (1,5 veces por encima del valor de corte, los sospechosos entre el positivo y el valor de corte, y negativos aquellos que dan por debajo del valor de corte). De los resultados obtenidos se pudo observar que los controles utilizados mostraron valores similares a los obtenidos para la muestras de sangre. De muestras de leche individual se detectaron 4 positivas y 1 sospechosa y de las muestras de tanque se encontraron 1 positiva y 2 sospechosas. Estos resultados indican que la prueba podría ser de utilidad para el diagnóstico de paratuberculosis a partir de muestras de leche. Resta poner a punto esta prueba con mayor número de muestras de leche y corroborar por medio de cultivo de materia fecal la positividad de las mismas.

# Evaluación ultrasonográfica de la resolución de defectos herniarios umbilicales en terneros Holando con aloinjertos de pericardio

CANTATORE, SE<sup>1,2</sup>; TAMBELLA, VM<sup>1</sup>; VIVIANI, P<sup>1</sup>; ROSATTI, JJ<sup>1</sup>; NEJAMKIN, P<sup>1</sup>; RIVULGO, VM<sup>1</sup>; GARCÍA, JP<sup>3</sup>; MOSCUZZA, CH<sup>1,4</sup>.

Las hernias umbilicales tienen una alta incidencia en terneros de raza Holando Argentino, debido a una debilidad de la pared abdominal causada por un proceso infeccioso, o por una base genética. En defectos extensos se ha reportado el uso de mallas prostéticas sintéticas de polipropileno, aunque el elevado costo del material restringe su aplicabilidad. En el marco de esta problemática, en el Hospital Escuela de Grandes Animales (HEGA) de la FCV-UNCPBA se ha desarrollado como alternativa una bioprótesis de pericardio bovino. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la utilidad de la ultrasonografía transabdominal como herramienta para el monitoreo de la resolución de defectos herniarios con aloinjertos de pericardio en terneros Holando-Argentino. Los casos incluidos en el estudio fueron 8 terneros Holando menores de 6 meses de edad que presentaban defectos herniarios de un diámetro mayor a 8 cm, evaluados y caracterizados mediante ultrasonografía. Los animales fueron intervenidos en quirófano y bajo anestesia inhalatoria. En la resolución quirúrgica de todos los defectos, se colocó la bioprótesis de pericardio desarrollada en el HEGA. Luego de la cirugía, los animales fueron tratados durante 5 días con antibióticos de amplio espectro y durante 3 días con un antiinflamatorio no esteroideo. Transcurridos 7 días desde la cirugía, los animales fueron reintroducidos en los sistemas productivos. Se efectuó una evaluación ultrasonográfica a las 24 horas de realizada la cirugía, seguida

de evaluaciones seriadas transcurridos 7, 21, 30 y 60 días post quirúrgicos. Se evaluó la integridad de la bioprótesis, el anclaje al tejido circundante y la respuesta inflamatoria en cada paciente. En todos los monitoreos, se utilizó un ecógrafo SonoScape® modelo A6V con una sonda lineal de frecuencias entre 5 y 12 MHz. A partir del día 7, las evaluaciones ecográficas se realizaron con los animales de pie, en corrales de encierre y tuvieron una duración aproximada de 15 minutos. En todos los casos, la evaluación ultrasonográfica a las 24 horas post intervención evidenció la contención de los tejidos y vísceras en el interior de la cavidad abdominal, lo que sugiere la funcionalidad del injerto y la integridad de las suturas de anclaje. A los 7 días, se observaron, en todos los casos, zonas de ecogenicidad heterogénea con regiones anecogénicas, compatibles con tejido inflamatorio organizado y presencia de líquido libre (esperable en el postquirúrgico) sin cambios en la localización de las vísceras abdominales. A partir de los 21 días no se observaron evidencias ecográficas de inflamación en la herida quirúrgica, ni diferencias entre el aspecto ecográfico del tejido cicatricial y la pared abdominal. La ecografía demostró ser una técnica de utilidad a la hora de evaluar la reacción postquirúrgica y la integridad de la bioprótesis en los pacientes. La ultrasonografía es una técnica aplicable en el medio rural, que no requiere instalaciones específicas ni altera el manejo productivo de los animales.

<sup>1</sup>Hospital Escuela de Grandes Animales (HEGA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (FCV-UNCPBA), Tandil (BA), Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigación Veterinaria Tandil (CIVETAN), CONICET-CICPBA-UNCPBA, FCV-UNCPBA, Tandil, Argentina. <sup>3</sup>Servicio de Diagnóstico Veterinario, FCV-UNCPBA. <sup>4</sup>Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica de Rumiantes, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (FCV-UBA).

# Etología clínica: análisis de encuestas para mejorar la calidad educativa

CARMONA, N; DE LOS SANTOS, F; MANGAS, J; FERRARI, HR.

Durante el segundo cuatrimestre de 2018 se llevó a cabo el Curso de “Introducción a la Etología Clínica”, organizado por la Secretaría de Extensión de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. La duración del mismo fue de 24 h divididas en 8 encuentros presenciales, una vez por semana, de 3 horas cada uno. Las clases fueron exposiciones dialogadas y participativas. Se realizó un encuentro con formato de taller con rúbrica de evaluación y otro con formato de ateneo de casos clínicos. Los requisitos de inscripción fueron: estudiantes avanzados de la carrera (farmacología regular) y graduados, con cupo de 40 personas. Se desarrolló como herramienta de estudio una encuesta anónima, personal y voluntaria que debían completar el último día de clases. La misma se repartió junto con el examen y la recolección fue mediante una caja “tipo urna” para garantizar que sea anónima. Los principales objetivos fueron que los estudiantes evalúen el grado de contribución del curso en su práctica profesional, la calidad de los contenidos y el nivel de los temas. Los objetivos particulares fueron analizar si los asistentes recomendarían el curso y si volverían a cursarlo. Las tres principales categorías de evaluación fueron: Calidad de los contenidos, nivel de los temas y grado de contribución a su práctica laboral a calificar mediante el código 1=Malo; 2=Regular; 3=Bueno; 4=Muy bueno; 5=Excelente. En relación a las preguntas: ¿Volvería a cursar este curso?, ¿Recomendaría este curso? los estudiantes debían contestar SI o NO. En la encuesta, además, se consultó sobre: lo más útil, lo menos útil del curso, qué agregaría al mismo y sugerencias. Como resultado el 54% de los estudiantes calificó excelente la calidad de los contenidos. El 38% muy bueno y sólo el 0,07%

bueno. El nivel de los temas para el 50% de los asistentes fue excelente y un 38% muy bueno. Y en relación al grado de contribución a su práctica profesional el 50% calificó al curso excelente y un 38% muy bueno. Los resultados relacionados con la pregunta: ¿Volvería a cursar este curso?: el 96% respondió que sí y un 0,04 respondió que no. En relación a la pregunta: ¿Recomendaría este curso? El 100% respondió que sí. Para los estudiantes lo más útil del curso fue la clase de prevención comportamental (56%) y en segundo lugar los videos utilizados como recursos pedagógicos (24%). En las encuestas no figuran respuestas significativas en relación a qué fue lo menos útil. Solo dos participantes coincidieron que fueron los tratamientos que por la falta de tiempo no se pudo profundizar. El 48% de los estudiantes agregaría carga horaria y un 24% no agregaría nada. En las sugerencias un 44% respondió que le interesaría que se realice una segunda parte y un 24% no hizo sugerencias, un 16% solicitó que los *powerpoints* de las clases estén subidos antes de las mismas. Los estudiantes pudieron completar de forma sencilla y rápida las encuestas, resultando ésta una herramienta para obtener información y permitir que se evalúe el curso con la finalidad de poder mejorar la calidad educativa e intervenir positivamente en el proceso de enseñanza-aprendizaje. Podemos concluir que la encuesta fue una herramienta útil, eficaz y eficiente para que los estudiantes evalúen el curso de Introducción a la Etología Clínica y los docentes de la misma podamos ofrecer un permanente mejoramiento en la calidad educativa. El uso de esta herramienta fue fundamental para efectivizar y materializar que los resultados de la misma fueron positivos y alentadores para la Cátedra de Bienestar Animal ya que demuestran que los asistentes al curso quedaron muy conformes con el mismo.

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

# Caracterización de anticuerpos para su uso como reactivo en pruebas diagnósticas

CARRIZO, A; SAJET, J; CALABRESE, A; COLAVECCHIA, S.

La paratuberculosis es una enfermedad granulomatosa intestinal crónica causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) que afecta a rumiantes, produciendo pérdidas económicas en la producción e industrias derivadas. La identificación del MAP por cultivo de materia fecal requiere de 4-6 meses. ELISA-PPA es una prueba inmunoenzimática indirecta que permite evaluar la presencia de anticuerpos específicos a PPA. El objetivo de este trabajo fue la purificación y caracterización de anticuerpos de ciervo para su uso como reactivo en pruebas inmunológicas indirectas. Muestras de sueros de ciervos (SC) se purificaron por cromatografía de afinidad a proteína A según las especificaciones del fabricante. Se obtuvieron 3 eluidos, una muestra no unida (MNU) y el anticuerpo purificado (AP) el cual fue concentrado. Se determinó la concentración de proteínas de cada fracción a través la técnica de Bradford. Se realizó la prueba de electroforesis de SC y AP. Mediante la técnica de SDS-PAGE (10 ug de proteína), se determinó el peso molecular (PM) y la pureza de las fracciones: SC, MNU, buffer de lavado, eluidos (1,2,3) y AP. Finalmente se realizó la técnica de dot blot para confirmar la presencia de anticuerpos de ciervo en las muestras SC y AP en dos diluciones (1:200 y 1:400 o 1:10 y 1:20 respectivamente). Se utilizaron anticuerpos de conejo anti- inmunoglobulinas (Igs) de ciervo y un anti-conejo conjugado con peroxidasa (KPL). Se utilizó diaminobencidina (DAB)

para el revelado de la prueba. Del proceso de purificación se obtuvieron 10 ml de MNU y tres eluidos de 5 ml cada uno, en estos últimos se observaron bandas con PM correspondientes a Igs. La concentración de proteínas mostró para el SC (80,75 mg/ml), para la MNU (23,478 mg/ml), para los tres eluidos (eluido 1; 0,343 mg/ml, eluido 2; 0,399 mg/ml, eluido 3; 0,095 mg/ml) y para el AP (4,617 mg/ml). En la corrida electroforética y densitograma, para el SC se pudieron observar todas fracciones proteicas correspondientes al suero normal y para AP se observó una sola banda, compatible con la fracción de g-globulinas. En la prueba de SDS-PAGE se pudieron observar diferencias en las bandas para cada una de las fracciones obtenidas: para el SC (albúminas, otras proteínas y las fracciones de 50 y 25 kDa correspondientes a Igs mientras que en la fracción de AP se observaron solo las bandas correspondientes a las cadenas pesada y liviana de Igs. A través del Dot blot se identificó la presencia de anticuerpos de ciervo en SC y AP, en las dos diluciones utilizadas, los anticuerpos anti-ciervo de conejo reaccionaron contra la IgG de ciervo. Los anticuerpos de ciervo purificados podrían ser utilizados posteriormente con distintos fines, entre ellos como inmunógeno en la producción de anticuerpos policlonales anti-ciervo, en la realización de columnas de inmunoafinidad purificación de Igs específicas contra suero de ciervo, como también podrían ser conjugados para ser utilizados en técnicas de diagnóstico inmunoenzimáticas.

# Hallazgo de micobacterias no tuberculosas en “Osos hormigueros gigantes” en los Esteros del Iberá, Corrientes

CARUSO, C<sup>1</sup>; MARFIL, MJ<sup>1</sup>; MARTÍNEZ VIVOT, M<sup>1</sup>; PEÑA MARTÍNEZ, J<sup>4</sup>; ROSAS, C<sup>4</sup>; DELMAS, L<sup>1</sup>; ZUMÁRRAGA, JM<sup>2,3</sup>; BARANDIARAN, S<sup>1,3</sup>.

El oso hormiguero gigante (*Myrmecophaga tridactyla*) es uno de los mamíferos nativos más llamativos y peculiares de la Argentina. Se encuentra en la región chaqueña del norte argentino y en los bosques húmedos de la provincia de Misiones. En la provincia de Corrientes existe un proyecto de reintroducción de especies nativas. Una vez ingresados, los mismos atraviesan una cuarentena sanitaria para poder 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 que se encuentran dentro del complejo *Mycobacterium avium* (MAC), que se pueden agrupar en un conjunto más grande de micobacterias conocidas como micobacterias no tuberculosas (MNT), que son consideradas oportunistas. Estas se identifican de manera rutinaria a partir de la secuenciación del gen *hsp65*, que codifica para la proteína de shock térmico. Las MNT no suelen causar lesiones, aunque en presencia de alteraciones de la inmunidad, pueden desarrollar enfermedad. 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 obtuvieron 5 hisopados bucales de osos hormigueros adultos de la provincia de Corrientes. Estos fueron cultivados en medios Stonebrink (ST) y Löwenstein Jensen (LJ) previa descontaminación según el método de Petroff. Ante el crecimiento de colonias se

realizó tinción con Ziehl-Neelsen (ZN) en busca de bacterias ácido alcohol resistentes. Se amplificó el gen *hsp65* y el producto de PCR fue purificado y secuenciado. Las secuencias fueron comparadas con las de la base de datos del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). En 3 de los 5 cultivos se observó desarrollo en el medio LJ y presentaron tinción de ZN positiva. A partir de las colonias obtenidas, se amplificó, purificó y secuenció el gen. Al compararlos con el NCBI, se pudo identificar: *Mycobacterium asiaticum* (cobertura 99% e identidad 94,4%); *Mycobacterium vulneris* (cobertura 100% e identidad 98%); MAC (cobertura 93% e identidad 96%). Es importante destacar que no se detectó *M. bovis* en los animales estudiados. Por otro lado, en nuestro laboratorio ya hemos detectado a partir de muestras de hisopado bucal MNT, siendo éste el único reporte de aislamientos de micobacterias en esta especie animal. Las MNT son principalmente ambientales y su presencia en mucosa bucal no es alarmante. La presencia de micobacterias del MAC es de mayor importancia puesto que algunas de estas pueden ser patógenas. Los porcentajes de identidad para esta última no son tan altos y se deberán estudiar más en profundidad para arribar a mejores conclusiones. Es importante conocer la presencia y dinámica de las micobacterias en esta población poco estudiada. Conocer el estatus sanitario de los animales previo a su liberación evitará el ingreso y diseminación de micobacterias patógenas en áreas donde se desconoce su distribución.

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

<sup>2</sup>Instituto de Biotecnología, IABIMO-CONICET, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>4</sup>The Conservation Land Trust, Corrientes, Argentina.

# Evaluación de la biodisponibilidad proteica *in vitro* en dietas para langosta australiana *Cherax quadricarinatus*

CASARETTO, ME<sup>1,2</sup>; STUMPF, L<sup>3</sup>; TIMPANARO, S<sup>3</sup>; LÓPEZ GRECO, L<sup>3</sup>; MORALES, GA<sup>1,2</sup>.

La langosta australiana (*Cherax quadricarinatus*) se presenta como una especie con gran potencial acuícola aunque, hasta ahora, su participación en las estadísticas mundiales es escasa. Como ocurre con otras especies de acuicultura, el costo del alimento representa un desafío económico, por lo que el desarrollo de técnicas de evaluación de calidad nutricional de alimentos para langosta resulta de particular interés. Varios estudios *in vivo* han apuntado a establecer un requerimiento proteico para la especie, pero muy pocos se han realizado para determinar la digestibilidad de las distintas fuentes proteicas. Por otro lado, no se han registrado estudios que empleen metodologías *in vitro* que permitan evaluar la biodisponibilidad de la proteína dietaria bajo las condiciones del hepatopáncreas como es objetivo del presente trabajo. Para ello, 21 juveniles en etapa de engorde se distribuyeron aleatoriamente en acuarios individuales con un refugio, los cuales se mantuvieron a  $27 \pm 1$  °C. Cada uno de ellos fue alimentado con una de las siguientes tres dietas (48, 44 y 38% de proteína cruda): D48, Comercial; D44, Experimental Con Ensilado de Pescado; D38, Experimental Sin Ensilado; por un período de 90 días. Se determinó por colorimetría la actividad proteasa alcalina en cada grupo a través de una incubación con caseína 0,5 % como sustrato a pH 7,5 y  $27 \pm 1$  °C ( $445,8 \pm 77,3^a$ ;  $360,5 \pm 62,8^{ab}$ ;  $292,5 \pm 103,1^b$  U/g de tejido para D48, D44, D38). Se establecieron relaciones enzima-sustrato específicas según la proteína

diaria consumida por los individuos. Fueron calibrados 9 biorreactores para monitorear los productos de reacción (aminoácidos y pequeños péptidos) liberados y dializados a través de una membrana con tamaño de poro de 1000 Da. La mezcla de reacción consistió en 100 mg de cada dieta con un volumen de extracto enzimático de hepatopáncreas acorde a la relación hallada (4,88; 4,65 y 3,98 U/mg proteína consumida). La simulación fue mantenida durante 240 min a pH 7,5 con buffer fosfato 50 mM a  $27 \pm 1$  °C y agitación constante. Se cuantificaron los cambios en la solubilidad de la proteína dietaria y la tasa de liberación de aminoácidos totales por colorimetría. La solubilidad proteica de D48 fue estadísticamente menor ( $p < 0,05$ ) en ausencia de extracto enzimático, pero, en presencia del mismo, mostró una mayor solubilidad proteica con respecto a las otras dietas, sugiriendo que la naturaleza y calidad de las proteínas empleadas (miofibrilares en la dieta D48 vs. globulinas provenientes de la soja en las restantes dos) podrían jugar un rol relevante en la biodisponibilidad de dicho nutriente. D44 manifestó una mayor liberación de aminoácidos ( $p < 0,05$ ) en la evaluación de la dieta *per se* (sin adición de extracto enzimático), probablemente debido a la inclusión del ensilado de pescado con alto contenido de proteína pre-hidrolizada. No obstante, frente al extracto de hepatopáncreas, no se observaron diferencias significativas entre dietas. La técnica resultó útil para realizar una evaluación preliminar de la proteína dietaria de manera simple, rápida y económica.

UBACYT 2018-2021 nro. 20020170100021BA, PIP 2015-2017 nro. 11220150100544, PICT 2016-0759 y PICT 2016-2464

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Departamento de Prod. Animal, Cátedra de Acuicultura, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. CONICET (INPA), Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>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, Buenos Aires, Argentina.

# Caracterización extendida de la respuesta inmune humoral inducida por *Brucella melitensis* Rev.1 en cabrillas

CASTAÑO ZUBIETA, R<sup>1</sup>; MAURIZIO, E<sup>1,2</sup>; GARCÍA, D<sup>3</sup>; ARENAS-GAMBOA, AA<sup>3</sup>; ROSSETTI, CA<sup>1</sup>.

*Brucella melitensis* es el agente etiológico de la brucelosis en los pequeños rumiantes, una enfermedad zoonótica cuya principal manifestación clínica es el aborto. La cepa atenuada Rev.1 de *B. melitensis* es considerada universalmente como la mejor vacuna disponible para la prevención y control de la enfermedad. Sin embargo, los anticuerpos vacunales interfieren con el diagnóstico serológico a campo, por lo que conocer la dinámica de la respuesta inmune humoral a la vacunación ayuda a interpretar los resultados obtenidos con las distintas técnicas diagnósticas utilizadas. Otros estudios caracterizaron la respuesta humoral en cabrillas durante los primeros 6 meses post-vacunación. En este trabajo extendimos el tiempo de estudio para evaluar si el nivel de anticuerpos vacunales se modifica durante la gestación y la lactancia. Se inmunizaron mediante instilación conjuntival con  $1-2 \times 10^9$  UFC de Rev.1 (OCUREV<sup>®</sup>) 10 cabrillas, libres de brucelosis, de 4 a 6 meses de edad; 10 animales de la misma edad se inocularon por la misma vía con 0,5 ml de solución salina (controles). Se tomaron 5ml de sangre para suero de la vena yugular a distintos tiempos (pre-inmunización y 7, 14, 28, 42, 56, 90, 120, 180 y 270 d.p.v.); al parto (360-390 d.p.v.) y a los 45 días post parto). La respuesta serológica a la vacunación se determinó mediante la prueba de aglutinación rápida en placa con antígeno bufferado (BPA) y a través de un ELISA indirecto (iELISA). A las dos semanas p.v. todos los animales mostraron una

aglutinación fuerte (+++) a la prueba de BPA. La intensidad de la aglutinación se atenuó hacia las 12 semanas p.v. (+), y a los 180 d.p.v. todos los animales sero-negativizaron, excepto uno. A los 270 días d.p.v., 3 animales resultaron positivos a la prueba de BPA, confirmándose 2 de ellos por la prueba de polarización fluorescente (FPA). Al tiempo del parto, sólo un animal resultó positivo a BPA. Mediante la prueba de iELISA, se detectaron anticuerpos IgM anti-*Brucella* animales vacunados a partir de los 7 días p.v., alcanzando su pico entre los días 14 y 21 p.v., para negativizarse rápidamente a los 28 días p.v.. Por otro lado, los anticuerpos IgG anti-*Brucella* se detectaron desde las 2 semanas p.v., alcanzaron el mayor nivel entre las 4 y 8 semanas p.v., para luego decrecer paulatinamente, aunque nunca negativizaron. Se observó un incremento puntual del nivel de las IgGs al momento del parto, cayendo posteriormente. El grupo control permaneció seronegativo a ambas pruebas durante toda la experiencia. Se concluye que la respuesta inmune observada dentro de los primeros 6 meses p.v. es coincidente con la expresada en trabajos previos y además se observó una reactivación de la respuesta inmune al momento del parto, lo que podría interferir con la interpretación diagnóstica. Notablemente, 2 animales fueron sero-positivos a las pruebas convencionales por más tiempo del esperado. Estos resultados reafirman la necesidad de desarrollar una técnica diagnóstica que diferencie animales vacunados de infectados.

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología. CICVyA-CNIA, INTA. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. CABA. Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Patobiología. Colegio de Cs. Veterinarias, TAMU, TX, USA.

# Impacto de la vía intra-rectal en ratones CF1 para la administración de una combinación de acepromazina y midazolam como premedicación anestésica

CATURINI, E; BERGEROU, C; GODOY, M; PUCHETA, N; RIBET, E; GULLACE, G; RUIZ DÍAZ, S; APREA, P.

En el ratón la vía de administración de drogas anestésicas es generalmente intraperitoneal, la cual requiere de una sujeción física particular que genera estrés. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la vía intra-rectal (IR) para administrar una combinación de fármacos alternativa que permitiera, con bajas dosis de droga, una cómoda manipulación del animal; y además evaluar el impacto que produce la administración repetida de acepromacina/midazolam IR en ratones CF1. En un primer ensayo se emplearon 12 ratones CF1 a los que se le administró acepromazina maleato y midazolam clorhidrato por vía IR, previo vaciamiento manual de la ampolla rectal. En cada caso se registró latencia y duración del efecto. En todos los animales el tiempo de latencia fue de 3 a 5 minutos y la duración del efecto fue entre 30 y 60 minutos. En un segundo ensayo se utilizaron 10 ratones CF1 hembras. El grupo tratado fue de 7 animales a los que se les administró la misma dosis que al grupo anterior y por la misma vía, utilizando

los mismos materiales y la misma técnica. El grupo control fueron 3 animales a los que se les administró igual volumen de solución fisiológica. La maniobra se repitió diariamente durante 12 días consecutivos. Al finalizar el ensayo se realizó eutanasia y necropsia de los animales tomándose muestras de recto y colon que fueron procesadas según técnicas de rutina. En los animales tratados no se observaron lesiones a nivel epitelial, reacción inflamatoria, ni congestión y edema vascular. No se observaron diferencias estadísticas significativas entre los animales tratados y los controles. La administración IR es una opción sencilla y rápida para el operador y segura para el animal. Asimismo, el uso de la vía IR para la administración repetida de esta combinación pre-anestésica no ha presentado efectos secundarios que deban ser considerados al momento de su utilización, constituyendo una alternativa que ofrece un excelente margen de seguridad y contribuyendo, por ser menos invasiva, al bienestar animal.

# Persistencia de respuestas aprendidas: una comparación entre perros de intervenciones asistidas con animales y perros mascota

CAVALLI, CM<sup>1,2</sup>; CARBALLO, F<sup>3</sup>; DZIK, V<sup>1,2</sup>; BENTOSELA, M<sup>1,2</sup>.

Los perros que participan en Intervenciones Asistidas con Animales (IAA) están expuestos a una amplia variedad de situaciones e interactúan con un gran número de personas en su vida diaria. Por este motivo, son candidatos óptimos para evaluar cómo la mayor interacción con personas modula el comportamiento canino. Dado que los clientes de IAA no siempre responden apropiadamente a los intentos comunicativos de los animales, los perros de IAA muchas veces deben persistir en sus respuestas comunicativas, por lo que es esperable que sean más persistentes que los perros mascotas. El objetivo de este estudio es comparar a perros que participan en IAA con perros que no hacen estas actividades (“mascotas”) en la persistencia de respuestas aprendidas cuando estas ya no conducen a la obtención de un refuerzo. Se evaluaron 26 perros (13 participantes de IAA y 13 mascotas) en dos tareas sociocognitivas de aprendizaje (mirada y elección de objeto) y una prueba no social (resolución de problemas). Todas las tareas siguieron un patrón similar con una primera fase de adquisición donde el perro recibía comida por realizar cierta conducta y luego una fase de prueba (extinción) donde ya no eran reforzados. Durante la tarea de mirada, pese a que no hubo un efecto principal

de grupo, los perros mascota disminuyeron significativamente el tiempo de mirada durante la fase de extinción, mientras que esta respuesta se mantuvo constante en el grupo IAA. Respecto a la tarea de elección de objeto, no se encontraron diferencias entre los grupos. Por último, en resolución de problemas, los perros de IAA persistieron significativamente más que los perros mascota, ya que levantaron más piezas de un juguete interactivo y pasaron más tiempo interactuando con el juguete que los perros mascota. Se concluye que el trabajo de IAA podría afectar la persistencia de estos perros en ciertas tareas cognitivas. Sin embargo, factores como la naturaleza de la prueba, la interacción con el experimentador y los niveles de entrenamiento modularían estas respuestas. Un nivel incrementado de persistencia sería relevante para el desarrollo del trabajo de los perros de IAA, ya que en diversas ocasiones deben llevar a cabo actividades sin acceder a un refuerzo inmediato. Conocer más acerca de las características de estos perros es vital para tener un mejor entendimiento de esta población, así como facilitar su selección y entrenamiento. Esto resulta de particular relevancia dada la popularidad creciente de las IAA en los últimos años.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Instituto de Investigaciones Médicas A. Lanari, Combatientes de Malvinas 3150, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Consejo 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. <sup>3</sup>Instituto de investigaciones Biológicas y Biomédicas del Sur (IMBIOSUR; CONICET -UNS), San Juan 670 Piso 1 (8000), Bahía Blanca, Argentina.

# Inmunoexpresión de VEGF en neoplasias mamarias caninas de distinto grado de malignidad. Estudio preliminar

CAVERZAN, M<sup>1</sup>; FIORIMANTI, M<sup>1,2</sup>; CRISTOFOLINI, A<sup>1,2</sup>; MERKIS, C<sup>1</sup>.

En el cáncer de mama de hembras caninas, como en mujeres, uno de los factores pronósticos más importantes es la presencia de metástasis en nódulos linfáticos regionales, lo que se relaciona directamente con la supervivencia, representando además, el alcance que tiene dicha neoplasia. El factor de endotelio vascular (VEGF) es una de las moléculas más importantes secretadas por células tumorales y estromales, involucrada en el proceso de angiogénesis y en el grado de malignidad del tumor. De esta manera, se promueve la formación de vasos sanguíneos asegurando la nutrición tumoral, pero además, un fuerte mecanismo para la diseminación de células neoplásicas a lugares distantes del sitio del tumor primario. El objetivo de este trabajo fue determinar la inmunoexpresión de VEGF en nódulo linfático centinela metastásico de una glándula mamaria y en un adenoma mixto de hembra canina. Las muestras fueron obtenidas de una hembra de raza ovejero alemán de 7 años de edad y de una hembra de raza caniche de 9 años de edad. Fueron fijadas en formol tamponado y procesadas a través de la técnica histológica convencional. Los cortes histológicos realizados fueron de  $\pm 4 \mu\text{m}$  y se tiñeron con hematoxilina-

eosina para el diagnóstico histopatológico. Para la técnica inmunohistoquímica de VEGF se utilizó un anticuerpo primario anti-VEGF, dilución 1/100 (Santa Cruz Biotechnology Inc., USA) y anticuerpos secundarios (Cell Marque, USA). La observación se realizó a través de un microscopio óptico Axiophot (Carl Zeiss, Alemania) expresando los resultados en forma descriptiva de acuerdo a la intensidad de marcación detectada. En la zona medular del nódulo linfático regional del adenocarcinoma se observó una fuerte expresión de VEGF citoplasmática en las células tumorales y una distribución perivascular en vasos de distinto calibre, tanto arteriolas como vénulas. En contraparte, en la mama diagnosticada como adenoma mixto se detectó una débil marcación de VEGF. A través de este estudio preliminar, podemos informar que la inmunoexpresión de VEGF se correlaciona según el grado de malignidad de la neoplasia, pudiendo ser un factor pronóstico en la supervivencia del paciente y además, una herramienta fundamental para lograr un mayor entendimiento de cómo una neoplasia *in situ* puede transformarse en invasiva y metastásica.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Dpto de Patología Animal, Área de Microscopía Electrónica. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

# Obtención de una proteína recombinante como posible candidato vacunal para reducir la colonización de *E. coli* O157:H7 en bovinos.

CELLI, AB<sup>1</sup>; LARZABAL, M<sup>1,2</sup>; VILTE, D<sup>1,2</sup>.

*Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) es un patógeno capaz de causar Colitis Hemorrágica y Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) en humanos. Argentina es el país con mayor incidencia anual, con 12 a 15 casos por cada 100,000 niños menores de cinco años, siendo *E. coli* O157:H7 el serotipo prevalente. El ganado bovino es el principal reservorio de EHEC, que se caracteriza por poseer varios factores de virulencia, entre los cuales se encuentran: Las toxinas Shiga (Stx), que pueden ser de tipo 1 o 2; la isla de patogenicidad LEE (*Locus of Enterocyte Effacement*) que codifica para la adhesina Intimina, su receptor Tir y el sistema de secreción de tipo III (SST3) compuesto por las proteínas Esp y varias proteínas que son trasladadas a las células de los mamíferos; además del plásmido O157. La isla de patogenicidad LEE le confiere la capacidad de producir una lesión histopatológica en el epitelio intestinal conocida como *attaching and effacing*. Estudios realizados por nuestro grupo de trabajo demostraron que terneros vacunados con las proteínas recombinantes EspB e Intγ280 presentaron altos títulos de IgG sérica. A su vez, se pudo observar una reducción de la colonización de EHEC O157:H7 por parte de los animales inmunizados. Este efecto protector de la vacuna se observó tanto en la cantidad como en la frecuencia de excreción. Dado que los bovinos son el principal reservorio de esta bacteria, resulta evidente que la vacunación es una estrategia de intervención prefaena que limitaría la colonización y excreción del

ganado, reduciendo así la diseminación del patógeno en el ambiente y la contaminación de agua, vegetales y otras especies animales. Para optimizar el desarrollo vacunal proponemos fusionar ambos antígenos. Por ello el objetivo general de este trabajo fue llevar a cabo el diseño de una única proteína recombinante divalente formada por los factores de virulencia EspB e Intγ280 (codificadas por los genes *espB* y *intγ280* respectivamente). Para la construcción de esta quimera se utilizó la técnica de *Splicing by Overlap Extension*. Para fusionar los dos genes con esta técnica se diseñó un oligonucleótido *forward* que amplificó el extremo 5' de *espB* y un primer *reverse* para el extremo 3' de *espB*. Este último, además, contiene un oligonucleótido que hibrida con el extremo 5' del gen *eae*. También se diseñaron los oligonucleótidos para el gen *eae*. El oligonucleótido *forward* que amplificó el extremo 3' de dicho gen, y el *reverse* que amplificó el extremo 5' y, además, es complementario al extremo 3' de *espB*. Los fragmentos obtenidos fueron ligados a un vector de expresión comercial. Posteriormente se transformaron cepas *E. coli* BL21 y los clones positivos fueron seleccionados y secuenciados en la Unidad Genómica del CICVyA-INTA. Habiendo realizado con éxito los procedimientos previos se continuará con ensayos de expresión y purificación de la proteína, con el fin de obtener a futuro un candidato vacunal divalente para reducir la colonización de EHEC O157:H7 productora del SUH en bovinos.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UEDD INTA-CONICET). CICVyA. Instituto de Patobiología Veterinaria. <sup>2</sup>UEDD INTA-CONICET. Instituto de Biotecnología. [celi.ana@inta.gov.ar](mailto:celi.ana@inta.gov.ar)

# Efecto de la centrifugación refrigerada como método de concentración sobre la calidad del semen porcino

CHAPERO, LA<sup>1</sup>; MARENGO, ML<sup>1</sup>; ROSSETTO, L<sup>1</sup>; NICOLÁS, A<sup>1</sup>; RAMOS, S<sup>1</sup>; FERNÁNDEZ, F<sup>1</sup>;

AIMAR-CHIESA, I<sup>1</sup>; BILBAO, MG<sup>1,2</sup>; BOERIS, MA<sup>1</sup>.

La concentración del semen porcino mediante centrifugación es uno de los primeros pasos para la criopreservación, por lo que el menor daño que se ejerza sobre los espermatozoides (esp.) en el proceso resulta de fundamental importancia para los pasos ulteriores. Asimismo, se desea obtener en cada dosis el mayor número de esp. viables con acrosomas intactos. Nos propusimos evaluar el efecto de diferentes regímenes de centrifugación refrigerada como técnica de concentración sobre la calidad espermática, con el fin de estandarizar un protocolo de criopreservación. Durante los meses de abril a diciembre de 2018, se analizaron n = 13 muestras de semen, obtenidas mensualmente mediante la técnica de mano enguantada, provenientes de tres verracos de fertilidad probada, de la FCV-UNLPam. Debido al abordaje preliminar de la técnica, se consideraron aceptables aquellos eyaculados que tuvieran > 200 × 10<sup>6</sup> esp/mL, > 60% de esp. móviles y > 60 % de esp. con morfología normal (MN). Se evaluaron tres regímenes de centrifugación a 15 °C: 2400 X g por 3 minutos (C1), 2400 X g por 10 minutos (C2) y 1500 X g por 10 minutos (C3). Las variables analizadas antes (SC) y después de C1, C2 y C3, fueron: i) Concentración espermática (10<sup>6</sup> esp/mL), determinada mediante SpermaCue; ii) % de esp. con motilidad progresiva (MP), en microscopio de contraste de fases (MCF) a 400 x con platina térmica a 37 °C; iii) % de esp. con MN, por el método de tinción húmeda en buffer salino formolado utilizando un MCF DIC - Nomarski a 1000 x; iv) % esp. con integridad

acrosomal, determinado igual que iii. Las variables con distribución normal se analizaron mediante la prueba de ANOVA. Las variables cuya distribución no se ajustó a la normalidad se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis. Los valores se expresan como Media ± EEM, considerándose diferencias significativas cuando P < 0,05. Se trabajó con cada muestra de manera independiente, fraccionándolas para C1, C2 y C3. Encontramos que los tres regímenes aumentaron la concentración respecto del semen SC (SC: 520,583 ± 55,665; C1: 1625 ± 46,196; C2: 1597,273 ± 49,416; C3: 1593,636 ± 40,994; P < 0,001), sin alterar el % de esp. con MP (P = 0,773) ni el % de esp. con integridad acrosomal (P = 0,136). Sin embargo, se registraron diferencias en el % de esp. con MP obtenida luego de la centrifugación (SC: 77,833 ± 1,886; C1: 69,583 ± 1,892; C2: 72,273 ± 1,950; C3: 68,636 ± 1,364; P = 0,003), sin interacción verraco x protocolo (P = 0,614). Al analizar estas diferencias con el postest de Bonferroni, C2 fue el único que no disminuyó el % de esp. con MP (P = 0,208). Por lo tanto, podemos concluir que si bien ninguno de los regímenes de centrifugación modificó el % de esp. con MN y en especial el % de esp. con acrosomas intactos, solo uno de ellos parecería no afectar el % de esp. con MP, característica fundamental para garantizar el potencial fecundante. De esta forma, alcanzamos el objetivo planteado, definiendo la primera centrifugación hacia la criopreservación de semen porcino en 2400 X g a 15 °C por 10 minutos.

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. <sup>2</sup>CONICET

# Infektividad del inóculo micorrícico arbuscular y fertilización fosforada en un suelo deficiente en fósforo

CHIPPANO, T<sup>1</sup>; MORALES, N<sup>1</sup>; COFRÉ, N<sup>2</sup>; GARCÍA, I<sup>1</sup>.

Los hongos micorrícicos arbusculares (MA) se asocian con el 85% de las plantas terrestres y aumentan la absorción de fósforo (P). Entre los factores que afectan a la comunidad MA se encuentra la fertilización fosforada que disminuye la colonización radical y por lo tanto la infectividad del inóculo. El objetivo fue evaluar el efecto de la fertilización fosforada sobre la infectividad del inóculo MA de un suelo deficiente en P de la Cuenca del río Salado. Se realizó un bio-ensayo en invernáculo para estimar la infectividad del inóculo MA de un suelo deficiente en P (6,7 mgP/kg disponible) a través de la colonización radical en plantas de *Lotus tenuis* cv. Esmeralda. Se ensayaron 6 concentraciones de suelo como inóculo: 1, 5, 10, 20, 30 y 100 g/100g SS (densidad de esporas: 25 esporas/g SS, 15,9% de viabilidad). El sustrato diluyente fue el mismo suelo esterilizado. A un grupo de macetas de cada dilución se le agregó P (15 mgP/kg) como  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . La dosis de P ha sido seleccionada a partir de trabajos previos del grupo. Luego de 20 DDS se cosechó el material vegetal, se determinó PS aéreo y PF radical. Se calculó el porcentaje de plantas colonizadas como la cantidad de plantas con al menos un punto de entrada de hongos MA en sus raíces / total de plantas por maceta multiplicado por 100 y se calculó la unidad de infectividad micorrícica del suelo ( $\text{IMS}_{50}$ ) como la cantidad de suelo mínima necesaria para colonizar el 50% de las plantas. Los resultados fueron analizados a

través de ANOVA (Infostat). La infectividad del inóculo MA se estimó a través de ajustes de regresiones no lineales para cada uno los casos: -/+P (GraphPad Prism). El porcentaje de plantas colonizadas aumentó ante el incremento de la concentración de suelo. Las raíces de *L. tenuis* no presentaron colonización ante 1% y 5% de suelo -/+P. El agregado de P disminuyó 3 veces el porcentaje de plantas colonizadas ante 10% de suelo, y no hubo diferencias entre 20%, 30% y 100% de suelo y -/+P. La biomasa aérea disminuyó ante el incremento del % de suelo y +P, y no hubo diferencias entre las diluciones -P. La biomasa radical aumentó ante +P y no se observaron diferencias entre las concentraciones de suelo ante -/+P. El  $\text{IMS}_{50}$  fue 16.87g y 19.23g ante -/+P, respectivamente. La dosis de P aplicada resultó conservativa de la colonización MA, ya que solo afectó la infectividad cuando la concentración de suelo disminuyó hasta 10%, mientras que ante concentraciones mayores, la colonización no fue afectada. El  $\text{IMS}_{50}$  indicó que ante +P es necesario 13.98% más de suelo para colonizar el 50% de las plantas. La fertilización fosforada es una de las causas de la disminución de la infectividad del inóculo MA en los suelos, sin embargo a partir de los resultados obtenidos se puede establecer que la aplicación de dosis consideradas bajas a moderadas en un suelo deficiente en P de la Cuenca del río Salado podría aumentar la producción de biomasa vegetal sin disminuir su infectividad.

<sup>1</sup>Laboratorio de Nutrición Vegetal y Micorrizas Arbusculares, Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" - CONICET - Buenos Aires. <sup>2</sup>Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal - CCT-CONICET - Córdoba. <sup>1</sup>tomas\_chippa@hotmail.com.

# Estudio de la capacidad de conservación de semen porcino a 15°C de dosis homospérmicas vs. heterospérmicas

COMPAGNONI, MV<sup>1,4</sup>; BAINOTTI, C<sup>2</sup>; TITTARELLI, CM<sup>1</sup>; WILLIAMS, SI<sup>1,3</sup>.

La práctica de mezclar eyaculados de dos o más verracos es rutinaria en muchos centros de inseminación porcinos, siempre que los mismos pertenezcan a la misma línea genética. Esta práctica de elaborar "pools" de semen o dosis heterospérmicas (Hetero) es una forma de aumentar la fertilidad de los eyaculados, siempre que los mismos posean en su forma homospérmica (Homo) parámetros aceptables de calidad. Dicho incremento en la fertilidad, podría deberse a que el plasma seminal contiene una amplia variedad de proteínas, alguna de las cuales podrían afectar la fertilidad espermática. El objetivo de este estudio fue comparar la calidad seminal de semen porcino durante la conservación a 15°C, en dosis tanto en forma Homo como Hetero. Se obtuvieron eyaculados de 15 padrillos alojados en un sistema confinado de la provincia de Córdoba. Luego de la extracción y evaluación del semen fresco se procedió a la dilución y elaboración de dosis seminales para su posterior conservación a 15°C. Las mismas se transportaron a dicha temperatura al Laboratorio de Reproducción Animal de la FCV-UNLP, donde se prosiguió con el ensayo. El día 2 (D2) post-extracción se elaboraron las dosis Hetero. Para este trabajo se consideraron los datos de 6 dosis Homo, las que se dividieron al azar en 2 grupos de 3 machos cada uno. Por grupo, se realizaron todas las combinaciones posibles de a dos machos,

obteniéndose un total de 6 dosis Hetero, las cuales se conservaron a 15°C durante 6 días, evaluando % vivos al D2, D4 y D6 de todas las muestras. Los datos se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA), utilizando como prueba a posteriori el test de Tukey. Si bien todos los eyaculados al D2 en su forma Homo tuvieron un % de espermatozoides vivos > al 60%, fue al D6 donde se encontraron variaciones importantes respecto a este parámetro. Considerando dichas variaciones pudimos clasificar a los machos en buenos (B: vivos >50%) y malos (M: vivos <50%) conservadores. Observando que al mezclar B con B (BxB), las dosis Hetero obtenidas mantuvieron un % de células vivas > al 60% luego de 6 días a 15°C. Por el contrario al mezclar M con M (MxM) el % de vivos al D6 fue cercano al 40%, estas diferencias fueron estadísticamente significativas. Finalmente, al mezclar B con M, el % de vivos al D6 fue < al 60%, sin encontrarse diferencias significativas con los otros dos grupos. Estos resultados muestran la importancia que tiene el análisis de la capacidad de conservación de cada macho previa a la decisión de mezclarlos, y que la sola evaluación al momento de la extracción o hasta 2 días luego de la misma, no son suficientes para asegurar la calidad de la dosis Hetero obtenida al final del período de conservación.

<sup>1</sup>Cátedra de Reproducción Animal. <sup>2</sup>Epidemiología y salud pública. <sup>3</sup> Cátedra de Producción Porcina. Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata; <sup>4</sup>CONICET.

# Impacto del uso de aceite de oliva virgen en la dieta del verraco sobre el daño oxidativo de las membranas celulares

COMPAGNONI, MV<sup>1,5</sup>; VENTURA, MB<sup>3</sup>; BAINOTTI, C<sup>4</sup>; TITTARELLI, CM<sup>1</sup>; WILLIAMS, SI<sup>1,2</sup>.

El Aceite de Oliva Virgen (AOV) variedad Arauco contiene compuestos antioxidantes tales como tocoferoles, carotenoides y compuestos fenólicos (CF). Los CF no se encuentran en otros aceites y entre los presentes en el AOV tienen especial interés aquellos que poseen un grupo orto-difenólico, que al secuestrar radicales libres, han mostrado poseer una actividad antioxidante igual o superior a la de otros antioxidantes conocidos como la vitamina E, vitamina C y luteína. Otros componentes relevantes del AOV, son los triglicéridos y ácidos grasos como el ácido oleico (MUFA); el que representa entre el 56-84% del total de ácidos grasos del AOV. Otros son el ácido palmítico y el esteárico (saturados) y los ácidos linoleico y  $\alpha$ -linolénico (PUFAs). El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la incorporación de AOV en la ración de verracos sobre el daño oxidativo de las membranas celulares, en presencia o no de luteína en el diluyente de congelación. Durante 5 semanas se suplementó a un verraco (Facultad de Ciencias Veterinarias-UNLP) on top con 5% de AOV v/p en la ración de balanceado. Se utilizaron 6 eyaculados, 3 obtenidos previamente y 3 posteriormente al tratamiento con AOV. Todos los eyaculados se dividieron en 2 alícuotas, una de las cuales fue criopreservada utilizando luteína (antioxidante natural exógeno) en el diluyente de congelación. El diseño experimental resultante fue: sin

aceite sin luteína (SASL), sin aceite con luteína (SACL), con aceite sin luteína (CASL) y con aceite con luteína (CACL). Todas las muestras se mantuvieron en nitrógeno líquido hasta su descongelación. Se evaluaron los siguientes parámetros seminales: % de motilidad y vigor (microscopía óptica), % de vivos y % de morfoanomalías (tinción de eosina-nigrosina), y % de acrosomas normales (PSA). Por otro lado se evaluó el grado de peroxidación no enzimática en presencia de ascorbato mediante quimioluminiscencia. Los datos se analizaron a través del análisis de la varianza no paramétrico utilizando la Prueba de Kruskal Wallis con el software InfoStat, hallándose diferencias significativas en el % de morfoanomalías entre las muestras CACL y las obtenidas previo al tratamiento con aceite (SASL y SACL). No se hallaron diferencias significativas entre los grupos CASL y CACL, lo que demuestra que la adición de luteína no afectó el % de morfoanomalías, como sí lo hizo el AOV. Además se observó, aunque sin diferencias significativas, un 8% más de espermatozoides vivos al descongelado en los eyaculados CACL respecto al control. Esta diferencia en el % de células con membranas íntegras podría explicar el mayor grado de peroxidación inducida con ascorbato que se observó en las muestras CACL, probablemente por presencia de más sustrato oxidable.

<sup>1</sup>Cátedra de Reproducción Animal. <sup>2</sup>Cátedra de Producción Porcina. <sup>3</sup>Cátedra de Bioquímica. <sup>4</sup>Cátedra de Epidemiología aplicada, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. <sup>5</sup> CONICET.

# Emisión de óxido nitroso en un suelo con aplicación de guano crudo y compostado de aves ponedoras

COSENTINO, V<sup>1,2</sup>; OSTINELLI, M<sup>3</sup>; PÉREZ, G<sup>4</sup>; ROMANIUK, R<sup>1</sup>; MORTOLA, N<sup>1</sup>; COSTANTINI, A<sup>1,4</sup>; TABOADA, M<sup>1,2</sup>.

La producción intensiva de huevos produce grandes cantidades de residuos producto de la deyección de las aves ponedoras, llamado guano. La aplicación al suelo del guano crudo, con elevado contenido humedad y nutrientes, podría favorecer la emisión de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), uno de los principales gases de efecto invernadero emitido desde el sector agropecuario. El N<sub>2</sub>O es producido por los procesos de nitrificación y desnitrificación, siendo la humedad, la temperatura y el contenido de nitratos del suelo los principales factores que regulan su emisión. El compostaje de los residuos orgánicos reduce la humedad y la disponibilidad de nutrientes, por lo que el compostaje del guano previo a su aplicación al suelo podría considerarse como una alternativa para disminuir los niveles de emisión de N<sub>2</sub>O. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la emisión de N<sub>2</sub>O desde el suelo luego de la aplicación de guano crudo y compostado de aves ponedoras. Para ello, se realizó un ensayo de campo completamente aleatorizado dentro del predio del CNIA INTA Castelar, en un suelo Argiudol típico de la serie Las Cabañas. Los tratamientos fueron: Guano (G), Compost

de Guano (CG) y Testigo (T), aplicándose el equivalente a 100 kg de N ha<sup>-1</sup> en los dos primeros. Luego de su aplicación, se realizó un seguimiento de la emisión de N<sub>2</sub>O, utilizando cámaras cerradas no ventiladas. Paralelamente, se determinó el contenido de nitratos, la temperatura y se calculó el espacio poroso saturado con agua (EPSA). Considerando todos los tratamientos se registraron valores de emisión de N<sub>2</sub>O desde 0,4 a 465 µg de N-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> h<sup>-1</sup>. Se registraron diferencias significativas (p < 0,05) entre los tres tratamientos, con valores promedio de emisión de N<sub>2</sub>O acumulados de 867,82 g de N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> desde el suelo con aplicación de guano, 399,67 g de N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> desde el suelo con aplicación de compost y 213,02 g de N-N<sub>2</sub>O ha<sup>-1</sup> en el tratamiento testigo. Es decir que el suelo con aplicación de guano crudo emitió aproximadamente el doble que el suelo con aplicación de compost de guano y cuatro veces más que el suelo testigo. A partir de estos resultados, podemos concluir que la aplicación al suelo del guano compostado es una alternativa de manejo eficiente para disminuir la emisión de N<sub>2</sub>O desde el suelo, en comparación a su aplicación cruda.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Suelos CIRN. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>3</sup>Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires (UBA). <sup>4</sup>Cátedra de Edafología, Facultad de Agronomía, UBA. Cosentino.vanina@inta.gob.ar

# Calidad de agua de bebida para equinos en la provincia de Buenos Aires

COSENZA, A<sup>1</sup>; VOLPE, SM<sup>1</sup>; CARBÓ, LI<sup>1</sup>.

El cuerpo de un equino adulto está compuesto por un 60-70% de agua. El consumo medio de agua por parte de esta especie, en clima templado, es de 30 a 54 L/día. Si se produce una menor ingesta por rechazo, debido a la mala calidad de la misma, se podría provocar deshidratación y una reducción de la ingesta de minerales que son incorporados por esta vía a la dieta. La pérdida de un 20% de agua podría ser fatal, pero pérdidas menores son especialmente serias en equinos deportivos. Para poder realizar un correcto manejo del recurso agua en el equino se deben conocer los factores que determinan su calidad. El objetivo de este estudio fue establecer la calidad del agua subterránea en establecimientos dedicados a la producción o al deporte vinculado a esta especie, en la provincia de Buenos Aires. Este trabajo incluyó 8 partidos de San Andrés de Giles, Exaltación de la Cruz, Pilar, General Rodríguez, Azul, Pergamino, Luján y Capitán Sarmiento. Se recolectaron muestras de agua subterránea de 31 establecimientos, siguiendo la metodología de referencia. Se determinaron los siguientes parámetros: sólidos totales (ST, por conductividad), dureza (Dz) y arsénico (As) (por colorimetría), carbonatos, bicarbonatos ( $\text{HCO}_3$ ), magnesio (Mg) y sodio

(Na) (por titulación), sulfatos ( $\text{SO}_4$ ) y cloruros (Cl) (por espectrofotometría), calcio (Ca) y nitratos ( $\text{NO}_3$ ), por reflectometría. Los valores obtenidos se expresaron en mg/L, excepto dureza que se expresó en mg de  $\text{CaCO}_3$ /L. Se realizaron análisis estadísticos descriptivos y se interpretaron los resultados según los límites que determinan la aptitud para consumo en equinos. Los valores promedio (min-máx) fueron: pH 7,81 (7,1-8,6), dureza fue 118,03 (49,84-124,6), ST 660,83 (408-1071). Los sulfatos y cloruros obtuvieron valores de 22,48 (0-84) y 5,63 (0-18), respectivamente. En el caso del sodio el promedio de los resultados fue de 128,41 (68,11-212,43) y de nitratos 32,16 (0-100). Por último, el As tuvo valores de 0,04 (0-0,1). El 96,77% de las muestras resultaron ser aptas para consumo equino. La única muestra que resultó ser no apta fue por un valor de pH por encima de 8,5 (8,6) y la misma provenía del partido de San Andrés de Giles. Esta alcalinidad en el agua puede llegar a traer problemas gastrointestinales. El resto de los parámetros se encontró dentro de los rangos aptos para el consumo de los equinos. Como conclusión se puede decir que en términos generales la calidad del agua de los partidos evaluados es aceptable para el consumo por parte de los equinos.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Bases Agrícolas para la Producción Animal, Buenos Aires, Argentina

# Identificación y estudios de resistencia a antimicrobianos en microorganismos aislados de mastitis ovina. Comunicación preliminar.

CRESPI, E<sup>1</sup>; SREDNIK, E<sup>1</sup>; TESTORELLI, MF<sup>1</sup>; BIDONE, B<sup>1</sup>; COPPOLA, M<sup>2</sup>; GENTILINI, RE<sup>1</sup>.

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria, generalmente en respuesta a una infección bacteriana. Afecta la salud de los animales con la consecuente disminución de la producción, calidad de leche y subproductos, repercutiendo negativamente en la industria lechera. La producción de leche ovina y derivados representa un creciente sector dentro de la producción ganadera nacional. La identificación bacteriana y la determinación de la susceptibilidad antibiótica constituyen una herramienta fundamental para el correcto tratamiento. En los últimos años, la resistencia a los antibióticos representa un problema sanitario de relevancia mundial tanto en medicina humana como veterinaria, observando un aumento en la emergencia y diseminación de la resistencia a los antimicrobianos. El objetivo fue identificar y realizar estudios de resistencia en microorganismos aislados de muestras de leche de ovinos. Durante 2017-2018 se analizaron n=18 muestras de leche de ovejas con o sin mastitis provenientes del tambo de pequeños rumiantes de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA. Para el aislamiento microbiano, se sembraron 10 µl de cada muestra en agar sangre, incubando durante 48 h a 37°C. Se realizó la identificación de los microorganismos utilizando diferentes pruebas bioquímicas. Se determinó la susceptibilidad

a antimicrobianos realizando antibiogramas por difusión siguiendo las recomendaciones del Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI, 2013) según el microorganismo identificado. En los microorganismos resistentes (R) a oxacilina (OXA) se analizó la portación de genes *mecA* y *blaZ*. Se aislaron e identificaron 23 microorganismos, 47,8% (n=11) estafilococos coagulasa negativos (ECN), 21,7% (n=5) enterococos, 13% (n=3) *Staphylococcus aureus*, 13% (n=3) pseudomonas y 4,3% (n=3) estreptococos. El 18,2% (n=2) de los ECN presentó resistencia a penicilina y 1 solo aislamiento fue R a oxacilina. En este aislamiento se estudió la presencia del gen *blaZ* y el gen *mecA*, siendo negativo al primero y positivo al gen *mecA*. La importancia de este primer monitoreo, fue el hallazgo de un aislamiento ECN que presentó resistencia a OXA pero sensibilidad a penicilina y cefoxitina (FOX). Según el CLSI, la R de los estafilococos frente al disco de FOX es indicativo de meticilino resistencia (MR), en este caso, el aislamiento estudiado, portador del gen *mecA* no expresó fenotípicamente esa R frente a FOX, pero si frente a OXA. Esto es importante pues la no inclusión del disco de OXA en un antibiograma por difusión de rutina, llevaría a la no detección de un estafilococo meticilino resistente, y por consiguiente, a un fracaso terapéutico.

Subsidio UBACyT 313BA

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

# The effect of L-carnitine on the level of late apoptosis of mature porcine vitrified-warmed oocytes

CRUZANS, PR; TELLO, MF; LORENZO, MS; TEPLITZ, GM; MARURI, A; LOMBARDO, DM.

L-carnitine (LC) plays an important role in the catabolism of lipids and protects cells from the damage caused by reactive oxygen species (ROS) due to its antioxidant activity. Previous studies in our laboratory demonstrated that the addition of 0.6 mg/mL of LC in the *in vitro* maturation (IVM) medium decreases the level of intracellular ROS and the amount of intracellular lipids of the oocyte compared to the control (without LC) without affecting the nuclear maturation rates and the parameters of *in vitro* fertilization. Vitrification is an ultra-rapid cooling technique using a minimum volume with highly concentration of cryoprotectants avoiding ice crystals formation. Considering that the oxidative stress and the high concentration of lipids in porcine oocytes is detrimental to cryopreservation, the use of 0.6 mg/mL of LC during IVM could improve the efficiency of this biotechnology. We demonstrated that the level of early apoptosis and viability of porcine oocyte matured with 0,6 mg/mL of LC in the

IVM medium and then vitrified-warmed did not differ with the control. The aim of this study was to evaluate the effect of the addition of 0,6 mg/mL of LC during IVM on late apoptosis of mature porcine vitrified-warmed oocytes. The cumulus-oocyte complexes (COC) were obtained by follicular aspiration from slaughterhouse ovaries and matured *in vitro* without LC (control) or with 0.6 mg/mL of LC in the maturation medium (TCM-199 supplemented) for 44 h at 39°C and 5% CO<sub>2</sub>. Then, the oocytes were denuded and vitrified using support similar to a Criotop. One week later, they were warmed, and the level of late apoptosis (TUNEL assay) was assessed. Data were analyzed by Statistix software (Fisher's test). A  $p \leq 0.05$  was considered significant. No significant differences were detected in the level of late apoptosis (4.76 % vs. 2.7 %) between the control (n = 84) and LC treatment (n = 74). In conclusion, the addition of LC during IVM did not modify the level of late apoptosis on mature vitrified-warmed porcine oocytes.

# 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, C<sup>1</sup>; PETRINA, J<sup>2</sup>; DISALVO, V<sup>3</sup>; BENETUCCI, A<sup>2</sup>; AGUILERA, A<sup>2</sup>; REYES CRUZ, ES<sup>4</sup>; DEGREGORIO, O<sup>5</sup>; BENTANCOR, A<sup>1</sup>.

*Escherichia coli* Shigatoxigénico (STEC) es un patógeno zoonótico asociado con la ingestión de alimentos y agua contaminados. La patogenicidad incluye desde cuadros asintomáticos a diarreas y síndrome urémico hemolítico (SUH), pudiendo ocasionar la muerte del paciente. La región sur de Argentina, principalmente la provincia de Tierra del Fuego (TDF), Antártida e Islas del Atlántico Sur se caracteriza por altas tasas de notificación de diarreas por *E. coli* y SUH. La producción de ovinos en TDF es destinada en el 90% al consumo local, la contaminación de carcasas de corderos para consumo podría ser una variable explicativa a trabajar para prevenir las diarreas de la población. El objetivo del trabajo fue contribuir a la comprensión de la epidemiología del SUH y de las infecciones por STEC en TDF con el fin de establecer un modelo predictivo-explicativo de la transmisibilidad. Se realizó un estudio epidemiológico observacional transversal para la detección de cepas STEC en carcasas ovinas en frigoríficos de TDF. Se remitieron al laboratorio 382 espongados de carcasas de cuatro áreas diferentes. El número de muestras se estableció considerando una confianza del 95%, una probabilidad del 46% de animal STEC positivo y una precisión en las estimaciones del 5%. El muestreo fue proporcional a la faena de cada establecimiento (8% Ushuaia, 20% Río Grande y 72% Los Jazmines) y dentro de cada uno un muestreo aleatorio simple sin reposición. Las muestras fueron procesadas según el algoritmo de

identificación para las rutas de STEC O157 y STEC no-O157. Se establecieron tres categorías: MUESTRAS POSITIVAS (aislamiento e identificación de cepas STEC), MUESTRAS SOSPECHOSAS (resultado compatible por PCR de genes que codifican para la toxina Shiga 1, Shiga 2, pero sin aislamiento tras analizar 50 colonias compatibles con *E. coli* mediante PCR), MUESTRAS NEGATIVAS (la presencia del agente se encuentra por debajo del límite de detección del ensayo). Se procedió a la subtipificación de la toxina en las muestras positivas y a la búsqueda de genes de virulencia adicionales (intimina, enterohemolisina y adhesina autoaglutinante de STEC). Se detectaron 11 muestras sospechosas, de las cuales seis procedían del Matadero Municipal de Ushuaia (5/6 *stx*<sub>2+</sub>, 1/6 *stx*<sub>1</sub>/*stx*<sub>2+</sub>) y cinco de Los Jazmines (3/5 *stx*<sub>2+</sub>, 1/5 *stx*<sub>1</sub>/*stx*<sub>2+</sub> y 1/5 *stx*<sub>1</sub>). Otras siete muestras procedentes de Los Jazmines resultaron positivas. Tres cepas codificaron el subtipo *stx*<sub>2b</sub>, una *stx*<sub>1c</sub> y una *stx*<sub>1c</sub>/*stx*<sub>2b</sub>. No pudo determinarse el subtipo en dos aislamientos. La cepa *stx*<sub>1c</sub>/*stx*<sub>2b</sub> codificó el gen de enterohemolisina. Con respecto a la ruta O157, seis muestras fueron positivas al test de inmunocromatografía. Este es el primer registro de sospecha de STEC O157 en alguna fuente de infección de TDF. Conocer el grado de contaminación de las carcasas y los perfiles de virulencia de las cepas circulantes contribuye a la vigilancia epidemiológica y al control de los posibles reservorios que representan un riesgo potencial para la salud.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología. <sup>2</sup>Ministerio de Salud de Tierra del Fuego. <sup>3</sup>Laboratorio de Diagnóstico Tierra del Fuego. <sup>4</sup>Tesista Maestría en Salud Animal. <sup>5</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Epidemiología y Salud Pública.

# Efecto neuroprotector de FK506 frente al estrés oxidativo.

DANERI-BECERRA, C<sup>1</sup>; ROSBACO, ME<sup>1</sup>; GALIGNIANA, MD<sup>1, 2</sup>; RAMOS-HRYB, AB<sup>1</sup>.

Las inmunofilinas son proteínas que unen drogas inmunosupresoras. Las que unen ciclosporina A (CsA) son las ciclofilinas (ej: CyPA), y las que reconocen al macrólido FK506 son las FKBP<sub>s</sub> (*FK506-Binding Proteins*), una subfamilia a la que pertenecen FKBP51 (51-kDa) y FKBP52 (52-kDa). Ambas FKBP<sub>s</sub> fueron descritas en los heterocomplejos de receptores esteroidales con Hsp90, Hsp70 y p23. FKBP51 y FKBP52 poseen 60% de similitud y 75 % de homología. Estudios previos del laboratorio evidenciaron que FK506 posee efectos reguladores sobre la neurodiferenciación vía ambas FKBP<sub>s</sub> tal que la sobreexpresión de FKBP52 o el silenciamiento de FKBP51 promovieron la neuritogénesis. Análogamente, el daño axonal de las células se revirtió con FK506, siendo acelerado al sobreexpresarse a FKBP52 o por *knock-down* de FKBP51. Ello sugiere que estas inmunofilinas podrían tener acciones neuroprotectoras o neuroregeneradoras ante situaciones adversas como, p.ej., el estrés oxidativo asociado a enfermedades neurodegenerativas, accidentes cerebro-vasculares o sobreexcitación neuronal. En este estudio, se analizó si tratamientos con FK506 pueden prevenir y/o revertir los efectos deletéreos asociados al estrés oxidativo del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Células N2a (neuroblastoma murino) indiferenciadas fueron incubadas en medio DMEM/OptiMEM (sin suero) con 1 μM FK506, observándose la rápida generación de neuritas. Cortes de 250 μm de espesor obtenidos de corteza prefrontal de ratones macho Balb/C

(60 d) se incubaron en medio especial sobre 4% agar. Luego de 72 h de estabilización del tejido, los explantes se incubaron por 4 h con 200 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se evidenció la inducción de Hsp90, Hsp70, FKBP52 y p23, lo cual se previno por pretratamiento (1 h) con 1 M FK506. Respecto a FKBP51, los controles mostraron tres bandas correspondientes a sus consabidas isoformas fosforiladas, mientras que los explantes tratados con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mostraron sólo a la banda menos fosforilada. El pretratamiento con FK506 protegió a las isoformas fosforiladas, mostrando el mismo patrón de isoformas que el control. A su vez, las muestras tratadas con FK506 mostraron solamente la banda fosforilada intermedia, sugiriendo que esta isoforma (reactiva con anticuerpos anti-P-Tyr) es la favorecida en el mecanismo de acción de la droga. Para evidenciar efectos in vivo, se generó un cuadro de hipoxia relativa por inyección estereotáxica de 2 150 mM CoCl<sub>2</sub> en la corteza prefrontal del hemisferio derecho, utilizándose el contralateral como control. La expresión de chaperonas se mostró inducida en lisados tisulares obtenidos 24 h después, lo que fue parcialmente prevenido por pretratamiento (24 h) con 10 g/Kg FK506. Los efectos sobre el equilibrio motor se estudiaron luego de 21 días (FK506 inyectado cada 3 días) por Rotarod y campo abierto (Anymaze), observándose una mejor y más rápida recuperación en los ratones tratados con FK506. Este es el primer estudio que evidencia un efecto neuroprotector de FK506 frente al estrés oxidativo.

<sup>1</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME/CONICET). Laboratorio de Receptores Nucleares, CABA. (1428).

<sup>2</sup>Departamento de Química Biológica de la FCEN-UBA, Ciudad Universitaria (1428).

# Validación de un método inmunoenzimático elisa indirecto para detección de anticuerpos contra la poliproteína 3ABC del virus de la fiebre aftosa (FA).

DE CONTI, E<sup>1</sup>; PÉREZ VISNUK, M<sup>2</sup>; MADDONNI, G<sup>1</sup>; PEDEMONTE, A<sup>1</sup>; MARADEI, E<sup>1</sup>; MALIRAT, V<sup>2</sup>; BERGMANN, P.

La FA, enfermedad de notificación obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), afecta a animales biungulados y genera grandes pérdidas económicas en los países afectados. La misma es causada por el virus de la FA (VFA), y en fase subclínica/aguda presenta una alta tasa de contagio y rápida difusión. Una característica importante es la capacidad de establecer infección persistente, inclusive en animales vacunados, cuya relevancia epidemiológica aún es controvertida. Argentina es reconocida internacionalmente por la OIE como libre de FA sin/con vacunación. El mantenimiento del status de este último requiere de muestreos serológicos que demuestren fehacientemente la ausencia de actividad viral, independientemente del estado de vacunación y/o serotipo involucrado, mediante pruebas basadas en la detección de anticuerpos contra proteínas no capsidales (PNC) del VFA. En este trabajo se describe la validación de un test inmunoenzimático ELISA indirecto que detecta anticuerpos contra la PNC 3ABC siguiendo las 4 etapas recomendadas por la OIE. La fase 1 de validación incluyó la sensibilidad analítica evaluada con sueros de animales infectados. La sensibilidad diagnóstica (DSe), (fase 2), se evaluó con sueros verdaderos positivos de animales infectados experimentalmente/campo, con/sin vacunación previa, alcanzando un valor de 99,4% o de 100%, cuando se

incluyeron sueros de categoría sospechoso; para la especificidad diagnóstica se emplearon sueros de animales vírgenes alcanzando un valor de 98,1% y 98,2% en animales negativos vacunados. La repetibilidad (fase 3) se evaluó a partir de 3 sueros de diferente grado de reactividad en 32 pruebas independientes con resultados satisfactorios inclusive cuando se evaluaron muestras débilmente positivas, siendo los coeficientes de variación intra/inter-ensayo menores a 10% y 20%, respectivamente. Asimismo, la reproducibilidad evaluada preliminarmente en un laboratorio adicional resultó satisfactoria. Al aplicarse el test sobre sueros de muestreo del programa de vigilancia seroepidemiológica (fase 4), la distribución de frecuencias y perfiles de reactividad resultaron dentro de valores esperados: 97,1% negativos, 0,8% sospechosos, 2,1% positivos. Al comparar con un panel de referencia internacional, se obtuvieron resultados satisfactorios particularmente de DSe, mostrando su viabilidad para incluir dicho test como prueba de referencia. Se concluye que el mismo cumplió positivamente con las 4 etapas, logrando resultados de sensibilidad, especificidad, repetibilidad y reproducibilidad apropiados, estableciendo su potencial para ser considerado como prueba de referencia en estudios de ausencia de circulación viral de FA, independientemente del estado de vacunación.

<sup>1</sup>Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). <sup>2</sup>Centro de Virología Animal (CEVAN)

# Encapsulating folic acid: characterization of chitosan nano-vehicles as a food additive

DE MATTEO, R<sup>1</sup>; SANTAGAPITA, PR<sup>2,3</sup>; GÓMEZ ANDRADE, VA<sup>4</sup>; SCHEBOR, CC<sup>2,3</sup>; PÉREZ, OE<sup>1</sup>.

Folic Acid (FA) is a vitamin incorporated through diet whose primary medical impact is the decrease of neural tube defects of fetus in pregnant women. This bioactive is sensitive to environmental factors associated with food processing and storage, such as light and heating. A promising approach to preserve it from those factors is its encapsulation. A propitious encapsulating agent is chitosan (CS). It is a biodegradable, biocompatible, and non-toxic polymer produced from fishing-industry waste. These waste which are not treated causes severe environmental problems, so employing CS in food industry is an environmentally friendly utilization. FA was dissolved in aqueous solution containing 10mM Tris-HCl buffer and CS dissolved in HCl solution. Both solutions were diluted to

various concentrations using 10mM Tris-HCl. The complexes were prepared by addition of different CS concentrations to FA solution. FA solution, CS solution, and complexes solutions were lyophilized to obtain powdered samples. In this work, we characterized CS-FA complexes. The three principal characteristics determined were: morphology, topography, and CS-FA chemical interactions. By FTIR and UV-visible spectroscopy we determined that CS and FA interact and its constant of union were also calculated. Through AFM and SEM we observed a predominant amorphous structure for CS, a crystalline morphism for FA, and a combination of both for CS-FA. Taking all into account, CS would be very appropriate to encapsulate FA generating a biocompatible matrix for exerting its controlled delivery.

<sup>1</sup>Instituto de Química Biológica de la FCEyN, IQUBICEN, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (ITAPROQ), Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Departamentos de Industrias y Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Departamento de Física de la Materia Condensada, Centro Atómico Constituyentes, CONICET, Buenos Aires, Argentina. redematteo@qb.fcen.uba.ar

# Detección molecular de Rickettsiales en garrapatas que infestan a perros del municipio de Veracruz, México

DECKER-FRANCO, C<sup>1,2</sup>; LÓPEZ FLORES, E<sup>3</sup>; ROMERO-SALAS, D<sup>3</sup>; FLORIN-CHRISTENSEN, M<sup>1,2</sup>; SCHNITTGER, L<sup>1,2,\*</sup>

La garrapata café del perro (*Rhipicephalus sanguineus*) ha sido encontrada en el municipio de Veracruz, México. Se la asoció como vector de bacterias que ocasionan enfermedades como Fiebre Manchada (FM) y Anaplasmosis, causadas por especies de los géneros *Rickettsia* y *Anaplasma*, respectivamente. En América Latina, la FM es considerada una enfermedad reemergente que pueda ocasionar morbilidad en humanos. En el centro-norte de México, los primeros casos positivos a FM se registraron en 1945 en Jimulco, Coahuila. Posteriormente, se presentaron casos en otras localidades con condiciones ambientales, geográficas, demográficas, epidemiológicas y socioeconómicas (marginación y pobreza) óptimas para el establecimiento de poblaciones de garrapatas. Por otro lado, la Anaplasmosis ocasiona cuadros de anemia en los perros infestados. Los estudios de Rickettsiales en México son escasos y la infestación por garrapatas a perros es cada vez más frecuente, motivos por los cuales el objetivo del presente trabajo consistió en la detección molecular de Rickettsiales en garrapatas que infestan a perros del municipio de Veracruz, ubicado a unos 300 km al este de la Ciudad de México. De un total de 384 perros analizados, 221 presentaron garrapatas, las cuales fueron recolectadas y lavadas con etanol 70 %. El estudio taxonómico permitió asignar las garrapatas a la especie *R. sanguineus*. Las extracciones de ADN de las garrapatas se realizaron por isotiocianato de guanidina-fenol-cloroformo. La concentración media de ADN obtenida por NanoDrop fue de 20 ng/μl, con una relación 260/280 de 1,58 y 260/230 de 0,91.

Las muestras fueron agrupadas en 24 pools según su ubicación geográfica y analizadas por PCR, utilizando primers generales que amplifican al gen *gltA* del orden Rickettsiales. Los pools que amplificaron fueron también analizados para amplificar los genes *gltA* (*Rickettsia* sp.) y 16S ARNr (*Anaplasma* sp.). Aquellos pools que resultaron positivos fueron nuevamente analizados, pero esta vez individualmente para los genes *gltA* y 16S ARNr. Las muestras que resultaron positivas para el gen *gltA* fueron analizadas para los genes *ompA* y *ompB* con el objeto de evaluar todas las especies de *Rickettsia*. Se encontraron muestras positivas a los géneros *Rickettsia* y *Anaplasma*, una en cada caso. Ambas muestras fueron enviadas para ser analizadas por secuenciación, lo cual permitió concluir que una muestra de las 221 iniciales fue positiva al gen *gltA*. Mediante un análisis *in silico* y por BLAST, se pudo establecer que la muestra que resultó positiva al género *Rickettsia* mostró una identidad de 99,7 % con un *Evalue* < 0,01 con la especie *R. massiliae*. Si bien esta especie no es de las más patógenas, pertenece al grupo de las que ocasionan FM. Por otro lado, la muestra que resultó positiva al género *Anaplasma*, mostró una identidad de 98,0 % con un *Evalue* < 0,01 con la especie *A. platys*. Este estudio brinda nuevos hallazgos de bacterias del orden Rickettsiales transmitidas por garrapatas en el municipio de Veracruz. Es evidente que el diagnóstico puede llegar a ser complejo, pero se considera de gran importancia tomando en cuenta la emergencia y reemergencia de enfermedades febriles agudas.

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (INTA-Castelar), <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), <sup>3</sup>Universidad Veracruzana, Veracruz, México. \*schnittger.leonhard@inta.gob.ar

# Identificación de nuevos antígenos diagnósticos en *Sarcocystis aucheniae* a partir de macroquistes obtenidos de carne de llama (*Lama glama*)

DECKER-FRANCO, C<sup>1,2</sup>; DE ALBA, P<sup>3</sup>; ROMERO, S<sup>4</sup>; MAMANI, R<sup>5</sup>; SORIA, M<sup>6</sup>; FERRARI, A<sup>7</sup>; WIESER, SN<sup>1</sup>; SCHNITTGER, L<sup>1,2</sup>; FLORIN-CHRISTENSEN, M<sup>1,2\*</sup>

El protozoo parásito *Sarcocystis aucheniae* es el agente causal de la sarcocistiosis de camélidos sudamericanos (CS), que se caracteriza por la formación de quistes similares a granos de arroz conteniendo millones de protozoos vivos. El consumo humano de carne infectada, cruda o insuficientemente cocida, puede producir un cuadro de gastroenteritis que con náuseas, diarreas y cólicos. En consecuencia, la sarcocistiosis tiene un impacto negativo en la economía de los productores de CS, dado que la presencia de quistes puede conducir a la desvalorización y/o decomiso de la carne. Para ayudar al control de esta parasitosis, es importante contar con métodos para la detección de las infecciones previa a la faena. El objetivo de este trabajo fue la identificación de antígenos presentes en los quistes que puedan servir como candidatos diagnósticos. Para este fin, se obtuvieron 43 sueros de llamas de un frigorífico de Jujuy en las que se constató la presencia de quistes de *S. aucheniae* por inspección de las carcasas luego de la faena. Por otra parte, las proteínas solubles de quistes del parásito fueron extraídas por partición con Tritón X114 y separadas por SDS-PAGE. Las proteínas fueron transferidas a membranas de nitrocelulosa las cuales fueron cortadas en tiras e incubadas con diferentes sueros (dil. 1:50). Luego de incubación con un segundo anticuerpo específico conjugado a peroxidasa y un sustrato colorimétrico, se observaron varias bandas reactivas, hallándose que las de 23, 26,

33, 38 y 73 kDa fueron reconocidas por el mayor número de sueros. Se separaron bandas proteicas de esos pesos moleculares de geles corridos paralelamente teñidos con Coomassie blue coloidal, y se analizaron por espectrometría de masa. Con las secuencias peptídicas parciales identificadas se realizaron búsquedas en una base de datos del transcriptoma de *S. aucheniae* obtenida en nuestro laboratorio. De esta manera se identificaron 45 proteínas, las cuales fueron analizadas bioinformáticamente, para detectar entre otras características la presencia de epitopes B de alta antigenicidad. En caso de hallarse proteínas homólogas por BLASTp en *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*, 2 coccidios que también pueden infectar CS, las secuencias fueron alineadas y se analizó si los epitopes B coincidían con regiones específicas de *S. aucheniae*. Este análisis llevó a la identificación de al menos un epítipo B conservado y altamente antigénico por cada banda proteica analizada. Entre las secuencias identificadas, se hallaron 2 proteínas de la familia de proteínas de choque térmico (HSP), que han sido utilizadas en otros organismos como blancos de diagnóstico serológico y 2 proteínas pertenecientes a la familia de las metaloenzimas, que son blancos atractivos para enfoques de inmunoterapia y para el desarrollo de inhibidores y fármacos. Estos péptidos podrán ser evaluados en estudios subsiguientes para el desarrollo de métodos de diagnóstico serológico.

Subsidiado por ANPCyT (PICT2014-3747).

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (INTA Castelar). <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. <sup>3</sup>Universidad de Morón. <sup>4</sup>Instituto de Investigación y Desarrollo Tecnológico para la Agricultura Familiar (IPAF-NOA). <sup>5</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy. <sup>6</sup>Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía, UBA. <sup>7</sup>Instituto de Química y Físicoquímica Biológica, CONICET-UBA. \* jacobsen.monica@inta.gob.ar

# Diagnóstico de tuberculosis en calostro de bovinos lecheros a través de Spoligotyping

DELMAS, L<sup>1</sup>; MARFIL, J<sup>1</sup>; CUERDA, MX<sup>2,3</sup>; PONCE, L<sup>1</sup>; MARTINEZ VIVOT, M<sup>1</sup>; ZUMÁRRAGA, MJ<sup>2,3</sup>; FALZONI, E<sup>1</sup>.

La tuberculosis bovina (TBb) es causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), perteneciente al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT). Si bien la transmisión entre bovinos es mayormente por vía aerógena, la vía digestiva es de relevancia principalmente en terneros alimentados con calostro y leche de vacas con mastitis tuberculosa. El ternero recién nacido debería consumir calostro para una buena sobrevivencia durante las primeras etapas de su vida. Sin embargo, si éste no recibe tratamiento térmico, es vehículo de diferentes microorganismos. Cerca del 88 % de los establecimientos bovinos de la provincia de Santa Fe, utilizan leche cruda y calostro para alimentar a sus terneros durante la crianza artificial. El porcentaje de TBb de esta provincia, en las zonas tamberas, es mayor al 7%. El objetivo de este trabajo fue detectar bovinos positivos a tuberculosis en muestras de calostro provenientes de bovinos de la provincia de Santa Fe. Se enviaron al Laboratorio de Micobacterias de la Facultad de Ciencias Veterinarias 8 muestras de calostro (50mL). Las muestras fueron centrifugadas a 3.000 rpm por 20 minutos y se tomó con una pipeta Pasteur una porción del precipitado y otra de la capa de grasa, lugar de mayor concentración de micobacterias. Previo al cultivo se realizó la decontaminación según el método de Petroff. Se sembraron en medio de Stonebrink (ST). Los aislamientos obtenidos se tipificaron por técnicas moleculares (PCR-IS6110, Spoligotyping). Una única muestra demostró desarrollo en el medio

selectivo de ST. Esta fue identificada por PCR IS6110 como perteneciente al CMT. Se realizó la técnica de Spoligotyping y se pudo identificar este aislamiento como *M. bovis* SB0140. Este patrón es el de mayor prevalencia en el país. Es importante traer a debate las ventajas y desventajas que trae aparejada la medida de manejo de calostrear a los terneros en la industria lechera. Si bien la transferencia de anticuerpos maternos en las primeras etapas es beneficiosa, por el contrario el posible ingreso de agentes patógenos, dentro del cual se encuentra *M. bovis*, es claramente perjudicial. Por otro lado cabe remarcar la importancia que esta enfermedad tiene en Salud Pública, donde la principal vía de contagio para el hombre era el consumo de leche cruda. En la actualidad la pasteurización de la leche previa al consumo hizo que la tuberculosis zoonótica descendiera considerablemente. Sin embargo, en las épocas de crisis la venta en tambos de leche cruda a menor precio sin tratamiento térmico es una realidad que comienza a evidenciarse. Por lo expresado, se recomienda el tratamiento térmico de la leche previo al consumo, la administración de calostro a los terneros únicamente de vacas PPD negativas y el comienzo del saneamiento de los animales a partir de los 3 meses para detectar los enfermos tempranamente y así poder eliminarlos del establecimiento. Además se refuerza la posible utilización del calostro como muestra para evaluar el estado sanitario de los rodeos lecheros ya sea a través del cultivo o directamente con pruebas moleculares.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Instituto de Biotecnología, IABIMO-CONICET, Buenos Aires, Argentina, <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

# Evaluación de la producción de biofilm de cepas *Escherichiacoli* Shigatoxigénico pertenecientes al serogrupo O174 de diferentes fuentes de infección

DESIMONI, F<sup>1</sup>; BENTANCOR, A<sup>2</sup>; CUNDON, C<sup>2</sup>.

*Escherichiacoli* Shigatoxigénico (STEC), es un patovar de impacto en la infancia que puede ocasionar la muerte del paciente. Dentro de las cepas STEC no-O157 se destaca el serogrupo O174 que constituye una problemática local, siendo el cuarto en prevalencia y no considerado en protocolos estándares de alimentos europeos ni americanos. Debido al carácter de patógeno emergente en Argentina, el serogrupo O174 requiere una continua vigilancia epidemiológica y el control de sus posibles reservorios debido al riesgo potencial que representa a la salud pública. Las pruebas fenotípicas contribuyen a la evaluación del riesgo patógeno, ya que las primeras fases de la infección dependen de la posibilidad de colonizar el nicho ecológico. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de producción *in vitro* de biofilm de cepas STEC O174:[H21, H28] de diferentes fuentes de infección. Se evaluaron un total de 11 cepas STEC O174:21, aisladas de bovino (5/11), rata (1/11) y carne (5/11) y cuatro O174:H28 procedentes de bovino (2/4) y carne (2/4). Para evaluar la formación de biofilm, un cultivo de las cepas en caldo Luria Bertani diluyó en 1:40 en caldo tripteína soja conteniendo 0,45% de glucosa. Se inocularon 200µl en una placa de poliestireno de 96 pocillos. Se utilizó como control negativo medio estéril. La placa se incubó 18 horas a 35°C y a 29°C y se realizaron dos lavados con 200µl de PBS. Se tiñó con 200µl de solución acuosa de cristal violeta (0,1%) durante 5 minutos. Se retiró el colorante mediante dos lavados con PBS. La

cuantificación de la formación de biofilm se llevó a cabo adicionando 200µl de etanol al 96% por pocillo y midiendo la absorbancia a 570 nm. Los ensayos se llevaron a cabo por triplicado. Se establecieron tres categorías de cepas: FUERTES PRODUCTORAS DE BIOFILM (FPB), con promedio de lecturas superior a tres desvíos estándar respecto al control negativo; LEVES PRODUCTORAS DE BIOFILM (LPB), con promedio de lecturas entre dos y tres desvíos estándar respecto al control negativo y NO PRODUCTORA DE BIOFILM (NPB), con promedio de lecturas inferior a dos desvíos estándar respecto al control negativo. Un total de 10 cepas fueron clasificadas como FPB bajo ambas condiciones de incubación: 8/11 O174:H21 (6/6 de origen animal y 2/5 de carne) y 2/4 O174:H28 (1/2 aislada de carne y 1/2 de bovino). Dos cepas fueron clasificadas como LPB a 35°C y FPB a 29°C, una de ellas pertenecía al serotipo O174:H28 aislada de bovino y la otra al O174:H21 procedente de carne. Tres cepas fueron clasificadas como NPB a 35°C y FPB a 29°C, las mismas fueron aisladas de carne; dos de ellas pertenecían al serotipo O174:H21 y la restante al O174:H28. La caracterización del potencial de virulencia de las cepas permite establecer el riesgo de los aislamientos provenientes de diversas fuentes de infección, y constituye el primer paso para el estudio de su dinámica epidemiológica. Los modelos de producción de biofilm aportan datos funcionales necesarios para establecer el potencial patógeno de las cepas.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología. Becario Consejo Interuniversitario Nacional. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología.

# Uso de nanopartículas de magnetita para optimizar la simbiosis alfalfa-*Sinorhizobium meliloti*

DI BAGGIO VEGA, EG<sup>1</sup>; DE VALOIS, N<sup>1</sup>; GROPPA, MD<sup>1,2</sup>; ZAWOZNIK, MS<sup>1</sup>; BENAVIDES, MP<sup>1,2</sup>; IANNONE, MF<sup>1,2\*</sup>.

La alfalfa (*Medicago sativa* L.) es la principal especie forrajera de las zonas templadas de nuestro país por su calidad nutritiva, su productividad, su plasticidad y su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico al asociarse de manera simbiótica con la bacteria *Sinorhizobium meliloti*. Dado que la simbiosis Rhizobium-leguminosa es un sistema relevante en la agricultura, el objetivo de este trabajo fue realizar estudios básicos para analizar los efectos de las nanopartículas de magnetita (NP) en la asociación simbiótica alfalfa-*S. meliloti*. Las semillas de alfalfa se inocularon con células de *S. meliloti* (Control: C) o con células de *S. meliloti* expuestas durante la multiplicación a 10 ppm de NP de magnetita (NP). *S. meliloti* utilizado para la inoculación se cultivó durante 5 días en un agitador rotatorio con o sin NP. Las UFC se ajustaron antes de la inoculación. Las semillas se dejaron en contacto con suspensiones bacterianas (C o NP) durante 12 horas. Las plantas de alfalfa se cultivaron en el suelo en una cámara de crecimiento, con riego periódico con agua, y se cosecharon 20 o 30 días después. El crecimiento bacteriano se evaluó por la técnica de microgota y se observó un

aumento del 40% en los tratamientos con NP después de haber crecido 5 días en el agitador rotatorio. El pretratamiento de las bacterianas con la NP mejoró la tasa de germinación. Además, la longitud de la raíz y la parte aérea y la biomasa total fueron significativamente mayores en las plantas NP. De la misma manera, la superficie de la raíz se duplicó y se observó un incremento del 8% en el contenido de clorofila en el tratamiento con NP con respecto a los controles en cualquier momento estudiado. El pretratamiento con NP generó una precocidad en la nodulación con aparición de los mismos desde los 20 días de inoculadas. En el día 30, tanto las plantas inoculadas con bacterias pretratadas con NP como las sin tratar presentaron nódulos. El contenido de leghemoglobina en los nódulos de las plantas NP fue ligeramente mayor a los controles. Estos resultados preliminares demuestran que a las dosis probadas, las NPs de magnetita no fueron tóxicas e incluso estas NPs promovieron la multiplicación *in vitro* de *Sinorhizobium meliloti*. Asimismo, el pretratamiento de las bacterias con la NP dio como resultado un mayor crecimiento de las plántulas.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Química Biológica, Cátedra de Química Biológica Vegetal, Junín 956, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Instituto de Química y Fisicoquímica Biológicas (IQUIFIB), Buenos Aires, Argentina. \*mflorencaiaannone@gmail.com

# Evaluation of cellular responses in 3T3 and EAhy926 cell lines to PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) with chitosan uptake

DI SANTO, MC<sup>1</sup>; ALAIMO, A<sup>1</sup>; ACEBEDO, SL<sup>2</sup>; SPAGNUOLO, C<sup>2</sup>; PÉREZ OE<sup>1</sup>.

PDGFs (Platelet-Derived Growth Factors) are released from blood platelets when they are activated as a consequence of tissue damage. Then, cellular proliferation and migration is stimulated in target cells -including fibroblasts and endothelial type cells - in order to repair vascular and connective tissue. Chitosan is a promising polysaccharide studied for nano-technology applications because of their biocompatibility, biodegradability and controlled drug- release. Little is known about chitosan effect when it is combined in culture media with potential therapeutical proteins, like growth factors. The aim of this work was to analyze changes in some cellular responses induced by recombinant PDGF-AA and PDGF-BB when free chitosan is added to culture media. Standard *in vitro* culture of 3T3 and EAhy926 cell lines was performed and known concentrations of PDGF and chitosan were mixed as a media additive. Here, we analyze possible cytotoxic effect of chitosan by means of crystal violet assay, the cellular uptake rate of chitosan at 1, 4 and 24 hs post-treatment with chitosan fluorescent-dyed and their possible co-localization with lysosomes by confocal microscopy. Changes in mitochondrial dynamics were tested in cells exposed for 48 hs to PDGF alone or in

combination with chitosan. Results showed that chitosan not only has cytotoxic effect in 3T3 and EAhy926 but also cell lines improved the cellular maintenance in an *in vitro* model. The cells incorporated chitosan in intracellular bodies at 1h and 4 h post-treatment with a maximum at 24 hs in both cell lines, been particularly notable in EAhy926 type. On the other hand, we found that chitosan co-localized with lysosomes at 24 hs after-treatment. PDGF-AA and PDGF-BB induced a marked mitochondrial fragmentation after 24 hs post-treatment (a 40% increase related to control) and chitosan was no able to enhance this effect. In EAhy926 line, PDGF induced a particular mitochondrial morphology with these fragmented organelles organized around the nucleus that accounted by 50% of fragmented mitochondrial phenotype. In contrast, in 3T3 line, PDGF induced an organelle fragmentation more distributed throughout cytoplasm and a distinctive mitochondrial phenotype with an intermediate tubular state. We conclude that chitosan incorporated in culture media at optimum serum condition and physiological pH had no effect in PDGF-induced mitochondrial fission frequency and it can easily incorporated into the cell and then targeted to lysosomes for degradation.

<sup>1</sup>Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina. IQUIBICEN-CONICET <sup>2</sup>Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. UMYMFOR-CONICET. Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. CIHIDECAR-CONICET. Argentina.

# Caracterización de anticuerpos monoclonales contra *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*

DUARTE, JJ; MUNDO, SL; JAR, AM.

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) es el causante de una enteritis granulomatosa crónica y progresiva en diferentes especies, principalmente el ganado bovino. Es un microorganismo ubicuo y altamente resistente a factores adversos de pH y temperatura, lo que facilita su mantenimiento en el medio ambiente. La infección ocurre en rumiantes generalmente durante los primeros meses de vida a través del calostro, leche, agua y/o pasturas contaminadas. El período de incubación oscila entre los 2 y los 5 años; durante esta etapa los animales excretan MAP en materia fecal y de este modo transmiten la infección a otros animales del rodeo. El diagnóstico de la paratuberculosis es difícil. Si bien el cultivo bacteriológico de materia fecal es considerado la prueba de oro como técnica diagnóstica porque cuenta con una especificidad del 100%, tiene una sensibilidad que oscila entre el 30 y 70%, toma entre 5 y 24 semanas en arrojar el resultado y requiere del uso de descontaminantes que poseen efectos negativos sobre la viabilidad de MAP. Para mejorar su identificación, en trabajos previos en el laboratorio de la cátedra de Inmunología se han desarrollado hibridomas a partir de ratones inmunizados con distintos antígenos de la micobacteria (anti-MAP). Además, se ha puesto a punto una técnica de concentración bacteriana a partir de leche bovina, que utiliza perlas inmunomagnéticas sensibilizadas con anticuerpos monoclonales y policlonales anti-MAP. El presente proyecto de beca, el cual comenzó en diciembre del año pasado, tiene como objetivo amplificar y caracterizar los anticuerpos monoclonales

anti-Map e identificar aquellos que puedan mejorar la técnica de concentración bacteriana. Se espera poder determinar su especificidad y reactividad cruzada utilizando antígenos recombinantes de MAP, cepas de MAP de referencia y provenientes de aislamientos y otros microorganismos relacionados como antígenos de captura en pruebas de ELISA. Además, se espera determinar la avidéz y afinidad de estos anticuerpos mediante la resistencia a tratamiento de urea en la prueba de ELISA. El isotipo de los anticuerpos monoclonales se determinará utilizando un kit comercial. Hasta la fecha, hemos comenzado a determinar la especificidad y avidéz de los anticuerpos monoclonales a partir de muestras de líquido ascítico que se encuentran congeladas. La puesta a punto de las pruebas de ELISA implica el cultivo de MAP y la producción y purificación de la proteína recombinante p34, clonada en el vector pRSET-A. p34 es una proteína transmembrana de MAP y es el principal antígeno contra el cual están dirigidos los anticuerpos monoclonales. En simultáneo hemos descongelado algunos hibridomas que mostraron una viabilidad pobre, por lo que su amplificación ha resultado dificultosa. Actualmente nos encontramos produciendo sobrenadante de cultivo de células J774.1, que es rico en factores que promueven el crecimiento y la viabilidad celular. Otra estrategia que planeamos implementar es la remoción de restos apoptóticos celulares por centrifugación en gradiente de Histopaque®. Esperamos que estas estrategias mejoren la viabilidad de los hibridomas y aumenten la producción de anticuerpos monoclonales.

# Evaluación de metodologías de preservación e inactivación de *Trichinella* spp en carnes de origen animal

ERCOLE, M<sup>1</sup>; BESSI, C<sup>1,2</sup>; PASQUALETTI, MI<sup>1,2</sup>; RIBICICH, M<sup>1,2</sup>; FARIÑA, F<sup>1,2</sup>.

La trichinellosis es considerada una de las ETA de mayor impacto a nivel mundial. En Argentina las especies halladas hasta el momento son *Trichinella spiralis*, *T. pseudospiralis*, *T. britovi* y *T. patagoniensis*. Para determinar las especies circulantes es fundamental lograr una correcta conservación de la muestra, para así realizar su diagnóstico en el laboratorio. Para ello se ha utilizado cloruro de sodio (NaCl) en forma empírica, sin embargo, no existen datos hasta el momento. También, existen métodos de inactivación de las larvas musculares (LM) que aún no han sido evaluados en todas las especies. La Comisión Internacional de Trichinellosis (ICT) reconoce tres formas para el tratamiento de carne infectada con *Trichinella* spp., estos son: la cocción, el congelamiento e irradiación. La irradiación es una forma de generar alimentos seguros, recientemente se ha incluido en el Código Alimentario Argentino para el tratamiento de productos cárnicos. El curado es una de las opciones de inactivación de LM disponibles, pero la ICT no lo recomienda debido a que aún no están definidos los parámetros para la inactivación. En la producción de chacinados se utilizan sales de curado, pero en su elaboración los elementos, las composiciones y el pH varían según las costumbres de la población. Este estudio busca evaluar la irradiación con rayos

gamma en carne de cerdo, jabalí y cobayo como método de inactivación de las LM, determinar la persistencia de larvas L1 de *T. spiralis* y *T. pseudospiralis* en chacinados elaborados con carne de cerdo y jabalí, evaluar la eficacia del NaCl para la preservación de muestras usadas en el diagnóstico de *Trichinella* spp.; caracterizar las LM obtenidas de muestras de animales domésticos y silvestres provenientes de toda la Argentina. Para ello se inocularán cobayos (*Cavia porcellus*), cerdos y jabalíes (*Sus scrofa*) con larvas L1 de *T. patagoniensis*, *T. spiralis* y *T. pseudospiralis*. Se realizará la eutanasia de los animales y las muestras musculares se colocarán en recipientes con 100g de NaCl y se muestrearán diariamente para la evaluación de las LM. Se fabricarán chacinados con carne infectada, y se muestrearán semanalmente para evaluar su índice de capacidad reproductivo (RCI). Para la irradiación las piezas serán sometida a irradiación gamma a dosis de 0.3 kGy, y se evaluará su RCI. Las LM procedentes de animales domésticos y silvestres provenientes de distintas partes del país serán identificadas a través de Nested PCR. El siguiente estudio espera ampliar el conocimiento de las especies presentes en el país y aportar información novedosa que pueda ser trasladada a la industria y/o pequeños productores.

La presente investigación fue aprobada por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la FCV-UBA, bajo el número 2018/22. Este trabajo fue financiado por los siguientes proyectos: UBACyT20020130100336BA, UBACyT20020170200331BA, PICT- 2015-2350 y PICT-2015 -3469.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. <sup>2</sup>CONICET – Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA).

# Terapia de ondas de choque y plasma rico en plaquetas ozonizado en el desmitis de la articulación interfalángiana distal en el equino

ESTRADA CANAVESE, MI<sup>1</sup>; GARCÍA LIÑEIRO, JA<sup>1,2</sup>.

Las lesiones de la articulación interfalángiana distal tienen una alta incidencia en equinos deportivos. Como causa predisponente están los desequilibrios del desvasado y aspectos biomecánicos propios de cada deporte, siendo más frecuentes en miembros anteriores. Los signos son: distensión uni o bilateral de cápsula articular, claudicación aguda, insidiosa, uni o bilateral y su intensidad y persistencia dependen de las lesiones anatomopatológicas que afectan a un ligamento o a sus puntos de inserción en las fasetas de la falange distal. Se ha constatado que el plasma rico en plaquetas ozonizados (PRP Oz) posee efectos antiinflamatorios y regenerativos superiores al del plasma rico en plaquetas común, ya que la ozonización del plasma promueve la agregación plaquetaria acentuando así la liberación de sus factores de crecimiento entre otros efectos. En los caballos, la terapia de ondas de choque radial (SW) demostró ser clínicamente beneficiosa en el tratamiento de desmitis, y entesopatías *in vitro* e *in vivo*, compartiendo mecanismos con el PRP oz. El objetivo fue comparar el efecto de SW asociado al PRP Oz versus tratamientos de PRP Oz por un lado y SW por otro, en desmitis de ligamentos colaterales de la articulación interfalángiana distal. Para ello se seleccionaron 52 equinos, los cuales fueron divididos en 3 grupos al azar. Al grupo 1, (17 equinos) se les realizó una aplicación de PRP Oz ecoguiado asociando 3 aplicaciones de SW con intervalos de 7 días con presión de 3.0 bar, 2000 impulsos y 10 Hz de frecuencia, con el aplicador tamaño médium, en la zona del ligamento

colateral de la articulación interfalángiana distal afectada. Al grupo 2, (17 equinos) se les realizó una aplicación de PRP Oz ecoguiado y al grupo 3, (18 equinos) se les realizaron 3 aplicaciones de SW con el mismo protocolo que el grupo 1. Se controló la evolución a los 45 días de finalizado el tratamiento según presencia de claudicación y evolución ecográfica. En el grupo 1 se observó que el 88,24% (15 de 17) de los equinos no presentaban claudicación y que el 100% había mejorado ecográficamente (17 de 17). En el grupo 2 la ausencia de claudicación era del 41,18% (7 de 17) y la mejora ecográfica del 58,82% (10 de 17). Finalmente en el grupo 3 tanto la ausencia de claudicación y la mejoría ecográfica eran del 50% (9 de 18). Se realizó la Prueba Exacta de Fisher, a nivel del 5%, con el fin de encontrar diferencias entre los grupos. Se observaron diferencias significativas en la evolución de la claudicación ( $p < 0,05$ ) entre grupo 1 y grupo 2 y entre grupo 1 y grupo 3, pero la distribución fue similar al comparar grupo 2 y grupo 3 ( $p > 0,05$ ). Con respecto a la ultrasonografía se observan diferencias significativas en la evolución ( $p < 0,05$ ) entre grupo 1 y grupo 2 y entre grupo 1 y grupo 3, pero la distribución fue similar al comparar grupo 2 y grupo 3 ( $p > 0,05$ ). A la luz de los resultados clínicos y evidencias estadísticas se concluye que la asociación de las terapias de ondas de choque y PRP Oz tiene un efecto curativo superior respecto a los efectos de las mismas terapias por separado en el tratamiento de desmitis de los ligamentos colaterales de la articulación interfalángiana distal.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos, Aires Facultad de Ciencias Veterinarias, Escuela de Graduados Carrera de Maestría en Medicina Deportiva del Equino. <sup>2</sup>Universidad de Buenos, Aires Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Salud y Producción Equina.

# Desarrollo de biofilm de *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*: su interacción con levaduras y comportamiento frente a antimicrobianos

ETCHECOPAZ, AN<sup>1</sup>; BUSTOS, CP<sup>1</sup>; MUÑOZ, AJ<sup>1</sup>; MESPLET, M<sup>1</sup>; IOVANNITTI, CA<sup>2</sup>; GUIDA, N<sup>1</sup>.

Los biofilm son comunidades tridimensionales de microorganismos adheridos unos a otros y a una superficie biótica o abiótica, cubiertos por una matriz extracelular que ellos mismos producen. Esta forma de desarrollo confiere a los microorganismos propiedades y fenotipos particulares, como ser la mayor resistencia al medio y a los antibióticos, estados de bajo o cero metabolismo, entre otras. En las mucosas del equino, conviven en estrecha relación diferentes tipos de microorganismos, uno de ellos, de gran relevancia médica es *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*), que es aislado de mucosas nasofaríngea y reproductiva de animales clínicamente sanos y a su vez es el patógeno más aislado en endometritis en yeguas. La capacidad de formar biofilm y su relación con levaduras puede ser uno de los factores de virulencia que le permitan, ante cambios ambientales prevalecer como patógeno oportunista. El objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento y la sensibilidad frente a penicilina G (PEN G) y clorhexidina (CLH) de las cepas planctónicas de *S. zooepidemicus* en relación al biofilm individual y al biofilm mixto con levaduras. Se trabajó con 3 cepas de *S. zooepidemicus* aisladas de mucosa nasofaríngea y genital de equinos y con 3 levaduras aisladas de mucosas de equinos sanos: *Candida glabrata*, *C. albicans* y *Rodhotorula mucilaginosa*. La presencia de biofilm se reveló por medio de tinción con cristal violeta 1% y se determinó su metabolismo

utilizando sal de tetrazolium con menadiona (XTT). Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) de las cepas de *S. zooepidemicus* en estado planctónico y en biofilm individual y mixto con las distintas levaduras. El comportamiento del biofilm fue evaluado frente a PEN G y CLH agregando los antimicrobianos a las 24, 48 y 72 h de cultivo y dejando incubar las placas por 24 h más previo a la medición. La respuesta del biofilm a PEN G evidenció una inhibición a la misma concentración de testeo que las células planctónicas, pero una resistencia 65 veces mayor en cuanto a la CBM. Todas las cepas evaluadas en la interacción con levaduras desarrollaron biofilm, siendo el biofilm mixto con *C. albicans* el que evidenció una menor producción. El comportamiento frente a antimicrobianos evidenció una inhibición frente a CLH pero frente a PEN no se observó inhibición en el biofilm mixto con *C. albicans*. Estos estudios evidencian desarrollo del biofilm de *S. zooepidemicus* e interacción con levaduras presentes en la mucosa equina. El estudio de los biofilm microbianos es complejo y más aún la amplitud de comportamientos que pueden presentarse en las mucosas de los animales, este trabajo pretende hacer un aporte al entendimiento de las infecciones oportunistas por *S. equi* subsp. *zooepidemicus* sobre mucosas, a la comprensión de las recidivas de la misma infección y a la incorporación de nuevas estrategias terapéuticas para combatirlos.

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

# Análisis del SNP A/G del gen MC4R en cerdos de raza Landrace asociados a caracteres productivos.

FASSA, VF; SORIA, L; MARRUBE, G.

La mayoría de los planes de selección en el mejoramiento porcino están basados en la disminución del espesor de grasa dorsal (EGD), como medio para mejorar la eficiencia de conversión (EC) y el contenido de magro en la canal. El receptor de melanocortina 4 (MC4R) codifica para una proteína G, receptor transmembrana que tiene un rol importante en el control de la homeostasis energética. En mamíferos este receptor se expresa fundamentalmente en el sistema nervioso central en regiones que controlan el consumo, peso corporal y la homeostasis energética. En los cerdos se hallaron diversas mutaciones entre ellas la sustitución A>G en la posición 1426 (GenBank AF087937.1) de la secuencia que codifica para la séptima región transmembrana del receptor de melanocortina que sustituye a Asp298Asn. En el presente trabajo se investiga la asociación entre el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) del gen MC4R 1426A>G en la conversión alimenticia (CA), en una subpoblación de cerdos Landrace pertenecientes a la EEA INTA Pergamino. Durante toda la prueba los animales fueron alojados en forma individual con comederos tolva y bebederos tipo chupete. Las raciones fueron elaboradas en base a maíz-soja y concentrado para cubrir los requerimientos de las etapas de crecimiento (30-60 kg) y terminación (60-90 kg), en ambos períodos la

alimentación fue *ad libitum*. La velocidad de crecimiento y la conversión alimenticia fueron evaluadas entre los 30 y 90 kg. Para el análisis de este polimorfismo se extrajo ADN de 113 animales a partir de sangre entera mediante el kit comercial ADN PuriPrep S kit Inbio-Highway. La determinación de genotipos para dicho SNP se realizó mediante PCR-RFLP. Los productos de amplificación de 226 pares de bases (pb) fueron digeridos con la enzima TaqI que permitió diferenciar los alelos A: 226 pb y G: 156+70 pb que se visualizaron por medio de geles de agarosa al 2% teñidos con Gel Red. Las frecuencias de los genotipos hallados fueron: GA=0,195 y GG=0,805, siendo las frecuencias alélicas 0,902 y 0,098, para el alelo G y A respectivamente. El análisis de asociación se realizó por ANOVA con comparación de medias con el paquete estadístico INFOSTAT. Para el contraste de medias se utilizó test de Tukey ( $\alpha=0,05$ ). Se encontraron diferencias significativas entre genotipos (p-valor <0,05) para CA (F= 4,00 p-valor=0,0479). La CA promedio de los cerdos con genotipo GG (3,35± 0,04) fue superior a la hallada en los de genotipo GA (3,14± 0,09). Los resultados obtenidos indican que hay una asociación entre la característica estudiada y el polimorfismo, lo cual sugiere la posibilidad de incorporar este marcador en el mejoramiento genético porcino.

# Metodología diagnóstica de paratuberculosis en semen bovino

FERNÁNDEZ, B<sup>1,2</sup>; JOLLY, A<sup>1</sup>; COLAVECCHIA, S; CISALE, H<sup>3</sup>; PAOLICCHI, FA<sup>4,5</sup>; MUNDO, SL<sup>1</sup>.

La Paratuberculosis es una enfermedad granulomatosa crónica que afecta a los rumiantes y es causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map). Los planes de control de la paratuberculosis plantean medidas de manejo para prevenir la transmisión por vía fecal-oral y trans-mamaria. Sin embargo, la venta de semen representa una potencial vía de transmisión a rodeos no infectados. El objetivo del trabajo fue definir una metodología de obtención de ADN y de PCR para la identificación de Map en semen de bovinos. 600µl de semen bovino proveniente de pajuelas conservadas en nitrógeno líquido fueron contaminados con 10<sup>8</sup> UFC de Map Malele 35 (Patrón A e INMV 1 caracterizada por RFLP<sub>IS900</sub> y MIRU-VNTR, respectivamente) y otra fracción de 600µl fue utilizada como control negativo. Se realizó una centrifugación a 12.000 rpm durante 30 minutos a 4°C y se extrajo el ADN mediante el tratamiento con trizol/cloroformo (Sigma) siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración del ADN obtenido se evaluó por NanoDrop. Para identificar Map por PCR, se utilizaron los cebadores (For: 5' GATCGGAACGTCGGCTGGTCAGG 3' y Rev: 5' GATCGCCTTGCTCATCGCTGCCG 3') descriptos por Collins y col. (1993),

que amplifican una secuencia de ADN del inserto IS900 de 217 pb. Las condiciones utilizadas fueron de 30 ciclos a 97°C durante 30 segundos (desnaturalización), seguidos de 65°C durante 1 minuto (apareamiento y extensión). Los amplicones fueron visualizados luego de la electroforesis en 1,5% agarosa en TBE y los geles fueron teñidos con GelStain (TransGen Biotech). Para descartar la presencia de inhibidores en la muestra, se amplificó el gen GAPDH. A partir del volumen inicial, se obtuvieron 416,5 y 1140 ng totales de ADN para el semen control y contaminado, respectivamente. El IS900-PCR permitió identificar el semen contaminado. Este trabajo está incluido en un proyecto que tiene como finalidad aportar nuevos datos sobre la paratuberculosis y mejorar la identificación temprana de animales reproductores de alto valor genético. Por lo tanto, la metodología desarrollada permite evaluar la presencia de Map en muestras de semen diluido y confirmar la ausencia de factores inhibidores. En este momento se está trabajando en la determinación de la sensibilidad analítica de esta metodología. Luego, se utilizará en muestras de campo de toros infectados con Map, a fin de mejorar las herramientas diagnósticas disponibles.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología, INITRA. <sup>2</sup>CONICET. <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Física Biológica, INITRA. <sup>4</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, Laboratorio de Bacteriología. <sup>5</sup>Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Producción Animal.

# Caracterización del gen *pol* del Virus de la Inmunodeficiencia Felina, circulante en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires

FERNÁNDEZ, L; HUGUET, MJ.

El Virus de la Inmunodeficiencia Felina (VIF) posee un genoma que codifica para tres genes: *gag*, *pol* y *env*. Se identificaron 9 regiones dentro de la secuencia del gen *env* utilizadas para su clasificación en 6 subtipos. El conocimiento del genoma de las cepas circulantes de VIF es importante debido a que se han descrito diferencias en el comportamiento replicativo y la patogenia entre las variantes. Poder determinar que variantes del virus se distribuyen en una población es importante para la elección de regiones genómicas para el diseño de técnicas diagnósticas de biología molecular. Mutaciones en el gen *pol* otorgan propiedades diferenciales sobre la dinámica de la infección. La identificación de dichas mutaciones puede ser clave al momento de definir el tratamiento, motivo por el cual se propone la caracterización de dicho gen. El objetivo fue caracterizar las diferentes secuencias del gen *pol* de VIF presentes en gatos, infectados en forma espontánea, de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Se diseñaron primers para amplificar el gen *pol* a partir de la identificación de las regiones más conservadas de las secuencias completas publicadas. Se realizaron alineamientos múltiples en la base de datos GenBank utilizando el software BioEdit. Las regiones de mayor homología fueron seleccionadas para el diseño de primers. Se ensayaron distintas combinaciones teniendo en cuenta también las secuencias de los primers para amplificar el gen *pol* publicadas por Martins (2008). En la Cátedra de Virología de

la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA se realiza el diagnóstico de VIF por la técnica de PCR de punto final. Se utilizó material genético de animales positivos por amplificación del gen *gag* para realizar la amplificación de la región del gen *pol*. A partir de sangre entera o punción de médula ósea de gatos, se realizó la extracción de ADN de linfocitos en los cuales se encuentra integrado el provirus. Como control positivo se utilizaron células CFK infectadas con VIF. Con los primers seleccionados se realizó una reacción de amplificación. Los productos se corrieron en geles de agarosa para determinar el tamaño de los fragmentos amplificados y corroborar su integridad. Se procedió a la purificación de los productos de amplificación mediante la elución de los mismos a partir de los geles, utilizando un kit de purificación. Los fragmentos producto de la amplificación se enviaron a secuenciar al Servicio de Secuenciación del Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias INTA-Castelar. Las secuencias resultantes se analizaron comparándolas con las secuencias de cepas disponibles en la base de datos GeneBank. Se obtuvieron fragmentos amplificados utilizando la combinación de primers diseñados, provenientes de células cultivadas infectadas con VIF y de muestras positivas del servicio de Retrovirosis de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA. Las secuencias provenientes de dichos fragmentos no otorgaron resultados significativos al compararlas con las cepas de referencia, por lo tanto se diseñaron nuevos primers para continuar con el análisis de muestras sanguíneas positivas.

# Resolución de luxofractura tibiotarsal con tutor circular. Reporte de caso

FERNÁNDEZ MENDY, M<sup>1</sup>; SAVAN, MC<sup>1</sup>; MELE, CE<sup>2</sup>; ECHEVERRIA, D<sup>3</sup>; GUERRERO, JA<sup>1</sup>.

Las luxofracturas tibiotarsales son lesiones frecuentes en animales traumatizados. El fragmento fractuario tibial suele ser demasiado pequeño, acompañado por ruptura o avulsión del ligamento colateral. Cuando se tratan en forma inmediata la mayoría de las rupturas de los ligamentos pueden ser reconstruidas mediante una sutura o reemplazados con material protésico (nylon) fijado en las cercanías con puntos de inserción con tornillos. La fijación estable de la fractura maleolar se realiza mediante alambres de Kirschner y bandas de tensión con alambre. En el caso de ser lesiones crónicas con extenso daño cartilaginoso pueden necesitar una artrodesis. La luxofractura puede estar acompañada de una lesión por arrastre, que causa arrancamiento de piel, de tejido subcutáneo y estructuras blandas de soporte. Se las considera una herida contaminada, suelen tener polvo, piedras, asfalto, desechos orgánicos, etc. El día 12 de febrero acudió al Hospital Escuela de FCV-UBA un canino mestizo hembra, de 15 kg, 9 meses que tuvo un accidente vehicular, con 5 días de evolución, presentando una fractura del maléolo de la tibia y epífisis distal del peroné, con luxación expuesta de la articulación tibiotarsal. Complicando este cuadro, una extensa herida por arrastre en zona medial aledaña a los metatarsos (fractura abierta grado 3 A según Gustillo y Anderson). Inicialmente se realizó el tratamiento de la herida con tricotomía, desbridamiento, lavado profuso con solución fisiológica y la colocación de un vendaje protector. Se realizaron estudios prequirúrgicos de rutina y se planificó la resolución de la fractura. Al tratarse de una

luxofractura expuesta de un animal cachorro con 5 días de evolución en la cual se espera que haya formación de un callo óseo, se optó por una artrodesis pantarsal. Considerando el daño de tejidos blandos y la estabilidad brindada se decidió colocar un tutor circular. El mismo conformado por un aro proximal con dos agujas cruzadas a tensión fijadas a la tibia distal, luego un hemi aro fijado al astrágalo mediante dos clavijas y por último un aro distal con una aguja fijando los metatarsos. A su vez se colocó un clavo intramedular transarticular para facilitar la fijación de la articulación a 135°. Se indicó continuar con el tratamiento de los tejidos blandos hasta su cierre definitivo. A los 60 días presentó una cicatrización completa del defecto de tejidos blandos y una consolidación ósea radiográfica y clínica por lo que se decide extraer el tutor. Para concluir, cabe mencionar que toda osteosíntesis acompañada de una gran lesión de tejidos blandos implica un desafío para el cirujano, ya que aumenta considerablemente la probabilidad de contaminación de la herida seguida de falla de consolidación. En este caso, al tratarse de una región con falta de musculatura y pobre circulación extraósea, aumenta la posibilidad de infección. Por lo que el sistema de osteosíntesis de elección debe brindar estabilidad y no interferir con el proceso de cicatrización de la herida. Estas dos características son propias del tutor circular, sumadas a la versatilidad en las configuraciones para las distintas zonas de los miembros, nos refieren a ser de elección para este tipo de fracturas con grandes lesiones de tejidos blandos aledaños.

Universidad de Buenos Aires. Facultad Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina. <sup>1</sup>Cátedra de Cirugía. <sup>2</sup>Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas. <sup>3</sup>Hospital Escuela.

# Congelamiento de semen equino con el agregado de la fracción particulada del plasma seminal

FERRANTE, A<sup>1,2</sup>; CALDEVILLA, M<sup>1</sup>; NEILD, D<sup>1</sup>; MIRAGAYA, M<sup>1</sup>; VAZQUEZ LEVIN, M<sup>2</sup>.

El plasma seminal equino contiene en la fracción particulada vesículas membranosas, prostasomas, que modulan la capacitación y reacción acrosomal de los espermatozoides. El objetivo fue evaluar el efecto del agregado de la fracción particulada del plasma seminal equino (FP) al medio de congelamiento sobre la movilidad, el estado del acrosoma y la viabilidad de espermatozoides congelados/descongelados. Obtención de la fracción particulada: se obtuvieron eyaculados de 4 padrillos fértiles (n=4; r=1) mediante vagina artificial los que fueron sometidos a una doble centrifugación, 800 g por 10 min. y 1000 g por 20 min para separar el plasma seminal de espermatozoides y detritos. Luego se armó un "pool" con las muestras de plasma seminal y fueron sometidas a una ultracentrifugación a 105000 g a 4 °C durante 120 min. Se descartó el sobrenadante y el pellet, conteniendo las partículas similares a prostasomas y material amorfo (fracción particulada), se resuspendió en medio base EDTA-glucosa y se preservó a -20 °C hasta su utilización. Doce eyaculados de 4 padrillos fértiles (n= 4; r= 3), obtenidos con vagina artificial, fueron filtrados para extraer la fracción de gel y sometidos a evaluaciones de rutina: volumen, movilidad individual progresiva (MP) mediante microscopio de contraste de fase y concentración espermática mediante cámara de Neubauer. Las muestras de semen fueron diluidas (vol./vol.) con extender a base de leche descremada, y centrifugadas a 600 g por 15 min. El pellet de espermatozoides se resuspendió en: a) extender a base de EDTA-

glucosa, 20 % de yema de huevo y 5 % de dimetilformamida (EDTA/DMF); b) EDTA/DMF con 10 % de la fracción particulada de plasma seminal y c) EDTA/DMF con 75 % de la fracción particulada de plasma seminal. Posteriormente las muestras fueron envasadas en pajuelas de 0,5 ml y sometidas a una curva rápida de congelamiento. Las muestras se descongelaron en un baño termostático a 37 °C durante 1 minuto. Se evaluaron los parámetros cinemáticos utilizando un sistema CASA, y la viabilidad y el estado acrosomal con la tinción FITC-PNA/PI. Se realizó un diseño de parcelas divididas en el tiempo tomando al macho como bloque y para el análisis se consideró una significancia del 5%. Los resultados se expresaron como % promedio ± D.E. No hubo diferencias significativas en la movilidad espermática total y progresiva entre las muestras congeladas con el 10 % (37,0 ± 17; 31,4 ± 17) y 75 % (41,4 ± 18; 35,4 ± 18) de FP y el control EDTA-DMF (41,7 ± 17; 35,7 ± 17). No se observaron diferencias significativas en el % de espermatozoides vivos con acrosoma intacto y vivos con acrosoma reaccionado entre las muestras control (51 ± 9; 3 ± 2) y las muestras congeladas con el 10 % (47 ± 11; 3 ± 2) y 75 % (50 ± 10; 2 ± 2) de la FP. El agregado de 10 y 75 % de la FP al extender de congelamiento no mejoraron la movilidad ni tuvieron un efecto protector sobre el acrosoma y la viabilidad espermática. Sería interesante poder realizar el mismo experimento en padrillos que congelan mal para evaluar si la FP evidencia un efecto protector en esos casos.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Cátedra de Teriogenología. <sup>2</sup>Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME), CONICET. Buenos Aires, Argentina. \*Igual contribución.

# Evaluación del efecto analgésico de butorfanol tras su administración intranasal e intravenosa en equinos.

FERREIRA, LANDONI MF.

La vía intranasal posee un gran potencial para la administración sistémica de fármacos, por otro lado, permitiría un pasaje directo de los fármacos hacia el sistema nervioso central, transformándola en una vía muy promisoría para la administración de analgésicos opioides. El objetivo del estudio fue describir y cuantificar la eficacia analgésica del butorfanol luego de su administración intranasal y endovenosa en equinos mediante la medición del tiempo de latencia del reflejo corneal (TLRC). Se utilizaron 3 grupos de 4 equinos sanos, de edad y pesos similares. Los grupos tratados recibieron butorfanol a una dosis de 0,05mg/kg por vía endovenosa (bolo) o por vía intranasal (bomba spray monodosis calibrada en 200 µl/disparo, Coster Packaging, Argentina), el grupo control recibió solución al 0,9% de cloruro de sodio estéril por vía intranasal. La evaluación de la calidad analgésica del tratamiento se determinó mediante la medición del TLRC a los 0, 2, 5, 15, 30, 45, 60 y 120 minutos, registrando las pruebas mediante videograbadora JBC Everio G2MS150SU. El TLRC fue cuantificado contando el número de fotogramas que componen la secuencia completa del reflejo a través del programa Video Pad. Los equinos no mostraron signos de disconfort ni efectos secundarios tras la administración por vía EV e IN de butorfanol a una dosis de 0,05 mg/kg. En el grupo control los valores de TLRC estuvieron en el rango 260 a 263,75. La variabilidad entre los animales experimentales fue baja (menor al 15%). El área bajo la curva TLRC vs tiempo fue de  $16618,25 \pm 2417,7$ . La administración de butorfanol modificó significativamente el TLRC independientemente de la vía de administración utilizada. Tras la administración intravenosa, el

TLRC se incrementó desde el tiempo 0 desde  $234,8 \pm 57,45$  hasta su máximo ( $326,08 \pm 48,80$ ) a los 30 minutos post administración. El área bajo la curva TLRC vs tiempo fue de  $18356,3 \pm 2355,45$ . Tras la administración intranasal, el TLRC se incrementó desde el tiempo 0 ( $262,17 \pm 31,66$ ) hasta su máximo ( $359,67 \pm 71,68$ ) a los 30 minutos post administración. El área bajo la curva TLRC vs tiempo fue de  $21436,17 \pm 3604,26$ . La evolución temporal del incremento en el TLRC entre los grupos tratados con butorfanol fue similar; el incremento máximo se presentó al mismo tiempo post-administración (30 minutos). Sin embargo, tras la administración intranasal se observa un inicio más rápido del efecto, alcanzándose en la primera muestra evaluada (2 minutos) un alargamiento del TLRC de 20% comparado con el basal, mientras que tras la administración intravenosa el alargamiento observado representó el 8% del basal. Sin embargo, debido a la importante variabilidad inter-sujeto observada estas diferencias resultaron no significativas. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los grupos tratados con butorfanol ( $p < 0,01$ ). Si bien se observan diferencias numéricas entre el grupo tratado con butorfanol por vía IV ( $AUC_{TLRC_{nor}} 1655,46 \pm 1102,80$ ) y por vía IN ( $AUC_{TLRC_{nor}} 1920 \pm 891,06$ ), las mismas no alcanzaron significancia estadística ( $p: 0,069$ ).

Podemos concluir entonces que la vía intranasal es una vía muy promisoría para administración de fármacos de acción central, gracias a su gran potencial de absorción sistémica y pasaje directo al SNC, siendo una alternativa a la vía endovenosa.

# Efecto del trolox en muestras descongeladas de semen bovino en la capacitación con ácido hialurónico y heparina

FILOSA, A; CÓRDOBA, M.

La heparina (H) y el ácido hialurónico (AH), inductores fisiológicos de la capacitación podrían ser responsables del estado redox celular. 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. El objetivo fue analizar el efecto del agregado de trolox (200 $\mu$ M) en muestras de semen bovino post descongelamiento (n=4) sobre la capacitación, el estado redox y el potencial de membrana mitocondrial con H o AH. Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey (p<0,05). El potencial fue evaluado mediante el uso de la tinción mitocondrial JC-1, que permitió distinguir entre espermatozoides con alta y baja proporción de mitocondrias funcionales. El mismo fue expresado en porcentaje de unidades arbitrarias de fluorescencia de células en el rango de rojo, observándose en muestras tratadas con heparina sin trolox un incremento (50,61  $\pm$  5,44 %) con respecto a su control (muestra sin heparina y sin trolox) (24,75  $\pm$  8,88 %); siendo significativamente menor en espermatozoides capacitados con AH (p<0,05). Se encontró una disminución del potencial de membrana mitocondrial entre muestras

tratadas y no tratadas con trolox sólo en las capacitadas con H (p<0,05). La capacitación fue evaluada por la coloración epifluorescente de clortetraciclina (CTC) en presencia de heparina y ácido hialurónico, en muestras sin trolox el porcentaje de capacitación fue 26,50  $\pm$  7,42 % y 25,33  $\pm$  5,4 % respectivamente, siendo sus diferencias no significativas; el uso de trolox no modificó estos valores (p>0,05). 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 significativas entre los tratamientos de H y AH con y sin trolox (p>0,05). La evaluación del nivel de EROs se realizó mediante citometría de flujo con el agregado de MitoSOX Red. Las muestras tratadas con AH o con H con o sin trolox, no presentaron diferencias significativas en su nivel de anión superóxido celular. El agregado de trolox sólo provocaría un menor potencial mitocondrial del espermatozoide tratado con Heparina manteniendo el mismo estado redox con ambos inductores debido a su efecto antioxidante, lo que determinaría una condición intracelular diferencial que podría influir en la capacidad fertilizante de la gameta.

# Cuantificación de CD31 detectado con inmunohistoquímica en placentas porcinas con ImageJ

FIORIMANTI, M<sup>1,2</sup>; CRISTOFOLINI, A<sup>1,2</sup>; CAVERZAN, M<sup>1</sup>; CASSINA, B<sup>1</sup>; ALFONSO, A<sup>1</sup>; PEREYRA, A<sup>1</sup>; DÍAZ, T<sup>1</sup>; BARBEITO, C<sup>2,3</sup>; MERKIS, C<sup>1</sup>.

CD31 es una glicoproteína integral de membrana que permite la adhesión entre células endoteliales. Numerosos estudios han utilizado la inmunomarcación de CD31 para determinar la vascularización en placentas de diversas especies mediante la identificación de micro y macrovasos sanguíneos. Sin embargo, existen limitaciones para cuantificar manualmente la expresión de la proteína en estudio a través de la técnica inmunohistoquímica. El objetivo fue cuantificar la inmunoexpresión de CD31 en placentas porcinas de 30, 40, 60, 70, 90 y 114 días de gestación mediante el análisis digital de imágenes con el software ImageJ. Se utilizaron muestras de tejido placentario de cerdas mestizas, provenientes de frigoríficos de la zona de Río Cuarto, Argentina (33,11° S, 64,3° O). Fueron fijadas en formol salino tamponado y procesadas a través de la técnica histológica convencional. Se realizaron cortes histológicos de  $\pm 4 \mu\text{m}$ . Para la inmunohistoquímica de CD31 se utilizó un anticuerpo primario anti-CD31, dilución 1/100 (ab28364, Abcam, Cambridge, Reino Unido) y anticuerpos secundarios (Cell Marque, USA). La observación se realizó a través de un microscopio óptico Axiophot (Carl Zeiss, Alemania), adquiriendo las imágenes mediante una cámara digital Powershot G6, 7.1 megapixels (Canon INC, Japón) adosada al microscopio. Para el análisis inmunohistoquímico se consideró como positivo no sólo a los vasos sanguíneos con luz completa y presencia de eritrocitos, sino también a todas aquellas agrupaciones

que presentaran células endoteliales vasculares, pardas e inmunoteñidas. Se procesaron 10 imágenes en formato TIFF a través del programa ImageJ 1.49b (Media Cybernetics, USA) por cada día de gestación, a 40 aumentos (40x). El análisis de la imagen resultó de la densidad óptica (DO) emitida en escala de grises y cada nivel de gris se expresó por píxeles que fueron convertidos a micras. Los resultados de DO fueron analizados estadísticamente con el software InfoStat (versión e2018) y expresados como la media más la desviación estándar ( $P < 0,05$ ). Los mayores valores de DO se presentaron a los 40 y 60 días de gestación con una media de  $DO = 0,34$  en ambos casos. A los 30 días la DO fue de 0,28; a los 70 de  $DO = 0,29$ ; a los 90 días de  $DO = 0,26$ ; y a los 114 días un valor de  $DO = 0,27$ . No hubo diferencias significativas entre estos periodos ( $P > 0,05$ ), pero sí de estos con las medias halladas a los días 40 y 60 de gestación ( $P < 0,05$ ). Este método de análisis digital de imágenes permite cuantificar la expresión de la proteína con mayor precisión, sensibilidad y reproducibilidad de los resultados. Si bien resulta en un método práctico y sencillo donde se pueden estandarizar los parámetros a estudiar, consideramos que es importante corroborar microscópicamente e identificar la inmunomarcación de la proteína por parte del operador. Concluimos que mediante el análisis digital de imágenes es posible cuantificar la inmunoexpresión de CD31 en placentas porcinas a lo largo de la gestación.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Río Cuarto, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Dpto de Patología Animal, Área de Microscopía Electrónica. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>3</sup>Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias.

# Efecto de la vitrificación y cultivo *in vitro* post atemperado sobre folículos preantrales porcinos contenidos en láminas de corteza ovárica

GABRIEL, P<sup>1,2</sup>; FRATTO, MC<sup>1,2</sup>; CISALE, H<sup>1,2,3</sup>; FISCHMAN, ML<sup>1,2</sup>.

La vitrificación de láminas de tejido ovárico permite preservar gran cantidad de ovocitos contenidos en folículos preantrales (FPA). El cultivo *in vitro* post atemperado a tiempos cortos sería un método eficaz para evaluar los potenciales daños que pudieran ocasionar los agentes crioprotectores y el proceso de criopreservación sobre los FPA. La composición del medio de cultivo utilizado influiría en la eficiencia del proceso. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del cultivo *in vitro* post-atemperado sobre la morfología de los FPA. Se tomaron muestras de láminas de corteza de ovarios provenientes de faena (n=10). Los controles fueron fijados inmediatamente en solución de Bouin. Las muestras restantes fueron expuestas a una solución de vitrificación (TCM-199, HEPES 25Mm, 30% etilenglicol, 20% de suero fetal bovino (SFB) y sacarosa 0,25M) utilizando agujas de acupuntura como soporte. Luego de una semana fueron atemperadas y cultivadas durante 24 h a 39 °C, en cámara húmeda con 5% de CO<sub>2</sub>, en placas p12. Se utilizó un medio base: D-MEM, ITS (1mg/ml insulina, 0,55 mg/ml transferrina, 0,5 µg/ml selenio), 10% SFB, 2 mM glutamina, gentamicina 10 µg/ml y anfotericina B 10 µg/ml, combinado con concentraciones crecientes de FSH pituitaria porcina (0, 50 ng/ml y 100 ng/ml). Se realizó la evaluación morfológica sobre cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-Eosina con microscopía de campo claro (x400). El análisis estadístico se realizó mediante el test de Friedman (p< 0,05). Se analizaron un total de

562 FPA. Luego de la vitrificación/atemperado, se observó una disminución significativa en el porcentaje de FPA morfológicamente normales con respecto al control. En ausencia de FSH se redujo de manera significativa el porcentaje de FPA normales con respecto a los restantes tratamientos. El uso de 100 ng/ml de FSH permitió preservar el mayor porcentaje de FPA primordiales normales en comparación con los otros dos medios (Primordiales: Control: 80,00 %, vitrificado: 66,29%, sin FSH: 20,56%, 50 ng/ml FSH: 28,94%, 100 ng/ml FSH: 61,48%; Primarios: Control: 74,01 %, vitrificado: 59,87%, sin FSH: 10,71%, 50 ng/ml FSH: 24,68%, 100 ng/ml FSH: 26,94%). La vitrificación/atemperado de los folículos primordiales, aumentó el porcentaje de lesiones epiteliales de manera conjunta con las lesiones del ovocito. La mayoría de los folículos primarios cultivados en ausencia de FSH presentó daño a nivel del ovocito y de las células de la granulosa. En los FPA cultivados en medio suplementado con esta hormona, se observaron menores porcentajes de alteraciones morfológicas en las células de la granulosa. En los ovocitos de ambos tipos de FPA se observaron de manera simultánea en la mayoría de los tratamientos alteraciones morfológicas a nivel del núcleo y del citoplasma. En la especie porcina, los folículos preantrales primordiales parecerían ser más resistentes al proceso de criopreservación que los folículos primarios. Para el cultivo *in vitro*, se recomendaría la suplementación del medio con 100 ng/ml de FSH.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires. Argentina. <sup>1</sup>Cátedra de Física Biológica. <sup>2</sup>Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). <sup>3</sup>CONICET-Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). pgabriel@fvet.uba.ar

# Metabolismo de lípidos endógenos de ovocitos bovinos durante la maduración *in vitro* en ausencia de sustratos oxidativos.

GAGNETEN, P<sup>1,2</sup>; BREININGER, E<sup>1,2,3</sup>; CETICA, P<sup>1,2,3</sup>; GUTNISKY, C<sup>1,2,3</sup>.

Los estudios metabólicos llevados a cabo en Complejos ovocito-cumulus (COCs) refieren principalmente al metabolismo de los hidratos de carbono, que suelen ser los principales sustratos presentes en los medios de cultivo de rutina. Hay poca información acerca del uso de los lípidos endógenos como sustratos oxidativos. El objetivo de este trabajo será evaluar el consumo de lípidos endógenos en COCs bovinos, durante la maduración *in vitro* en medios deprivados de sustratos oxidativos. Los COCs serán madurados en un medio sin sustratos oxidativos TALP Fert (sin piruvato y lactato) con 50 µg/ml de sulfato de gentamicina, 0,2 mg/ml de FSH, 2 mg/ml de LH, 10 ng/ml de EGF, 5 µg/ml de insulina y 1 mg/ml de PVA, bajo aceite mineral a 39°C, 5% CO<sub>2</sub> en aire y 100% de humedad durante 22 hs. Para el control positivo 1 se adicionará 5,5 mM de glucosa. Como activador e inhibidor de la β-oxidación de ácidos grasos se utilizará L-carnitina (control positivo 2) y etomoxir (control negativo), respectivamente, a concentraciones a determinar. El porcentaje de maduración nuclear será evaluado por la presencia de la metafase II según técnica de

Hoechst. Para determinar la variación en el contenido de lípidos neutros de los ovocitos bovinos durante la maduración, los ovocitos desnudos inmaduros y madurados *in vitro* serán teñidos con Rojo Nilo. Se cuantificará la fluorescencia a partir de microfotografías digitales obtenidas en un microscopio de epifluorescencia (filtro 510-590 nm). Las imágenes digitalizadas serán analizadas utilizando el software IMAGE J valorando la luminosidad individual de cada ovocito. El contenido de lípidos neutros será expresado en unidades arbitrarias/ovocito. Finalmente la maduración citoplasmática será evaluada mediante fecundación *in vitro* utilizando semen congelado-descongelado de toro de probada fertilidad. El semen será descongelado a 37°C en medio mSOF, centrifugado dos veces a 500xg por 5 minutos y luego resuspendido con el medio de fecundación a una concentración final de 2 x 10<sup>6</sup> espermatozoides móviles/ml. La fecundación será realizada en medio IVF-mSOF, bajo aceite mineral a 39°C, 5% CO<sub>2</sub> en aire y 100% de humedad durante 18-20 h. Se determinará el porcentaje de clivaje a las 48 h post inseminación.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Biológica. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires - CONICET. Instituto de Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina.

# Detección de tejido linfoide asociado a conjuntiva de tercer párpado de caprinos para su aplicación en el diagnóstico de Scrapie

Gallardo, MJ<sup>1,2</sup>; Delgado, FO<sup>1</sup>.

El Scrapie o Prúrigo Lumbar es una enfermedad neurodegenerativa transmisible producida por una isoforma anómala de una proteína constitutiva denominada Prion (PrP<sup>Sc</sup>) que afecta a ovinos y caprinos. Pertenece al grupo de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) junto con la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB). Estas enfermedades terminan invariablemente con la muerte de los individuos afectados, careciéndose a la fecha de un tratamiento curativo. Su diagnóstico se basa en la detección post mortem de la PrP<sup>Sc</sup> mediante diversas técnicas, y en la observación de lesiones compatibles en el Sistema Nervioso. Entre las EET, Scrapie es la enfermedad 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. En el caso de esta enfermedad es posible el diagnóstico preclínico dada la particular acumulación temprana de PrP<sup>Sc</sup> en tejido linfoide (TL). 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. Si bien no se han identificado casos de Scrapie ni de otras EET en Argentina, existe un programa de prevención oficial para las EET animales. El objetivo de este trabajo

fue analizar el tejido linfoide asociado a tercer párpado de caprinos para determinar su aptitud en el diagnóstico preclínico de Scrapie como posible herramienta para evitar el ingreso de la enfermedad. Para ello se extrajo post mortem el tercer párpado del ojo derecho de 15 cabras (7 menores de 1 año y 8 mayores de 1 año). Las muestras fueron fijadas en formol al 10% e incluidas en parafina. Se obtuvieron secciones de 3 µm de espesor, las cuales fueron coloreadas con hematoxilina y eosina. Se encontraron folículos linfoides en 13 de las 15 muestras analizadas, y de estas sólo en 8 animales se observó la cantidad óptima para realizar el diagnóstico preclínico. Si bien son preliminares, los resultados obtenidos indicarían que la presencia de TL en mucosa de tercer párpado es variable y aumentaría con la edad de los individuos ya que los 8 animales aptos para el diagnóstico fueron mayores de 1 año mientras que en los menores de 1 año el desarrollo folicular fue escaso o nulo. Esta información sería de interés al momento de implementar un sistema de vigilancia para Scrapie en caprinos debido a que este tipo de muestra solo sería de utilidad en animales mayores de 1 año. Se prevé continuar los estudios con caprinos de diferentes edades comparando las muestras de conjuntiva de tercer párpado con otras mucosas de fácil acceso como la rectal.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UEDD INTA-CONICET); CICVyA, Instituto de Patobiología Veterinaria. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas. gallardo.mauro@inta.gov.ar

# Expresión diferencial de receptores de IGF-1 y leptina en ovarios de alpaca con o sin cuerpo lúteo

GALLELLI, MF<sup>1,2</sup>; BIANCHI, C<sup>1,3</sup>; LOMBARDO, D<sup>2</sup>; CASTILLO, VA<sup>4</sup>; MIRAGAYA, MM<sup>2</sup>.

En distintas especies se ha reportado que la función ovárica es regulada por las gonadotropinas y otras hormonas como leptina e IGF1; expresándose sus receptores en el ovario. La expresión de estos últimos no ha sido evaluada en ovarios de alpaca. Por lo tanto, el objetivo del trabajo fue determinar si los receptores de IGF1 (IGF1R) y leptina (ObR) se expresan en los folículos y cuerpo lúteo (CL) de ovarios de alpaca; y si su expresión varía según el tipo celular y tamaño folicular. Se obtuvieron ovarios de 12 alpacas (con CL: n=6, sin CL: n= 6) de la “Estación Experimental de altura de Chuquibambilla” (Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú). Se realizó una técnica inmunohistoquímica (método avidina-biotina-peroxidasa) sobre cortes de ovarios previamente incluidos en parafina para evidenciar la presencia del ObR (dilución 1:20 en PBS del anticuerpo monoclonal anti ObR, sc-8391, Santa Cruz Biotechnology) e IGF1R (dilución 1:300 en PBS del anticuerpo policlonal anti IGF1R, sc-712, Santa Cruz Biotechnology) en folículos primarios y secundarios, en células de la granulosa y teca interna de folículos terciarios, y en células luteales. La inmunomarcación fue evaluada por dos observadores independientes. El área total de citoplasmas con marca positiva (color marrón) fue medida y expresada como un cociente respecto al área total de citoplasmas (citoplasmas de color marrón + citoplasmas de color azul, debido a la tinción con hematoxilina). La expresión de los receptores se evaluó como porcentaje de área positiva y

se analizó mediante el test de Student, siendo el nivel de significación  $P < 0.05$ . Tanto ObR como IGF1R se expresaron en folículos primarios, secundarios, células de la granulosa y teca interna de folículos terciarios y en cuerpo lúteo de todos los ovarios analizados; sin haber diferencias significativas en su expresión de acuerdo al tamaño folicular. Se observaron diferencias significativas en la expresión del ObR en células de la teca interna, siendo la misma del 86% en ovarios con CL y 42% en ovarios sin CL ( $p = 0,0007$ ). Asimismo se evidenciaron diferencias significativas en la expresión del ObR entre células de la granulosa y células de la teca interna, en ausencia de cuerpo lúteo (86% y 42% de área positiva, respectivamente,  $p < 0,0001$ ). La expresión de IGF1R fue mayor en células de la granulosa de folículos terciarios en ovarios sin CL respecto a aquellos con CL (94% y 64%, respectivamente,  $p = 0,0007$ ). En ovarios con y sin CL, la inmunomarcación fue mayor en células de la granulosa respecto a células de la teca interna ( $p = 0,0016$ ). La expresión de ObR e IGF1R se observó en la mayoría de las células luteales (94% y 89% de área positiva, respectivamente). La expresión de ObR e IGF1R tanto en folículos como en el CL propone un sitio de acción para que la leptina e IGF1 puedan ejercer su efecto en el ovario, pudiendo regular su función. La variación en la expresión de estos receptores de acuerdo a la ausencia o presencia del CL sugiere una posible regulación de los mismos por parte de las hormonas sexuales.

<sup>1</sup>CONICET. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. INITRA. <sup>3</sup>UNICEN. Facultad de Veterinaria, Lab. De Endocrinología. <sup>4</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. Hospital Escuela. Área de Endocrinología.

# Caracterización *in silico* y estudio del polimorfismo de las serina proteasas romboidales tipo 4/5 del hemoparásito bovino *Babesia bovis*

GALLENTI, R<sup>1,2</sup>; SCHNITTGER, L<sup>1,2</sup>; SIBEKO, KP<sup>3</sup>; LONG, M<sup>3</sup>; FLORIN-CHRISTENSEN, M<sup>1,2\*</sup>

Las serina proteasas romboidales (ROM) son un abundante grupo de enzimas transmembrana presentes en todos los reinos que cumplen distintas funciones biológicas. En los protozoos apicomplexos *Toxoplasma gondii* y *Plasmodium falciparum* las proteasas romboidales de la familia ROM 4/5 participan en el clivaje de adhesinas, un evento crucial para lograr la internalización a la célula hospedadora, y en consecuencia la supervivencia del parásito. Por este motivo, están siendo estudiadas como posibles candidatos vacunales. Las ROM poseen varios dominios transmembrana, y su sitio activo se encuentra inmerso en la bicapa lipídica, formado por una diada de serina-histidina. Nuestras investigaciones se enfocaron en las proteasas ROM del hemoprotoso apicomplejo *Babesia bovis* para aumentar nuestro conocimiento sobre la biología de este parásito y analizar el posible uso futuro de estas proteínas en formulaciones vacunales. En análisis *in silico* previos realizados en el genoma secuenciado de la cepa de referencia T2Bo (USA) de *B. bovis*, hallamos que de las diez familias de proteasas ROM descritas, *B. bovis* posee cuatro (ROM4/5, ROM6, ROM7 y ROM8). Por su relevancia en otros protozoos apicomplexos, la familia ROM4/5 de *B. bovis* fue estudiada con más profundidad. Se observó que esta familia se encuentra expandida en estos protozoos a cinco parálogos, mientras que en *P. falciparum* está representada por un solo gen. Los cinco genes parálogos de *B. bovis* se encuentran en el cromosoma 2, tres de ellos (rom 4.1, 4.2 y 4.3)

ubicados en tándem, y los dos restantes (rom 4.4. y 4.5) a 19 y 27 kpb río abajo, indicando varios eventos de duplicación a partir de un gen rom4 ancestral. Se estudió el polimorfismo entre aislamientos de las secuencias de aminoácidos predichas, para lo cual se secuenciaron los genes de la cepa argentina R1A y se compararon con las secuencias de la cepa T2B. Se observó un alto grado de conservación en todos los genes, excepto en la región hidrofílica amino-terminal de ROM4.1, donde se halló un número variable de repeticiones en tándem de un fragmento de 29 aminoácidos. Por lo tanto, se analizó esta región en ocho aislamientos geográficos de *B. bovis* de Argentina, Brasil, Israel, México, Australia y Sudáfrica. Se confirmaron los resultados anteriores, hallándose que en los distintos aislamientos, el número de repeticiones en tándem varió entre 2,5 y 8,5 veces. Se predijo la presencia de epitopes B conservados en la región repetitiva. La conservación e incluso la amplificación de la región repetitiva en algunas cepas, a pesar de la posible presión selectiva del sistema inmune del hospedador, indica su potencial rol biológico, acompañado de restricciones en la selección de mutaciones. En concordancia, estudios realizados en otros protozoos parásitos indican que las repeticiones de aminoácidos en proteínas superficiales son cruciales en eventos de invasión y evasión inmune. Estos resultados indican que la región repetitiva de ROM4.1 podría ser de interés como potencial blanco inmunoterapéutico.

Financiado por ANPCyT (PICT2013-1249) e INTA (PNBIO1131034).

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA-Castelar, Hurlingham, Argentina. <sup>2</sup>CONICET, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, Onderstepoort, South Africa. jacobsen.monica@inta.gob.ar

# Crianza artificial de cabritos: alternativas de alimentación

GALOTTA, ML<sup>1,2</sup>; MOSCUZZA, CH<sup>2</sup>; FERNÁNDEZ CIRELLI, A<sup>1,2</sup>.

La rentabilidad del tambo caprino depende, principalmente, de la cantidad de leche producida, por lo que su utilización en la alimentación de las crías de pequeños rumiantes impacta negativamente en la cantidad de litros comercializados. Una alternativa es la implementación de programas de crianza artificial y el empleo de sustitutos lácteos. Sin embargo, para que esto sea redituable, no solo se debe reducir el consumo de leche, sino que además se debe asegurar un índice de mortalidad bajo y una disminución en la mano de obra requerida. Esto último es posible, si se logra un adecuado desarrollo del rumen y un consumo de alimento sólido de forma precoz. En este sentido, diferentes tipos de probióticos como bacterias, levaduras y hongos son utilizados para manipular la fermentación y la diferenciación celular del rumen, y aumentar la síntesis y biodisponibilidad de nutrientes (ácidos grasos volátiles). Por otro lado, la oferta de productos específicos es limitada, por lo que el productor emplea alimentos probados en terneros en la crianza de cabritos. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de un suplemento comercial (para terneros) a base de prebióticos y probióticos en el crecimiento de cabritos bajo crianza artificial. Esta experiencia fue llevada

a cabo en un establecimiento productivo emplazado en la localidad de Ezeiza. Los cabritos de raza anglo nubian fueron asignados al azar a uno de los siguientes tratamientos: alimentación con leche de cabra fluida (n=5, tratamiento control, TC) o alimentación con leche de cabra fluida con el agregado de un suplemento comercial de la marca Maelk<sup>®</sup> (n=5, TM), a base de prebióticos (active MOS) y probióticos (*Bacillus licheniformis*). Este suplemento fue incorporado a la leche a razón de 50 g L<sup>-1</sup>. Se calculó la ganancia diaria de peso (GDP, g/animal/día) definida como la diferencia entre el peso final y el peso inicial dividido el número de días de alimentación. Los valores de GDP obtenidos para el tratamiento control fue de 182,07 g mientras que para el tratamiento con Maelk<sup>®</sup> de 213,53 g. En este ensayo no se encontraron diferencias significativas entre ambos tratamientos, aunque se observó una tendencia positiva en el crecimiento de los animales que consumieron Maelk<sup>®</sup>. Por otro lado, la adición del suplemento presentó una buena aceptación, definida como la ausencia de diarreas en los animales estudiados. Se requieren estudios posteriores para evaluar si la diferencia obtenida se incrementa con el tiempo experimental.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA) (UBA-CONICET). Buenos Aires. Argentina.

# El Trolox contribuye a mantener un metabolismo oxidativo y la funcionalidad de las membranas espermáticas de los espermatozoides porcinos refrigerados

GARCÍA, N; CÓRDOBA, M.

La elevada concentración de ácidos grasos insaturados torna a los espermatozoides porcinos más susceptibles a la peroxidación debida a las especies reactivas del oxígeno generadas en el almacenamiento a bajas temperaturas. El metabolismo espermático es altamente oxidativo y la energía proveniente de la mitocondria se utilizaría para la capacitación y motilidad. 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 en espermatozoides de varias especies. El objetivo fue estudiar los cambios en parámetros funcionales: la actividad de creatina quinasa (CK), el potencial de membrana mitocondrial, integridad de membrana plasmática y la vitalidad de espermatozoides refrigerados con y sin Trolox. Se evaluó la capacitación mediante la coloración epifluorescente de clortetraciclina (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, el potencial de membrana mitocondrial a través de la tinción de JC-1 y la actividad de CK fue evaluada espectrofotométricamente a 340 nm. Las muestras (n=7) 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 por 2 horas. Los datos fueron analizados por ANOVA

y test de Tukey ( $p < 0,05$ ). La integridad de membrana de los espermatozoides (HOS-Test) ( $86,4 \pm 3,05\%$ ) presentó diferencias significativas con respecto al semen refrigerado sin Trolox, no así con el semen refrigerado con Trolox. La vitalidad espermática en el semen fresco fue de  $70,1 \pm 2,28\%$ . La vitalidad post-refrigeración mejoró con el agregado de Trolox ( $58,93 \pm 7,45\%$ ) respecto al no tratado ( $38,21 \pm 11,63\%$ ) ( $p < 0,05$ ). El porcentaje de espermatozoides capacitados (CTC) en muestras refrigeradas con Trolox mantuvo el nivel bajo del semen fresco ( $2,1 \pm 1,66\%$ ) ( $p > 0,05$ ). Los espermatozoides reaccionados (CTC) en muestras refrigeradas con Trolox ( $7,25 \pm 6,18\%$ ) mantuvieron el nivel bajo del semen fresco ( $4,7 \pm 2,83\%$ ) ( $p > 0,05$ ). El potencial de membrana mitocondrial más bajo se observó en ausencia de Trolox ( $45,58 \pm 13,10\%$ ) respecto al fresco ( $88,86 \pm 13,33\%$ ) y el tratado con Trolox ( $67,33 \pm 14,83\%$ ), observándose diferencias significativas entre los tres grupos ( $p < 0,05$ ). La actividad de CK en el semen fresco fue  $5,3 \pm 2,4 \text{ UI} \times 10^{-2} / 10^8$  espermatozoides. No se encontraron diferencias significativas en muestras refrigeradas con Trolox ( $4,13 \pm 2,5 \text{ UI} \times 10^{-2} / 10^8$  espermatozoides) y muestras refrigeradas sin Trolox ( $1,93 \pm 1,3 \text{ UI} \times 10^{-2} / 10^8$  espermatozoides) ( $p > 0,05$ ). Siendo que el Trolox lleva a la ruptura de los enlaces de especies reactivas del oxígeno, su agregado estaría contribuyendo a contrarrestar el daño causado por las mismas en las membranas de gametas sometidas a procesos de refrigeración y promover la preservación de las mismas.

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.

# Agrupamiento espacial de enteropatógenos en terneros de rodeos lecheros

GARRO, CJ<sup>1</sup>; MORICI, G<sup>1</sup>; TOMAZIC, ML<sup>1</sup>; VILTE, D<sup>1</sup>; ENCINAS, M<sup>1</sup>; BOK, M<sup>2</sup>; VEGA, C<sup>2</sup>; PARREÑO, V<sup>2</sup>; SCHNITTGER, L<sup>1</sup>.

El síndrome diarreico (SD) en terneros de rodeos lecheros es uno de los principales problemas sanitarios a nivel mundial. Entre las causas de origen infeccioso, se han descrito diversos enteropatógenos asociados al SD como: *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*), rotavirus grupo A (RVA), coronavirus bovino (CoV) y *Escherichia coli* Enterotoxigenica (ETEC). El objetivo de este estudio fue identificar potenciales agrupamientos espaciales de enteropatógenos (*C. parvum*, RVA, CoV y ETEC) en terneros de rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires. La hipótesis nula del análisis estadístico de exploración espacial establece que el evento se distribuye aleatoriamente en el espacio geográfico y que el recuento de eventos esperado es proporcional a la población en riesgo. El estudio fue un diseño observacional transversal. Se colectaron muestras al azar de materia fecal de terneros de entre 1 y 90 días de edad en cada rodeo lechero. Cada sitio de muestreo fue georreferenciado. Para el análisis se utilizó un modelo discreto Poisson donde un ternero infectado fue tomado como caso y el total de terneros examinados como población. El programa SaTSCan (version 9.6; Martin Kulldorff, Boston, MA, USA) fue utilizado para identificar las agrupaciones espaciales con sus respectivas coordenadas geográficas (latitud y longitud), el radio, el

riesgo relativo (RR) y el p-valor. En total, se analizaron 908 muestras provenientes de 42 rodeos lecheros de la provincia de Buenos Aires. En el área de estudio, la prevalencia general de *C. parvum*, RVA, CoV y ETEC fueron 18% (168/908), 8% (77/908), 4% (39/908) y 0,5% (4/908), respectivamente. El análisis de exploración espacial no identificó agrupamientos para *C. parvum* y ETEC ( $p > 0,10$ ). Para RVA, se detectó un agrupamiento espacial con centro en las coordenadas -34,992792 S y -60,218275 O, un radio de 76 km y un RR de 3,01 ( $p = 0,0004$ ). Para CoV, se detectó un agrupamiento espacial con centro en las coordenadas -34,614610 S y -59,265690 O, un radio de 17,9 km y un RR de 4,4 ( $p = 0,072$ ). La falta de agrupamiento espacial para *C. parvum* sugiere que es una parasitosis endémica en la región por lo que su control requeriría de medidas de control a nivel poblacional. Por otro lado, la falta de agrupamiento espacial para ETEC podría deberse a la escasa cantidad de casos identificados. El RR de infección para RVA y CoV fue mayor en las áreas descritas y las mismas, podrían considerarse como lugares prioritarios para futuras investigaciones relacionadas a enteropatógenos virales. Finalmente, la exploración espacial aporta información que puede enfocar y/o mejorar a futuro la implementación de medidas preventivas para el SD.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UEDD INTA-CONICET); CICVyA. Instituto de Patobiología Veterinaria. <sup>2</sup>Instituto de Virología. INTA. garro.carlos@inta.gob.ar

# DetECCIÓN MOLECULAR DE *Mycobacterium bovis* Y PRODUCCIÓN DE LECHE EN BOVINOS

GARRO, CJ; TOMAZIC, ML; CELI, A; GARBACCIO, SG.

La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad infecto contagiosa zoonótica producida por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*). La infección por esta micobacteria puede afectar a diferentes órganos y tejidos, incluyendo la glándula mamaria. Varios estudios reportan una disminución en la producción de leche en vacas con TB. Esto podría deberse, entre otras cosas, a lesiones que puede producir *M. bovis* en el tejido glandular como inflamación y fibrosis. La excreción de *M. bovis* a través de la leche puede ocurrir en ausencia de lesiones en la ubre, aunque la probabilidad es mayor cuando la misma se encuentra afectada. Este estudio evalúa la asociación entre la detección de *M. bovis* y la producción de leche en bovinos positivos a la prueba de la tuberculina. Un total de 180 bovinos de un rodeo lechero del partido de Tandil, fueron investigados. Se colectaron por cada animal, 10 mL de leche (2,5 mL por cuarto mamario) a través del ordeño manual de la ubre, luego de las maniobras de antisepsia de rutina. Las muestras fueron refrigeradas para su transporte al laboratorio y congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. Se utilizó la técnica de PCR IS6110 para determinar ADN del complejo *M. tuberculosis*. Una muestra positiva a PCR IS6110 fue considerado positiva a *M. bovis*. Se registró la información del control lechero realizado en el mismo mes de la colecta de muestras (enero 2019). Los factores evaluados

fueron: producción de leche en el último control ( $<$  vs  $\geq 25$  litros), producción de leche en el control previo ( $<$  vs  $\geq 22,5$  litros), producción promedio en la última lactancia (producción de leche acumulada/días en la última lactancia) ( $<$  vs  $\geq 28$  litros) y leche vitalicia (producción acumulada total) ( $<$  vs  $\geq 25.599$  litros). Dichos factores fueron dicotomizados por la mediana debido a que no presentaban una distribución normal (Shapiro Wilk;  $P < 0,10$ ). El análisis se realizó con un modelo mixto generalizado de regresión logística (paquete “lme4” de R© v. 3.0.2). El identificador de la vaca fue utilizado como efecto aleatorio. El 30% (54/180) de las muestras fueron positivas a *M. bovis* y su presencia no estuvo asociada a los parámetros de producción de leche evaluados (producción de leche en el último control ( $p = 0,592$ ), producción de leche en el control previo ( $p = 0,376$ ), producción promedio en la última lactancia ( $p = 0,172$ ) y leche vitalicia ( $p = 0,194$ )). Estos resultados sugieren que los parámetros de producción de leche no están asociados a la excreción de *M. bovis*. Sin embargo, la elevada proporción de *M. bovis* detectada en leche de bovinos con TB alerta sobre el riesgo zoonótico que representa el consumo de leche cruda o sus derivados. Asimismo, alerta sobre el riesgo de transmisión de la infección a través de leche cruda a terneras lactantes en rodeos endémicos.

# Complejo respiratorio en una ternera asociado a tuberculosis bovina: reporte de caso

GARRO, CJ<sup>1</sup>; BERMEJO, V<sup>2</sup>; MARGINEDA, C<sup>3</sup>; MORRIS, W<sup>1</sup>; DELGADO, F<sup>1</sup>; GARBACCIO, S<sup>1</sup>.

El complejo respiratorio bovino (CRB) engloba a una serie de signos clínicos (tos, hipertermia, disnea, anorexia, secreción ocular y/o nasal) que se desarrollan por la interacción entre diferentes agentes infecciosos, factores ambientales y por la susceptibilidad individual. El rodeo lechero en estudio, ubicado en el partido de Hipólito Yrigoyen (Bs As), realizaba vacunaciones preventivas contra el CRB en vacas (dos dosis: 60 y 30 días previos al parto) y en terneros (dos dosis: 60 y 90 días de edad). Sin embargo, al momento de la intervención, registraba un 40% de morbilidad y 5% de mortalidad adjudicada al CRB en terneras de entre 60 y 120 días de edad. Los casos de CRB, eran tratados con tilmicosina y florfenicol en forma alternada. Las terneras eran criadas en forma colectiva y alimentadas con leche cruda procedente de un rodeo de vacas de “enfermería”. El objetivo de este reporte es describir un caso tuberculosis bovina (TB) en una ternera con signos clínicos de CRB que no respondía favorablemente al tratamiento antibiótico. Se seleccionó una ternera de 117 días de edad, que presentaba signos clínicos de CRB (disnea, tos, emaciación y temperatura rectal > 40°C), para ser sometida a necropsia utilizando pentobarbital sódico intravenoso para la eutanasia. Se colectaron muestras de pulmón y linfonodos para realizar estudios bacteriológicos (cultivo y técnicas moleculares)

e histopatológicos (tinción de Ziehl-Neelsen y hematoxilina-eosina). Se observó un 50% de compromiso pulmonar, con múltiples nódulos de 0,5 - 5 cm de diámetro que presentaban en su interior material caseoso y/o purulento. Los linfonodos traqueobronquiales y mediastínicos presentaban granulomas en su interior de entre 1 y 5 mm de diámetro. La bacteriología identificó *Trueperella pyogenes* y *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*). La histopatología reveló colonias de bacilos Gram positivos en el parénquima pulmonar y bacilos ácido-alcohol resistentes en el citoplasma de células gigantes multinucleadas. El diagnóstico etiológico del CRB puede contribuir a limitar el uso de antibióticos y evitar de esa manera, la potencial ocurrencia de resistencia adquirida en las poblaciones bacterianas. La identificación de *Trueperella pyogenes* en tejido pulmonar sería secundaria a infecciones bacterianas previas. El hallazgo destacable en este estudio, es la identificación de *M. bovis* en una ternera tratada por signos clínicos del CRB. Esta micobacteria, es refractaria a los antibióticos utilizados y su hallazgo, alerta sobre potencial riesgo zoonótico para las personas encargadas del manejo de los animales. Este reporte sugiere que la TB debe ser un diagnóstico diferencial en brotes de CRB en terneros de rodeos lecheros. La aplicación de la prueba de la tuberculina permitiría identificar a los animales infectados.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UEDD INTA-CONICET). CICVyA. Instituto de Patobiología Veterinaria. <sup>2</sup>INTA Anguil. <sup>3</sup>INTA Marcos Juárez. garro.carlos@inta.gov.ar

# Identificación Inmunohistoquímica de la acción directa del Virus de la Inmunodeficiencia Felina en el sistema nervioso central de los gatos

GERMANO, P<sup>1</sup>; BOVIEZ, J<sup>1</sup>; REVILLA, M<sup>1</sup>; PASSERI, C<sup>2</sup>; SURANITI, A<sup>2</sup>; LOMBARDO, D<sup>1</sup>; GÓMEZ N<sup>2\*</sup>

La Inmunohistoquímica (IHQ) es una técnica que permite identificar determinados antígenos (Ag) en tejido. Esta técnica, tanto en humanos como animales, se ha convertido en una herramienta diagnóstica de elección en gran cantidad de investigaciones sobre las enfermedades de compleja fisiopatogenia. Su fundamento se basa en la identificación del antígeno mediante la utilización de anticuerpos específicos monoclonales o policlonales conjugados con diferentes marcadores. Estos Ac conjugados producen, por diversas técnicas, un producto coloreado marcando la reacción Ag-Ac que permite evidenciar su localización exacta en la sección de tejido y en relación con las lesiones. El objetivo del estudio es evidenciar la presencia del virus de la Inmunodeficiencia felina (VIF) en las células del sistema nervioso central de gatos infectados en forma espontánea mediante la utilización de la técnica de IHQ. Se tomaron muestras del SNC de 3/12 gatos vif + fallecidos durante la investigación y se fijaron en formaldehído al 10 %, y luego se conservaron en alcohol 70° hasta su procesamiento. En la confección del taco se impregnó la muestra en parafina para permitir su posterior corte en laminillas delgadas. En estas láminas del tejido en estudio es aplicada la técnica de Inmunohistoquímica. En este estudio se implementó el Método indirecto de la Estreptavidina- Biotina Marcada (Labelled

Streptavidina Biotin). Para reconocer al antígeno en la muestra se incubó con el Ac primario específico monoclonal (FIV p24 PAK3-2C1, Santa Cruz Biotechnology). La inmunomarcación positiva identifica el lugar donde se depositan los complejos Ag-Ac primario y es fácilmente observable al microscopio como un precipitado color marrón. Los resultados que se obtuvieron de la IHQ en los tejidos del SNC de gatos fueron neuronas de diferentes tipos y tamaños con Inmunomarcación citoplasmática positiva y nuclear negativa. Esta marcación se mantuvo en aquellas células que estaban sufriendo neuronofagia. Además se encontraron una cantidad variable de células de la glía con inmunomarcación nuclear positiva. En zonas con presencia de gliosis, la mayoría de los componentes celulares presentaron inmunomarcación nuclear positiva, habiendo presencia también de células negativas. El mismo patrón se observó en las imágenes de sateliosis. El control negativo no evidenció inmunomarcación. Mediante la utilización de la técnica de IHQ se evidencia que el Virus de la Inmunodeficiencia Felina penetra en el sistema nervioso central del gato infectando las neuronas y células de la glía. Los modelos felinos VIF+ presentan muchas similitudes en la neuropatología del HIV, por lo que su estudio puede proporcionar respuestas para poder comprender estos mecanismos de disfunción neurológica lentiviral.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>1</sup>Cátedra Histología y Embriología. <sup>2</sup>Cátedra Clínica Médica de Pequeños Animales. ngomez@fvet.uba.ar

# ¿Qué nos cuenta el micro-fitoplancton sobre la laguna urbana del Parque Unzué?

GIANELLO, D<sup>1,2,4</sup>; ÁVILA-HERNÁNDEZ, E<sup>1</sup>; AGUER, I<sup>1</sup>; CRETZAZ-MINAGLIA, M<sup>1,3,4</sup>.

Las lagunas urbanas son ecosistemas presentes en muchas ciudades que cumplen diversas funciones como aumentar la calidad de vida, mitigar los efectos del clima urbano y ser refugio de biodiversidad. Sin embargo, estos cuerpos de agua están sujetos a impactos ambientales negativos y se ven afectados, entre otras cosas, por la fragmentación del hábitat, modificación de sus riberas y la contaminación orgánica generando un impacto en la composición y distribución de los ensamblajes de especies. La ciudad de Gualeguaychú cuenta con un importante parque recreativo denominado Unzué, el cual tiene una pequeña laguna somera. Anualmente, durante verano-otoño, recibe a 2 especies nativas (*Egretta thula* y *Ardea alba*) y 1 exótica (*Bubulicus ibis*) de garzas migratorias que utilizan la zona como dormitorio y sitio de reproducción, aunque probablemente no de alimentación. Además, presenta unas 30 especies más de aves que se encuentran durante todo el año. Por ello, la guanotrofia es un fenómeno que podría estar afectando a la laguna debido a la importante carga de aves. Por otro lado, también existe un aporte puntual de efluentes cloacales de un camping lindero. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad del agua de la laguna y conocer su variación interanual, con énfasis en el estudio del micro-fitoplancton. Para esto, se realizaron 22 muestreos entre 2015 y 2018, en 3 estaciones de muestreo, se midieron parámetros

físico-químicos y bacteriológicos con los cuales se aplicó el índice de calidad de agua simplificado (SWQI). Se recolectaron muestras de micro-fitoplancton (20-200 µm) el cual fue identificado hasta el menor nivel taxonómico posible y clasificado en grupos funcionales (GF). Los parámetros físico-químicos y bacteriológicos indicaron alta contaminación orgánica y no se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las estaciones de muestreo, pero sí hubo diferencias entre los períodos anuales. Se pudo observar un detrimento de la calidad del agua que avanzó desde 2015 hasta 2018, siendo esto indicado por los valores del SWQI. El ensamblaje de micro-fitoplancton estuvo compuesto por 48 géneros distribuidos en Bacillariophyceae (19), Chlorophyceae (12), Cyanophyceae (7), Euglenophyceae (5), Conjugatophyceae (Zygnematophyceae) (3) y Dinophyceae (1). El grupo Chlorophyceae fue el más sensible a los cambios en el sistema y, específicamente, el género *Chlorella* fue un indicador de alerta temprana. Se identificaron 19 GF, la mayoría característicos de lagunas hipereutróficas, pequeñas, turbias y altamente enriquecidas. Teniendo en cuenta esto, se puede concluir que la laguna del Parque Unzué presenta una contaminación orgánica permanente, la cual fue aumentando durante el período de estudio y, por lo tanto, es posible que si se mantienen las condiciones actuales, conduzcan a un colapso del sistema.

<sup>1</sup>Laboratorio de Indicadores Biológicos y Gestión Ambiental de Calidad de Agua, FCyT, UADER. <sup>2</sup>Grupo de Ecología de Sistemas Acuáticos a Escala de Paisaje, UNCo-CONICET. <sup>3</sup>Área de Biología y Bioinformática, ICI, UNGS. <sup>4</sup>CONICET.

# Desarrollo de un modelo oviductal *in vitro* para su implementación en técnicas biotecnológicas reproductivas en la especie equina

GIMENO, B<sup>1</sup>; MARTÍNEZ-LEÓN, E<sup>2</sup>; VON MOYEREN, M<sup>1</sup>; MUTTO, A<sup>1</sup>; BARIANI, MV<sup>1</sup>; OSYCKA-SALUT, C<sup>1</sup>.

La fecundación *in-vitro* (FIV) es ampliamente utilizada para la producción de embriones. Al día de hoy no es posible aplicarla en equinos al no estar descriptas las condiciones para inducir eficientemente la capacitación y la hiperactivación en los espermatozoides *in-vitro*. Estos procesos le confieren al espermatozoide un patrón característico de motilidad y la capacidad de iniciar la reacción acrosomal para fecundar al oocito. Fisiológicamente, para que el espermatozoide adquiera capacidad fecundante debe atravesar el tracto reproductor de la hembra. El oviducto participa en la selección de subpoblaciones de espermatozoides competentes para fecundar el oocito. La unión y la liberación de los espermatozoides del epitelio oviductal son modulados por la capacitación y la hiperactivación espermática. Dada la importancia del oviducto al ser el ambiente fisiológico donde ocurre la adquisición de la capacidad fecundante del espermatozoide y la fecundación, el objetivo del trabajo fue establecer un cultivo oviductal *in vitro* y evaluar su efecto en la regulación de la interacción espermatozoide-oviducto sobre la inducción de la capacitación e hiperactivación de los espermatozoides en equinos. En primer lugar se desarrollaron cultivos primarios de células epiteliales oviductales (CEO) equinas los cuales presentaron los marcadores epiteliales citoqueratina y e-cadherina en estudios de RT-PCR e inmunofluorescencia. Posteriormente se realizaron co-cultivos de espermatozoides criopreservados (n=3) con las CEO obtenidas y se evaluó el estado acrosomal

por inmunofluorescencia utilizando PSA-FITC y la motilidad por microscopía. La población espermática que se adhirió a las CEO *in vitro* presentó su acrosoma intacto y mantuvo la motilidad, lo que sugiere una selección por parte del modelo oviductal implementado. Por último, los co-cultivos espermatozoides-CEO fueron incubados en condiciones capacitantes y se recuperó la población espermática liberada. Estos espermatozoides fueron cuantificados con un hemocitómetro y se realizaron estudios de inmunofluorescencia para ver la integridad del acrosoma (PSA-FITC), la viabilidad (Hoechst 258) y el estado de fosforilación de proteínas en residuos serina/treonina (anti-pPKA) y tirosina (anti-pTyr). A su vez, se evaluó la motilidad de los mismos utilizando el sistema CASA. Los resultados indican que, previa selección por las CEOs y en presencia de un medio capacitante, se libera una mayor cantidad de espermatozoides vivos, capacitados, con motilidad progresiva y con el acrosoma intacto respecto a un medio no capacitante. Por lo tanto, esta población espermática podría ser recuperada para ser utilizada en futuros ensayos de FIV u otras técnicas como ICSI dado su potencial fecundante. La innovación en los medios utilizados *in vitro* que incrementen la capacidad fecundante de los espermatozoides aportarían herramientas para resolver la problemática de la FIV en esta especie siendo una nueva metodología que reemplace/mejore otras de alta complejidad para la producción de potrillos de alto valor genético.

PICT FONCYT 2016-3138.

<sup>1</sup>Laboratorio de Biotecnología Aplicadas a la Reproducción Animal, IIB-UNSAM, San Martín, Pcia de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Laboratorio de Vías de Señalización y Cáncer, INIGEM-UBA-CONICET, Hospital de Clínicas "José de San Martín", CABA, Argentina.

# Niveles de actividad enzimática de lactato deshidrogenasa en líquido sinovial de equinos con diferentes patologías articulares

GONZÁLEZ, C<sup>1</sup>; LORENZO SMIRNOFF, A<sup>2</sup>; PERRONE, G<sup>1</sup>; RENDINE, E<sup>1</sup>; DE SIMONE, E<sup>2</sup>.

Las patologías articulares en los equinos deportivos resultan importantes por sus consecuencias económicas. Existen enzimas como la lactato deshidrogenasa (LDH) cuyos valores de actividad se encuentran incrementados en ciertas enfermedades inflamatorias. La LDH se produce prácticamente en todos los tejidos y resulta un buen indicador de daño e inflamación, sin embargo ciertos procesos inflamatorios articulares podrían resultar leves como para producir modificaciones en la actividad sinovial de la LDH. Estudios en otras especies indican que en la enfermedad articular degenerativa se incrementa la LDH sinovial y la misma proviene del cartílago lesionado. La determinación de LDH es económica y resulta fácil de evaluar con lo cual podría ser un buen marcador para evaluar severidad, pronóstico y seguimiento de tratamientos. El objetivo de este trabajo fue determinar los niveles de actividad enzimática de LDH en líquido sinovial de equinos con diferentes patologías articulares. Se obtuvieron muestras de líquido sinovial de tarso y/o carpo de equinos sanos y con diferentes patologías articulares para medir la actividad LDH. Los grupos de equinos muestreados fueron: i) Sanos (n=27), animales clínicamente sanos y sin historia previa de enfermedad articular; ii) Osteoartritis (n=27), equinos con diferentes tipos y evoluciones de OA crónicas; iii) Sinovitis villonodular

(n=3), iv) Fracturas en tarso/carpo (n=5). La actividad de LDH se evaluó mediante kit comercial (Wiener lab). Se realizó el análisis estadístico de ANOVA seguido de la prueba de comparación de medias de Tukey. Los líquidos sinoviales de los animales con sinovitis villonodular (851 UI/L  $\pm$  127,5; Media  $\pm$  Error Standard) y con fracturas (612,1 UI/L  $\pm$  244,4) mostraron diferencias significativas respecto del líquido sinovial de animales sanos (175,9 UI/L  $\pm$  17,91), siendo el nivel de significancia de  $p < 0,0001$ . El nivel de actividad de LDH en el líquido sinovial de animales con OA (240,6 UI/L  $\pm$  31,23) si bien resultó mayor del de los animales sanos no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p = n.s.$ ). A modo de conclusión, los equinos con patologías articulares más severas como la sinovitis villonodular y las fracturas mostraron mayores niveles de actividad de la LDH. Los animales con OA presentaron incrementos leves no significativos. Actualmente buscamos más muestras de animales con sinovitis villonodular y con fracturas para comprobar los resultados obtenidos con un mayor número de muestras. Los resultados nos indican que la LDH se relaciona con el tipo de patología articular y dado que es un método rápido, fácil y económico podría usarse para el diagnóstico, seguimiento de tratamientos y pronóstico de estas patologías.

# Efecto de la composición del pastizal sobre la emisión de metano en un suelo ganadero de la Cuenca del Salado

GONZÁLEZ, F<sup>1</sup>; COSENTINO, V<sup>2,3</sup>; PÉREZ, M<sup>1</sup>; ROMANIUK, R<sup>2</sup>; TABOADA, M<sup>2,3</sup>; COSTANTINI, A<sup>1,2</sup>.

La Pampa Deprimida, se caracteriza como una extensa llanura anegable con predominancia de suelos salino-sódicos, de baja aptitud agrícola y drenaje limitado. Dentro de esta región, la Cuenca del Salado se destaca como la principal zona ganadera del país. El metano (CH<sub>4</sub>) es un gas de efecto invernadero (GEI) con un poder de calentamiento 28 veces mayor que el del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). El CH<sub>4</sub> es producido en el suelo por microorganismos metanogénicos (principalmente anaerobios) y consumido por microorganismos metanótrofos (aerobios). En condiciones de anegamiento, los suelos actúan como fuente de CH<sub>4</sub>, mientras que cuando el suelo está en buenas condiciones de aireación puede actuar como sumidero. A su vez, la presencia de ganado afecta la emisión de CH<sub>4</sub> desde el suelo, principalmente por la deposición de excretas, distribuidas en parches en los lotes ganaderos. Para mejorar la calidad de los suelos con problemas de halo-hidromorfismo, se ha introducido en los pastizales de la Cuenca del Salado, la leguminosa *Lotus tenuis* (LT). Esta especie produce taninos condensados que pueden afectar la composición de las excretas, modificando la emisión de CH<sub>4</sub> desde el suelo. El objetivo del trabajo fue calcular y comparar las emisiones y absorciones de CH<sub>4</sub> desde el suelo en dos sistemas de manejo ganadero, una pastura con predominancia de gramíneas y otra con promoción de la leguminosa LT. Para tal fin se realizó un experimento de

campo en parcelas divididas, en la Chacra Experimental Manantiales ubicada en el partido de Chascomús durante la primavera de 2017. En las parcelas principales (n=3) se ha aplicado el tratamiento “manejo del pastizal”, con dos factores: con y sin promoción de LT. Las subparcelas (n=6), recibieron el tratamiento “tipo de excretas”, con tres factores: control, heces y orina. Para el muestreo de GEIs Se empleó el método de las cámaras estáticas. Ajustándose al mismo, se utilizó una cámara de PVC unida a un marco de hierro introducido al suelo. Se tomó muestra del aire interior con jeringas, al inicio, a los 20' y a los 40'. Las muestras de aire se analizaron por cromatografía gaseosa para estimar la concentración de CH<sub>4</sub>. Con las 3 concentraciones, se calculó un flujo para cada cámara expresado en µg C-CH<sub>4</sub>.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>. La pastura sin promoción de LT registró mayor emisión en conjunto y se encontró una diferencia significativa entre tratamientos de aplicación de excretas (p<0,05) en 6 de los 19 días de muestreo, donde la emisión fue mayor en heces, con una diferencia importante durante los primeros 2 días. Además, se registró emisión sin diferencia entre tratamientos en otros 9 días, luego de lluvias. La pastura con promoción de LT registró emisión únicamente para el tratamiento de heces, y en los 2 primeros días. Por lo tanto, un manejo de pastura que incluya la especie *Lotus tenuis*, permitiría mitigar la emisión de CH<sub>4</sub> desde el suelo.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, Cátedra de Edafología. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Suelos. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

# Producción de fragmento de cadena sencilla dirigidos contra el virus de la fiebre aftosa

GONZÁLEZ, M; NÚÑEZ, D, ZIRALDO, M; SEKI, C; MATTION, N; LÓPEZ, N, D'ANTUONO, A.

Los fragmentos derivados de anticuerpos recombinantes (rAb), y particularmente los fragmentos variables de cadena sencilla (single-chain variable fragment - scFv), han surgido recientemente como una alternativa al empleo de anticuerpos monoclonales (mAbs) para el diagnóstico médico y aplicaciones terapéuticas. Los scFv contienen el sitio completo de unión al antígeno, que incluye los dominios variables de la cadena pesada (VH) y liviana (VL) de un Ab, fusionados en fase por un polipéptido flexible [por ejemplo (GGGS)<sub>x3</sub>]. Este tipo de rAb es el más frecuentemente utilizado, dado que es posible generar scFv específicos y con elevada afinidad contra cualquier molécula blanco mediante varios sistemas de expresión. El objetivo de este trabajo fue generar scFv a partir de hibridomas secretores de mAb dirigidos específicamente contra el Virus de la Fiebre Aftosa serotipo A24. Para ello, inicialmente se aisló el RNA total a partir del cultivo de los hibridomas 1E12 y 4A2, disponibles en el CEVAN, que reconocen la proteína capsidial VP1 del VFA. Por medio de una reacción de RT-PCR,

utilizando oligonucleótidos degenerados, se amplificaron las porciones VH y VL que codifican para las inmunoglobulinas murinas de cada hibridoma. Una vez definidas las secuencias VH y VL, se diseñaron 4 oligonucleótidos específicos para la construcción del scFv mediante la técnica de PCR de fusión, que permite el empalme de fragmentos de ADN en un polinucleótido de mayor tamaño. El amplicón obtenido (800pb) fue clonado en el vector pHEN6 entre los sitios *NcoI/BstEII*. Este vector incorpora el péptido señal pelB, que la direcciona al espacio periplásmico de las células, en el extremo amino de la proteína de interés, y una etiqueta constituida por 6 residuos de histidina, en su extremo C-terminal. En conclusión, se lograron amplificar las regiones VH y VL de las inmunoglobulinas secretadas por los hibridomas 4A2 y 1E12. Se generaron los fragmentos scFv4A2 y scFv1E12, donde se fusionaron en fase los dominios variables H y L de cada hibridoma por medio de un linker. Las moléculas de ADN recombinante se clonaron en un vector de expresión procariota.

# Garrapatas de interés sanitario en la Reserva Ecológica Ciudad Universitaria-Costanera Norte

GONZÁLEZ, S<sup>1,2</sup>; GRACIANO, L<sup>3</sup>; GARAGLIA, L<sup>3</sup>; BERRA, Y<sup>3</sup>; CICUTTIN, G<sup>4</sup>; MARCOS, E<sup>3</sup>.

El estudio de las zoonosis en las interfases humano-animal-ambiente implica la comprensión de la biología, ecología y evolución de los microorganismos, así como la medicina humana y animal. Entender las modificaciones de los hábitats naturales ofrece nuevas oportunidades para el estudio de la transmisión de patógenos zoonóticos. Estos patógenos responsables del 75 % de las enfermedades infecciosas emergentes son considerados multi-hospedador y provienen tanto de animales domésticos como silvestres. Las garrapatas (Acari: Ixodida) son ectoparásitos hematófagos obligados, capaces de parasitar vertebrados domésticos y silvestres, incluso seres humanos. Son consideradas entre los principales transmisores de enfermedades emergentes y reemergentes. Actualmente en Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA), se reconocen cuatro especies: *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato, *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma triste* e *Ixodes auritulus*. Las áreas urbanas protegidas son zonas ecológicamente significativas, que conservan la biodiversidad y se encuentran dentro de grandes centros urbanos o limitan con ellos. El hombre y los animales interactúan sobre interfases silvestres-urbanas dando lugar a numerosas oportunidades para la transmisión de zoonosis. Las características de estas interfases y el posible tránsito de animales domésticos y sinantrópicos entre ambas las transforman en interesantes sistemas de estudio de las garrapatas como potenciales vectores de zoonosis. Este es el caso de la Reserva Ecológica Ciudad Universitaria-Costanera Norte (RECU-CN). Se propuso determinar

abundancia relativa y distribución estacional de garrapatas en la RECU-CN. La RECU-CN se encuentra al norte de la CABA, a orillas del Río de la Plata. Las garrapatas se recolectaron mensualmente, entre Agosto 2017-Julio 2018, mediante el método bandera, que permite la recolección de garrapatas de la vegetación, en su fase de vida libre. Se utilizó un paño de algodón blanco de aproximadamente 1,0 m x 1,5 m con el cual se recorrieron 3 ambientes diferentes 1) pastizal, 2) bosque y arboleda y 3) humedal; por el lapso de 30 minutos cada uno, revisando cada 10 metros el paño y removiendo los ejemplares capturados. Las garrapatas obtenidas fueron conservadas en alcohol 70% y luego clasificadas morfológica, mediante lupa binocular estereoscópica y el uso de claves taxonómicas. Se recolectaron 829 *Ixodes auritulus* (776 larvas, 50 ninfas y 3 hembras) y una ninfa de la especie *Rhipicephalus sanguineus* s. l. Se observaron larvas y ninfas de *I. auritulus* durante todo el año con picos de abundancia en los meses fríos (larvas en mayo y junio; y ninfas mayo y julio). Los adultos fueron encontrados en los meses de enero, febrero y junio. Todos los meses se recolectaron garrapatas en los sitios 1 y 3, no así en el sitio 2. Se comprobó la presencia estable de *Ixodes auritulus*, reconocida por su rol en el mantenimiento del ciclo de *Borrelia burgdorferi* sensu lato en aves. En Argentina se detectó en esta especie *Borrelia* sp. Además la presentación de *Rhipicephalus sanguineus*; vector de numerosos patógenos debida a su amplia distribución, hace necesaria la profundización de los estudios eco-epidemiológicos de las enfermedades transmitidas por garrapatas.

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

# Multilocus-sequence-typing de *Pasteurella multocida* proveniente de aves comerciales: nuevas perspectivas para el estudio del cólera aviar

GORNATTI-CHURRIA, CD<sup>1,2\*</sup>; SGUAZZA, GH<sup>3</sup>; PICOTTO, LD<sup>2,3</sup>; LANDONI, MF<sup>2,4</sup>.

El cólera aviar (CA) es una enfermedad producida por *Pasteurella multocida* que afecta a parvadas comerciales y causa grandes pérdidas económicas en la industria avícola mundial. *P. multocida* es un bacilo Gram (-), inmóvil, no esporulado, anaeróbico facultativo, agrupado en 5 serogrupos capsulares (A, B, D, E y F) y 16 serogrupos somáticos (1-16). El objetivo del presente trabajo fue caracterizar molecularmente una selección de aislamientos de *P. multocida* por medio de la técnica de multilocus-sequence-typing (MLST). Se evaluaron un total de 8 aislamientos identificados como PM1, PM5, PM7, PM8, PM10, PM11, PM17 y PM19, que fueron obtenidos de parvadas comerciales con signología clínica, hallazgos macroscópicos y bacteriológicos compatibles con CA. Para ello, se realizó una extracción de ADN genómico de cada una de las cepas aisladas. Posteriormente, 7 genes constitutivos de rutas enzimáticas (*adk*, *aroA*, *deoD*, *g6pd*, *gdhA*, *mdh* y *pgi*) fueron amplificados por PCR y secuenciados, de acuerdo al protocolo sugerido para *P. multocida* ([https://pubmlst.org/pmultocida/multihost/Pmultocida\\_MLST\\_Protocols.pdf](https://pubmlst.org/pmultocida/multihost/Pmultocida_MLST_Protocols.pdf)).

Los resultados de la secuenciación demostraron la presencia de nuevos alelos para cada uno de los siete loci estudiados, numerados e identificados como 32 y 33 (*adk*), 33 y 43 (*aroA*), 28 (*deoD*), 30 y 31 (*g6pd*), 30 y 31 (*gdhA*), 26 y 27 (*mdh*) y 39 (*pgi*). Del mismo modo, en nuestro estudio también se encontraron nuevas combinaciones de alelos, denominadas secuencias tipo (ST) e identificados como ST:78 (PM8), ST:79

(PM19) y ST:102 (PM11). Otros aislamientos, tales como PM1, PM7 y PM17, mostraron una coincidencia exacta con el ST:11, cuya combinación de alelos fue previamente reportado por otros investigadores en 35 ocasiones, en diferentes hospedadores (cerdos y conejos) y países (Reino Unido, España y Portugal). Por su parte, PM5 mostró una combinación de alelos correspondiente con el ST:33 que fue únicamente encontrado en un caso previo de septicemia aviar en el Reino Unido, mientras que PM10, se correspondió con el ST:10, que fue reportado por primera vez en aves comerciales en todo el mundo. En conclusión, el MLST es un método molecular capaz de proveer información sobre la evolución bacteriana y la epidemiología local o global de enfermedades bacterianas. El presente estudio identificó por primera vez a ST:10 y ST:11 en aves comerciales, que únicamente habían sido reportados en cerdos y conejos en Europa. Este hallazgo permite considerar a los conejos como nuevo potencial reservorio de *P. multocida* patógena para parvadas comerciales. Se reveló la estrecha relación entre aislamientos de *P. multocida* de aves comerciales en Argentina con otros aislamientos obtenidos de mamíferos clarificando la asociación de ambos tipos de hospedadores afectados por dicha bacteria.

Se considera que futuras investigaciones son necesarias para continuar con la caracterización molecular de *P. multocida* en parvadas de aves comerciales en Argentina a fin de establecer posibles estrategias de control regional y la posible erradicación de la enfermedad.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Patología de Aves y Pilíferos, La Plata, Pcia. Bs. As. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, CCT La Plata), La Plata, Pcia. Bs. As. <sup>3</sup>Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Virología. <sup>4</sup>Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Farmacología. \*danielgornatti@fcv.unlp.edu.ar / danielgornatti@gmail.com

# Actividad de la enzima Lisil-Oxidasa en el miocardio de bovinos con deficiencia secundaria de cobre.

GRECCO, A<sup>1</sup>; POSTMA, GC<sup>1</sup>; NICASTRO, C<sup>1</sup>; VALDEZ, LB<sup>2</sup>; RUKAVINA-MIKUSIC, IA<sup>2</sup>; SCHAPIRA, A<sup>1</sup>; MINATEL, L<sup>1</sup>.

La deficiencia de cobre (Cu) es una enfermedad que afecta a los rumiantes de prácticamente todas las zonas productivas de la Argentina. La carencia de este elemento en la dieta o la interferencia con otros elementos de la misma, como azufre (S) y molibdeno (Mo), ocasionan una deficiencia primaria o secundaria de Cu, respectivamente. Los signos clínicos de la enfermedad derivan de la importancia que tiene el Cu como cofactor de numerosas enzimas, entre ellas la lisil oxidasa (LOX), responsable del entrecruzamiento entre moléculas de elastina y colágeno. Un mayor depósito de tejido conectivo y un aumento en el espesor de las membranas basales del miocardio de bovinos con deficiencia de Cu fueron reportados por nuestro grupo de investigación y podrían sugerir una alteración en dicha enzima. El objetivo fue comprobar si el músculo cardíaco de bovinos con deficiencia de cobre inducida experimentalmente presentaba una alteración en la actividad de la enzima LOX. Para ello se utilizaron 18 muestras de miocardio obtenidas a partir de dos ensayos experimentales similares realizados en la Cátedra de Patología (FCV, UBA), el primero integrado por 10 bovinos Holando Argentino y el segundo por 8. En ambos ensayos se dividió a los animales en dos grupos (control y deficiente) según el peso y los niveles de Cu plasmáticos y hepáticos. El grupo control recibió una dieta con suficiente aporte de Cu, mientras que el grupo deficiente recibió una dieta con niveles elevados de Mo y S, desarrollando una deficiencia de Cu secundaria. Al momento de la eutanasia, los animales pertenecientes al grupo deficiente tenían  $23,7 \pm 6,2$  µg/dl de Cu plasmático y  $6,3 \pm 1,1$  µg/g MS de Cu hepático, mientras que los del grupo control tenían  $67,9 \pm 13$  µg/dl y  $182,6 \pm 71,1$  µg/g MS, respectivamente. Las muestras de miocardio del ventrículo derecho fueron congeladas en

nitrógeno líquido y luego conservadas en freezer a  $-70^{\circ}\text{C}$ . La medición de la actividad enzimática de LOX fue realizada utilizando un kit comercial (Amplite™ Fluorimetric Lysyl Oxidase Assay Kit, AAT Bioquest®, Inc.), según indicaciones del fabricante. Como control positivo, y con el fin de estimar la concentración de LOX “activa”, se utilizó LOX humana recombinante (Recombinant Human Lysyl Oxidase Homolog 2/LOCL2, R&D SYSTEMS). Para la lectura de las placas de fluorescencia se utilizó un lector Varioskan™ LUX a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 40 minutos. Cada muestra se midió por triplicado. El contenido de proteínas de cada muestra se determinó por el método de Lowry. Para el análisis estadístico se utilizó un test t de Student, con una confianza del 95%. El programa estadístico usado fue el Statistix 8.0. La concentración de LOX activa (estimada a partir de su actividad) en los animales del grupo deficiente fue de  $0,97 \pm 0,29$  µg LOX/mg proteína, mientras que en los animales del grupo control fue de  $1,56 \pm 0,60$  µg LOX/mg proteína, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,03$ ). La disminución en la actividad de LOX en los animales con deficiencia de Cu podría impedir una adecuada remodelación de la matriz extracelular (MEC), aunque el tiempo de deficiencia transcurrido en los ensayos no fue suficiente para permitir que dichas alteraciones se manifiesten clínicamente. En roedores, la disminución de la actividad de LOX en los animales con deficiencia crónica de Cu culminó en alteraciones en la integridad del tejido conectivo, que resulta en un incremento en la cantidad de colágeno soluble. Se continuará con otros estudios acerca de la cuantificación del colágeno, sus subtipos y otros componentes relevantes de la MEC en el corazón de bovinos con deficiencia de Cu.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Patología <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Físicoquímica. Junín 956, (C1113AAD), Ciudad Autónoma de Buenos Aires. gpostma@fvvet.uba.ar

# Evaluación física, histológica, endocrina y esteriogénica de la administración postnatal de esteroides sexuales en gatos machos

GRISOLIA ROMERO, M<sup>1,3</sup>; FAYA, M<sup>2,3</sup>; MARCHETTI, C<sup>1,3</sup>; LOPEZ MERLO, M<sup>1,3</sup>; D'FRANCISCO, F<sup>1,3</sup>; PRIOTTO, M<sup>2</sup>; ZURBRIGGEN, G<sup>2</sup>; GARCÍA, P<sup>1</sup>; GOBELLO, C<sup>1,3</sup>.

El gato doméstico es extremadamente prolífico en la reproducción y su sobrepoblación es un grave problema a nivel mundial. La búsqueda de alternativas prácticas, de bajo costo, efectivas y seguras a la castración no quirúrgica es prioridad de criadores de gatos, dueños de mascotas y aquellos involucrados en el manejo de gatos silvestres. Para probar la hipótesis de que los esteroides sexuales administrados en el período postnatal inducen a un deterioro de la función reproductiva del gato doméstico macho, en este estudio se describen los efectos de dos esteroides sexuales de una dosis única, suprafisiológica en felinos domésticos machos. Secundariamente, fue evaluada la seguridad clínica de ambos protocolos farmacológicos. Para ello, veinte gatos machos recién nacidos fueron asignados aleatoriamente, dentro de las 24 horas de vida, a uno de tres grupos: enantato de testosterona 12,5mg sc (TE; n=8), acetato de medroxiprogesterona 10mg sc (MA; n=6) o placebo sc (PLA; n=6). Los animales fueron controlados física y endocrinológicamente en forma seriada hasta la pubertad y luego fueron gonadectomizados y dados en adopción responsable. Los testículos fueron evaluados histológicamente como así también en su función esteriogénica a través de la medición de la expresión de ARNm para las enzimas, StAR, CYP17A1 y CYP19A1 y la cuantificación de receptores androgénicos. Las edades a la pubertad entre los grupos de gatitos fueron similares ( $P > 0,05$ ). Dos gatos MA presentaron

criptorquidismo abdominal y retraso en el descenso testicular respectivamente. En las primeras 4 semanas postnatales, los valores de testosterona fueron altas, basales e intermedias en los grupos TE, MA y PLA, respectivamente ( $P < 0,05$ ). Esta diferencia, fue disminuyendo progresivamente y la concentración de testosterona fue basal en los tres grupos desde la séptima semana ( $P > 0,05$ ). La evaluación histológica mostró una disminución del diámetro tubular ( $P < 0,01$ ) y de la altura de los túbulos seminíferos ( $P < 0,01$ ) en el grupo MA no así en el grupo TE. El área nuclear de las células de Leydig también se vio disminuida en ese grupo. Además, la relación túbulo/intersticio fue mayor en los animales del grupo TE ( $P < 0,01$ ). El análisis cuantitativo en tiempo real por PCR de la expresión del ARNm del tejido testicular no reveló diferencias significativas entre los grupos para StAR, CYP17A1 como tampoco para los receptores androgénicos ( $P > 0,05$ ). La expresión de ARNm para CYP19A1 se vio disminuida en animales TE ( $P < 0,05$ ). Se concluyó que el progestágeno postnatal suprimió inicialmente el eje gonadal y causó un deterioro en la espermatogénesis y en el descenso testicular a la pubertad. El tratamiento con andrógeno causó una retroalimentación negativa al final de la cascada esteriogénica. Son necesarios un seguimiento a largo plazo y pruebas de fertilidad *in vivo* antes que estos protocolos con esteroides puedan ser ampliamente usados en la práctica contraceptiva de esta especie.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>2</sup>Universidad Católica de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. <sup>3</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina.

# Optimización del diagnóstico molecular de leptospirosis animal: un método único de extracción y purificación de ADN

HAMER, M<sup>1</sup>; SARAULLO, V<sup>1,2</sup>; BRIHUEGA, B<sup>1</sup>; WATANABE, O<sup>1</sup>; MARTINEZ, M<sup>1</sup>; GRUNE LOFFLER, S<sup>1,2</sup>.

La leptospirosis bovina es una importante enfermedad infecto-contagiosa que causa pérdidas económicas debido a que produce abortos, natimortos, nacimiento de crías débiles, infertilidad, mastitis y agalactia. Por otro lado, los animales infectados de forma crónica actúan como reservorios, liberando por orina leptospiras que contaminan las fuentes de agua, colaborando en la diseminación de la enfermedad. El método *gold-standard* para su diagnóstico es el Test de Micro Aglutinación (MAT) que se basa en la detección y titulación de anticuerpos al enfrentar el suero a cepas referenciales de leptospiras patógenas vivas. Esta es una técnica laboriosa que requiere mantener un cepario continuo y ser realizada por personal altamente calificado. Otra desventaja es el requerimiento de una segunda muestra para analizar la seroconversión a los quince días. La PCR, técnica versátil en cuanto a sus diseños y a las muestras que se pueden emplear, ha permitido el desarrollo de protocolos de diagnóstico para diversos patógenos, entre ellos, las leptospiras. Sin embargo, en la actualidad, no existe un método único de extracción y purificación del ADN para leptospiras patógenas a partir de muestras clínicas. El objetivo de este trabajo fue comparar tres métodos de extracción de ADN en un ensayo controlado con orina bovina. Se utilizó orina bovina contaminada artificialmente con cultivo puro de *L. interrogans* serovar Pomona Pomona en diluciones seriadas, tomando como control negativo la orina sin contaminar y como control

positivo, la cepa. Los métodos de extracción empleados fueron: 1) hervido de la muestra (protocolo casero), 2) papel FTA Whatman (GE Healthcare Life Sciences) y 3) resina Chelex-100 (BioRad). El método con mayor sensibilidad al someter el ADN a la PCR de diagnóstico fue la resina Chelex, detectándose hasta  $2.10^3$  leptospiras/mL. La metodología molecular aquí planteada resultó tener buen rendimiento para la detección de leptospiras. Es importante contextualizar el resultado de la PCR para una interpretación adecuada. Es decir, frente a un resultado negativo es necesario considerar desde alteraciones en la conservación de la muestra hasta el hecho de que es posible detectar la bacteria en sangre sólo en los estadios agudos de la infección, ya que luego ésta se aloja en los riñones, momento a partir del cual, se puede detectar las leptospiras en orina. Sin embargo, su eliminación es intermitente siendo necesaria la administración de diuréticos para una mayor eliminación de la bacteria. Es por esta razón que para confirmar un caso de leptospirosis se deben contar con resultados positivos con dos métodos de diagnóstico diferentes por lo menos. El uso de la resina Chelex en este tipo de muestra (orina bovina) obtuvo mejores resultados de sensibilidad de extracción de ADN comparado con los otros dos métodos al someterlo a PCR, siendo necesario estudiar su aplicación a una mayor cantidad y tipo de muestras clínicas animales, como también su uso en distintos estadios de esta enfermedad zoonótica.

<sup>1</sup>Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Nicolás Repetto y de los Reseros s/n (1686), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Godoy Cruz 2290, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina.

# Influencia ambiental sobre los hábitos alimentarios del lobo marino de un pelo sudamericano *Otaria byronia* en Promontorio Belén (Río Negro-Argentina).

HARRINGTON, A<sup>1</sup>, DANERI GA<sup>2</sup>, VOLPEDO A<sup>1</sup>.

El estudio dietario en predadores tope resulta de primordial importancia para interpretar su rol ecológico en las redes tróficas del ecosistema marino. Las fluctuaciones oceanográficas y los cambios en la productividad del océano afectan directamente a la abundancia y distribución de las especies presa, que a su vez afectan al estado de la población de sus predadores. Una mejor comprensión de esta relación predador-presa permitiría: **a.** utilizar a los predadores como indicadores de cambios en el ambiente marino. **b.** evaluar las consecuencias de la pesca en su comportamiento trófico y estado poblacional. **c.** establecer si existe competencia potencial o real entre éstos y las pesquerías comerciales en la utilización de los recursos marinos. Los lobos marinos pueden ser buenos indicadores de los cambios relativos a nivel espacial y temporal en la distribución y abundancia de los recursos marinos. La información disponible sobre la dieta de *Otaria byronia* sugieren un comportamiento trófico generalista y oportunístico constituyendo los peces, cefalópodos y crustáceos las taxa presa más comunes. En este contexto se desarrolla el trabajo de tesis doctoral el cual propone evaluar la influencia ambiental sobre los hábitos y estrategias de alimentación del lobo marino de un pelo *O. byronia* (Carnívora, Otariidae), y evaluar su rol como predador tope en el ecosistema marino Patagónico. Para ello se realizaron muestreos consistentes en colecta de fecas, vibrisas, sangre y pelaje

durante la época estival (febrero/marzo) durante 7 años consecutivos (2012-2018) y la primavera tardía del 2011, 2012 y 2017 en el apostadero de Promontorio Belén (41° 09'S; 63° 48'W), Golfo San Matías. Las muestras obtenidas serán procesadas en el laboratorio y los remanentes presa hallados serán identificados mediante lupa binocular y material bibliográfico apropiado hasta el menor nivel taxonómico posible. Las muestras de pelaje, sangre y vibrisas serán enviadas a laboratorios especializados en análisis isotópicos. Los resultados obtenidos aportarán conocimientos sobre el hábito trófico del lobo marino de un pelo y su variación temporal (estacional e interanual) en Promontorio Belén, constituyendo así el primer estudio de este tipo en dicho apostadero, segundo en tamaño poblacional de la Pcia de Río Negro. Asimismo, permitirá generar información biológica de base que permitirá proponer recomendaciones a las autoridades de aplicación correspondientes respecto al manejo y conservación de este pinnipedio en las costas de dicha provincia. Por otro lado, se evaluará la posible correlación entre la variación temporal en la dieta y los cambios oceanográficos y climáticos registrados en esa zona durante el período de estudio. Por último, se evaluará a través de la morfometría y microquímica de los otolitos identificados el potencial stock pesquero al que pertenecen las presas, comparando con estudios de stocks realizados en el Mar Argentino.

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA –UBA-CONICET), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>División Mastozoología - Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” (MACN-CONICET), Buenos Aires, Argentina.

# Separación inmunomagnética para la mejora del diagnóstico de paratuberculosis por técnicas moleculares en materia fecal

HERMIDA, HS; COLAVECCHIA, S; MUNDO, S.

La paratuberculosis o enfermedad de Johne es producida por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Su importancia radica en las pérdidas económicas que ocasiona en la producción de ganado bovino. Los terneros se infectan a través de la leche o por alimentarse en campos contaminados con materia fecal. La OIE considera como gold standard a la identificación de la bacteria por cultivo de materia fecal junto con la confirmación por reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) de las colonias, lo cual requiere 4 a 6 meses. La PCR directa de materia fecal es compleja debido a la presencia de inhibidores de la reacción enzimática. Para superar este obstáculo, es posible utilizar partículas magnéticas conjugadas a ligandos específicos (anticuerpos o péptidos) para realizar la captura de MAP desde muestras biológicas. El objetivo fue mejorar la identificación de MAP en materia fecal por PCR mediante la técnica de separación inmunomagnética (IMS) para evitar los inhibidores de la reacción. Se utilizó un anticuerpo policlonal específico a la cepa ATCC 19698 de MAP producido en ratón. Se realizó la conjugación del anticuerpo a las partículas magnéticas (IMB anti-MAP) y se evaluó su capacidad de captura de MAP por citometría de flujo analizando las variables tamaño celular (FSC) y complejidad interna (SSC). Se evaluaron 5000 eventos luego de la incubación y separación de las IMB anti-MAP en una muestra de  $10^6$  bacterias/mL, utilizando MAP y partículas magnéticas como

controles. Se eligió a la mediana (Me) como criterio estadístico. En paralelo se realizó la optimización de la PCR para la secuencia específica IS900 y se ajustaron las condiciones de la reacción mediante titulación de ADN de MAP. Finalmente se evaluó el sistema IMS-PCR mediante la contaminación artificial de materia fecal (negativa a cultivo) con diluciones desde  $10^6$  hasta 10 bacterias/mL. Del análisis de los resultados obtenidos por citometría se observó 43,04% ( $Me_{FSC}=1117,08$ ) de eventos compatibles a los obtenidos para el control de MAP ( $Me_{FSC}=864,78$ ) y 41,88% ( $Me_{FSC}=23811,03$ ) a los obtenidos en el control de IMB anti-MAP ( $Me_{FSC}=23377,77$ ). Por otro lado, se observó un 6,72% ( $Me_{FSC}=101231,46$ ) de eventos no presentes en los controles, que podrían representar al complejo entre la IMB anti-MAP y la bacteria. Por otro lado, en la optimización de la PCR-IS900, se logró obtener un límite de detección de 125 pg de ADN. Finalmente, en la aplicación de IMS-PCR se observó el amplicón de 167 pb hasta la concentración de  $10^4$  bacterias/mL de muestras de materia fecal contaminadas con MAP. La técnica de IMS fue capaz de capturar MAP específicamente en muestras de materia fecal y superar la presencia de los inhibidores, sin embargo la eficiencia en la detección por PCR es baja. Debemos continuar en la búsqueda de mejorar el sistema para la detección de animales en estado subclínico, ya que estos niveles de excreción detectados son característicos del estado clínico de la infección.

# Un olor pre-expuesto en la etapa prenatal incrementa conductas de consumo en la etapa posnatal

IFRÁN, C<sup>1,2</sup>; SUÁREZ, A<sup>3</sup>; PAUTASSI, R<sup>3</sup>; KAMENETZKY, G<sup>1,2</sup>.

En la etapa prenatal las ratas reciben estímulos sensoriales provenientes de la alimentación materna. Evidencia previa muestra que dichas pre-exposiciones modulan las conductas de consumo durante el período post-natal. Durante los primeros días de vida las crías prefieren olores familiares, aun si están asociados a estímulos aversivos moderados. Sin embargo, se desconoce cómo la estimulación de olores pre-expuestos en la etapa prenatal afecta las primeras respuestas de consumo de soluciones amargas. El objetivo del presente estudio fue evaluar la interacción entre un olor (i.e., limón) aprendido en la etapa prenatal, sobre las primeras respuestas de ingesta de una solución aversiva (i.e., quinina), administrado mediante un pezón artificial. Para ello se utilizaron ratas Sprague-Dawley, machos y hembras, de 3 horas de vida. A la mitad de las madres se les administró una inyección intragástrica que de limón (grupo experimental) o agua (grupo control) en el día gestacional 21, luego de 1 hora se realizó una cesárea para extraer a las crías que fueron mantenidas en una incubadora durante 3 hs, hasta el momento del test. A las 3 hs de vida, las ratas fueron evaluadas con un pezón artificial que contenía quinina (sustancia amarga) en

presencia del olor a limón (pre-expuesto en el útero). Las sesiones fueron filmadas y las variables dependientes fueron el porcentaje de ganancia de peso  $[(\text{peso post} - \text{peso previo}) / \text{peso previo}] \times 100$ , la latencia hacia la primera respuesta de agarre al pezón artificial, el tiempo total de prensión al pezón, y la frecuencia de agarre y duración promedio de agarre (Tiempo total dividido la frecuencia). Una prueba T de student, a partir de las medidas obtenidas por la observaciones de los videos de dos evaluadores independientes, indicó que los animales que habían sido previamente expuestos a la esencia de limón, evaluados en presencia del mismo y con un pezón que contenía quinina mostraron un incremento significativo en el porcentaje de ganancia de peso, tiempo total de agarre al pezón, frecuencia y duración promedio de agarre y una disminución en el tiempo de latencia en contraste con el grupo control. Estos resultados sugieren que el olor pre-expuesto produjo un incremento en las respuestas de ingesta de una solución amarga. No existen investigaciones previas que consideren la interacción entre un sabor amargo y un olor pre-expuesto en la etapa pre-natal en ratas. Estos resultados constituyen la base para elaborar un modelo animal que explore los mecanismos de dicha interacción.

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Médicas A Lanari, IDIM-CONICET. Universidad de Buenos Aires, Combatientes de Malvinas 3150 (CP 1427). Buenos Aires. Argentina. <sup>2</sup>Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud (CAECIHS-UAI). Universidad Abierta Interamericana. Buenos Aires. Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Médicas M. y M. Ferreyra (INIMEC-CONICET-Universidad Nacional de Córdoba). Friuli 2434 (CP 5000), Córdoba, Argentina.

# Fitoesteroles modificados como tensioactivos para uso agropecuario

INOSTROZA GIARRATANA, JF<sup>1</sup>; GRASSI, DA<sup>1,2</sup>; OJEDA, CA<sup>1,2,3</sup>.

Las estructuras similares al colesterol tienen la propiedad de atravesar la cutícula cerosa de las malezas que afectan negativamente el rendimiento de los cultivos, permitiendo la vehiculización del principio activo que las elimina. Muchos de esos cultivos son utilizados como alimento para el ganado ya sea en forma directa o a través de los subproductos. En estudios previos hemos trabajado con las saponinas, pero su inconveniente a nivel industrial es la baja disponibilidad de las mismas. El objetivo fue modificar químicamente fitoesteroles, abundantes y fácilmente obtenibles, para que posean la estructura química buscada y puedan actuar como tensioactivos, ya que naturalmente carecen de esta propiedad. Se utilizó como fitoesterol al  $\beta$ -sitoesterol, adquirido como un producto comercial estandarizado. Se transformó químicamente el mismo mediante una oxidación en medio alcalino. Se utilizaron dos niveles de oxidación, uno bajo y otro alto. La efectividad tensioactiva de los productos logrados fue evaluada utilizando un estalagmómetro, con el cual se midió la tensión superficial ( $\gamma$ ). Graficando  $\gamma$  en función del logaritmo de la concentración de los productos obtenidos en % se obtuvo la concentración micelar crítica (CMC) en %, la  $\gamma$  en la misma ( $\gamma$ CMC) en mN/m y la concentración que reduce en 20 mN/m la  $\gamma$  del solvente puro, en este caso agua, expresada como  $pC_{20}$ . Los resultados fueron obtenidos a partir de tres determinaciones. Una con saponina y dos con  $\beta$ -sitoesterol modificado. Las modificaciones

químicas correspondieron a un tratamiento de alta y otro de baja oxidación. Las diferencias entre la saponina y los dos tratamientos aplicados al fitoesterol se evaluaron comparando la CMC,  $\gamma$ CMC y  $pC_{20}$  de cada uno, junto con sus incertezas. Los resultados de CMC,  $\gamma$ CMC y  $pC_{20}$  fueron los siguientes respectivamente. Productos obtenidos con un bajo nivel de oxidación,  $19,6 \pm 2,6$ ;  $57,2 \pm 4,1$ ;  $-1,511 \pm 0,056$ ; saponina,  $5,6 \pm 1,3$ ;  $50,8 \pm 0,1$ ;  $-0,416 \pm 0,566$  y para los productos obtenidos con un alto nivel de oxidación  $3,1 \pm 0,7$ ;  $48,1 \pm 4,2$ ;  $-0,294 \pm 0,503$ . Analizando los resultados puede observarse que no hay superposición de los valores determinados, aún incluyendo sus incertezas correspondientes para CMC y  $\gamma$ CMC. En el caso de  $pC_{20}$  los valores más altos de este parámetro son los deseables y analizando las incertezas sólo puede concluirse que el tratamiento de baja oxidación obtuvo el peor desempeño comparado contra la saponina y el tratamiento de alta oxidación. A partir del análisis de todos los parámetros puede concluirse que el nivel óptimo de oxidación es el alto, ya que los productos tensioactivos obtenidos, incluso superaron la CMC y  $\gamma$ CMC de la saponina en forma significativa, teniendo valores de  $pC_{20}$  parecidos si se toma en cuenta las incertezas. En base a los resultados puede concluirse que la elaboración de tensioactivos para uso agropecuario a partir de fitoesteroles naturales transformados químicamente es posible si el grado de oxidación es el adecuado.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas, Buenos Aires C1427CWO, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Buenos Aires C1427CWO, Argentina. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) - Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires C1427CWO, Argentina.

# Respuesta antiproliferativa de las células EGPE, provenientes de protoescólices de *Echinococcus granulosus* G1 y de los proglótidos terminales grávidos de la *Taenia hydatigena* a diferentes bisfosfonatos.

VALDEZ, AJ<sup>1</sup>; GERTISER, ML<sup>2</sup>; JENSEN, O<sup>2</sup>; ROLDÁN, EJA<sup>1</sup>; FUCHS, AG<sup>1</sup>.

Equinococosis quística (CE) es una zoonosis, provocada por el estadio larvario del *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus* s.l.). Su forma adulta se desarrolla en el intestino de los hospederos definitivos, y en ese estadio libera huevos embrionados que infectan al hospedero intermediario (animales ungulados) y al hombre en forma accidental. La oncosfera en el aparato digestivo del hospedero intermediario atraviesa la barrera intestinal y se implanta en hígado, pulmones o en cualquier otro órgano formando un quiste. Este consta de 3 capas, 2 propias del parásito y la externa formada por el tejido de reacción del hospedero. La membrana laminal, en contacto con el hospedero, ocasionalmente sufre un proceso calcificante, y la acumulación de calcio se correlaciona con la pérdida de viabilidad parasitaria. En el 2010 desarrollamos la línea celular proveniente de *E. granulosus* G1, EGPE, que forma colonias en agarosa y es un modelo para establecer actividad antiparasitaria in-vitro. Desde 2014 estudiamos el efecto de bisfosfonatos (BFs) sobre la viabilidad celular, y en 2019 su efecto sobre el calcio intracelular. El objetivo actual fue determinar cuáles BFs son más adecuados para el tratamiento antiparasitario ex-vivo sobre la oncosfera y el medio ambiente, comparando la actividad antiproliferativa de los mismos in-vitro y ex-vivo. Se evaluaron los BFs amino etidronato (EHDP, nitrogenado, antiresortivo), risedronato (RIS, nitrogenado, antiresortivo) y lidadronato (LID, nitrogenado

no antiresortivo) en el modelo de EGPE (n=3 wells); y ex-vivo los BFs ácido zolendrónico (AcZol), Ibandronato (IB) y Olpadronato (OPD), todos nitrogenados antiresortivos de diferente potencia y solubilidad (Gador SA, Bs As) (n=3 muestras). Los ensayos in-vitro se realizaron a 30  $\mu$ M de BFs, incubados 5 días, y ex-vivo se los utilizó al 2,5% en materia fecal de perros infectados experimentalmente con *Tenia hydatigena* (TH), incubados por 3 días. Controles in-vitro y ex-vivo fueron incubados con el excipiente (Exp) y control sin tratamiento (Con). Se evaluó el número, densidad y tamaño de las colonias obtenidas, y de las oncosferas su viabilidad por el test de inactivación de la oncosfera, cantidad de huevos en formación y maduros en los proglótidos, histología hematoxilina eosina, y calcio por Von Kosak. El análisis estadístico se realizó con Graph Pad Prism: el  $\chi^2$ , Kruskal Wallis y Dunn's. La cantidad, tamaño y celularidad de las colonias de EGPE disminuyeron con el tratamiento de HEDP (n=64 colonias) y RIS (n= 60); Exp y Con (n=65). Ex-vivo, sobre la TH, el AcZol y el OPD disminuyeron ~20% la viabilidad (p<0,05) y disminuyeron la cantidad de huevos maduros e inmaduros aumentando el depósito de calcio embrionario (p<0,05). Los BFs heterocíclicos tendrían mayor actividad antiparasitaria (RIS y AcZol) que el OLP, LID e IB. El HEDP posee mejor efecto in-vitro pero no se ha probado su efecto ex-vivo todavía.

<sup>1</sup>Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud (CAEHCS), Universidad Abierta Interamericana (UAI), Buenos Aires.

<sup>2</sup>Centro de Investigación de Zoonosis, Provincia de Chubut. AJV y MLG contribuyeron en igual medida. AJV es maestranda de UAI y MLG es becaria "Abraam Sonis". al.juva13@gmail.com

# Exploración ecoanatómica y valoración de funcionalidad dinámica en luxación rotuliana congénita en caninos por ultrasonografía

Jurado, A<sup>1</sup>; Mercado, M<sup>1</sup>; Corral, J<sup>2</sup>; Bosco, A<sup>2</sup>; Gándara, E<sup>1</sup>; Pallares, C<sup>1</sup>.

La articulación femorotibiorrotuliana es una de las articulaciones de tipo bisagra más complejas del sistema musculoesquelético, la mayoría de las luxaciones patelares de grado IV son congénitas. El diagnóstico tardío de una afección en este sistema puede favorecer la aparición de complicaciones afectando la biomecánica general y por consiguiente determina el interés permanente por desarrollar métodos diagnósticos y de tratamiento adecuados. Las imágenes radiológicas son estáticas y la ventaja de la ecografía musculoesquelética es la observación dinámica funcional de los componentes articulares en tiempo real. El objetivo de este trabajo fue valorar las posibilidades de la ecografía como método diagnóstico y control evolutivo de las alteraciones en las estructuras de la rodilla en caninos con luxación rotuliana congénita. En la Unidad de Fisioterapia del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires se realizó el seguimiento ecográfico de 15 pacientes caninos, en ambas rodillas, una postquirúrgica y la contralateral prequirúrgica. Los ángulos articulares fueron medidos con goniometría. Para realizar ultrasonografía de los pacientes caninos se utilizó un ecógrafo, marca CHISON con transductor lineal de 7,5-10 MHz. Se procedió a la exploración ecoanatómica y la

valoración de funcionalidad dinámica articular para monitorear la evolución clínica. Se realizaron estudios estáticos y dinámicos para establecer patrones de normalidad, detectar alteraciones de las estructuras y la determinación del mal alineamiento del mecanismo extensor. En todos los pacientes la rótula se observó fuera de su posición anatómica normal, luxada hacia medial de la tróclea femoral y las alteraciones de los ejes óseos en el miembro no intervenido quirúrgicamente. Al analizar el alineamiento del mecanismo extensor de la rodilla en el miembro intervenido quirúrgicamente se observó menor formación de adherencias fibrosas y en la valoración dinámica un sincronismo en los movimientos de los pacientes evaluados. En uno de los pacientes se realizó tomografía computada multi sílice femorotibiorrotuliana obteniéndose imágenes en reproceso 3D, pudiendo certificar la coincidencia con lo observado en los estudios ecográficos. En este grupo de caninos la ecografía resultó una herramienta útil para diagnóstico y control evolutivo de luxación congénita ya que se pudo identificar ecográficamente la relación de congruencia patelofemoral y los grados de lateralización de la rótula durante la contracción y relajación de los músculos extensores de la rodilla.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales, Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Unidad de Cirugía.

# Caracterización de felinos seropositivos y seronegativos a toxoplasmosis a partir de la información de sus historias clínicas. Hospital Escuela de la FCV UBA. 2019

KALBARCZYK, N; LOIZA, Y, SIERRA, MF; LOPEZ, C.

La toxoplasmosis es una enfermedad zoonótica causada por *Toxoplasma gondii*. En los gatos, hospedadores definitivos, se desarrollan dos fases: intestinal y sistémica. Ambas suelen presentarse generalmente como asintomáticas. Sin embargo, se han comunicado manifestaciones clínicas generalizadas, intestinales, encefálicas y oculares, particularmente en gatos jóvenes. Enfermedades que depriman el sistema inmune o la administración de drogas inmunosupresoras pueden activar la toxoplasmosis en felinos. La detección de anticuerpos anti *T. gondii* en el suero es la metodología utilizada para la confirmación del diagnóstico de esta enfermedad. El método de referencia es la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) la que proporciona información semicuantitativa a través de la detección y determinación del título de anticuerpos anti-*T. gondii* tipo IgG presentes en el suero del paciente. Las historias clínicas (HC) representan una fuente de información secundaria en la cual se registran datos referidos a la actividad clínica. Los datos obtenidos luego de recolectados, procesados y analizados nos permiten caracterizar a la población e investigar los determinantes de la problemática salud-enfermedad. El objetivo de este trabajo fue caracterizar a la población de felinos seropositivos y seronegativos a toxoplasmosis que demandaron atención médica al Hospital Escuela FCV-UBA en el periodo 2014-2017 a partir de la información obtenida de sus HC. Se identificaron las HC de los felinos atendidos en el Hospital Escuela FCV-UBA que presentaron

sintomatología compatible con toxoplasmosis y solicitaron diagnóstico por IFI al Laboratorio de la Cátedra de Salud Pública FCV-UBA entre junio del 2014 y agosto del 2017. De las HC se recolectaron variables descriptivas que permitieran caracterizar a la población en estudio. Los resultados diagnósticos se obtuvieron de los registros del Laboratorio de Salud Pública FCV-UBA. Las variables recolectadas fueron registradas y almacenadas en una base de datos, se utilizó el programa Epiinfo 3.5.4 para analizar la información. Se analizaron 58 HC. El 67.9% de los felinos asistieron entre 1 y 5 veces a consulta. La mayor demanda de diagnóstico fue en otoño y primavera, registrándose el mayor porcentaje en los meses de mayo y septiembre (16,4% en cada uno). El 70% de los felinos residía en CABA. El 43% de las muestras fueron positivas. El 89% eran común europeo, 54% hembras y 46% machos. El 87% de los felinos tenía conducta alerta, el resto mostró variable depresión, pero ninguno manifestó agresividad. El 60% de los felinos positivos tuvieron diagnóstico presuntivo de enfermedad viral inmunosupresora. El 47% de los felinos habían concurrido a consulta por motivos neurológicos. Trabajar con registros electrónicos de información como son las HC del hospital escuela nos permitió estudiar a la toxoplasmosis y las enfermedades asociadas a ella, caracterizar a la población que demandó atención en el hospital escuela a la que se le solicitó diagnóstico toxoplasmosis, y también abrir caminos para futuras líneas de investigación.

## ***Miastenia Gravis* Adquirida en caninos asociada a síndrome paraneoplásico neurológico: reporte de un caso.**

KIM, A<sup>2</sup>; VITALE, V<sup>4</sup>; MUNDO, S<sup>2</sup>; DUCHENE, A<sup>3</sup>; MONTORO, A<sup>4</sup>; MARINA, L<sup>1,5</sup>; GARRO, F<sup>5</sup>; MAINETI, V<sup>3</sup>; SURANITI, A<sup>1,5</sup>.

Los síndromes paraneoplásicos son diferentes conjuntos de síntomas, probablemente debido a la producción de sustancias tumorales con efectos perjudiciales en sistemas u órganos distantes e independientes de las manifestaciones directas de un tumor maligno o sus metástasis. Uno de los ejemplos conocidos en medicina veterinaria es la *Miastenia Gravis Adquirida* (MGA), enfermedad inmunomediada que puede cursar con debilidad muscular debido a la interferencia en la transmisión neuromuscular ocasionada por reducción en el número de colinorreceptores nicotínicos de la acetilcolina por la presencia de anticuerpos bloqueantes (ACRA). El objetivo fue describir la presentación de un caso clínico de MGA como síndrome paraneoplásico neurológico en relación a una neoplasia maligna en un canino. Se analizó en el Hospital Escuela el caso de un paciente canino hembra, Bóxer Americano, de 9 años, que presentaba debilidad generalizada, anorexia y tos de manera progresiva. Estos signos comenzaron 6 meses antes de la aparición de una neoplasia localizada en miembro posterior izquierdo de 3 cm de diámetro. Se realizó la ablación de la misma, dando como resultado mastocitoma grado II. Se revisó clínicamente y se solicitaron estudios complementarios como hemograma, bioquímica sanguínea, perfil tiroideo (T4 y TSH), radiografías LL Y VD de tórax, ecografía abdominal y electromiografía de estimulación

repetitiva. El paciente mostró leucocitosis y un incremento en la FAS 553 UI (valor de referencia hasta 300 UI/L). El perfil tiroideo se encontró dentro de los valores normales. Las radiografías mostraron megaesófago generalizado y neumonía por aspiración. La ecografía abdominal no reveló alteraciones morfológicas de relevancia. Los hallazgos electromiográficos observados señalaron la disminución de la amplitud de potenciales de la unidad motora del segundo a cuarto potencial (compatible con *MG*). En este caso, no se evaluaron los valores ACRA en suero debido al tratamiento previo de 20 días con corticoides que podrían arrojar falsos negativos. En medicina humana y veterinaria, los carcinomas mamarios, timomas o linfomas pueden causar *MGA* como síndrome paraneoplásico neurológico en caninos. Si bien se plantea la existencia de anticuerpos onconeurales que sugieren que sean la causa del trastorno inmunomediado, en medicina veterinaria no hay reportes al respecto y debido al alto costo, no se realizan en el país en laboratorios veterinarios. En este caso, este es el primer reporte en un canino con *MGA* en relación a un mastocitoma. Debido a la gravedad de los signos clínicos de este paciente debió implementarse la terapia combinada de Bromuro de piridostigmina, prednisolona y amoxicilina-clavulánico como también el tratamiento oncológico correspondiente.

<sup>1</sup>Cátedra de Clínica. <sup>2</sup>Cátedra de Patología. <sup>3</sup>Unidad de Histopatología. <sup>4</sup>Servicio de Cirugía. <sup>5</sup>Unidad de Neurología. Hospital Escuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. Chorroarín 280, Buenos Aires. akim@fvet.uba.ar/veruvitale@yahoo.com.ar

# Ajuste en la medición de la emisión de óxido nitroso durante el compostaje de barros cloacales

KUCHER, H<sup>1,2</sup>; COSENTINO, V<sup>3</sup>; LUPI, A<sup>3</sup>, ROMANIUK, R<sup>3</sup>.

El compostaje de barros cloacales conlleva la producción de óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), un gas de efecto invernadero 265 veces más potente que el CO<sub>2</sub>. Este gas es producido principalmente por el proceso microbiano de desnitrificación, el cual se relaciona directamente con las variaciones en humedad y temperatura que ocurren durante el compostaje. El objetivo de este trabajo fue determinar el intervalo de tiempo óptimo para la determinación de la emisión de N<sub>2</sub>O en una pila de compostaje de barros cloacales. El compostaje se realizó dentro de un galpón cerrado con extractores de aire. Se utilizó chip de poda como material estructurante en una relación barros cloacales y chip de poda de 1:1,5 V/V. Durante la etapa “termófila” del proceso se colocaron aleatoriamente 6 cámaras estáticas en la pila. Una vez cerradas las cámaras, las muestras de gases fueron tomadas con jeringas a los 0, 5, 10, 20 y 40 minutos para luego ser trasvasadas a viales de 10 ml mediante el uso de una bomba de vacío manual. Se midió el N<sub>2</sub>O por cromatografía gaseosa. El flujo de gas en cada cámara se calculó como el aumento de la concentración de N<sub>2</sub>O en el tiempo, considerando tres combinaciones de tiempo

diferentes: 0, 5 y 10 minutos; 0, 10 y 20 minutos; y 0, 20 y 40 minutos. La precisión de este valor se incrementa mientras mayor sea el ajuste de una función lineal, lo cual se puede verificar por la comparación del R<sup>2</sup>. El ajuste realizado con 0, 5 y 10 minutos obtuvo el mayor R<sup>2</sup> promedio de las 6 cámaras, alcanzando un valor de 0,930,08, seguido por el ajuste de los tiempos 0, 20 y 40 (R<sup>2</sup> = 0,850,12) y finalmente 0, 10 y 20 (R<sup>2</sup> = 0,820,26). Utilizando los tiempos 0, 5 y 10 minutos se estimó una tasa de emisión promedio de las 6 cámaras de 7086 µgN-N<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> hora<sup>-1</sup>, un valor por lo menos 20 veces mayor que los medidos en suelos agrícolas-forestales. En conclusión, la elevada emisión de N<sub>2</sub>O desde la pila de compostaje hace que las cámaras saturen rápidamente, debiéndose minimizar los intervalos de tiempo entre muestras para su cálculo. Esto a su vez aumenta la exactitud del valor obtenido, ya que a menores intervalos se reduce el error. Las diferencias en emisiones entre suelos y barros cloacales en proceso de compostaje explicarían que los tiempos de medida en estos últimos se vean sustancialmente reducidos en comparación a determinaciones realizadas en suelos.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. Cátedra de Química Inorgánica y Analítica. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Agua y Saneamientos Argentinos. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Instituto de Suelos CIRN. Buenos Aires, Argentina. hkucher@agro.uba.ar

# Evaluación de la condición nutricional en hembras de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* expuestas a distintos alimentos de producción nacional

LAMBERTI, M; REBAGLIATI CID, A; TIMPANARO, S; STUMPF, L; LÓPEZ GRECO, L.

*Cherax quadricarinatus* es una especie de crustáceo decápodo con buen potencial para la diversificación de cultivos en Argentina. Sin embargo desde hace 11 años no hay registros de su producción en el país dado el elevado costo de los alimentos debido principalmente al uso de ingredientes de origen animal como la harina de pescado. Es por ello necesario encontrar ingredientes que sean económicamente viables y nutricionalmente eficientes para formular una dieta de calidad y fomentar el cultivo de estos crustáceos en el país. En este contexto, es importante estudiar el impacto de dietas alternativas sobre la condición nutricional de los progenitores, para garantizar una *performance* reproductiva óptima y una progenie de alta calidad. Para ello, la evaluación de distintos índices corporales aporta una información indirecta sobre la nutrición de los progenitores. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los siguientes índices somáticos: índice de Fulton (K), índice hepatosomático (IH) e índice del pleon (IP) en hembras de *C. quadricarinatus* alimentadas con dos dietas de producción nacional (CENADAC, Corrientes) como alternativa a una dieta de excelencia nutricional pero altamente costosa. Las tres dietas ensayadas fueron: Tetra (TE, control), Con ensilado (CE) y Sin ensilado (SE). En cuanto a su valor nutricional, TE fue la más proteica con un 48% respecto de CE (44%) y SE (38%) y TE fue la menos lipídica con un 9%, respecto de CE (13,5%) y SE (11,5%). En cuanto a la composición de ácidos grasos, TE presentó un perfil más diverso (24 clases) mientras que CE

y SE presentaron las mismas 7 clases de ácidos grasos. Para cada dieta se utilizaron 16 hembras pre-adultas con una masa corporal inicial de  $(7,0 \pm 1,0)$ g que fueron individualizadas en cubas plásticas (2,5L) con un tubo de PVC (10cm x 4,5cm de diámetro) como refugio. Se mantuvieron con aireación constante y a una temperatura controlada de  $(27 \pm 1)^{\circ}\text{C}$  realizando un recambio total del agua dos veces por semana. Fueron alimentadas diariamente al 1,5% en promedio de su masa corporal. El ensayo fue de tipo crónico y finalizó una vez alcanzada la tercera muda, estableciendo un tiempo de aproximadamente 15 días de postmuda para el sacrificio de los individuos. Se midió el largo y la masa corporal final, y se extrajeron el hepatopáncreas y el pleon, registrando su masa para el cálculo de los índices somáticos que fueron evaluados mediante ANOVA de un factor. El índice K fue significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en los juveniles de TE (2,6%) respecto de CE (2,3%), mientras que en SE (2,5%) fue similar a ambos. El IH resultó significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en los juveniles de CE (6,5%) respecto de TE (5,9%), mientras que en SE tuvo un valor de 5,4% que fue similar a ambos. A su vez, el IP no fue significativamente diferente entre las dietas (29,9% en promedio). Estos primeros resultados estarían indicando que hay un impacto nutricional, aunque leve, de la dieta CE pero no de la dieta SE, que será corroborado con posteriores análisis bioquímicos. Dependiendo de estos análisis en curso podremos confirmar si ambas dietas de producción nacional o solo la SE podrían reemplazar a la dieta TE.

UBACYT 2018-2021 nro. 20020170100021BA, PIP 2015-2017 nro. 11220150100544, PICT 2016-0759 y PICT 2016-246

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, Buenos Aires, Argentina.

# La hormona antimülleriana en gatas domésticas: resultados preliminares

LAPUENTE, C<sup>1</sup>; D'FRANCISCO, F<sup>1,2</sup>; LÓPEZ MERLO, M<sup>1,2</sup>; MARCHETTI, D<sup>1,2</sup>; MICELI, A<sup>3</sup>; TEICHER, R<sup>3</sup>; GOBELLO, C<sup>1,2</sup>.

La hormona antimülleriana (HAM) es una glicoproteína que pertenece a la superfamilia del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ). En hembras, es secretada en el ovario por las células de la granulosa de los folículos primarios, secundarios y antrales pequeños. Se ha demostrado que su concentración sérica está asociada a la reserva folicular ovárica y a la respuesta hormonal exógena en reproducción asistida en mujeres, animales de laboratorio y de producción. El dosaje de AMH también puede ser útil para el diagnóstico de patologías gonadales y en la evaluación de la respuesta a tratamientos contraceptivos. A nuestro conocimiento, se llevaron a cabo sólo 4 estudios sobre HAM en la gata doméstica. En dos de ellos se demostró la utilidad de la determinación para distinguir hembras enteras de ovariectomizadas. Otra investigación se realizó para demostrar las concentraciones anormales de esta hormona en tumores ováricos de células granulosas y otra para predecir el éxito de la maduración *in vitro* de ovocitos. Hasta el momento se desconoce en la gata el intervalo de referencia de las concentraciones de HAM durante la edad reproductiva, su relación con el ciclo estral, del peso corporal, la edad y del fotoperíodo. Por lo tanto nuestro objetivo fue describir estos aspectos de la HAM en hembras felinas jóvenes. Se incluyeron 22 gatas post-puberales entre 7-48 meses de edad ( $x = 19$  meses), mestizas, enteras, sanas que vivían en domicilios particulares con acceso al exterior de la ciudad de La Plata (34° latitud sur y 57° longitud oeste). Este estudio se llevó a cabo desde junio del 2018 hasta marzo del 2019 (9-14,30 hs luz/oscuridad). A las hembras se

les tomó muestra de sangre de vena yugular y los sueros obtenidos se almacenaron a -70°C hasta las determinaciones de HAM y progesterona (P4; Elecsys Progesterone III, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Para la HAM se utilizó un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia previamente validado en la especie (AMH Elecsys®, Cobas, Roche Diagnostics International Ltd., Switzerland). La sensibilidad y el CV intraensayo del kit fueron 0,01 n/ml y < 5%, respectivamente. El estadio del ciclo estral (fase folicular- fase luteal-anestro) se determinó mediante comportamiento sexual, citología vaginal y dosaje hormonal de P4. La normalidad de los valores séricos de HAM se confirmó mediante la prueba de Kolmogorov y Smirnov y las concentraciones de HAM fueron descriptas y analizadas estadísticamente por análisis de varianza incluyendo el efecto del ciclo estral, peso corporal, edad y cantidad de h luz por día. El nivel de significancia fue fijado en  $p < 0,05$ . La media  $\pm$  SD de concentraciones séricas de HAM fue  $5,43 \pm 2,58$  ng/ml con un rango de 1,62 a 11,61 ng/ml. Se describieron previamente valores medios similares utilizando el mismo kit comercial (9,27 ng/ml y 4.3 ng/ml) para gatas menores y mayores de 12 meses, respectivamente). En este estudio preliminar se detectó que no hay efecto del ciclo estral, peso corporal, edad, ni de horas de luz en hembras felinas jóvenes ( $p > 0,1$ ). A pesar de que este grupo de gatas fue bastante homogéneo, las concentraciones séricas de HAM presentaron gran variabilidad. Es necesario aumentar la población de gatas para revelar los factores que afectan los valores de HAM durante la actividad reproductiva de la gata doméstica.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias. Laboratorio de Fisiología Reproductiva. <sup>2</sup>CONICET. <sup>3</sup>Zoonosis. Municipalidad de La Plata.

# Aislamiento de *Rhodococcus equi* a partir de muestras de yeguas y determinación de la carga ambiental en haras de producción equina

LEIVA, R<sup>1</sup>; JUORIO, G<sup>2</sup>; GARDA, D<sup>2</sup>; GÓMEZ, L<sup>2</sup>; PEREZ AGUIRREBURUALDE, MS<sup>3</sup>; MUÑOZ, A<sup>1</sup>; MESPLET, M<sup>1</sup>; BUSTOS, C<sup>1</sup>.

*Rhodococcus equi* (*R. equi*) es un patógeno intracelular oportunista, distribuido en suelo y en el tracto gastrointestinal de equinos sanos. Estudios previos demostraron que la presencia del gen *vapA* se relaciona con la capacidad de producir enfermedad. La vía de infección más común es la inhalación de cepas *vapA*-positivas, causando bronconeumonía piogranulomatosa que puede cursar con enteritis ulcerativa. Esta enfermedad tiene impacto en haras endémicos, donde su incidencia en potrillos puede llegar hasta el 100%. Por lo que se esperaría que animales adultos de estos haras presenten una mayor cantidad de estas cepas en su tracto gastrointestinal. El objetivo de este trabajo fue aislar *R. equi* a partir de yeguas adultas y determinar la carga ambiental en haras endémicos y con baja prevalencia de la enfermedad. Se tomaron muestras de 67 yeguas adultas mediante hisopado rectal y de la tierra de 14 potreros pertenecientes a 4 establecimientos. Los hisopados fueron sembrados en agar ceftazidima novobiocina (CAZ-NB) durante 24 hs a 37 °C. *R. equi* se identificó a través de pruebas bioquímicas de primera etapa y se confirmó con la prueba de CAMP. Para la determinación de la carga ambiental, se trabajó con diluciones seriadas de las muestras que fueron cultivadas según el método de Misra en agar CAZ-NB durante un mínimo 48 hs a 37 °C para el recuento de UFC de *R. equi* por gramo de

tierra (UFC/g). Se obtuvieron 9 aislamientos confirmados de *R. equi* de las muestras de 15 yeguas provenientes de un haras con baja prevalencia y otros 23 aislamientos aún están en proceso de identificación. La carga ambiental fue determinada mediante el conteo de colonias compatibles de *R. equi*, en diluciones base 10. La misma estuvo comprendida entre  $2,5 \times 10^4$  y  $1,5 \times 10^8$  UFC/g en haras de baja prevalencia y entre  $6,5 \times 10^4$  y  $1 \times 10^{11}$  UFC/g en haras de alta prevalencia. Con respecto a los resultados preliminares obtenidos podemos concluir que en el 60% de yeguas muestreadas del haras con baja prevalencia se detectó *R. equi* en la materia fecal colaborando así con la contaminación del ambiente, del cual se obtuvo un 100% de aislamientos positivos, observándose una mayor carga ambiental en los haras con alta prevalencia. Si bien estos datos obtenidos resultan interesantes, es importante poder clasificar a los aislamientos como virulentos o avirulentos ya que de ello dependerá la relevancia de su presencia en las yeguas adultas y en el ambiente. Para ello, prevemos continuar con el estudio de los aislamientos para clasificarlos en virulentos según la presencia del gen *vapA*. Asimismo, evaluaremos la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos lo que generará información importante para la elección de la terapéutica más adecuada para los casos clínicos de esta enfermedad.

Este trabajo es financiado por el proyecto UBACyT 20020170100537BA.

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

<sup>2</sup>Práctica Equina Privada. <sup>3</sup>Universidad de Minnesota. Center of Animal Health and Food Safety (CAHFS). Minnesota, EEUU.

# La raza frisona a la cabeza: la mejoría de la producción lechera en el tambo ovino de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires.

LETO, CF<sup>1</sup>; SESTO, I<sup>1,2</sup>; SCHUH, MA<sup>1,2</sup>; VENDITTI, N<sup>1,2</sup>, COPPOLA, MI<sup>1,2</sup>.

El tambo ovino de la FCV de la UBA inició sus actividades en el año 2010. Seleccionó para la producción a la raza Frisona (originaria de Alemania) por su aptitud lechera, habilidad materna y por las características de su vellón (de color blanco; buen largo de mecha y alto rendimiento al lavado). Hasta el momento, en nuestro país no existen registros suficientes sobre las características productivas de esta raza. Esto marca una limitación a la hora de trabajar, atento a la falta de parámetros productivos tales como, periodos de lactancia y curvas de producción lechera. Con la meta de potenciar la producción, comenzamos a tomar registros. Nuestro objetivo es compartir los hallazgos con la comunidad científica, con la idea de comenzar a construir los cimientos de este nuevo camino. El periodo de estudio abarcó los años 2017 y 2018 desde Septiembre a Enero de cada año. En el primer año trabajamos con 23 ovejas y en el segundo año con 20. Doce de estas ovejas fueron parte del plantel de ordeño de ambos años. Es de considerar que ambas etapas tienen en común

más del 50 % de los animales en producción. Entre los registros que se tomaron a diario está el “peso de la leche”, en kilogramos, a nivel poblacional. Asimismo, se realizaron registros periódicos de la producción lechera individual. A partir de los datos obtenidos, en el año 2017 ordeñamos a diario un promedio de 21 ovejas que produjeron 1133 kg de leche en la temporada, con un pico de producción de 465 kg en el mes de Octubre. En cambio, en el año 2018, con un promedio de 18 ovejas en ordeño, la producción alcanzó 2163 kg de leche con un pico de 687 kg en el mes de Noviembre. Se observó un aumento del 90% de la producción lechera de un periodo al siguiente. Esto significa que con aproximadamente la misma cantidad de animales hemos casi duplicado la producción de leche respecto del año anterior. A futuro, esperamos continuar el relevamiento de datos, a fin de establecer factores que determinen un alza en la producción y que aporten información tendiente a una mejor selección de los animales.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Tambo de Pequeños Rumiantes. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Producción de Ovinos.

# Evaluación del uso de probióticos sobre parámetros biométricos en cultivos de pacú (*Piaractus mesopotamicus*)

LIZARDO FALCÓN, S<sup>1, 2, 3</sup>; MENDOZA, JA<sup>1, 2, 3</sup>; GUIDOLI, MG<sup>1, 2, 3</sup>; BOEHRINGER, SI<sup>1</sup>; SÁNCHEZ, S<sup>2, 3</sup>.

El pacú (*Piaractus mesopotamicus*) representa una de las especies de mayor producción dentro de la acuicultura nacional, requiriéndose de un incremento del producto para poder salir a los mercados internacionales. Una técnica utilizada para aumentar la producción es el uso de antibióticos. No obstante, la OMS recomienda dejar de utilizarlos sistemáticamente para estimular el crecimiento y prevenir enfermedades en animales sanos. Debido a esto se propone el uso de probióticos, definidos como “adjunto microbiano vivo que tiene un efecto benéfico en el hospedador por modificar la comunidad microbiana asociada al mismo o al ambiente”. El objetivo de este trabajo fue evaluar de qué manera influye la administración de una mezcla probiótica sobre los parámetros biométricos en especies de pacú. Los ensayos constaron de unidades experimentales en condiciones de laboratorio, compuestas por peceras plásticas de 5L con recambio de agua constante, donde se colocaron 300 larvas. El día 5 de vida, los animales fueron transferidos a estanques de material a cielo abierto, previamente fertilizados con alfalfa, en los cuales los peces fueron alimentados con balanceado comercial molido 2 veces por día. Los microorganismos se administraron durante la larvicultura intensiva en condiciones de laboratorio (L) directamente

en el agua de las peceras, 4 veces por día. La incorporación de la mezcla probiótica al agua del estanque (E) se realizó por fertilización con alfalfa ensilada con las cepas benéficas. Finalmente la administración a los animales en etapa de cría se realizó junto con el alimento balanceado (A). Las diferentes combinaciones entre la adición o no de probióticos durante las distintas etapas (L, E y A) permitió obtener un total de 7 tratamientos más 1 control, realizados por duplicado. A los 75 días de vida se determinaron los valores de peso medio, largo estándar, biomasa y sobrevida de cada unidad experimental. Los mayores promedios, tanto de peso medio como de largo estándar, fueron alcanzados en el tratamiento que recibió los microorganismos sólo en la etapa L y el tratamiento al que se le administró el probiótico sólo en la etapa A; con respecto a los parámetros de biomasa y sobrevida, aquellos animales que recibieron los probióticos en las etapas L y A alcanzaron los mayores valores. Estos resultados, junto con los obtenidos previamente por el grupo, indican que no es necesaria una administración constante durante todas las etapas de producción, para generar los efectos benéficos sobre los parámetros biométricos; permitiendo reemplazar a los antibióticos como promotores del crecimiento.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Nordeste, Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Tecnología de los Alimentos y Salud Pública, Cátedra de Microbiología. Corrientes, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Ictiología del Nordeste (INICNE), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Corrientes, Argentina.

# Transferencia de elementos tóxicos en juveniles de sábalo (*Prochilodus lineatus*).

LLAMAZARES VEGH, S<sup>1</sup>; VOLPEDO, AV<sup>1,2</sup>.

Los juveniles de peces utilizan las lagunas del valle aluvial como zonas de cría, por lo cual, estos ambientes son cruciales en su ciclo de vida. A su vez, la calidad ambiental de las zonas de cría, es un factor determinante para el desarrollo de los juveniles. En particular, el sábalo es un pez iliófago, migrador y la primera especie dulceacuícola de importancia comercial en la Argentina, y durante la etapa juvenil utiliza los márgenes de llanura del río Paraná para crecer y alimentarse. En este trabajo se evaluó la presencia de elementos traza (ET) en músculo de sábalo y en matrices ambientales (agua y sedimento) en una laguna del valle de inundación durante el mes de agosto de 2016. Las muestras fueron pretratadas y se determinaron los elementos traza (As, Ba, Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Se y Zn) mediante espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS). Se calculó el Factor de contaminación (FC), el índice de geoacumulación ( $I_{geo}$ ) y el factor de bioacumulación (FBA). Este factor se calculó para cada ET con los datos de peso seco en ppm, como:  $FBA = \frac{\text{concentración media de } ET_i \text{ en músculo}}{\text{concentración media de } ET_i \text{ en la matriz analizada (agua, sed, agua+sed)}}$ . Finalmente, se compararon las concentraciones obtenidas de ET en agua y sedimento con los valores guías establecidos para la vida acuática. Los resultados evidencian que las concentraciones de Ca, Cd y Mg en el agua fueron mayores que en sedimentos a diferencia que Ba, Cr, Co, Cu, Fe, Mn, Ni

y Pb. La concentración de Pb y Cr fue 10 veces mayor en sedimentos que en el agua. El grado de correlación entre las concentraciones halladas para sedimentos y agua para cada ET fue muy bajo, excepto para el As que mostró una correlación negativa significativa entre agua y sedimento ( $r_{\text{Spearman}} = -0,83$ ;  $p = 0,04$ ). Los índices de contaminación muestran una baja a nula contaminación para todos los ET en sedimentos ( $FC < 1$ ), excepto para el Pb que fue moderada a considerable ( $CF = 3,2 \pm 0,4$ ). Los valores de  $I_{geo}$  no mostraron contaminación para Mg, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cd, Ba ( $I_{geo} < 0$ ) y contaminación moderada para el Pb ( $I_{geo} = 1 \pm 0,7$ ). Se observó bioacumulación en el músculo para Mg ( $FBC_{\text{mus/sed}} = 1,71$ ), Cr ( $FBC_{\text{mus/agua}} = 10,79$ ), Ni ( $FBC_{\text{mus/agua}} = 1,46$ ), Zn ( $FBC_{\text{mus/agua}} = 1,14$ ) y Se ( $FBC_{\text{mus/agua}} = 1,14$ ). Al considerar ambas matrices en simultáneo no se detectó bioacumulación para ningún ET ( $FBA_{\text{mus/agua+sed}} < 1$ ). Sin embargo, hay que considerar que cinco elementos (Cu, Pb, Al, Cd y Fe) poseen valores superiores a los niveles guía de calidad de agua dulce para protección de la biota (Ley 24.051). En sedimentos los ET presentan valores inferiores a los niveles guía propuestos por Environment Canada, por lo que se sugiere que la laguna ha estado expuesta a una influencia antrópica baja a moderada. En la actualidad, se están procesando otros tejidos de peces, como branquias, a fin de que un análisis conjunto permita comprender el proceso de incorporación de elementos trazas en juveniles de sábalo por la dieta (sedimentos) y el agua.

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

# Presencia de mercurio en *Prochilodus lineatus* (sábalo) del Río de la Plata

LLORENTE, CG<sup>1</sup>; VOLPEDO, AV<sup>2</sup>

El mercurio (Hg) es un metal neurotóxico y carcinogénico para el humano, el cual se incorpora principalmente por la dieta, siendo una de las fuentes de mercurio el pescado. El sábalo (*Prochilodus lineatus*) es la especie comercializada de agua dulce más importante en Argentina, la cual se consume tanto en el mercado interno como externo. El objetivo del trabajo es evaluar el contenido de mercurio total en diferentes tejidos (músculo, branquias e hígado) de sábalo. Se capturaron peces (n=11) con redes de enmalle en la zona de Bernal y se los mantuvo refrigerados hasta su procesamiento. A cada espécimen se le registró el peso (g), la longitud total (LT cm) y estándar (LS cm). Se determinó el sexo y la edad de los peces mediante la lectura de anillos de crecimiento de los otolitos. Posteriormente se les extrajeron tejidos estudiados de músculo (TM), branquias (TB) e hígado (TH), los que fueron secados por liofilización en un ciclo de 48 hs a -40 °C y 3000 µm Hg de vacío. Las muestras resultantes se conservaron a -20 °C y así congeladas se homogeneizaron por disgregación con un molino de cuchillas. El mercurio total fue determinado con un analizador directo de mercurio. Las concentraciones de mercurio fueron comparadas con niveles guías definidos para carnes de pescado para consumo humano del Código Alimentario Argentino (< 0,5 µg/g), del Reglamento de la Unión Europea (< 0,50 µg/g) y la guía para pesca recreativa del Environmental Pollution Agency (0,40 µg/g). Para evaluar el estado de los peces se calculó el Factor de condición de Fulton y se realizó

un análisis de correlación entre las variables biológicas analizadas y la concentración de mercurio en los diferentes órganos. Los peces eran machos de 6 años con un rango de LT de 47-53 cm, LS entre 37- 44 cm, y un peso 1.560-2.465 g. Las concentraciones medias de mercurio en músculo fueron de  $0,109 \pm 0,019$  µg/g, en branquias  $0,022 \pm 0,007$  µg/g y en hígado  $0,973 \pm 0,551$  µg/g. Las concentraciones de mercurio en músculo, como en branquias no superaron los niveles guías. Sin embargo, los valores de mercurio en hígado superaron los niveles en el 63% de las muestras. La relación fue de 8,92. La LS y P, que integran el factor de Fulton se correlacionó negativamente con la concentración de mercurio en músculo con un  $r = -0,76$  y un  $p = 0,00608$ . Las concentraciones de mercurio halladas en hígado deberían ser tenidos en cuenta en la industria pesquera, ya que, si se usa sábalo entero para la producción de aceite y harina, este podría tener concentraciones de Hg no recomendables. La relación mayor a 1 indica que son peces que no se encuentran expuestos a fuentes directas de contaminación. La correlación negativa hallada entre el factor de condición de Fulton y la concentración de mercurio en músculo puede explicarse por el fenómeno “*dilución por crecimiento*”, por el aumento en la eficiencia de conversión del alimento. Se recomienda evaluar la posibilidad que los sábalos capten el mercurio principalmente cuando se acercan a las zonas costeras contaminadas del Río de la Plata o bien cuando se alimentan en cercanías del emisario cloacal.

<sup>1</sup>Servicio de Hidrografía Naval, Ministerio de Defensa. <sup>2</sup>Instituto de Investigación de Producción Animal (INPA-UBA-CONICET). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires

# Estudio de situación de la contaminación por geohelminos zoonóticos en espacios públicos y recreativos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (resultados preliminares)

LOIZA, Y; REPETTO, S<sup>2</sup>; CARDILLO, N<sup>3</sup>.

Las geohelmintiasis zoonóticas son un grupo de enfermedades parasitarias de los animales de compañía que pueden infectar al ser humano cuando comparten un ambiente común y cuya principal vía de transmisión es el suelo. *Toxocara* spp., *Ancylostoma* spp. y *Strongyloides stercoralis* se engloban dentro de este grupo. Las poblaciones humanas de mayor riesgo son aquellas con bajos recursos y condiciones sanitarias deficientes y los niños en edad pre-escolar y escolar. En espacios públicos recreativos donde los animales tienen acceso existe un mayor riesgo de contacto con suelos contaminados. El objetivo de este trabajo fue describir el estado de situación de la contaminación fecal, con énfasis en el estudio de geohelminos zoonóticos e identificar si existe un patrón de distribución por región socioeconómica en espacios públicos recreativos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Se realizó un estudio de las características estructurales de los espacios recreativos públicos de la CABA con presencia de espacios verdes. Se llevó adelante una prueba piloto en espacios públicos con diferente estructura, tamaño y definición que permitió seleccionar a aquellos caracterizados como “plazas” como los apropiados para este estudio. Se realizó un muestreo estratificado proporcional. Los estratos se definieron como: zona Norte (Alto), zona Centro (Medio) y zona Sur (Bajo) siguiendo la división socioeconómica de la CABA establecida por Groisman y Suárez (2006). Se seleccionaron aleatoriamente plazas de cada estrato las que se recorrieron sistemáticamente. Se recolectó materia fecal de canino y/o felino fresca presente en el suelo al momento de la recorrida siguiendo el protocolo descrito por Andresiuk *et al.* (2007) y Rubel y Wisnivesky

(2010). Las muestras se identificaron según área de la plaza (general/canil/juegos) y se remitieron al Laboratorio de la Cátedra de Salud Pública FCV-UBA donde se procesaron de forma individual mediante las técnicas de Bembrook modificada y Baermann. Los parásitos se identificaron por microscopía óptica y se realizó la clasificación por género. Hasta el momento se recolectaron y procesaron 357 muestras fecales de canino y/o felino. El área de mayor contaminación fecal fue el área general de la plaza, encontrándose el 83,7% de las muestras. La prevalencia general de parasitosis fue de 44,8%, hallándose muestras positivas en el 100% de las plazas. Las prevalencias para geohelminos fueron del 24,4% para *Ancylostoma* spp. y del 6,3% para *Toxocara* spp. Se encontraron además otros géneros parasitarios y en el 36,3% de las muestras positivas se presentaron asociaciones parasitarias. Los resultados preliminares muestran que la máxima prevalencia de geohelminos zoonóticos se encuentra en la región Norte (34,4%), seguida por la región Centro (29,7%) y siendo la región Sur la de menor prevalencia (25,8%). Las prevalencias halladas en este estudio, concuerdan con las de otros autores para la región, quienes también encontraron a *Ancylostoma* spp como el geohelminto zoonótico más frecuente. Sin embargo, difieren en la distribución según región socioeconómica. Estos resultados muestran una mayor prevalencia de geohelminos zoonóticos en los barrios con nivel socioeconómico alto (correspondiente a región Norte), diferenciándose de otros autores de la región que mencionan que las geohelmintiasis zoonóticas son más prevalentes en espacios públicos recreativos de niveles socioeconómicos más bajos.

Financiamiento: Proyecto UBACyT cód. N° 20020130300003BA y PICT-2013-0965.

Universidad de Buenos Aires. <sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Salud Pública. <sup>2</sup>Facultad de Medicina. Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología. <sup>3</sup>CONICET.

# Estudio preliminar “uso de antiinflamatorios no esteroides en cirugías menores en cabritos”

LÓPEZ, E; MONTOYA, L; OTERO, I; PASSINI, S; ROBLES, S; MONFRINOTTI, A.

Los antiinflamatorios no esteroides (AINEs) son fármacos que poseen como principales efectos terapéuticos ser antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX), bloqueando de esta manera la cascada inflamatoria, desencadenada por dicha vía. El objetivo de este estudio es evaluar si la administración de ketoprofeno (KTF), AINE inhibitor no selectivo de la COX, puede influir en constantes fisiológicas, peso y analgesia en procedimientos quirúrgicos de rutina en cabritos, como la orquidectomía con elastrador (ORQE). Hasta el momento, se les realizó la ORQE a 6 cabritos machos clínicamente sanos al destete ( $10 \pm 7$  kg) (CICUAL 2018/20). Dichos animales fueron separados en cuatro grupos (A, B, C, D). Grupo A: control sin castración (n=3); Grupo B: ORQE (n=1); Grupo C: ORQE con AINE local vía subcutáneo escrotal (SCe) (n=1); Grupo D: ORQE con AINE sistémico vía intramuscular (IM) (n=1). 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. No se presentaron reacciones adversas durante la experiencia en ningún animal del presente estudio. Asimismo, ninguno de los cabritos sometidos a la ORQE requirió rescate analgésico.

Al realizar ORQE se evidenció dolor y estrés durante 24 horas, verificándose al analizar el comportamiento de los animales, siendo la inclusión de fármacos analgésicos una opción posible para disminuir las reacciones asociadas al dolor. Luego de colocar la banda elastradora, al realizar palpación digital del escroto, se percibió una respuesta álgida hasta 24 h post maniobra. En nuestro estudio la realización de ORQE aparentemente no produciría cambios en la ganancia de peso hasta 1 mes posterior a la maniobra. Al evaluar la temperatura corporal y la frecuencia respiratoria durante la maniobra no se observaron diferencias notables entre los grupos, encontrándose todos los valores dentro del rango de referencia de la especie. La frecuencia cardíaca del grupo B evidenció valores más altos en todas las mediciones. En cuanto a la medición de glucemia, en el grupo C se observaron valores levemente superiores al rango normal de la especie a las 6 h y 24 h post ORQE, el resto de los grupos presentó valores dentro del rango de referencia para la especie caprina. Está previsto aumentar el número de muestra (N) hasta 20 animales, ya que es evidente que el N obtenido hasta el momento permite realizar un estudio descriptivo únicamente, siendo necesario aumentar la cantidad de animales para evaluar si la inclusión de KTF en las ORQE en cabritos resulta o no beneficioso en esta maniobra.

# Valor agregado de las pruebas nucleares en el análisis de la calidad espermática bovina

LÓPEZ, MS<sup>1</sup>; GONZÁLEZ, LO<sup>1,2</sup>; GHIRARDOSI, MS<sup>1,2</sup>; MENDELUK, GR<sup>3</sup>; CISALE, HO<sup>1,2</sup>; CHENLO, PH<sup>3</sup>; FISCHMAN, ML<sup>1,2</sup>.

En los centros de Inseminación Artificial (IA) se realizan espermogramas estándar con el fin de predecir la capacidad fertilizante de las dosis a comercializar. Los defectos de los espermatozoides se clasifican en compensables o no compensables, según puedan o no revertirse aumentando el número de espermatozoides por dosis o inseminando con dosis adicionales. El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad de la incorporación de pruebas nucleares que permiten evidenciar defectos no compensables al protocolo de valoración de la calidad seminal. Para ello se utilizaron dosis comerciales de semen bovino congelado provenientes de distintos centros de IA. Las mismas fueron categorizadas en baja, media y alta calidad, según el espermograma estándar realizado en el Laboratorio de Calidad Seminal y Criopreservación de Gametas del INITRA. El mismo incluye determinación de la concentración, evaluación de la motilidad total y progresiva (CASA), viabilidad (CFDA-Pi), pruebas de funcionalidad de membrana (HOST), integridad acrosómica (IA; contraste de fase) y morfología espermática (Rosa de Bengala). Además, se realizaron pruebas nucleares para determinar maduración (Aniline Blue, Toluidine Blue), compactación (NCD), condensación y fragmentación de la cromatina; esta última por medio de una prueba de fragmentación de desarrollo propio (FN-FCV). Se consideraron de baja calidad aquellas dosis con motilidad progresiva (MP) < 40%, viabilidad mayor a MP, HOST ≤ 40%, IA ≤ 70%, o morfología normal (MN) ≥ 70%. De calidad

media a las de MP entre 40 y 50%, viabilidad mayor a MP, HOST entre 40 y 50 %, IA entre 70 y 80% o MN entre 70 y 80%. De alta calidad a las dosis con MP ≥ 50%; viabilidad mayor a MP, HOST > 50%, IA > 80% y MN ≥ 80%. En esta primera etapa, se analizaron 30 muestras (baja: n=10; media: n=10; alta: n=10). En todas las dosis de baja calidad las pruebas nucleares revelaron anomalías no compensables. De acuerdo a los criterios de aprobación de los Centros de IA, las muestras de media y alta calidad se consideraron en un solo grupo. De las 20 muestras, cinco resultaron positivas a la prueba FN-FCV, mientras que dos presentaron solamente otras alteraciones a nivel de la cromatina. En síntesis, el 35 % (7/20) de las muestras de calidad media y alta analizadas presentaron alguna alteración a nivel nuclear. Con posterioridad al análisis, se pudo confirmar que cuatro de estas muestras tuvieron resultados a campo inferiores a los esperados, mientras que en los otros tres casos no hubo información disponible. Si bien es necesario analizar mayor cantidad de dosis, estos resultados estarían indicando la importancia de incorporar estas pruebas nucleares al protocolo de análisis de la calidad seminal. Las mismas permitirían evidenciar muestras portadoras de anomalías no compensables, facilitando la detección temprana de potenciales individuos subfértiles. Esto evitaría pérdidas económicas relacionadas con las IA no exitosas que alejan al sistema del principal objetivo: la obtención de un ternero/vaca/año.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Física Biológica. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Dpto. de Bioquímica Clínica, Hospital de Clínicas José de San Martín. Buenos Aires, Argentina.

# Genotipificación por PCR- HRM (*High Resolution Melting*) de dos marcadores de calpastatina bovina

LÓPEZ NAGUIL, S<sup>1</sup>; MOTTER, MM<sup>1</sup>; CORVA, PM<sup>2</sup>, SORIA, LA<sup>1</sup>.

La identificación de polimorfismos en nucleótidos simples (SNPs) permite estudiar su posible asociación con caracteres de importancia económica, y es valioso en aquellos rasgos de difícil medición como la terneza de la carne. El gen que codifica la calpastatina (CAST) ha sido ampliamente estudiado, identificándose en él dos polimorfismos (AF 159246:g2959 G/A y AY008267:g282 C/G) de uso comercial que han sido asociados con la terneza de la carne. Distintas técnicas moleculares permiten evidenciar los SNP, una de ellas es la PCR-RFLP, que comprende, una reacción de amplificación por PCR, seguida de digestión con enzimas de restricción y observación de los productos en geles de agarosa. El descubrimiento de nuevos químicos intercalantes de ADN, el avance de los métodos, instrumentos y software para análisis de polimorfismos han creado nuevas herramientas para el escaneo de variantes y genotipado. El análisis de fusión de alta resolución (HRM, *High Resolution Melting*) es una técnica que permite la caracterización de un producto de PCR mediante la exploración de sus propiedades de fusión o *melting*. Cada producto de PCR tiene una temperatura de fusión específica, que corresponde a la temperatura a la cual la mitad del producto se desnaturaliza y conforma dos cadenas separadas. Los colorantes intercalantes del ADN de 4<sup>a</sup> generación tienen la capacidad de emitir altos niveles de fluorescencia cuando el mismo está incorporado a la doble cadena de ADN, por lo tanto mientras se someten los productos de PCR a diferentes gradientes

de temperatura, se monitorean los niveles de fluorescencia observándose una caída de la misma en el punto en el que los productos doble cadena se disocian en monocatenarios, esta caída, representa la temperatura de fusión o *melting* y, debido a que depende de la secuencia del producto, esta técnica permite identificar cambios de hasta un solo nucleótido. El objetivo de este trabajo fue diseñar un método de PCR-HRM para discriminar genotipos de dos marcadores comerciales de CAST en bovinos. Los oligonucleótidos fueron diseñados con el programa *Primer Express V3.01*. El ADN fue extraído de músculo de 8 novillos Angus y 5 Brahman. La reacción de PCR contuvo 10µl de *MeltDoctor<sup>®</sup> HRM Master Mix (Applied Biosystems<sup>®</sup>)*, 5µM de cada oligonucleótido y 30ng de ADN en 20µl de volumen final. Se realizó el ciclado en un equipo *Step One Real Time PCR (Applied Biosystem<sup>®</sup>)* con 40 ciclos de 95°C 15 seg, 60 °C 1 min, seguido de una curva continua de fusión con incrementos de 0.3 °C desde 65°C a 95°C. Las salidas fueron analizadas con el módulo *High Resolution Melting V3.1*. Los genotipos determinados por esta técnica coincidieron con los obtenidos previamente por PCR-RFLP y confirmados por secuenciación. A diferencia de otros métodos, esta técnica se realiza en un solo paso, lo que evita el riesgo de contaminación, y además requiere pequeñas cantidades de ADN, lo que hace de esta metodología una herramienta confiable y precisa que permite la correcta discriminación de los genotipos de manera sencilla y en menos tiempo.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Genética. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad Nacional de Mar del Plata. Facultad de Ciencias Agrarias. Mar del Plata, Argentina.

# Producción de anticuerpos de llama contra la MMP-9 equina

LORENZO SMIRNOFF, A<sup>1</sup>; LASTRA, Y<sup>1</sup>; CAGGIANO, N<sup>1</sup>; ALVAREZ, E<sup>1</sup>; GULLACE, F<sup>2</sup>; DE SIMONE, E<sup>1</sup>.

La osteoartritis equina es una enfermedad inflamatoria que produce cambios degenerativos con pérdida de la matriz extracelular del cartílago articular, instalándose así el cuadro en forma crónica. La MMP-9 participa de manera central en el catabolismo de la matriz extracelular. Es por ello que nos propusimos generar anticuerpos de llama que inhiban la actividad de esta proteasa. Las especies de la familia Camelidae presentan en su suero anticuerpos que carecen tanto de cadena ligera como de región CH1 de la cadena pesada. Asimismo los anticuerpos de cadena pesada no aglutinan ni fijan complemento siendo ideales para usar en tratamientos por vía intraarticular ya que no presentarían reacciones adversas como consecuencia de la formación de inmunocomplejos. El objetivo de este trabajo fue generar anticuerpos específicos para MMP-9 equina en llama (*Lama glama*). Primero evaluamos la posibilidad de generar un péptido contra la región activa de la MMP-9. En el humano la región del sitio activo de esta proteína corresponde a los aminoácidos 171-187 de la molécula. Al comparar con la secuencia de la MMP-9 equina se observó que la secuencia peptídica correspondiente a esa región eran idénticas. Se realizó el análisis de las propiedades fisicoquímicas del péptido y se comprobó que es factible la síntesis sintética del mismo ([https://molbiol-tools.ca/Protein\\_Chemistry.htm](https://molbiol-tools.ca/Protein_Chemistry.htm)). El péptido MMP-9 (171-187) ligado a la proteína carrier KLH

se sintetizó con la empresa Genbiotech. Además se solicitó a esta empresa un péptido no conjugado para utilizar como control. Se realizaron planes de inmunización en llamas que consistieron en una primera inmunización con 0,25 mg de proteína emulsionada en adyuvante completo de Freund en dos puntos de inoculación. Posteriormente se realizaron inmunizaciones cada 15 días usando adyuvante incompleto de Freund. A los 60 días se evaluó la respuesta por ELISA frente al antígeno inoculado. Para realizar el ELISA, se sensibilizó con KLH + péptido MMP-9 (171-187) y con péptido MMP-9 (171-187) sin proteína carrier (5µg por pocillo) incubándose por 1 hora a 37°C. Se bloqueó con suero fetal bovino 10% 1 hora 37°C. Posteriormente se agregó el suero de la llama inmunizada en diluciones seriadas a partir de 1:100. Luego se agregó suero anti-llama marcado con peroxidasa (Bethyl) y se incubó 1 hora a 37 ° C. Se lavó y se agregó sustrato de color TMB (BD Biosciences). La lectura se realizó en placa a 450 nm. A los 60 días se obtuvo un suero con una reactividad de 1/1280 frente al péptido MMP-9 (171-187) y 1/5120 frente al péptido+KLH(171-187). La obtención de un suero anti MMP-9 equina en llamas nos permitirá purificar los anticuerpos de cadena pesada de llama y realizar tratamientos en equinos con enfermedad articular buscando de esta manera preservar la integridad de la matriz extracelular del cartílago articular.

# Comparación de diferentes medios de cultivo para el desarrollo de embriones porcinos producidos *in vitro*

LORENZO, MS<sup>1,2</sup>; TEPLITZ, GM<sup>1,2</sup>; CRUZANS, PR<sup>1,2</sup>; LUCHETTI, CG<sup>1,2</sup>; LOMBARDO, DM<sup>2</sup>.

La producción *in vitro* de embriones (PIV) es afectada por diversas variables asociadas a las condiciones de cultivo utilizadas. Los embriones porcinos producidos *in vitro* presentan menores porcentajes de desarrollo que en otras especies y son de baja calidad. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el desarrollo y la calidad de embriones porcinos producidos *in vitro* en diferentes medios de cultivo. Los ovocitos se obtuvieron por aspiración folicular de ovarios provenientes de faena y se maduraron *in vitro* durante 44 h en estufa a 39°C, con 5% de CO<sub>2</sub> y atmósfera saturada de humedad en medio TCM 199 suplementado, en presencia de AMPc y gonadotrofinas durante las primeras 22 h. Para la fecundación *in vitro* (FIV) se utilizó semen refrigerado a 17°C de machos de fertilidad probada, que se centrifugó a 490 g durante 5 minutos y resuspendió en medio de FIV (TCM 199 suplementado con lactato de sodio, piruvato de sodio, cafeína y albúmina sérica bovina). La gametas se coincubaron en gotas de 100 µL de medio de FIV, conteniendo 20 ovocitos por gota y 1x10<sup>6</sup> espermatozoides/mL, durante 4 h en estufa a 39°C, con 5% de CO<sub>2</sub>, 7% O<sub>2</sub> en atmósfera saturada de humedad. Los presuntos cigotos se lavaron en TCM 199 suplementado y se reasignaron aleatoriamente a uno de los siguientes grupos, correspondientes a diferentes medios de desarrollo: SOF (n=187), NCSU 23 (n=101), PZM (n=113). Se cultivaron en gotas de 50 µL del medio correspondiente,

cubiertas de aceite mineral, en las condiciones antes descriptas. Al día 4 de cultivo se cambió el medio a SOF + glucosa, NCSU 23 + glucosa y PZM. Se registraron bajo lupa estereoscópica los porcentajes de clivaje al día 2 de desarrollo y de blastocistos al día 7. Para evaluar la calidad embrionaria, los blastocistos se fijaron con paraformaldehído al 4% y se tiñeron con Hoechst 33342 para determinar la cantidad de blastómeras por embrión. El clivaje difirió entre los tratamientos siendo mayor al utilizar el medio PZM (74,3% vs 44,9% con SOF y 29,7% con NCSU23; p<0,05), pero no se observaron diferencias significativas en los porcentajes de blastocistos/clivados (3,5% con PZM, 8,3% con SOF y 10% con NCSU 23) y blastocistos/total (2,6% con PZM, 3,7% con SOF y 2,9% con NCSU 23; Test de Fisher). Asimismo, la cantidad promedio de células por embrión no difirió entre los distintos medios de desarrollo utilizados (35 con PZM, 46,3 con SOF y 23,6 con NCSU 23; ANOVA no paramétrico). En conclusión, en nuestro sistema de PIV ambos medios convencionales para la especie porcina (NCSU 23 y PZM) permiten el desarrollo hasta el estadio de blastocisto, obteniendo embriones con la misma cantidad de células. El medio SOF, frecuentemente utilizado para la producción de embriones bovinos, puede utilizarse en la especie porcina obteniendo la misma cantidad y calidad de blastocitos que los medios convencionales para la especie porcina.

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

# Malformaciones congénitas hereditarias de la columna vertebral. Frecuencia de casos y tratamiento con técnicas físicas

LUNA, M; CORTI, L; ROLLA, D; MERCADO, M.

Las alteraciones de la columna vertebral pueden ir desde hallazgos casuales sin manifestaciones clínicas hasta desórdenes neurológicos graves, como alteraciones en la marcha, en la defecación y micción, y causar mucho dolor. La enfermedad congénita es una anomalía que está presente desde el nacimiento, que puede ocurrir por un problema durante el desarrollo embrionario, en el momento del parto o por factores hereditarios. Los mismos pueden estar relacionados con acontecimientos ambientales, por sustancias químicas o medicamentosas, así como por fenómenos físicos. Los objetivos del presente trabajo fueron: evidenciar la frecuencia de aparición de malformaciones congénitas y hereditarias de la columna vertebral y evaluar la eficacia del tratamiento mediante la aplicación de terapias físicas en las malformaciones congénitas y hereditarias de la columna vertebral. El estudio fue realizado en el Servicio de Fisioterapia del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinaria (UBA) durante un periodo aproximado de 10 meses, comprendido entre los años 2017-2018; en el mismo solo fueron aceptados pacientes que presentaron anomalías congénitas y hereditarias de columna vertebral, con grado de dolor 3 (Sistema de Valoración Discontinua de Dolor), en la primera sesión de tratamiento.

Se analizaron un total de 17 pacientes con diferentes lesiones congénitas y hereditarias de la columna vertebral. Los tratamientos fueron realizados con: TENS (electroanalgesia), Láser y Campos Magnéticos. El grado de dolor en columna a la palpación-presión fue evaluado en la primera y décima sesión. Los pacientes que recibieron tratamiento con terapia física presentaron mejoría con respecto al dolor de columna, pasando de un nivel 3 a 1 y 0 de la escala de dolor. De un promedio de 2141 pacientes que concurren al servicio de fisioterapia solo 17 individuos presentaron anomalías (0,79%). No se evidenció una lesión que se presentara con mayor frecuencia, sí fueron más frecuente las lesiones múltiples en un mismo individuo. En conclusión, se evidenció una baja frecuencia de aparición de las malformaciones congénitas y hereditarias de la columna vertebral en pequeños animales. La mayoría de los pacientes sometidos a este estudio presentaron lesiones múltiples a nivel de la columna vertebral. Todos los pacientes que continuaron con el tratamiento de fisioterapia evidenciaron importantes mejorías. Dado que se trata de método poco invasivo, con escasas contraindicaciones se sugiere, no solo indicarlo en el caso de la presentación de los signos, sino antes de que aparezcan para prevenir lesiones más graves.

# Confiabilidad inter-observador en el protocolo de evaluación de bienestar en felinos adultos domésticos (PEBf). Primera etapa

MANGAS, J; DE LOS SANTOS, F; BAAMONDE, G; PUCHETA, N; FERRARI, HR.

La evaluación de bienestar animal en forma científica requiere de herramientas objetivas de medición (criterios, aspectos e indicadores). Los indicadores deben reunir ciertos atributos para considerarse una medición objetiva: validez, confiabilidad, y practicidad. El presente estudio analiza la confiabilidad (concordancia inter-observador) de los criterios, aspectos e indicadores seleccionados en el PEBf<sup>1</sup>. La confiabilidad se refiere a la repetibilidad en tiempo y consistencia entre observadores. Implica que los observadores deben llegar a los mismos resultados aplicando los mismos indicadores. Para el análisis preliminar de la confiabilidad inter-observador se reclutaron 3 veterinarias (entrevistadoras), 3 propietarias de gatos adultos y 6 gatos adultos: 2 hembras y 4 machos (sujetos). Las entrevistadoras fueron capacitadas para: el uso del protocolo PEBf, el comportamiento específico, los requerimientos mínimos de bienestar y actualización científica sobre cognición y estados emocionales en gatos adultos domésticos. La convocatoria de los propietarios se realizó por un aviso en 3 (tres) consultorios clínicos veterinarios. El criterio de selección fue convivir con más de un gato adulto, buena predisposición para responder preguntas y control veterinario vigente. La aplicación del protocolo se realizó en el hogar donde conviven con el/ los gato/s previo consentimiento informado

por escrito. Los datos de la entrevista fueron registrados por escrito y grabación de audio. Cada entrevistadora realizó 3 (tres) visitas a diferentes domicilios. Cada gato fue evaluado 3 (tres) veces con un espacio de tiempo de una semana. En total se realizaron 18 protocolos. Para no influir en la información brindada por la propietaria la entrevistadora tenía la indicación de no responder ninguna pregunta. Se observó un porcentaje de concordancia del 66% para los indicadores, un 70% para los aspectos y un 83% para los requerimientos. Entre los que presentaron mayor grado de desacuerdo se encontraron los indicadores: frecuencia de lavado de litera, accesibilidad a sitios de descanso, ubicación de potes para agua/alimento, situaciones de eliminación fuera de la litera, lugares de marcaje físico; aspectos: marcaje físico, bandeja sanitaria, relación humano-animal y los requerimientos salud y ambiente adecuado. En la mayoría de los casos la revisión de los desacuerdos reveló errores del entrevistador en la puntuación, diferencias en la información transmitida por la propietaria e indicadores de puntuación dudosa. En una segunda parte se ajustará el método de puntuación y la corrección de los indicadores que prestaron a confusión. En el presente análisis se puede concluir que la confiabilidad inter-observador para el PEBf fue buena.

---

<sup>1</sup>Mangas-Ferrari, 2017. Desarrollo de un protocolo de evaluación de bienestar en felinos domésticos (*Felis catus*). su rol como herramienta educativa en la investigación.

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

# Análisis de la aplicabilidad del protocolo de evaluación de bienestar en felinos adultos domésticos (*Felis catus*) (PEBf).

MANGAS, J; DE LOS SANTOS, F; PUCHETA, N; BAAMONDE, G; FERRARI, HR.

El PEBf<sup>1</sup> es un protocolo para la evaluación de bienestar en felinos domésticos. Está diseñado para recolectar información a partir de una entrevista con el/los tenedor/es responsable/s del gato adulto doméstico en su hogar. La aplicabilidad es la posibilidad práctica (practicidad) de usar el PEBf en el hogar donde conviven los felinos domésticos con humanos. Para evaluar la aplicabilidad se convocaron 3 (tres) veterinarias (entrevistadoras), 3 propietarias de gatos adultos y 6 gatos adultos: 2 hembras y 4 machos (sujetos). Las entrevistadoras fueron capacitadas sobre el uso del PEBf. El entrenamiento consistió en la lectura y discusión de los indicadores, aspectos y requerimientos seleccionados con un anexo complementario de respuestas preestablecidas para puntuar cada medida. Además, recibieron asesoramiento sobre la infraestructura necesaria, condiciones óptimas del ambiente, el trato adecuado al entrevistado y el tiempo estimado para las 9 entrevistas en el domicilio. Luego de realizadas las visitas fueron convocadas a participar de un grupo focal de discusión sobre la aplicabilidad del PEBf. La autora fue la moderadora proponiendo como líneas de discusión las dificultades en el uso de la herramienta, el trato a/ y de los entrevistados, la seguridad y grado de conformidad del entrevistador, la invasividad percibida por el animal. A partir de la discusión se confeccionó una encuesta en formularios Google® sobre

los temas que surgieron del debate. Como resultado, se estableció que el protocolo es una herramienta simple de utilizar (67% de las encuestadas), el tiempo que demanda su aplicación es adecuado (67%), cumple con el objetivo propuesto (100%), no es invasivo para el animal (100%), no pone en riesgo la seguridad del entrevistado/entrevistador (100%), cualquier entrevistador puede contar con la infraestructura para aplicar el protocolo (100%), los aspectos y requerimientos seleccionados son los adecuados (100%), algunos de los indicadores seleccionados son los adecuados (67%), algunos de los indicadores de salud y relación humano -animal son redundantes (23%). Entre los aspectos positivos se destacaron poca inversión económica, fácil aplicación para veterinarios, preguntas simples de contestar por los propietarios, la generación de entusiasmo por responder algunas preguntas de la relación humano-animal. Entre los aspectos negativos se mencionó la duración y algunas preguntas que en apariencia causaron incomodidad (vacunación, visitas al veterinario, desparasitaciones, castigo a los animales). La sugerencia para mejorar la aplicabilidad fue confeccionar una guía de lectura con indicaciones estandarizadas para usar la herramienta. Para el presente estudio el protocolo resultó una herramienta aplicable por los veterinarios en los hogares donde conviven humanos y felinos domésticos.

---

<sup>1</sup>Mangas-Ferrari, 2017. Desarrollo de un protocolo de evaluación de bienestar en felinos domésticos (*Felis catus*). su rol como herramienta educativa en la investigación.

# Evaluación reproductiva a largo plazo de 3 caninos tratados con acetato de deslorelina en el periodo postnatal

MARCHETTI, C<sup>2,3</sup>; GRISOLÍA, M<sup>2,3</sup>; LAPUENTE, C<sup>2</sup>; PRIOTTO, M<sup>1</sup>; GRAIFF, D<sup>1</sup>; GOBELLO, C<sup>2,3</sup>; FAYA, M<sup>1,3</sup>.

La evaluación reproductiva completa, detallada y a largo plazo de los tratamientos anticonceptivos en caninos es escasa, aunque necesaria para proporcionar información acerca de la eficacia y seguridad de los distintos protocolos. El objetivo de este trabajo fue describir el estado reproductivo de dos caninos mestizos machos (David y Manuel) y una hembra (Belén), hermanos de camada, de 28 meses de edad y de  $11,1 \pm 1,7$  kg. Dichos animales fueron tratados, dentro de las 24 hs de nacidos, con 18,8 mg de acetato de deslorelina (Suprelorin, Virbac, France) SC, con fines anticonceptivos. Los animales fueron apareados para evaluar su fertilidad una vez alcanzada la pubertad y se les realizaron determinaciones hormonales en suero y diagnóstico de gestación en el caso de la hembra. Luego los tres animales fueron gonadectomizados. Las gónadas fueron examinadas en forma macroscópica e histomorfométrica (Image Pro Plus v6.0-Media Cybernetics, Silver Spring, MA, USA). Antes de la cirugía el examen físico seriado de los animales reveló en la hembra la presencia de una vulva infantil, retraso unilateral de descenso testicular (6 meses) en David y criptorquidia inguinal bilateral en Manuel. No pudieron recolectarse muestras seminales en ambos machos, debido a azospermia o aspermia a pesar de presentar una erección normal. Aunque la hembra ovuló y quedó preñada, los machos no pudieron realizar un apareamiento. Las concentraciones séricas de la hormona anti-mülleriana (AMH-Gen II, Beckman Coulter,

USA) fueron 21,3ng / ml y 4,9 ng / ml en David y Manuel, respectivamente y 0,35 ng/ml en la hembra. Las concentraciones de testosterona (T) y estradiol (E2) fueron normales en David y Belén, no así en Manuel, cuyos valores de T fueron indetectables. El índice gonadosomático fue  $\leq 0.02$  en los tres caninos. Los ovarios presentaron 48% de folículos atrésicos, 44% de folículos primordiales, y 8% de folículos primarios y de cuerpos lúteos. La proporción de los folículos mencionados anteriormente podría indicar un aumento de reclutamiento folicular debido a la disminución de la concentración de AMH. Los testículos de Manuel evidenciaron túbulos seminíferos pequeños compuestos por espermatogonias y células de Sertoli, similar a lo que ocurre en el Síndrome de células de Sertoli. En los testículos de David la espermatogénesis se desarrolló hasta el estadio de espermátide con una relación espermátide-célula de Sertoli de 3,07, la cual fue mucho menor que en las especies menos eficientes. El área del núcleo de las células de Leydig fue 40% más pequeña en Manuel que en David, indicando que la esteroidogénesis en el primero fue anormal, lo cual además se correlacionó con los valores de T sérica no detectables en ese animal. Se concluyó que este protocolo anticonceptivo en estos caninos causó retraso en la aparición de la pubertad, anomalías en el descenso testicular y en la espermatogénesis como así también hallazgos en el ovario y hormonales que podrían ser asociadas con falla reproductiva prematura en la hembra.

<sup>1</sup>Universidad Católica de Córdoba, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, La Plata, Argentina <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

# Evaluación de parámetros de activación del estallido respiratorio en la línea celular monocítica bovina “BoMac”

MAURIZIO, E<sup>1,2</sup>; ROSSI, UA<sup>1,2</sup>; ROSSETTI, CA<sup>1</sup>.

La línea celular BoMac, originada en 1995 mediante la transfección de monocitos peritoneales bovinos con el plásmido SV40, es utilizada como modelo para el estudio de la respuesta inmune innata. Sin embargo, algunos elementos de esa respuesta están pobremente caracterizados, o se han reportado resultados contradictorios. Nuestro objetivo fue evaluar parámetros propios del estallido respiratorio, como la producción de intermediarios reactivos del oxígeno (IROs) y del nitrógeno (IRNs), en BoMac frente a diferentes estímulos bacterianos. Las células (pasajes 19-29, donación de la Cátedra de Inmunología, FCV-UBA) se mantuvieron a 37°C con 5% CO<sub>2</sub>, en medio cRPMI 1640 suplementado con 10% SFB. Los subcultivos se realizaron 1:3 cada 72 h hasta su resiembra en placa de 96 pocillos para los ensayos. Se evaluaron diferentes protocolos de inducción: una cepa virulenta de *B. melitensis* inactivada por calor (HKBM) en proporciones de 100, 200, 500 y 1.000 bacterias por célula (MOI) y LPS de *E. coli* 026:B6 en concentraciones crecientes (5, 10 y 20 µg/mL), ambas durante 24 y 48 h. Asimismo, se compararon inducciones simples y dobles con HKBM (22 h + 2 h), y se evaluó la opsonización previa del inóculo bacteriano con suero rico en anticuerpos anti-*B. melitensis* (título 1:256 por fijación de complemento, diluido 1/100 e incubado 20 min a 25°C), en ambos casos MOI 100. Se determinaron

nitritos en medio libre de células mediante la reacción de Griess, como reflejo de la síntesis de óxido nítrico, y para estimar la producción de IROs directamente de la monocapa, se recurrió al diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFDA). Como control se usó la línea celular sin estimular. El análisis estadístico se realizó con las pruebas *t* de Student y ADEVA + test de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). Los tratamientos con *B. melitensis* MOI 200, 500 y 1000, y LPS 20 µg/mL, llevaron a una producción significativa de IRNs en ambos tiempos evaluados, con respecto al control sin tratar. La adición de *B. melitensis* 100, y LPS 5 µg/mL y 10 µg/mL solo produjo aumento significativo de IRNs a las 48 h. La producción media de IROs fue estadísticamente mayor con *B. melitensis* 500 y 1000, y LPS 20 µg/mL para ambos tiempos evaluados, mientras que *B. melitensis* 100 y 200, y LPS 10 µg/mL, sólo lo fueron a las 48 h. Al reevaluar cada estímulo por separado para ambos tiempos y productos se pudo corroborar una respuesta dosis-dependiente, con posibilidad de diferenciar entre respuestas significativas para el caso de los IRNs. Por otro lado, no se corroboraron diferencias entre el tratamiento único y doble, ni con la opsonización del inóculo a un MOI 100. Estos resultados reflejan que la línea monocítica bovina BoMac resulta un modelo adecuado para estudiar las respuestas oxidativas derivadas de estímulos bacterianos en este linaje celular.

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología, CICVyA-CNIA. INTA. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. CABA, Argentina.

# ELISA indirecto como prueba complementaria para potenciar el diagnóstico de la tuberculosis bovina

MC CORMICK, T<sup>1</sup>; GRIFFA, N<sup>3</sup>; MARCACCIO, F<sup>1</sup>; DE LA ORDEN, J<sup>2</sup>; GIL, S<sup>2</sup>; MARTÍNEZ VIVOT, M<sup>1</sup>; FALZONI, E<sup>1</sup>.

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad zoonótica, infectocontagiosa, de curso crónico causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*). Su hospedador principal es el bovino, pero también pueden ser afectadas por esta micobacteria otras especies domésticas y silvestres. El Plan Nacional (Res. 128/2012) establece la intradermoreacción (ID) como diagnóstico definitivo para el saneamiento de los establecimientos ganaderos. La ID es una reacción de hipersensibilidad tipo IV, mediada por células, que detecta la presencia de micobacterias en el organismo a partir de los 30-50 días posteriores a la infección. Es una prueba aplicada en todo el mundo, con más del 90% de sensibilidad y una especificidad del 75%. No obstante, podrían encontrarse resultados falsos positivos, debido a que el derivado proteico purificado (PPD) utilizado comparte antígenos con otras micobacterias ambientales, *Nocardia asteroides* y *Corynebacterium pyogenes*, que pueden provocar una reacción similar. Por el contrario, podrían darse falsos negativos en casos de una infección muy reciente, por aplicación de esteroides o en un animal anérgico, incapaz de generar una reacción inmunitaria ante un antígeno debido al agotamiento de los linfocitos por la alta carga antigénica presente. La prueba de ELISA indirecta es una metodología alternativa, sencilla y económica para el diagnóstico serológico de micobacterias, que utiliza como antígeno al PPD. En trabajos recientes se determinó que las proteínas MPB70, MPB64 y la 65kDa fueron las más reactivas, estableciendo un predominio de la

respuesta humoral hacia la proteína MPB70, por ser un antígeno inmunodominante de *M. Bovis*. Otros trabajos de investigación han determinado un grado de sensibilidad baja en animales con lesiones localizadas y máxima entre aquellos con lesiones diseminadas. El objetivo de este estudio fue utilizar la técnica de ELISA indirecta como prueba complementaria para confirmar la negatividad de la tuberculinización en un rodeo de cría de la provincia de Buenos Aires. Se extrajo sangre de la vena coccígea a 80 vacas de un rodeo de cría que fueron tuberculinizadas simultáneamente, leyendo sus resultados a las 72 horas. Los sueros fueron sometidos a la prueba serológica de ELISA indirecto. La lectura se efectuó mediante un lector de placas (Thermo Fisher) a una densidad óptica de 405 nm. Tanto los resultados de la intradermoreacción (diferencia de medida inferior a 3 mm) como los de las pruebas de ELISA de todos los animales arrojaron resultados negativos. Existe total coincidencia entre los resultados obtenidos por la prueba serológica y la prueba oficial de tuberculinización, asegurando la especificidad del diagnóstico. Podemos concluir que la técnica de ELISA es una prueba complementaria rápida y eficaz para el diagnóstico de tuberculosis que podría utilizarse en las etapas finales del control de la enfermedad (saneamiento) para detectar especialmente los animales anérgicos potenciando, de esta manera, los planes de control y erradicación de dicha enfermedad aplicados por el SENASA para la obtención del estatus de libre.

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

<sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Producción de bovinos de carne. Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Instituto de Biotecnología. CICVyA-INTA. Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

# Importancia de las pruebas complementarias a la tuberculinización para el diagnóstico de tuberculosis bovina: Reporte de caso

MC CORMICK, T<sup>1</sup>; FALZONI, E<sup>1</sup>; MARFIL, J<sup>1,3</sup>; GRIFFA, N<sup>3</sup>; GIL, S<sup>2</sup>; DELMAS, L<sup>1</sup>; MARTÍNEZ VIVOT, M<sup>1</sup>; DE LA ORDEN, J<sup>2</sup>.

La tuberculosis bovina (TBB) es una zoonosis causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) en la República Argentina que afecta a animales domésticos y salvajes. Es una enfermedad de alto impacto en la salud pública que genera grandes pérdidas económicas. La resolución de SENASA 128/2012 contempla la obligatoriedad de la tuberculinización en tambos de especie bovina, caprina y ovina, en cabañas de carne y leche bovina y caprina; y la eliminación de animales positivos. El objetivo fue confirmar por métodos de ELISA, cultivo y PCR, la tuberculinización anocaudal positiva de un novillo Aberdeen Angus macho, de 5 años, perteneciente a un rodeo libre de tuberculosis de la provincia de Bs. As. Se realizó la prueba serológica de ELISA aplicando el método desarrollado en INTA, que utiliza un antígeno de alta potencia, y un lector de placas Thermo Fisher con densidad óptica de 405 nm. Se necropsió el animal y, ante la ausencia de lesiones compatibles con tuberculosis, se tomaron muestras de pulmón, linfonódulos mediastínicos y mesentéricos para bacteriología. Estas fueron decontaminadas por el método de Petroff y cultivadas en medios de Stonebrink y Löwenstein Jensen a 37°C durante 60 días. Se realizó, además, una prueba de biología molecular (PCR directa de órgano). Si bien la intradermorreacción, leída a las 72 h, arrojó

un resultado positivo, la prueba de ELISA, los cultivos y la PCR de órgano dieron negativos. La prueba de ELISA para la identificación de rodeos infectados permite establecer una correlación entre el nivel de anticuerpos y el grado de extensión de las lesiones tuberculosas, determinándose un grado de sensibilidad baja en animales con lesiones localizadas y máxima entre aquellos con lesiones diseminadas. En este caso, sabiendo que el animal proviene de un rodeo libre y basándonos en el cultivo y la PCR de órgano como pruebas gold standard para el diagnóstico de TBB, consideramos que podría haber habido un resultado falso positivo en la tuberculinización. Esto nos orienta a pensar en una reacción cruzada con micobacterias ambientales, *Nocardia asteroides* o *Corynebacterium pyogenes* que comparten antígenos con *M. bovis*, capaces de provocar una respuesta celular inespecífica. La sensibilidad y especificidad de la prueba anocaudal debe estar basada en consideraciones epidemiológicas, en las prácticas de manejo de la región y en el resultado de un buen estudio de campo y laboratorio. Por tal motivo, es que destacamos la importancia del uso de pruebas complementarias a la intradermorreacción para el diagnóstico de TBB en animales provenientes de rodeos libres asegurando el correcto diagnóstico y el mantenimiento del status sanitario.

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

<sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Producción de bovinos de carne. Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Instituto de Biotecnología. CICVyA-INTA. Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.

# Estudio de la espermatogénesis en *Gymnotus carapo*

MENDEZ GALARZA, S<sup>1</sup>; OLEA, G<sup>2</sup>; FLORES QUINTANA, C<sup>1</sup>.

La espermatogénesis es una secuencia de cambios morfológicos y fisiológicos de células germinativas que parten de una espermatogonia diploide y dan origen a cuatro espermatozoides haploides. En peces, este proceso de división celular ocurre en cistos, que son formados cuando una espermatogonia es rodeada por las proyecciones del citoplasma de una o dos células císticas o de Sertoli. Los peces del orden Gymnotiformes al cual pertenece la especie en estudio *Gymnotus carapo*, conocida comúnmente como “morena”, son animales utilizados frecuentemente como carnada viva para la captura de peces de mayor porte, y poco se conoce sobre los aspectos reproductivos. El objetivo de este trabajo fue el estudio de la espermatogénesis de *Gymnotus carapo*, a fin de aportar información sobre su biología reproductiva, y que esta sea de utilidad en el manejo de dicha especie como recurso pesquero. Se recolectaron 14 ejemplares durante el periodo de febrero a diciembre del 2018 de ambientes naturales próximos a la Ciudad de Corrientes. Posterior a la captura fueron anestesiados con solución de benzocaína al 2 % y sacrificados por sección medular. Los testículos fueron aislados y fijados en formol al 10 %; posteriormente fueron procesados con técnica histológica convencional y coloreados con hematoxilina-eosina (H-E). Los preparados histológicos fueron analizados a través del microscopio óptico. Se pudo

observar que la espermatogénesis en *G. carapo* es similar a la descrita para otros peces. La disposición de la línea espermatogénica está organizada en cistos con células en un mismo estadio de diferenciación por lóculo. En los túbulos seminíferos de los ejemplares activos reproductivamente se encontraron todos los tipos celulares correspondientes a la línea germinal. Las espermatogonias primarias se caracterizan por ser las células de mayor tamaño en el proceso de espermatogénesis. Presentan un núcleo pequeño con respecto al citoplasma con la presencia de nucléolos, se encuentran rodeadas por las proyecciones de las células de Sertoli. Las espermatogonias secundarias, se diferencian porque son células de menor tamaño, su núcleo tiene una mayor área con respecto al citoplasma y presenta varios nucléolos. Los espermatozoides (I-II) que son de menor tamaño que las espermatogonias y generalmente se observaron en la profase de la primera división meiótica, con diferentes niveles de condensación de la cromatina. Las espermátidas son células con un núcleo redondeado y denso; se encontraron en la periferia de los lóculos. Los espermatozoides fueron encontrados en la luz del túbulo dentro del túbulo seminífero. Su cabeza es redonda y el núcleo es denso. Estos resultados son la base para futuros estudios que se focalizarán en el análisis del ciclo reproductivo de *G. carapo*.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Básicas. Cátedra de Histología y Embriología. <sup>2</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM) IQUIBA-NEA.

# Caracterización del crecimiento de la microalga nativa *Parachlorella kessleri* (Chlorophyta) a dos escalas de cultivo en condiciones de laboratorio

MIGUEZ, MB; VIAU, VE; FERNANDEZ, RS; CONFORTI, V; JUÁREZ, AB.

Las microalgas representan un recurso biológico emergente de gran importancia. Estos microorganismos pueden sintetizar y acumular compuestos de interés para potenciales aplicaciones en campos como la industria alimenticia, nutracéutica y farmacéutica, siendo particularmente interesantes como fuente nutricional para alimentos acuícolas. La capacidad de síntesis de los compuestos producidos por las microalgas depende de la especie y cepa particular, y de las condiciones de cultivo. Con el objetivo de evaluar la factibilidad de producción de la microalga *Parachlorella kessleri* (Chlorophyta) se estudió su crecimiento en condiciones de laboratorio desarrollando cultivos estériles y no estériles a escala de 1 L y 4 L. Los cultivos se iniciaron con 500.000 células/mL en medio basal de Bold y se incubaron a  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  con luz continua y aireación constante por burbujeo. Se evaluó su crecimiento en el tiempo, tomando periódicamente alícuotas de cada cultivo y realizando recuentos celulares con cámara de Neubauer en microscopio óptico. La curva de crecimiento de esta cepa

a escala de 1 L presentó una fase lineal de 28 días, seguida de una fase estacionaria a partir de los 30 días de cultivo. Mientras que a escala de 4 L mostró una fase lineal de 53 días seguida de una fase estacionaria a partir de los 55 días. La densidad celular alcanzada en la fase estacionaria fue similar en ambos volúmenes de cultivo (62.000.000 células/mL para 1 L y 65.000.000 células/mL para 4 L), pero en el ensayo de 1 L se logró aproximadamente a la mitad del tiempo. El rendimiento final obtenido fue menor en el sistema de 1 L que en el de 4 L (5,4 g vs. 8,8 g de biomasa seca), aunque la productividad fue mayor en el primero (42 mg/L/día vs. 12 mg/L/día). Estos resultados indican que el sistema a menor escala es más productivo pero, en términos de costo/beneficio, resulta menos conveniente para aplicaciones biotecnológicas que necesiten producir grandes cantidades de biomasa. El presente estudio aporta información de base para mejorar el rendimiento en el proceso de escalado a un menor costo operativo, como por ejemplo en ausencia de esterilidad.

# Evaluación de la signología clínica, perfil eosinofílico y ganancia de peso, en jabalíes (*Sus scrofa*) con trichinellosis, criados en confinamiento total

MONTALVO, F<sup>2</sup>; ERCOLE, M<sup>2</sup>; BESSI, C<sup>2,3</sup>; ACERBO, M<sup>1</sup>; MIGUEZ, M<sup>1</sup>; PILLADO, S<sup>4</sup>; PASQUALETTI, M<sup>2,3</sup>; FARIÑA, F<sup>2,3</sup>; RIBICICH, MM<sup>2,3</sup>.

La trichinellosis es una enfermedad parasitaria de alto impacto en la salud, en la economía del productor agropecuario y en la comercialización de los productos y subproductos cárnicos en los mercados nacionales e internacionales. En Argentina, la especie porcina y *Trichinella spiralis* constituyen la asociación especie animal/especie parásita más frecuente y la comúnmente involucrada en la aparición de brotes humanos, sin embargo, en la última década, los jabalíes y pumas fueron las especies más frecuentes en los focos silvestres detectados. La carne de jabalí generalmente es obtenida como un producto de caza, aunque últimamente se han establecido criaderos de estos animales con el objetivo de abastecer la demanda de carne magra y saludable para la venta. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la signología clínica, el recuento de eosinófilos, y la ganancia de peso en jabalíes (*Sus scrofa*) infectados experimentalmente con distintas especies de *Trichinella* spp. Se utilizaron 18 jabalíes de 60 días de edad provenientes de un criadero de la provincia de Buenos Aires. Fueron divididos al azar en 3 grupos experimentales inoculados con una cepa de *T. patagoniensis*, *T. pseudospiralis* y de *T. spiralis* respectivamente y 1 grupo control. Los animales fueron alimentados *ad libitum* con un balanceado de crecimiento conformado por: maíz 63.5%, pellet de soja 34% y Pig

feed crecimiento 2.5% (Cladan S.A.). Se realizaron evaluaciones clínicas cada 24 horas y extracciones de sangre cada 7 días durante 8 semanas post-infección para determinar recuento de eosinófilos. Para evaluar la ganancia de peso se realizaron determinaciones del peso corporal cada 15 días durante 60 días post-infección (pi). Para el análisis estadístico, se aplicó un diseño de medidas repetidas en el tiempo. Se utilizó un modelo lineal mixto y se consideró un nivel de significación del 5%. Los jabalíes no evidenciaron signología clínica compatible con trichinellosis. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el recuento de eosinófilos entre el grupo control y *T. spiralis* y entre el grupo control y *T. pseudospiralis*, para la semana 2 y 3, y 3 y 4 respectivamente. Con respecto a la ganancia de peso, no se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos, infectados y control. No hubo diferencias en la misma en animales inoculados con diferentes especies de *Trichinella* spp. durante la fase aguda de la enfermedad, no obstante, entre el día 40 a 100 pi el crecimiento se redujo entre un 10-15%. A su vez, es remarcable notar la ausencia de signología clínica en los animales infectados, lo que refuerza la importancia del diagnóstico post-mortem en jabalíes destinados a consumo.

La presente investigación fue aprobada por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la FCV-UBA, bajo el número 2015/16. Este trabajo fue financiado por los siguientes proyectos: UBACyT20020130100336BA, UBACyT20020170200331BA, PICT- 2015-2350 y PICT-2015 -3469.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Producción Porcina. CABA, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. <sup>3</sup>CONICET – Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). <sup>4</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Criadero de Cerdos.

# Expresión heteróloga y localización subcelular del candidato vacunal GPI4 de *Babesia bovis* en el ciliado *Tetrahymena thermophila*

MONTES, MG<sup>1,2</sup>; FLORES, D<sup>2</sup>; RODRIGUEZ, AE<sup>2</sup>; GONZÁLEZ MAGLIO, DH<sup>3</sup>; FLORIN-CHRISTENSEN, M<sup>2</sup>; NUSBLAT, AD<sup>1</sup>; SCHNITTGER, L<sup>2\*</sup>

Los glicosilfosfatidilinositoles (GPIs) se encuentran en abundancia en la superficie de protozoos parásitos como glicolípidos libres y como anclas de proteínas de superficie a la membrana plasmática. Se ha demostrado que las proteínas ancladas por GPIs están involucradas en el mecanismo de invasión a la célula huésped, por lo que representan blancos moleculares muy interesantes para el diseño de nuevas estrategias vacunales contra protozoos patógenos de importancia veterinaria. Además, los GPIs libres actúan como potentes moduladores de la respuesta inmunológica. *Tetrahymena thermophila* es un protozoo ciliado de vida libre que expresa en la superficie abundantes proteínas ancladas por GPI, y ha sido utilizado como plataforma biotecnológica para la expresión de antígenos recombinantes. En el presente trabajo, se ha expresado en *T. thermophila* un novedoso antígeno anclado por GPI (GPI4) del protozoo hemoparásito *Babesia bovis* para el diseño de vacunas a subunidades. GPI4 presenta epitopes B sensibles a la neutralización conservados entre aislamientos geográficos y es reconocido por anticuerpos presentes en sueros de bovinos infectados con *B. bovis*. La secuencia nucleotídica de GPI4

fue optimizada según la frecuencia de uso de codones de *T. thermophila* y clonada en el vector pICY-gtw bajo el promotor del gen de la metalotioneína 1 (mtt1) inducible por cadmio. Se estudió la localización del antígeno recombinante expresado en *T. thermophila* mediante inmunofluorescencia indirecta e inmunoblots de fracciones subcelulares utilizando anticuerpos murinos contra una forma recombinante de GPI4 expresada en *E. coli*. Por inmunofluorescencia indirecta se observó señal tanto en la superficie como en el retículo endoplásmico de los ciliados. En concordancia con estos resultados, los inmunoblots mostraron presencia de GPI4 en la fracción de membranas obtenida por partición con Tritón X-114 y en la fracción ciliar luego de separar los cilios del cuerpo celular. Estos resultados demuestran la habilidad de *T. thermophila* de expresar en forma heteróloga el antígeno GPI4 de *B. bovis* en su superficie celular. Se están llevando a cabo experimentos adicionales para evaluar si GPI4 expresado en *T. thermophila* tiene propiedades inmunogénicas adecuadas para ser incorporado en futuras formulaciones vacunales contra la babesiosis bovina.

Financiamiento por INTA PNBIO1131034 y PICT 2013-1708.

<sup>1</sup>Instituto de Nanobiotecnología, FFyB-UBA, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA-Castelar, Provincia de Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET. Universidad de Buenos Aires, Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), Buenos Aires, Argentina. \*schnittger.leonhard@inta.gob.ar

# Efecto del cobre sobre larvas de *Tenebrio molitor*

MORAGA, N<sup>1</sup>; ALVAREZ GONÇALVEZ, CV<sup>1</sup>; VAZQUEZ, FJ<sup>1, 2, 3\*</sup>

Los tenebrios (*Tenebrio molitor*) son insectos de la familia coleóptera y son una parte importante del ecosistema. Dicha especie, presenta hábitos alimenticios que ayudan en la descomposición y limpieza de la materia orgánica no deseada. En las zonas áridas desempeñan un papel ecológico importante como detritívoros y como fuente de alimento para diversos vertebrados. La sobrevivencia en estos ambientes es posible debido a ciertas características morfológicas, fisiológicas y conductuales que les permiten reducir la pérdida de agua y evitar las temperaturas letales. Los elementos traza son aquellos elementos que, aunque presentes en cantidades muy pequeñas, en los tejidos corporales, son nutrientes esenciales por desempeñar una serie de funciones indispensables para mantener la vida. El Cu (cobre) como elemento traza esencial es fundamental en diversos procesos fisiológicos y metabólicos como el crecimiento corporal, los mecanismos de defensa del huésped, el mantenimiento de la estructura ósea, entre otras. El objetivo del presente trabajo, fue evaluar la toxicidad de Cu en *T. molitor* durante el estadio larval, sobre parámetros morfométricos como el peso, coloración y movilidad por 96 h. Para esto, los tenebrios fueron sometidos a diferentes concentraciones de cobre (Cu) y un control negativo (agua destilada). Las concentraciones ensayadas fueron: 0,05 mg/l (conc. 1), 0,5 mg/L (conc. 2), 1 mg/L (conc. 3), 5 mg/L (conc. 4), 50 mg/L, (con. 5), 100 mg/L (conc. 6), 5000 mg/L (conc. 7). El número de réplicas fue igual

a 5 para cada concentración, colocando en cada placa 1 ml de solución sobre el papel de filtro. Los resultados obtenidos, con respecto al peso, fueron analizados estadísticamente como medidas repetidas, y no se observaron diferencias significativas entre tratamientos. Con respecto a la coloración, los tenebrios presentaron una coloración miel uniforme y normal a lo largo de todo el ensayo. La evaluación de la movilidad fue por pinzamiento a nivel de los segmentos medios, observándose en algunos organismos disminución de la misma, pero esto puede deberse al pasaje del estadio larval a pupa. También se observó, en algunos casos una tendencia a la ingesta del papel de filtro, el cual podría haber aumentado el efecto del Cu en los Tenebrios, pero no se obtuvieron diferencias significativas comparadas con las demás réplicas sin ingesta. Esto indicaría una posible resistencia elevada a la exposición y/o consumo de Cu. En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se observa que no hay un impacto negativo del Cu sobre los tenebrios en las concentraciones utilizadas. Dado que estas concentraciones son similares a las ambientales, se puede considerar que son organismo de elevado interés a nivel agropecuario, para compostar las tierras degradadas por la contaminación derivada de las prácticas veterinarias de suplementación mineral al ganado y compostaje de excretas de animales. La utilización de dicho modelo podría ser favorable para una ganadería sustentable.

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

<sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA). Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina. \*fvazquez@fvvet.uba.ar

# Crecimiento y simbiosis micorrícica arbuscular en leguminosas ante deficiencia y suficiencia de fósforo

MORALES, N; CHIPPANO, T; GARCÍA, I.

Los suelos de la Cuenca del río Salado se caracterizan por la deficiencia de P y la escasa presencia de leguminosas. El estudio concomitante de leguminosas (anual y perenne) ante el incremento de la disponibilidad de P y los microorganismos simbioses vinculados a la nutrición vegetal requiere de conocimientos básicos relacionados al comportamiento de ambas especies desde deficiencia hasta suficiencia de P, a fin de establecer pautas para mejorar el crecimiento vegetal. El objetivo del presente estudio fue analizar el crecimiento, colonización micorrícica arbuscular (MA) y nodulación de dos leguminosas como plantas índice, *Lotus tenuis* (perenne) y *Trifolium subterraneum* (anual), ante fertilización fosforada en un suelo deficiente en P de la Cuenca del río Salado. Se realizó un ensayo en macetas en un Natracuoll típico (3,7 mgP/kg Bray) en invernáculo. Se sembraron *Lotus tenuis* cv Esmeralda y *Trifolium subterraneum* spp. *brachycalycinum* en forma separada. Se incorporó al suelo (previo a la siembra) fertilizante fosforado como  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en dos dosis: 15 (baja) y 75 (alta) mg/kg, y un tratamiento control sin P (-P). 50 DDS se determinó: biomasa seca, colonización MA y nodulación. Las variables fueron descriptas a través de ANOVA (Infostat). *L. tenuis* incrementó 41% y 466% la biomasa del vástago producida ante 15 y 75 mgP/kg aplicado respectivamente en comparación con las plantas -P. En el caso de *T. subterraneum*, el incremento fue de 51% (dosis baja) y 225%

(dosis alta) en relación al tratamiento -P. La biomasa radical de *L. tenuis* aumentó 53% (dosis baja) y 296% (dosis alta), pero en *T. subterraneum* aumentó solo ante la dosis alta (132%) en relación a las plantas -P. La relación tallo:raíz aumentó en ambas especies ante la dosis alta de P. Las raíces de ambas especies presentaron altos niveles de colonización MA, y dichos valores disminuyeron en forma marcada ante la dosis alta de P en comparación con las plantas -P. La nodulación en ambas especies aumentó con las dos dosis de P, registrándose valores máximos ante 75 mgP/kg, 21,48 nódulos/gr PF en las raíces de *L. tenuis* y 13,42 nódulos/gr PF en *T. subterraneum*. Se concluye que es necesario potenciar la aplicación del P incorporando dosis bajas que permitan establecer una relación positiva entre la biomasa producida y la conservación de los microorganismos simbioses del suelo relacionados con la nutrición vegetal. Al disminuir la dosis de P aplicado al suelo, se establece un balance positivo entre el P disponible y el desarrollo de la micorrización en ambas especies con el concomitante aumento de la nodulación. Ambas especies pueden ser consideradas como modelo de estudio del impacto del incremento de la disponibilidad de P en el suelo sobre la microbiota asociada a sus sistemas radicales. Las prácticas que promuevan pasturas de leguminosas anuales o perennes favorecen el desarrollo de la micorrización y la conservación de las comunidades de hongos MA en sus raíces.

# Nuevas alternativas para minimizar el daño por isquemia-reperfusión en trasplante de órganos y su impacto en el proceso de rechazo, en un modelo experimental de trasplante intestinal

MOREIRA, JE<sup>1</sup>, RUMBO, M<sup>2</sup>; GONDOLESI, G<sup>3</sup>.

El trasplante intestinal (TI) está indicado en pacientes con insuficiencia intestinal con complicaciones al uso crónico de la nutrición parenteral total. Es el último en ser exitosamente trasplantado en humanos. Las consecuencias son la pérdida absorptiva, pudiendo complicarse por traslocación bacteriana y sepsis, hasta la falla multiorgánica. Recientes estudios asocian el grado de daño isquemia-reperfusión (IIR) con la activación de la inmunidad innata. Dentro de la clínica en la preservación del injerto se utilizan distintas soluciones, luego de una perfusión vascular del órgano, se reseca y se transporta hasta el hospital receptor. Se ha postulado que una alternativa para mejorar la preservación consiste en una intervención endoluminal con alguna solución que minimice el daño epitelial y preserve los enterocitos del IIR. Esta posibilidad no se ha estudiado en la práctica clínica aún. Nos proponemos optimizar esta última estrategia de preservación empleando distintos agentes de conocida acción anti-inflamatoria sobre la mucosa intestinal como la glutamina y el lactato, y analizar su combinación con el fármaco 17-allylamino-demethoxygeldanamycin (17-AAG) asociado con inhibición de Linfocitos T. Se utilizarán ratas Sprague Dawley (donantes) y Wistar (receptores), machos, adultos, de 230-250 gramos de peso. Se realizará la anastomosis intestinal y vascular, y dos ostomías para realizar el seguimiento y muestreo del injerto. Se seleccionarán condiciones probando la capacidad de preservación en un modelo de clampeo de la AMS: Se utilizarán 5 grupos

(incluidos controles) sometidos a 60' de clampeo de AMS con distintos tratamientos combinados de Glutation, y Lactato endoluminal, y 17-AAG sistémico. Se tomarán muestras de sangre en todos los casos a los 30', 2 hs y 24 hs post-reperfusión para determinaciones bioquímicas. A las 24 hs se sacrificarán los animales para estudios histopatológicos. Cada grupo incluirá 5 animales por tiempo de muestreo con sacrificio. Se evaluará lactato y LDH séricos como marcadores de estrés tisular, IL1- $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-6 en circulación por ELISA, y glutatión total, actividad Glutation-s-transferasa y Malondialdehído por HPC como indicadores de estrés oxidativo enzimáticos y no-enzimáticos in-situ. Estudios histológicos (Tinción con Hematoxilina/eosina, Tinción con Direct Red 80/ácido, Coloraciones con Direct Red 80/Fast Green y microscopía de polarización). Electroforesis en geles de agarosa de lisado e In situ TUNEL. Se analizará la capacidad de protección del fenómeno de IIR en un modelo de TX heterotópico comparando la condición seleccionada anteriormente con la técnica estándar de preservación y regímenes subóptimos de inmunosupresión (IS). De poder confirmar nuestra hipótesis, la utilización de una nueva técnica de preservación reduciría el IIR, lo cual disminuiría la respuesta propia de la inmunidad innata con la consecuente menor respuesta adaptativa, resultando en una menor incidencia de rechazo a igual régimen subóptimo de IS, dichos resultados podrían ser de interés para su aplicación en la práctica clínica humana.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Microbiología. <sup>2</sup>Universidad Nacional de La Plata, Departamento de Ciencias Biológicas. Instituto de Estudios Inmunológicos y Fisiopatológicos. <sup>3</sup>Fundación Favaloro, Universidad Favaloro, Cátedra de Cirugía general.

## Resultados preliminares: resistencia antibiótica en *Staphylococcus pseudintermedius* meticilino-resistentes aislados en animales de compañía (perros y gatos)

MOREIRA, JE; SMITH, VL; MAS, JA; SREDNIK, ME; COLOMBATTI OLIVIERI, MA.

Los estafilococos son microorganismos grampositivos aislados con frecuencia en el laboratorio de diagnóstico bacteriológico a partir de muestras clínicas provenientes de diversas infecciones en perros. *Staphylococcus pseudintermedius* es el patógeno aislado más frecuentemente en esta especie animal. Todos ellos poseen una gran capacidad para desarrollar resistencia (R) cuando son sometidos a presión selectiva por exposición a concentraciones subterapéuticas de antibióticos. Para disminuir este fenómeno es necesario un correcto uso de los antimicrobianos (ATM) y una estrecha vigilancia epidemiológica. Los comités de normatización del trabajo en el laboratorio, tal como el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), recomiendan los antimicrobianos que deberían utilizarse en la práctica diaria para optimizar la eficacia y disminuir el desarrollo de resistencia. Dado que, en muchas situaciones clínicas, la elección del antibiótico se efectúa de manera empírica, el conocimiento de los perfiles de sensibilidad a antimicrobianos en la población bacteriana local sería de gran utilidad. Por este motivo, el objetivo de este estudio es realizar un monitoreo del perfil de resistencia de las cepas de *S. pseudintermedius* meticilino-resistentes (SPMR) aisladas de perros y gatos frente a los antimicrobianos recomendados. Se determinó la susceptibilidad a diferentes

ATM según el esquema de Kirby Bauer en n=54 de SPMR identificados fenotípicamente a partir de muestras clínicas provenientes de perros y gatos de Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) y Gran Buenos Aires. La preparación de medios de cultivo, inóculo, parámetros de incubación, lectura de ensayos y puntos de corte para interpretar resistencia, se realizó respetando las normas del CLSI. Se utilizaron los siguientes ATM: Penicilina (PEN), Oxacilina (OXA), Cefoxitina (FOX), Eritromicina (ERY), Clindamicina (CLI), Ciprofloxacina (CIP), Gentamicina (GEN), Rifampicina (RIF), Cloranfenicol (CLO), Tetraciclina (TET), Doxiciclina (DO), y Trimetoprima+Sulfametoxazol (TMS+SXT). Las muestras provinieron de perros (74,1%), gatos (3,7%) y no especificado (22,2%). Los ATM evaluados obtuvieron las siguientes resistencias: OXA: 100%, PEN: 96,3%, ERY: 87,0%, TMS+SXT: 87,0%, CLI: 87,0%, CIP: 83,3%, CLO: 25,9%, TET: 14,8%, DO: 13,0%, GEN: 13,0%, FOX: 7,4% y RIF: 3,7%. Los aislamientos presentaron resistencia a betalactámicos, macrólidos, lincosamidas, fluoroquinolonas y sulfamidas, presentando la mayoría multiresistencia (98,1%). Estos resultados confirman la importancia de realizar una buena identificación del aislamiento clínico seguido de antibiograma para poder realizar una eficaz terapéutica antimicrobiana.

# Evaluación de las buenas prácticas de manejo y control de las parasitosis internas y externas en equinos deportivos

MORENO, F<sup>3</sup>; ERCOLE, M<sup>1</sup>; PASQUALETTI, MI<sup>1,2</sup>; RIBICICH, MM<sup>1,2</sup>.

Los parásitos en equinos en la actualidad son considerados responsables en la disminución del rendimiento y afección en el desarrollo durante su etapa juvenil. El medio ambiente donde se encuentran y el manejo aplicado sobre los mismos, repercute sobre la mayor o menor incidencia en la aparición de enfermedades parasitarias. Actualmente el uso indiscriminado de los antiparasitarios ha llevado a que aparezcan resistencias y dificultades en el manejo de nematodos, cestodes y protozoarios en esta especie animal. Los parásitos intestinales con mayor impacto en el rendimiento deportivo de los equinos corresponden a: *Anaplocephala* spp, *Parascaris equorum*, grandes strongylus (*Strongylus* spp), pequeños strongylus (subfamilia Cyathostominae), *Oxyuris equi*, *Strongyloides westeri* y *Dictyocaulus arnfieldi*. El poder identificar el tipo de parásitos y grado de infección permite evaluar la necesidad de aplicar o no un tratamiento, ya que algunos parásitos como *Strongylus vulgaris* son altamente patógenos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la carga de parásitos internos e identificar la presencia de ectoparasitosis, en un establecimiento en el cual los caballos se utilizan para fines deportivos y permanecen bajo estado de estabulación. Se realizó revisión clínica y toma de muestras de materia fecal a 101 equinos de razas criollo, puro argentino y cuarto de milla con edades entre 6 a 14 años.

Para la determinación de ectoparásitos se realizó la revisión clínica para detectar la presencia de piojos y lesiones producidas por ácaros de la sarna. Para evaluar la presencia de huevos de *Oxyuris equi* se realizó la toma de muestra perianal con el método de la cinta adhesiva. Las muestras de materia fecal fueron recolectadas y mantenidas en refrigeración hasta su evaluación en la Cátedra de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA. Las mismas se evaluaron mediante la técnica de huevo por gramo de materia fecal (hpg) con solución sobresaturada de cloruro de sodio y la técnica de Baerman. No se encontraron huevos de *Oxyuris equi*, *Dictyocaulus arnfieldi* ni parásitos externos. Los resultados de los hpg para grandes y pequeños strongylus mostraron que el 27,7% de los equinos presentaron valores superiores a 250 hpg, considerando una intensidad baja de infección 1-500 hpg, media de 500-1001 hpg y alta > 1001 hpg. En el 72,3% de los animales analizados los valores de hpg fueron inferiores a 250. Los resultados negativos en ectoparásitos y *Oxyuris equi* así como los bajos valores de hpg en equinos mantenidos con buenas prácticas de manejo (remoción de materia fecal, cepillado diario, alimentación adecuada) refuerzan la importancia de la prevención de las enfermedades parasitarias que afectan a los equinos deportivos y el uso racional de antiparasitarios para evitar la resistencia.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. <sup>2</sup>CONICET. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal. (INPA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Maestría en Medicina Deportiva del Equino. FCV UBA.

# Estudio de metilación por MS-HRM del promotor II del gen CAST bovino

MOTTER, MM<sup>1</sup>; CORVA, PM<sup>2</sup>; SORIA, LA<sup>1</sup>.

La Calpastatina, es una enzima involucrada en el proceso de tiernización *post mortem* de la carne y está codificada por el gen CAST, el cual posee cuatro promotores, tres de los cuales (I, II y III) originan las isoformas más abundantes en músculo esquelético. Las diferencias halladas en la cuantificación relativa de la expresión de cada una de las isoformas en músculos de dos razas bovinas (Angus y Brahman) indican diferencias en la actividad de cada promotor según músculo y/o raza. El análisis *in silico* de la secuencia de los promotores utilizando el programa *Methyl Primer Express 1.0* (Applied Biosystems<sup>®</sup>) mostró la existencia de islas CpG en los tres, siendo la más extensa la que corresponde al II. Las islas CpG abarcan la región promotora y el primer exón de algunos genes y su metilación actúa silenciando la transcripción, por lo tanto diferencias en los patrones de metilación de los promotores provoca variación en los niveles de expresión de los genes que controlan. La técnica de MS-HRM (*Methylation Sensitive-High Resolution Melting*) permite la identificación de diferencias en la metilación debido al cambio en la temperatura de fusión de las secuencias, comparándolas con patrones conocidos (0-100%). El objetivo de este trabajo fue utilizar la técnica MS-HRM para establecer la existencia de diferencias en la metilación de la isla CpG del promotor II en los músculos semitendinoso e infraespinoso de novillos Angus y Brahman, en los cuales se han encontrado diferencias en la expresión relativa de la isoforma II. El ADN extraído de 2 novillos de cada raza se transformó

con bisulfito (EZ DNA Methylation, Zymo Research<sup>®</sup>). Los oligonucleótidos se diseñaron utilizando *Methyl Primer Express 1.0* (Applied Biosystems<sup>®</sup>) permitiendo amplificar 147 pb que contiene 10 CpG, según lo inferido por el análisis *in silico*. Se generaron controles de 0, 25, 50, 75 y 100% de metilación para la obtención de una curva estándar. El producto 100% metilado se obtuvo *in vitro* en una reacción con la metilasa M-SssI NEB<sup>®</sup>. La mezcla de reacción de amplificación contuvo 10µl de MeltDoctor<sup>®</sup> HRM Master Mix (Applied Biosystems<sup>®</sup>), 5µM de cada oligonucleótido y 30ng de ADN en 20µl de volumen final. Se realizó el ciclado en un equipo *Step One Real Time PCR* (Applied Biosystem<sup>®</sup>) con 40 ciclos de 95°C 15 segundos, 60 °C 1 minuto, seguido de una curva continua de fusión con incrementos de 0.3°C desde 65°C a 95°C. Las salidas fueron analizadas mediante el módulo *High Resolution Melting V3.1*. La comparación de las muestras con el patrón de diluciones presentó diferencias entre las mismas en un rango de 25 a 75%, hallándose menor metilación en el semitendinoso de Brahman (25-50%) y mayor en el infraespinoso de Angus (50-75%), siendo intermedia (50%) en el semitendinoso de Angus y el infraespinoso de Brahman. Los resultados obtenidos permiten inferir que las diferencias halladas en la cuantificación relativa de la isoforma II de CAST en dichos músculos de dos razas bovinas estarían asociadas a diferencias en el grado de metilación de una isla CpG del promotor II de dicho gen.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Genética. CABA. Argentina. <sup>2</sup> Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Agrarias. Mar del Plata, Argentina.

# Intervalo parto-parto de ovejas Blackbelly con y sin suplementación mineral criadas en condiciones de pastoreo libre en la Amazonía ecuatoriana

MOYANO, JC<sup>1,5</sup>; MARINI, PR<sup>2,3,5</sup>; FISCHMAN ML<sup>4,5</sup>.

La raza Blackbelly ha recibido gran atención en los últimos años, ya que es una de las pocas razas ovinas de pelo criadas en el trópico, que presenta alta prolificidad y fertilidad. Sin embargo, a la fecha, dicho potencial de fertilidad en sistemas de la Amazonía no ha sido evaluado ni explotado debidamente. El objetivo de este trabajo fue determinar la eficiencia reproductiva de dos grupos de ovejas Blackbelly, con y sin suplementación mineral, en condiciones de pastoreo libre en la Amazonía Ecuatoriana. El ensayo se realizó entre enero de 2015 y febrero de 2018, periodo que incluyó cuatro partos. Se utilizaron 22 hembras, de 24 a 32 meses de edad, con un peso promedio y desvío estándar de 34±4 kg al inicio del ensayo. La alimentación fue de pastoreo libre, con pastizales en base de *Brachiaria brizantha* y *Arachis pintoii*. Los ovinos permanecieron en pastoreo de 7:00 am a 16:00 pm, siendo estabulados durante la noche con consumo de agua a voluntad. Se dividió las ovejas en dos grupos: G1, forraje más una suplementación (Pecutrin® Suplemento mineral más vitaminas A, D3 y E. Bayer HealthCare) diaria en forma continua después de su primer parto hasta finalizar el ensayo y G2, sólo forraje, sin suplementación mineral. Como indicador descriptivo de la eficiencia reproductiva se calculó el intervalo parto-parto promedio de todas las ovejas:  $ipp = \sum [fecha\ de\ parto\ i + 1 - fecha\ parto\ i / np]$ , en días, np= número de partos en la vida productiva

de las ovejas. Para el análisis de la progresión de la proporción de hembras de cada uno de los dos grupos en relación a la duración del intervalo parto-parto, se aplicó la técnica de Kaplan-Meier utilizada para el cálculo de curvas de supervivencia. El comportamiento de ambos grupos se comparó con la prueba log-rank (Mantel-Cox) constatándose diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,001$ ). Se observó que el 80 % de las ovejas de cada una de las categorías volvió a parir, en promedio, a los 208 días en el caso del G1 y a los 225 días en el caso del G2. Las ovejas del G1 presentaron un ipp (promedio ± error estándar) de 200,1 ± 3,3 días (6,6 meses) y las del G2, de 218 ± 2,8 días (7,1 meses). Más allá del significado estadístico de la diferencia entre ambos grupos, que podría ser explicada en parte por la suplementación recibida durante el ensayo por parte del G1, el significado biológico de la misma es relativo no sólo por lo exiguo de la diferencia sino porque aún están distantes del intervalo entre partos óptimo de 182 días que podrían tener las ovejas Blackbelly, lo que permitiría lograr dos partos por año en este ambiente. Estos resultados muestran que la fertilidad es una medida compleja y de funcionalidad multifactorial, además de ser influenciada por los genes y por el ambiente. Se concluye que la mejor eficiencia reproductiva, medida en este caso por el ipp, fue en el grupo de animales que recibió la suplementación mineral.

<sup>1</sup>Universidad Estatal Amazónica-Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica (CIPCA) - Ecuador. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias-Universidad Nacional de Rosario - Argentina. <sup>3</sup>Consejo de Investigaciones (CIC-UNR). <sup>4</sup>Universidad de Buenos Aires - Facultad de Ciencias Veterinarias - Argentina. <sup>5</sup>Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras.

# Composición histológica de las membranas basales del corazón de bovinos con deficiencia secundaria de cobre

NICASTRO, CN; POSTMA, GC; GAZZANEO, PD; GRECCO, A; OLIVARES, RWI; SCHAPIRA, A; MINATEL, L.

La deficiencia de cobre (Cu) o hipocuprosis es una de las deficiencias minerales más extendidas en nuestro país. La deficiencia secundaria de Cu es causada por su interacción con el molibdeno (Mo) y el azufre (S) de la dieta. El Cu juega un rol fundamental en el sistema cardiovascular, ya que es cofactor de varias enzimas, entre ellas la lisil oxidasa, que realiza los entrecruzamientos en las moléculas de elastina y colágeno. Nuestro grupo de investigación reportó un mayor depósito de tejido conectivo y un aumento en el espesor y fragmentación de las membranas basales (MB) del miocardio de bovinos con deficiencia secundaria de Cu. El objetivo fue estudiar si existían diferencias en las cantidades de colágeno tipo IV y laminina en las MB del corazón de bovinos con deficiencia secundaria de Cu. Se trabajó con muestras del ventrículo derecho de dos grupos (control y deficiente) de 9 novillos Holando Argentino cada uno, pertenecientes a dos ensayos similares de la Cátedra de Patología. Al momento de la eutanasia, los animales del grupo control tenían  $67,9 \pm 13 \mu\text{g/dl}$  de Cu plasmático y  $182,6 \pm 71,1 \mu\text{g/g MS}$  de Cu hepático, mientras que los del grupo deficiente tenían  $23,7 \pm 6,2 \mu\text{g/dl}$  y  $6,3 \pm 1,1 \mu\text{g/g MS}$ , respectivamente. Para la inmunomarcación del colágeno tipo IV se empleó un anticuerpo monoclonal anticógeno IV, clon J3-2 (Sigma, USA), y para la inmunomarcación de la laminina se utilizó un anticuerpo policlonal antilaminina, clon ab11575 (Abcam, UK), producido en conejo. Se empleó un sistema revelador Cytoscan HRP detection system (Cell Marque, USA) y una solución de cromógeno DAB substrate kit (Cell Marque,

USA). Como control positivo se utilizó riñón de bovino y como negativo se reemplazó el anticuerpo primario por solución salina buffer fosfato. Para la recuperación antigenética se utilizó olla a presión y buffer Tris-EDTA (pH=8). Se tomaron fotografías a ciego (8 para colágeno tipo IV y 7 para la laminina) a 630X por cada animal, utilizando una cámara Leica ICC50 HD más un microscopio Leica DM750 y un sistema de captura de imágenes soft LAS V412 (Leica Co). El análisis se realizó mediante Image J. Para cuantificar la inmunomarcación del colágeno tipo IV se realizó sobre cada imagen una deconvolución de colores en el canal HDAB, obteniéndose 3 canales de colores (1, 2 y 3). Sobre el canal 2 se aplicaron diversos filtros y se seleccionó el área de interés, calculándose el área de marcación positiva con respecto al área total de la imagen. Dado que la inmunomarcación para laminina fue débil y fragmentada, se realizó una evaluación semicuantitativa basada en el porcentaje de marcación positiva con respecto a la superficie total de la imagen (score 1  $\leq 5\%$ , score 2  $> 5-25\%$ , score 3  $> 25-50\%$  y score 4  $> 50\%$ ). Los datos obtenidos fueron comparados con Statistix 8.0, utilizando un test t de Student (colágeno tipo IV) y un test de Wilcoxon Rank Sum (laminina). La cuantificación de colágeno tipo IV fue de  $7,33 \% \pm 2,40 \%$  y de  $8,25 \% \pm 2,71 \%$  para los grupos control y deficiente, respectivamente ( $p = 0,4591$ ). Tampoco se observaron diferencias significativas para la laminina ( $p = 0,5687$ ). Se concluye que los animales deficientes no presentaron diferencias en la cantidad de colágeno tipo IV y laminina en las membranas basales del miocardio.

# Edades al primer parto y su relación con indicadores desagregados y agregados en vacas lecheras en un sistema de la cuenca centro de Santa Fe

NOVAIRA, B<sup>1,2</sup>; NOVAIRA, F<sup>3</sup>; MARINI, PR<sup>1,2,4</sup>.

El efecto de la edad al primer parto sobre su comportamiento productivo futuro, no ha sido ampliamente discutido o al menos en los sistemas a pastoreo no es claro. El objetivo del presente trabajo fue evaluar diferentes edades al primer parto y su relación con indicadores productivos y reproductivos agregados y desagregados aplicable a vacas lecheras mantenidas en sistemas a pastoreo. Se trabajó con registros de 255 vacas lecheras Holstein de primera lactancia terminada, provenientes del establecimiento Namuncurá ubicado en el Departamento San Martín, Provincia de Santa Fe. Se utilizaron registros de controles lecheros oficiales correspondientes a vacas paridas en el período: 2007 – 2015. Se incluyeron vacas con lactancias terminadas, partos-puerperios normales y sin enfermedades que limitaran su lactancia y/o fertilidad. Se estudiaron las siguientes variables desagregadas: edad al primer parto (EPP) en días, producción de leche por lactancia (PL) en litros, intervalo parto-concepción (IPC) en días, número de partos (NP), litros totales (LT)  $\Sigma$  de los litros totales sin ajustar y variable agregada: índice de leche (producción de leche por día de vida) = IL, (il: LT/ e e: edad en días al finalizar la lactancia). Las vacas se ordenaron de menor a mayor edad al primer parto, y se las dividió en tres grupos de igual número (n) de vacas: baja (b, 85), media

(m, 85) y alta (a, 85) edad en días. Se estimaron los promedios y errores estándar de las variables analizadas por categoría de producción y se probó si existían diferencias significativas entre categorías mediante las pruebas de Análisis de la Variancia y comparación de medias (test de Duncan,  $p < 0,05$ ), y para el (NP) se utilizó el análisis de la variancia por rangos de Kruskal-Wallis. Los resultados mostraron para EPP (días) 743±79c, 891±39b, 1060±83a, PL (litros) 5833±92b, 6107±107b, 6736±131a; IPC (días) 208±12a, 174±9,8a, 179±11a; NP 4 (1-9)a, 3 (1-7)ab, 3 (1-7)b; LT (litros) 27927±1600a, 25066±1462ab, 22603±1275b y IL (litros) 11,5±0,3a, 10,5±0,3ab, 9,4±0,3b. Letras diferentes (a, b y c) indican diferencias significativas entre categorías, dentro de cada categoría ( $p < 0,05$ ). El criterio utilizado permitió diferenciar tres categorías de edad al primer parto con diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ). Las vacas de menor edad al primer parto (24 meses) fueron las de menor PL, mayor IPC, mayor NP, L e IL. En el otro extremo las vacas con mayor edad al primer parto (34,7 meses) fueron las de mayor PL, IPC lejos del óptimo, menor NP, L e IL. Se concluye que las vacas que paren en la categoría de baja edad al primer parto mostraron los mejores comportamientos de los indicadores desagregados y agregados para evaluarlas en sistemas a pastoreo.

<sup>1</sup>Cátedra de Producción de Bovinos de Leche. <sup>2</sup>Centro Latinoamericano de Estudios de Problemáticas Lecheras (CLEPL). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. Argentina. <sup>3</sup>Actividad privada. Argentina. <sup>4</sup>Carrera del Investigador Científico (CIC-UNR). Argentina. pmarini@unr.edu.ar

# Diagnóstico mediante amplificación isotérmica de ADN de parvovirus canino - LAMP

NOVELLINO, G<sup>1</sup>; BUCAFUSCO, D<sup>1</sup>; BARRIOS BENITO, M<sup>1</sup>; BRATANICH, A<sup>1</sup>; PALACIOS, C<sup>1,2</sup>; GALDO NOVO, S<sup>1</sup>.

El parvovirus canino (CPV) es un virus pequeño, desnudo, de genoma ADNsc, con aproximadamente 5000 bases que codifican para proteínas estructurales (VP1, VP2, VP3) y proteínas no estructurales (NS1 y NS2), y es el principal causante de enteritis viral canina y uno de los responsables de muerte neonatal en cachorros. Las cepas CPV-2a y CPV-2b, se encuentran distribuidas mundialmente. En el año 2001 una mutación dio origen a la variante CPV-2c, la cual actualmente se encuentra en Europa, Australia y Norte y Sur de América. Dada la magnitud de la distribución de este agente viral y la patología que genera en sus huéspedes, resulta fundamental tener al alcance un método diagnóstico capaz de identificar la presencia del mismo de manera rápida, confiable, específica, sensible, práctica y económica. La técnica de amplificación isotérmica de ácido nucleico (LAMP, del inglés *Loop mediated isothermal amplification*) consiste en la amplificación y detección de fragmentos específicos de ácido nucleico en condiciones constantes de temperatura, utilizando dos pares de cebadores específicos, mediante el uso de un equipamiento básico para asegurar las condiciones de la reacción. Las ventajas de esta técnica son su alta sensibilidad, especificidad, en

relación a la baja complejidad del equipamiento necesario, brindando la posibilidad de una lectura rápida a campo. El objetivo de este trabajo fue evaluar si con esta aplicación se puede reemplazar la técnica de PCR utilizada actualmente para el servicio de diagnóstico de CPV ofrecido por el laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. Se analizaron 58 muestras de contenido de raspaje intestinal, las cuales se testearon previamente por PCR. Para la realización de la técnica de LAMP se siguió el protocolo de Mukhopadhyay y cols., 2013. Los productos finales de reacción se analizaron mediante electroforesis en geles de agarosa, observando en las muestras positivas un patrón de bandas característico. De las 58 muestras totales evaluadas a la fecha, 24 muestras fueron positivas (41,37%) al ser analizadas por LAMP. Este resultado reveló un 12 % más de muestras detectadas en relación al diagnóstico por PCR. Estos resultados preliminares sugieren que la técnica podría ser considerada como opción en el diagnóstico; para evaluar la posibilidad de reemplazo de la técnica de PCR por LAMP, un mayor número de muestras deben testearse y realizar un análisis estadístico de correlación entre los resultados PCR junto con los resultados de LAMP.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Virología Animal, Avenida Chorroarín 280 (1427) Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Fundación Pablo Cassará, Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. C. Milstein. CONICET, Saladillo 2452, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>\*</sup>sgaldonovo@fvet.uba.ar

# Nuevas herramientas para el control de la fiebre aftosa

NUÑEZ, D<sup>1</sup>; IBAÑEZ, I<sup>2</sup>; ZIRALDO, M<sup>1</sup>; SPERAT, W<sup>2</sup>; LÓPEZ, N<sup>1</sup>; MATTION, N<sup>1</sup>, D'ANTUONO, A<sup>1</sup>.

La Fiebre Aftosa (FA) es la enfermedad infecciosa más importante que afecta a especies de interés pecuario, y su agente etiológico es el virus de la fiebre aftosa (VFA). Brotes de FA en países previamente libres de la enfermedad han puesto de manifiesto la necesidad de desarrollar estrategias de control que puedan rápidamente inhibir o limitar la expansión de la enfermedad, complementando la vacunación en anillo y/o sistemática. El objetivo general de este trabajo es desarrollar nanoanticuerpos (VHH) contra las proteínas no capsidales (PNC) del VFA, las cuales poseen determinantes antigénicos conservados que participan en interacciones homo o heterotípicas funcionalmente relevantes. La hipótesis de trabajo es que la interrupción de dichas interacciones mediante VHH específicos interferiría con la multiplicación viral. Para cumplir con el objetivo inicialmente se expresaron en forma soluble las proteínas no capsidales 3B, 3C y 3D del VFA O1Campos como fusiones a una etiqueta de histidina. Las proteínas purificadas por cromatografía de afinidad fueron inoculadas en una llama. Una vez verificada la respuesta inmune inducida contra cada uno de los antígenos, se construyó una biblioteca de VHH a partir de linfocitos en sangre total periférica del animal inmunizado. A partir de esta biblioteca inmune se obtuvieron mediante la metodología de *Phage Display* colecciones enriquecidas en bacteriófagos que expresan en su superficie VHH específicos contra las proteínas 3B, 3C y

3D del VFA. Para ello se realizaron 3 rondas de selección en placas *multiwell* sensibilizadas con cada una de las PNC (5 µg/ml), en cada una de las cuales los bacteriófagos unidos a la proteína blanco fueron eluidos por clivaje con tripsina. Los bacteriófagos obtenidos en la primera ronda fueron amplificados y utilizados para dos rondas adicionales en condiciones idénticas a la anterior. En cada ronda se incluyó como control negativo a la proteína GST, siguiendo el mismo protocolo de incubación, lavado y elución. Así se logró un enriquecimiento en fagos específicos para 3B en al menos 10 veces respecto al control negativo. Por otro lado, para 3C y 3D se logró un enriquecimiento en fagos específicos en al menos 100 veces respecto al control negativo. Posteriormente, se determinó, por medio de un ensayo de ELISA, que un 53 % de un grupo de 100 clones elegidos al azar reconoció específicamente la proteína 3B. El porcentaje de clones positivos para las proteínas 3C y 3D fue de 67 y 78%, respectivamente. En conclusión, a partir de una biblioteca de nanoanticuerpos derivada de una llama inmunizada con las proteínas 3B, 3C y 3D de la cepa O1Campos del VFA, se lograron seleccionar VHH específicos contra los antígenos de interés. Estos nanoreactivos constituyen importantes herramientas biotecnológicas que podrían ser aplicables al control de la FA, por ejemplo como antivirales aplicables a cepas emergentes no incluidas en la vacuna actual.

<sup>1</sup>Centro de Virología Animal CONICET – SENASA. <sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología “Dr. César Milstein”.

# Administración de Ciprofloxacina para el tratamiento complementario de otitis externas.

PAES RODRÍGUEZ, J; STRANGES, A; ALBARELLOS, G.

Ciprofloxacina es una fluoroquinolona con actividad sobre enterobacterias (*E. coli*, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp), *Pseudomonas aeruginosa* y algunos cocos gram-positivos (*Staphylococcus* spp.). Pero el grado de susceptibilidad de los microorganismos es variable, siendo las más sensibles las enterobacterias. Este antibiótico se administra por vía oral como comprimidos y también puede administrarse por vía parenteral (intravenosa). Se distribuye ampliamente por los distintos tejidos, se metaboliza parcialmente y se elimina principalmente por la orina. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de concentraciones de ciprofloxacina en la luz del oído de caninos luego de su administración intravenosa y oral a caninos. Se emplearon 6 caninos de raza Beagle a los que se les administró ciprofloxacina intravenosa (10 mg/kg) y oral (25 mg/kg) en un diseño cruzado, con diferencia de 15 días al cabo de los cuales todos los animales recibieron los dos tratamientos (intravenoso y oral). Luego de la administración del antibiótico (tiempo 0) se realizó la toma de muestra del oído mediante un hisopo previamente humedecido en solución fisiológica (1 ml) que luego se depositó en un tubo Kahn con el resto de 1 ml de solución fisiológica. Los tiempos establecidos para la toma de muestra fueron a los 0 y 30 minutos y a

las 1, 2, 4 y 8 horas, alternando la oreja en cada toma de muestra. Las muestras se conservaron a -20°C hasta su procesamiento por el método microbiológico, empleando como bacteria patrón a *Klebsiella ATCC 10031* y confrontando las concentraciones de las muestras a una curva estándar construida con concentraciones conocidas de ciprofloxacina (de 5-0.019 ug/ml) en agua destilada. Luego de su incubación a 34°C por 18 horas, se leyeron los diámetros de los halos. Las concentraciones de las muestras se determinaron mediante el programa GraphPad Prism® 5.0. Se encontraron concentraciones de ciprofloxacina que estuvieron en el rango de 0,05-0,15 ug/ml (para la administración intravenosa) y de 0,01-0,14 ug/ml (para la vía oral). Si bien las concentraciones de ciprofloxacina halladas en los oídos resultaron muy bajas, y sólo de utilidad para microorganismos con elevada susceptibilidad como enterobacterias ("wild type") cuya CIM reportada es de 0,015 a 0,06 ug/ml (Gíguere *et al.*, 2013), estas concentraciones podrían ser una ayuda complementaria al tratamiento local con fluoroquinolonas para otitis producidas por microorganismos susceptibles. Los resultados presentados son datos preliminares, dado el reducido número de animales utilizados. Para corroborarlos sería necesario ampliar la muestra y cotejar con estudios clínicos que los avalen.

# Determinación de la sensibilidad a clindamicina de estafilococos aislados a partir de infecciones en caninos y felinos. Comunicación preliminar

PASSINI, S<sup>1</sup>; MAS, J<sup>2</sup>; SREDNIK, M<sup>2</sup>; ALBARELLOS, G<sup>1</sup>.

La determinación de la sensibilidad *in vitro* de un microorganismo a un determinado antimicrobiano se puede realizar a través de distintas técnicas. Una de ellas denominada macrodilución en caldo. Esta permite establecer la concentración inhibitoria mínima (CIM) enfrentando un número estándar de las bacterias a evaluar con concentraciones decrecientes del antibiótico. Luego de incubadas se establece la CIM en la concentración correspondiente al primer tubo sin desarrollo bacteriano visible. Acorde al valor obtenido de CIM se clasifican los microorganismos como susceptibles, intermedio o resistente a dicho antimicrobiano según los puntos de corte de la CLSI. Y por otro lado, la CIM también nos permite estimar el predictor de eficacia clínica adecuado para optimizar la terapéutica antimicrobiana. El objetivo de este trabajo fue la determinación del patrón de susceptibilidad a clindamicina en estafilococos causantes de infección en muestras provenientes de caninos y felinos. Las bacterias fueron provistas por un laboratorio veterinario privado. Los aislamientos (n=17) se realizaron a partir de muestras de infecciones en caninos (n=13) y felinos (n=4), todos *Staphylococcus pseudintermedius* excepto un *S. aureus*. El inóculo se preparó a partir de las colonias puras, a una concentración de  $5 \times 10^5$

UFC/ml. Y se enfrentó a diluciones seriadas y decrecientes en base 2 de clindamicina (a partir de 4 mcg/ml). Se incubó a 35° durante 18-24hs. y se leyó el primer tubo sin desarrollo visible correspondiente a la CIM. Acompañando cada ensayo se realizan los controles de esterilidad del caldo y recuento del inóculo. Los puntos de corte se tomaron a partir del CLSI siendo susceptibles aquellos con una  $CIM \leq 0,5$  mcg/ml, intermedio 1-2 mcg/ml y resistentes  $\geq 4$ mcg/ml. De los 17 estafilococos evaluados, 10 (3 felinos y 7 caninos) resultaron susceptibles con una  $CIM = 0,12$  mcg/ml., 1 intermedio (canino)  $CIM = 1$ mcg/ml y 6 (1 felino y 5 caninos) resistentes  $CIM > 4$  mcg/ml. El 40% de los estafilococos evaluados resultaron resistentes a clindamicina. Este porcentaje es menor al obtenido en un estudio realizado en la Facultad de Cs. Veterinarias de La Plata, por Giacoboni, G.I. y col. (2017), donde encontraron entre un 55 a 60% de resistencia a clindamicina en piodermias caninas causadas por *S. pseudintermedius*. La sensibilidad a clindamicina de los estafilococos causantes de infección en caninos y felinos fue del 60%. Para corroborar que estos resultados sean representativos de la población será necesario continuar con el estudio de un mayor número de aislamientos.

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

# Validación de un método analítico por HPLC para la cuantificación de Meloxicam en plasma canino

PASSINI, S; ALBARELLOS, G; MONTOYA, L.

El Meloxicam (MLX) es un antiinflamatorio no esteroide usado ampliamente en medicina veterinaria para tratar patologías que cursan con inflamación y dolor. Los estudios farmacocinéticos son necesarios para poder recomendar y protocolizar esquemas posológicos. La medición plasmática de MLX es necesaria para tal fin. Cualquier método analítico que se desarrolle debe validarse, es decir, se debe confirmar y documentar que los resultados por él producidos, sean confiables. El objetivo de este trabajo fue presentar los resultados correspondientes a la validación del método analítico por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para la determinación de MLX en plasma de caninos. La metodología para la detección de MLX se adaptó a partir de los procedimientos descritos previamente (Velpandian, 2000; Abd Elbary, 2001). Se utilizó un Cromatógrafo Líquido Thermo Fisher Scientific UltiMate 3000®, equipado con bomba gradiente, autosampler WPS-3000, detector Gilson de UV/Vis 151 y Interface 506 C. Para la adquisición y procesamiento de los cromatogramas se utilizó el programa software Chromeleon 6.8°. Se empleó como fase móvil una mezcla buffer diamonio hidrógeno ortofosfato (50 mM), metanol y acetonitrilo (50% buffer, 40% MeOH y 10% ACN) y columna de HPLC Phenomenex® C18 de fase reversa (125 x 4,6 y tamaño de partícula 5 µm) con precolumna C18 (4 x 3.0). Se trabajó a un

flujo de 1 ml/min y se empleó detección UV a 364 nm. Se construyeron curvas estándar en fase móvil y plasma canino comprendidas en un rango de concentración de 10 µg/ml a 0,03 µg/ml de MLX. La preparación de las muestras plasmáticas (400 µl) se llevó cabo con una precipitación de proteínas con acetonitrilo (1:2), evaporación con N<sub>2</sub> y resuspensión en 250 µl de fase móvil. Los criterios de validación del método cromatográfico fueron tomados según lo recomendado por Guidance for Industry, bioanalytical Method Validation (2001). Los parámetros de validación evaluados fueron: especificidad, linealidad, exactitud, precisión (repetibilidad intradía y repetibilidad interdía). El método desarrollado fue lineal en el intervalo de concentraciones seleccionado (0,03 µg/ml-10µg/ml) con un coeficiente de correlación mayor a 0,9995. La precisión y exactitud fueron menores al 15% para todas las concentraciones evaluadas, incluido el límite de cuantificación (LOQ 0,03 µg/ml). El porcentaje de extracción fue del 85% (CV 7%). El método para la determinación de MLX en plasma canino por HPLC/UV fue preciso y exacto, con un límite de cuantificación de 0,03 µg/ml. El método es sencillo y rápido de realizar. Se utiliza poco volumen de solvente orgánico lo cual produce menos residuos para el medio ambiente. Este método será suficientemente sensible para su aplicación en estudios farmacocinéticos de meloxicam en caninos.

# Expresión y purificación de nanoanticuerpos con diferentes formatos para la detección de la proteína HA de influenza y la inhibición de la infección viral

PAVAN, MF; GOMEZ, JM; IBAÑEZ, LI.

El virus de influenza causa infecciones respiratorias en humanos y animales, y es el responsable de epidemias estacionales en todo el mundo. Hasta ahora, las vacunas son la medida más efectiva para prevenir dichas infecciones. Por otra parte, los antivirales representan una segunda estrategia para el control de la infección. Sin embargo, la aparición de múltiples cepas resistentes a estos antivirales ha marcado la necesidad de una mejora en el desarrollo de fármacos y de nuevas estrategias de antivirales. Teniendo en cuenta esta necesidad, se han desarrollado nanoanticuerpos (NAcs) que reconocen la proteína HA del virus de influenza A. Los NAcs corresponden a la región variable de los anticuerpos de cadena pesada de camélidos y poseen ventajas en relación con los anticuerpos monoclonales, como su pequeño tamaño, gran estabilidad, alta solubilidad y especificidad y producción a menor costo. En este trabajo proponemos expresar y purificar los NAcs desarrollados y estudiar el reconocimiento de los mismos frente a distintos tipos de virus de influenza. A su vez, se plantea estudiar la capacidad inhibitoria de los NAcs monovalentes frente a la infección viral en un modelo de ratón. Para la expresión de los NAcs monovalentes y bivalentes se utilizaron bacterias BL21, las cuales fueron transformadas con vectores que contienen la secuencia de los NAcs. Los NAcs se extrajeron desde periplasma

mediante *shock* osmótico y la purificación de los mismos se realizó mediante cromatografía de afinidad utilizando resinas de níquel. Tanto la expresión como purificación de los NAcs se analizó mediante *Western Blot* y teñido con *Coomassie Blue Brilliant*. Por otra parte, la capacidad de unión de los NAcs a los distintos tipos de virus de influenza se analizó mediante la técnica de ELISA, en donde se cubrieron microplacas (Maxisorp) con diluciones conteniendo 16 unidades hemaglutinantes de los virus. Para el estudio de la capacidad inhibitoria, se utilizaron ratones BALB/c, a los que se administró intranasalmente NAcs en diferentes concentraciones, seguido de un desafío con el virus pH1N1. El peso de los ratones se monitoreó durante 14 días. Se lograron producir NAcs monovalentes y bivalentes puros y con rendimientos considerables, que tienen capacidad de reconocimiento heterotípica (reconocen virus de distintos grupos filogenéticos). A su vez, los estudios preliminares en modelo de ratón mostraron que los NAcs poseen cierta tendencia a proteger de la infección viral. En este trabajo demostramos que es posible producir NAcs, que reconocen distintos tipos de virus de influenza, de manera sencilla, a bajo costo y con mucha pureza. Los NAcs generados serán utilizados para continuar con estudios *in vitro* e *in vivo* de la inhibición de la infección viral.

# Ensayos de biosorción de formulaciones de plaguicidas como una herramienta para predecir eficacia en campo

PEDRAZA, CB<sup>1</sup>; OJEDA, CA<sup>1,2,3</sup>; PESSAGNO, RC<sup>1,2,3</sup>.

Los plaguicidas necesitan de coadyuvantes para cumplir su función. En particular, en las formulaciones de herbicidas sistémicos se utilizan ciertos tensioactivos, siendo uno de sus mayores propósitos el ayudar a traslocar el principio activo para que pueda ejercer efecto en su sitio de acción específica. Los coadyuvantes utilizados son a menudo los componentes más tóxicos de los formulados comerciales, como es el caso del tensioactivo polioxietil amina (POEA), sumándose el posible sinergismo de los mismos con el consecuente incremento de la toxicidad. Si bien la práctica agroecológica demuestra ser sustentable, hasta que se haga extensivo su uso ciertos sectores seguirán utilizando plaguicidas para abastecer a la población mundial. Para mitigar dicho impacto nuestro grupo de trabajo desarrolla formulaciones con tensioactivos de origen natural u obtenidos a partir de estos recursos, con el doble propósito de bajar la toxicidad de las formulaciones y hacerlas más eficientes para lograr menores dosis de aplicación en campo. Los formulados fueron preparados con tensioactivos como los alquilglucósidos y saponinas, por la capacidad de esta última de ayudar a atravesar la cutícula cerosa de las hojas. En ensayos a campo dichas formulaciones de menor toxicidad demostraron tener la misma eficacia, o incluso mejor. El objetivo del presente trabajo fue comparar la biosorción de glifosato sobre una maleza susceptible a dicho herbicida y relacionarlo

con los ensayos agronómicos para establecer si es posible predecir el comportamiento de una formulación en el laboratorio para ser aplicado a campo. Para ello se realizaron ensayos de biosorción en una variedad de *Sorghum halepense* (Sh) susceptible a glifosato para la mejor formulación obtenida en el laboratorio y un formulado comercial. Las hojas se secaron en estufa 24 hs a 60°C, se procesaron y tamizaron. Para la formulación se sintetizó glifosato de potasio 540 gr de e.a/L. Se realizaron los respectivos blancos. Los ensayos se realizaron a pH y temperatura controlada. Las mediciones del sobrenadante se realizaron por HPLC con derivatización con detector de fluorescencia en el Laboratorio de Servicios Analíticos Especiales-FAUBA. Los resultados obtenidos muestran que se biosorbieron 8,9 micromoles de glifosato/gr de Sh y 3,9 micromoles de glifosato/gr de Sh para la formulación desarrollada y la comercial respectivamente. Analizando los resultados obtenidos a escala laboratorio se observa que se biosorbe más de la formulación desarrollada por el grupo conteniendo saponina. Esto está de acuerdo con los resultados a campo evidenciando la alta correlación con el experimento. Esto confirma que es posible realizar ensayos en laboratorio para predecir el comportamiento en campo de una formulación, pudiéndose evitar ensayos costosos, contaminantes dependientes del tiempo y la estacionalidad.

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

<sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA). Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>CONICET - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Buenos Aires, Argentina. \*rpessagno@fvvet.uba.ar

# Oxidación lipídica y daño en ADN en sangre periférica de perros suplementados en la dieta con aceite de pescado

PELLEGRINO, FJ<sup>1,2,3</sup>; RISSO, A<sup>1,2,3</sup>; GAMBARO, R<sup>3</sup>; CORRADA, Y<sup>1,2</sup>; SEOANE, AI<sup>2,3</sup>.

El aceite de pescado (AP) es rico en ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y es la principal fuente de los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). Cuando se suplementa la dieta canina con AP, EPA y DHA se incorporan en las membranas celulares, siendo asociado a beneficiosos sobre la salud. Sin embargo, dado que la presencia de dobles enlaces en su molécula aumenta el riesgo de oxidación lipídica, es importante evaluar si la suplementación con AP induce estrés oxidativo para evitar el potencial daño de estructuras sensibles como lípidos y ADN. Por lo expuesto, el objetivo fue estimar el efecto de la suplementación de la dieta canina con AP sobre los procesos de oxidación lipídica y la inducción de daño en ADN en sangre periférica. Este estudio fue aprobado por el comité institucional de cuidado y uso de animales de laboratorio (FCV-UNLP). Se incluyeron 8 perros machos sanos enteros de propietarios particulares, de razas Weimaraner (n=2), Bóxer (n=4) y mestizos (n=2), de 4 a 9 años de edad, de 25 a 35 kg de peso y con una condición corporal de 3/5 puntos. El estado de salud se evaluó mediante examen clínico y análisis sanguíneo y bioquímico. En las 4 semanas previas al inicio se realizó el cambio gradual a la dieta control (Línea Balanced®, Vitalcan). Las raciones diarias de alimento (kcal/día) se controlaron de acuerdo a los requerimientos energéticos de mantenimiento (MER = 132 x kg de peso corporal<sup>0,75</sup>). Se realizó un diseño experimental en el cual los perros fueron aleatoriamente asignados a dos

grupos durante 90 días: control (CG, n=4), recibió diariamente la dieta control; AP (APG, n=4), recibió diariamente la misma dieta más una cápsula con 1000 mg de AP (EPA, 232 mg; DHA, 136 mg). Se obtuvo un consentimiento por escrito de cada propietario en el cual se comprometían a administrar solamente las dietas bajo estudio. Los días -1, 30, 60 y 90 se recolectaron muestras de sangre de cada perro por venopunción periférica, previo ayuno de 12 horas. La sangre fue centrifugada y el suero separado para evaluar el estado oxidativo a través de la concentración sérica de malondialdehído (MDA) mediante la técnica de T-bars. El daño en ADN se determinó por medio del ensayo cometa y se calculó el % de índice de daño (ID). Los datos se analizaron con el Proc Mixed de SAS. El diseño de medidas repetidas en el tiempo incluyó el efecto aleatorio de los perros y el efecto fijo del tiempo, tratamiento e interacción tiempo por tratamiento. El nivel de significancia fue  $P < 0,05$ . El APG tuvo menor concentración de MDA al día 60 (CG, 274,1 ± 61,6 nM; APG, 88,7 ± 61,6 nM) y menor ID al día 30 (CG, 13,7 ± 2,5 %; APG, 6,5 ± 2,5 %), 60 (CG, 14,7 ± 2,5 %; APG, 3,5 ± 2,5 %) y 90 (CG, 15,5 ± 2,5 %; APG, 3,0 ± 2,5 %) en comparación con el CG ( $P < 0,05$ ). La suplementación de la dieta con AP no induce oxidación lipídica y daño en ADN en sangre periférica de caninos. Por el contrario, se muestra beneficiosa para reducir la concentración sérica de MDA y el daño en ADN. Se requieren más estudios para esclarecer los mecanismos que podrían generar tales reducciones.

<sup>1</sup>Laboratorio de Fisioterapia Veterinaria (LAFIVET), Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional de La Plata (UNLP). <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>3</sup>Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout" (IGEVEV, UNLP-CONICET LA PLATA), FCV.

# Participación estudiantil en el registro ecográfico de datos de interés para estimar parámetros gestacionales en la raza frisona del tambo ovino de la FCV-UBA

PEÑA, A; SCHUH, MA; SESTO, I; VENDITTI, N; CARANCCI, P.

En la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA, funciona un tambo de ovinos, compuesto por una majada de 30 animales de la raza Frisona. El mismo es utilizado, tanto con fines productivos como didácticos, en el marco de los *Trabajos prácticos* de la materia Producción de ovinos y de la *Pasantía: Tambo de pequeños rumiantes*; ambas a cargo de la Cátedra de *Producción de Ovinos*. Conocer más acerca de esta raza de producción lechera resulta de particular interés ya que no se cuenta con registros suficientes sobre sus características productivas en Argentina. Con la intención de contribuir a la caracterización de parámetros productivos de la raza, uno de los trabajos que se viene llevando a cabo desde la cátedra, es la incorporación del ultrasonido durante la gestación con la finalidad de poder construir tablas de referencia para determinar edad fetal y fecha probable de parto en esta raza. Estos registros permitirían eficientizar el manejo reproductivo y nutricional en estado gestacional y planificar la dinámica de la majada en establecimientos de producción lechera. En el marco de este trabajo se incorporan estudiantes que participan de la cursada, del voluntariado y de la pasantía. El objetivo de este trabajo fue dar cuenta de la participación estudiantil en la confección de los registros ecográficos y comunicar acerca de la formación que se brinda en esta temática.

Las actividades que llevan a cabo son teóricas y prácticas. Los estudiantes, guiados por un docente, desarrollan la destreza en el uso del ultrasonido aplicado al diagnóstico gestacional y se capacitan en la adquisición de habilidades básicas para interpretar los hallazgos ecográficos (determinar el estado reproductivo, estimar número de fetos y fecha probable de parto). Además colaboran en la confección, llenado e interpretación de planillas de registro de los datos relevados. Durante el año 2017 se trabajó con 24 ovejas preñadas a las que se les realizó un seguimiento gestacional semanal iniciando 2 meses pre-servicio y finalizando 15 días antes de la fecha estimada de parto. Durante el año 2018 se trabajó con un plantel de 20 ovejas preñadas y se realizaron ecografías mensuales hasta 2 meses previos a la fecha probable de parto. De estas actividades participaron 120 estudiantes. En el transcurso de estos años se obtuvieron datos que aportaron a la construcción de registros sobre parámetros gestacionales en la raza frisona. Reviste especial importancia el hecho de que siendo optativa la participación estudiantil, ha despertado un gran interés en el aprendizaje de la técnica ecográfica aplicada a la producción lechera y en continuar con actividades para la caracterización de la raza frisona, constituyendo además una aproximación al ámbito de la investigación y de la extensión universitaria.

# Estudio genotípico de *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* por medio de herramientas de secuenciación de alto rendimiento

PÉREZ, A<sup>1,3</sup>; GUILLEMI, E<sup>1,2</sup>; FARBER, M<sup>2</sup>; MESPLET, M<sup>1</sup>; MUÑOZ, A<sup>1</sup>.

*Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) es un patógeno oportunista, considerado parte de la microbiota normal de nasofaringe y vagina de los equinos. Se lo asocia con enfermedades como neumonías, abscesos y falsa adenitis, siendo además el principal productor de endometritis en yeguas. Se caracteriza por su alta variabilidad genética y tiene la capacidad de infectar a diferentes especies animales las que pueden actuar como potencial reservorio del agente y transmitirlo al humano. El objetivo de este trabajo será caracterizar aislamientos de *S. zooepidemicus* mediante genotipificación de genes blanco. El análisis de 48 genes por aislamiento permite ampliar la tipificación del genoma, de aquella obtenida por otros sistemas. Se seleccionaran genes no sometidos a presión de selección, como son los genes *housekeeping*, y genes relacionados a la patogenicidad. En el primero de los casos se amplificarán los genes del esquema MLST (*Multilocus Sequence Typing*) desarrollado para *S. zooepidemicus*: 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*); y para el estudio de factores de patogenicidad se incluirán genes relacionados a la expresión de cápsula, la proteína SZP,

superantígenos, sistemas fosfotransferasas, resistencia antibiótica y genes relacionados con la producción de biofilm. Se estudiarán 48 aislamientos de *S. zooepidemicus* de aparato respiratorio y reproductivo de equinos sanos y muestras clínicas identificados durante los años 2005 a 2017 conservadas a -20 °C en glicerol en el cepario de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Se evaluarán los genes seleccionados en una PCR multiplexada basada en microfluídica (mmPCR-Seq), a través del equipo *Access Array de Fluidigm*<sup>®</sup>, seguido de secuenciación por *MiSeq* de *Illumina*, disponibles en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología, CICVyA de INTA. El análisis bioinformático se hará mediante el paquete “*Genome Analysis Toolkit* (GATK)” usando como insumo las lecturas de mmPCR-seq. Este sistema permitirá la generación de grandes cantidades de información genómica, aumentando los niveles de cobertura, aportando ventajas de procesividad, menores costos por dato, automatización del análisis y capacidad de evaluar varios aislamientos paralelamente. El estudio de la caracterización genotípica de las cepas aisladas es de fundamental importancia en la prevención de las diferentes patologías que ocasiona este agente en la especie equina y en otras especies animales, incluso en el hombre.

Este trabajo fue financiado por el Proyecto UBACyT 20020170200241BA.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>2</sup>Instituto de Biotecnología, IOBIMO-INTA, Castelar. Buenos Aires. Argentina. <sup>3</sup>Becaria Maestría UBACyT.

# Descripción de la efectividad analgésica del vendaje funcional en lesiones sacroilíacas del equino

PÉREZ, D<sup>1</sup>; GARCÍA LIÑEIRO, JA<sup>2</sup>.

El vendaje neuromuscular (*kinesiotaping*) fue diseñado para facilitar el proceso de curación natural del cuerpo permitiendo apoyo y estabilidad a los músculos y las articulaciones sin restringir el alcance del movimiento del cuerpo, siendo en sí mismo un estímulo para incidir en todos los sistemas del organismo y facilitar los procesos de curación. Se trata de un esparadrapo elástico constituido en un 100 % por una estructura trenzada de hilos de algodón, que incorpora una capa de pegamento llamado cianoacrilato de uso médico. Sus efectos fisiológicos son analgesia, incremento de la circulación linfática y sanguínea, reducción de la fatiga muscular y modulación del tono muscular, mejora la interrelación entre las fascias, actúa sobre la postura y la propiocepción articular. Con el fin de determinar la efectividad analgésica de esta técnica se seleccionaron 15 equinos de salto que presentaban dolor en la región lumbosacra caracterizado por hipertonicidad muscular, respuesta exagerada a la palpación, algometría positiva, ultrasonografía con lesiones

compatibles a desmitis de ligamento sacroilíaco dorsal y disminución de la performance, descartándose animales con alteraciones en examen clínico general y con lesiones cutáneas en el sitio de aplicación del kinesiotape. Se aplicó *kinesiotape* sobre el área sacroilíaca, renovándose según necesidad y considerando las inserciones de ligamento sacroilíaco dorsal, complejo erector del raquis y músculos glúteos en forma cruzada, transversa y longitudinal. Los equinos continuaron con sus rutinas deportivas y no tuvieron otros tratamientos, realizándose control clínico a los 7 y 14 días. Se observó en la totalidad de los equinos, tanto a los 7 como a los 14 días, normo tonicidad muscular, algometría negativa, palpación negativa, recuperación de la performance, sin cambios ultrasonográficos. Considerando lo observado en estos casos clínicos se concluye su efectividad analgésica para esta condición clínica, y se hace necesaria la continuidad de investigaciones en técnica de aplicación y sus mecanismos de acción como coadyuvante del tratamiento en distintas lesiones traumatológicas del equino deportivo.

<sup>1</sup>Carrera de Maestría en Medicina Deportiva del Equino Escuela de Graduados Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Salud y Producción de Equinos, Argentina.

# Aptitud del agua de bebida para porcinos en La Pampa Ondulada

PÉREZ, SML; SOSA, J; VOLPE, SM; ORLANDO, AA; CARBÓ, LI.

La calidad del agua es fundamental para el desarrollo de un sistema de producción intensivo, y obtención de óptimos índices productivos. La misma puede modificarse si se altera su composición química, lo que podría resultar en un daño en la salud de los animales y/o disminución en la producción. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad del agua subterránea de la Pampa Ondulada (PO, Buenos Aires) en su aptitud para consumo humano y ganado porcino. Las muestras de agua subterránea, fueron recolectadas de molinos y bombas de establecimientos dedicados a la producción porcina, localizados en seis partidos de la PO (n=23). Los análisis de agua se realizaron por metodología estándar (APHA, 2005). En todas las muestras, cada parámetro fue evaluado según los criterios de calidad específicos para porcinos, considerando valores establecidos como seguros para su producción y salud, así como también para salud humana según el CAA. Los parámetros evaluados fueron: pH, sales totales (ST), carbonatos y bicarbonatos (Alc.), cloruros (Cl), sulfatos ( $\text{SO}_4$ ), nitratos ( $\text{NO}_3$ ), nitritos ( $\text{NO}_2$ ) y arsénico (As). El diagnóstico de la calidad de las muestras se realizó analizando los parámetros en forma progresiva, según el orden descrito para el análisis. Se realizaron análisis estadísticos descriptivos. Los valores medios ( $\pm$ DE), expresados en mg/l, de los parámetros evaluados fueron pH 7,72( $\pm$ 0,43), ST 641( $\pm$ 157,5),

Alc. 429,1( $\pm$ 124,2),  $\text{SO}_4$  24,6( $\pm$ 31,3), Cl 364,2( $\pm$ 73,3),  $\text{NO}_3$  30,1( $\pm$ 24,6),  $\text{NO}_2$  0,04 ( $\pm$ 0,04) y As 0,04( $\pm$ 0,05). Según los parámetros analizados, ninguna muestra fue rechazada para consumo porcino según las recomendaciones de la bibliografía nacional e internacional. Sin embargo, de acuerdo a lo establecido por el CAA, 3 muestras fueron aptas y 20 muestras no fueron aptas para consumo humano: 15/20 muestras presentan valores de Alc., superiores a lo permitido, con lo cual podrían ocasionar problemas en las instalaciones por formación de sarro, afectando su durabilidad y obstrucciones de los chupetes, pudiendo ocasionar deshidratación de los animales por falta de acceso al agua. De estas 15 muestras, no aptas para consumo humano, cinco también presentaban As (0,01 mg/l), dos  $\text{NO}_3$  y dos As y  $\text{NO}_3$ . De las muestras no rechazadas por Alc, 5/20 muestras si fueron rechazadas por contener As, una de las cuales presentaba valores de  $\text{NO}_3$  superiores al límite establecido por el CAA (45 mg/l). La presencia del As en aguas subterráneas es de origen natural (volcánico), pero el caso del  $\text{NO}_3$  es de origen antropogénico, por degradación de materia orgánica. En los establecimientos donde se encontraron aguas aptas para consumo animal (porcinos), pero que fueron rechazadas para consumo humano, sería necesario proveer de una fuente alternativa para el consumo de los productores y/o del personal.

# Conformación y caracterización de paneles de sueros bovinos para evaluación y monitoreo de parámetros de desempeño en ensayos inmunoenzimáticos para la vigilancia activa de fiebre aftosa (FA)

PÉREZ VISNUK, M<sup>2</sup>; DECONTI, E<sup>1</sup>; MADDONNI, G<sup>1</sup>; PEDEMONTE, A<sup>1</sup>; MARADEI, E<sup>1</sup>; BERGMANN, I<sup>2</sup>; MALIRAT, V<sup>2</sup>.

La FA es una de las enfermedades más importantes de los animales domésticos biungulados que genera grandes pérdidas económicas en países afectados, siendo de notificación obligatoria ante la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Esta enfermedad viral es altamente contagiosa y de rápida difusión, particularmente durante la fase subclínica/aguda. Su capacidad de establecer infección persistente, inclusive en animales vacunados, es relevante para el establecimiento de medidas de control. Argentina es reconocida internacionalmente por la OIE como libre de FA sin/con vacunación. El mantenimiento del status de este último requiere de muestreos serológicos que demuestren fehacientemente la ausencia de actividad viral, independientemente del estado de vacunación y/o serotipo involucrado, mediante pruebas basadas en la detección de anticuerpos contra proteínas no capsidales (PNC) del virus. En este contexto, hemos desarrollado y validado un test ELISA indirecto que detecta anticuerpos contra la PNC 3ABC (I-ELISA ABC). En este trabajo se describe la constitución y caracterización de estándares de referencia para dicha prueba que: monitoreen el mantenimiento del desempeño; verifiquen el desempeño lote a lote y en nuevos ensayos; y sean referencia para otros laboratorios. A partir de colecciones de sueros del SENASA se seleccionaron aquellos animales infectados en forma experimental/

natural, y de áreas libres sin/con vacunación. Sueros con características deseables y volumen suficiente fueron identificados para constituir y caracterizar 3 paneles de evaluación:

Panel Bovino: 3 sueros (negativo, débil y fuerte positivo) para calibración y sensibilidad analítica (ASe).

Panel de Sensibilidad: 25 sueros con amplio espectro de reactividades, origen, etc., para calibración/establecimiento/comparación de sensibilidad diagnóstica (DSe), repetibilidad/reproducibilidad.

Panel de Especificidad: 1000 sueros de áreas libres sin/con vacunación con distintos valores por debajo del punto de corte, para especificidad diagnóstica (DSp).

Los sueros fueron analizados en el ensayo I-ELISA 3ABC validado (*ver póster de De Conti y col.*) y en otros ensayos que permitieron completar su caracterización (Virus neutralización, ELISA para proteínas capsidales). Se establecieron sus valores de referencia y parámetros de repetibilidad/reproducibilidad/homogeneidad/estabilidad. Se acondicionaron y alicuotaron y se aplicaron en estudios de control de calidad de proceso y producto final, en estudios de mantenimiento del desempeño del test en diferentes lotes y en estudios de desempeño comparativo de diferentes kits de I-ELISA 3ABC, demostrando así su adecuación/idoneidad para su uso como paneles de referencia.

<sup>1</sup>Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). <sup>2</sup>Centro de Virología Animal (CEVAN).

# El tratamiento con plasma rico en plaquetas inhibe proteasas del líquido sinovial de equinos con osteoartritis

PERRONE, G<sup>1</sup>; LASTRA, Y<sup>2</sup>; GONZÁLEZ, C<sup>1</sup>; CAGGIANO, N<sup>2</sup>; RENDINE, E<sup>1</sup>; GIMÉNEZ, R<sup>1</sup>; PAREJA, R<sup>2</sup>; DE SIMONE, E<sup>2</sup>.

Existen varias enfermedades del sistema osteoarticular que tienen un fuerte impacto sobre el rendimiento de los equinos. La osteoartritis (OA) es la artropatía de mayor prevalencia en el equino y generalmente se encuentra relacionada a las exigencias del alto rendimiento deportivo y al envejecimiento. La OA genera pérdidas significativas, porque supone el retiro temprano de los animales de la actividad deportiva, sumado al costo que implican los tratamientos, que no siempre son eficaces. La mayoría de los tratamientos farmacológicos utilizados actualmente, si bien poseen efectos sintomáticos beneficiosos, generalmente terminan siendo meramente paliativos y están asociados a múltiples efectos adversos. El plasma rico en plaquetas (PRP) es una terapia alternativa que ha surgido en los últimos años para tratar patologías músculo esqueléticas, sin embargo, aún queda por investigar los mecanismos moleculares por los cuales actuaría y particularmente su efecto sobre las proteasas sinoviales. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del PRP sobre las proteasas sinoviales en caballos con OA. En este trabajo se utilizaron 19 equinos deportivos. Se extrajo líquido sinovial para evaluar marcadores de inflamación, previo al tratamiento y en los

días 10, 30, y 60 de tratamiento. Se evaluó la respuesta clínica mediante un score. La valoración de la proteasa ADAMTS-5 y el inhibidor Timp-1 se realizó por ELISA. La actividad de MMP-2 y MMP-9 se analizó mediante zimografía en geles de poliacrilamida con el agregado de gelatina. Los GAGs se evaluaron mediante el Test de DMMB (1,9-Dimetilmetilene Blue). Los equinos con OA tratados con PRP mostraron una mejoría clínica que resultó significativa en todos los tiempos  $p < 0,05$  al día 10 y  $< 0,001$  al día 30 y 60. La actividad de la MMP-9 bajó de manera significativa hacia el día 60 post-tratamiento con PRP. Los niveles de ADAMTS-5 bajaron significativamente en los días 10, 30 y 60 ( $p < 0.01$  vs. día 0). Los valores de GAGs mostraron un incremento significativo hacia el día 30 ( $1618 \pm 226.5 \mu\text{g/ml}$  vs.  $959.2 \pm 77.79 \mu\text{g/ml}$ , tratados versus basales respectivamente,  $p < 0.05$ ). No se observaron diferencias significativas en los valores de MMP-2 entre los grupos. El efecto beneficioso del PRP en OA podría ser atribuido a que disminuye la actividad de las proteasas ADAMTS-5 y MMP-9 que se encuentran elevadas en los procesos de OA. Otro efecto beneficioso del tratamiento con PRP es el aumento de los niveles de GAGs y TIMP-1.

# Residuos de pesticidas en té y mezcla de hierbas para infusión: puesta a punto de una metodología analítica por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas en tándem y monitoreo de productos de mercado

PIETRONAVE, J; FUERTES, S, VILLAFANE, M; MASEDA, J; D'ESPÓSITO, L; RUARTE, S; GARBINI, A; JAKUBOWSKI, N.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una metodología analítica para la determinación de multiresiduos de pesticidas en té y mezcla de hierbas para infusión, por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas en tándem. Luego, se realizó un monitoreo de la presencia de estos contaminantes en productos nacionales e importados comercializados en Argentina durante el 2018. Se incluyeron en el método los siguientes compuestos: antraquinona, bifentrín, buprofezín, DDE-op, DDE-pp, DDT-op, DDT-pp, etofenprox, fentoato, pirimetanil, pirimifós metil, procimidone, trifloxistrobina. Se trabajó con el método QuEChERS. La extracción se realizó con acetonitrilo, acidificado con ácido acético glacial al 1% y sales del método modificado por la AOAC (6 g de sulfato de magnesio y 1,5 g de acetato de sodio). El clean up se realizó con 1200 mg de sulfato de magnesio, 400 mg de PSA, 400 mg de C18 y 400 mg de GCB. Se utilizaron estándares de pureza mayor a 95% y acetato de etilo como diluyente para preparar distintas soluciones. Se utilizó un cromatógrafo gaseoso (CG) con detector de masas de triple cuadrupolo. Se prepararon soluciones stock de cada principio activo, con ellas 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 para realizar la curva en matriz de seis niveles entre 25 y 300 ug/kg. Se obtuvo una adecuada selectividad y linealidad en este rango. Se analizaron 37 productos, de los cuales el 78% correspondieron a alimentos de industria nacional. El 100% de las muestras presentó residuos pesticidas. En 4 de ellas la concentración de antraquinona superó el nivel más alto de la curva. Lo mismo ocurrió en otra muestra, respecto al contenido de buprofezín. Estas 5 muestras se correspondieron con productos de origen nacional. En el 24% de los productos analizados el contenido de estos contaminantes fue menor a 25 ug/kg. En ningún caso se superaron los Límites Máximos de Residuos (LMR) sugeridos por *Codex Alimentarius* para té. Sin embargo, entre las recomendaciones de este organismo no están previstos límites específicos para antraquinona, buprofezín, DDE-op, DDE-pp, DDT-op, DDT-pp, etofenprox, fentoato, pirimetanil, pirimifós metil, procimidone ni trifloxistrobina. Este tipo de estudios brinda evidencia científica que justifica la necesidad de incorporar LMR en el Código Alimentario Argentino. Para trabajos posteriores se evaluará la posibilidad de ampliar el rango lineal para poder cuantificar el contenido de residuos en niveles superiores a 300 ug/kg.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Alimentos (INAL – ANMAT).

# Efecto del agregado de distintas concentraciones de EDTA a diluyentes de equino a base de leche descremada.

## Resultados preliminares

PLAZA, JP<sup>1</sup>; GONZALES DEL PINO, F<sup>3</sup>; REMEZOVSKI, NC<sup>2</sup>; APICHELA, S<sup>3</sup>; MIRAGAYA, MH<sup>1</sup>.

La refrigeración de semen es una de las estrategias reproductivas más sencillas para optimizar la utilización del eyaculado de un semental. El diluyente de Kenney, a base de leche descremada, glucosa y antibióticos es el más utilizado para la refrigeración de semen, pero su utilización para IA se limita a 24hs. Esto se debe a cambios que se producen a nivel celular durante el almacenamiento, principalmente en la permeabilidad de la membrana plasmática a distintos iones. El Ca<sup>++</sup> está relacionado con eventos como la capacitación y la reacción acrosomal y el desencadenamiento prematuro de estos eventos deja sin capacidad fecundante al espermatozoide. Se ha observado que las altas concentraciones de calcio presentes en los medios a base de leche favorecen la capacitación espermática prematura. El objetivo de este ensayo fue evaluar la respuesta de los espermatozoides a la refrigeración prolongada (72hs) utilizando Kenney con el agregado de un agente quelante, el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), en cuatro concentraciones: Kc (Kenney control); K1,5 (Kenney+1,5mM EDTA); K2,5 (Kenney+2,5mM EDTA); K3,5 (Kenney+3,5mM EDTA) y K4,5 (Kenney+4,5mM EDTA). Se utilizaron 2 padrillos de Raza Criolla, fértiles y 3 eyaculados de cada animal. Se filtraron, diluyeron (50x10<sup>6</sup> espermatozoides/ml) y evaluaron macro y microscópicamente. Se utilizó un Sistema de Análisis Computarizado, (AndroVision®, Minitüb) y se evaluaron los siguientes parámetros: Motilidad

Total, y Progresiva, VSL (Velocidad Lineal), VCL (Velocidad Curvilínea), VAP (Velocidad promedio), BCF (Frecuencia de batido del flagelo), ALH (Desplazamiento lateral de la cabeza), STR (Rectitud) y LIN (Linealidad), también se evaluó la funcionalidad de la membrana plasmática y la presencia o no de acrosoma (Técnica combinada de HOS-Coomasie Blue). Las muestras se refrigeraron utilizando un Equitainer (Hamilton Thorn) durante las primeras 24 h, luego fueron transferidas a una heladera a 5°C, donde se mantuvieron durante el resto del experimento. Las mismas pruebas realizadas fueron repetidas a las 24, 48 y 72hs pos-refrigeración. Los valores promedio de movilidad progresiva en cada padrillo a tiempo 0 y 48 hs fueron: en el control 57,46%-61,07% (0hs), 35,50%-47,63% (48hs); en K1,5 63,89%-67,43% (0hs), 35,85%-56,5% (48hs) y en K2,5 59,65%-69,29% (0hs), 32,32%-50,66% (48hs). Asimismo, la velocidad lineal, la linealidad y la rectitud mostraron una tendencia a mantenerse más estables en medios con concentraciones bajas del quelante (K1,5 y K2,5) y los porcentajes de espermatozoides con membrana plasmática funcional y acrosoma intacto también evidenciaron una tendencia a ser superiores en aquellos medios con iguales concentraciones de EDTA. El agregado de concentraciones de EDTA entre 1,5mM y 2,5mM en medio Kenney duplicó el tiempo de supervivencia de las muestras de semen refrigeradas para su uso en IA.

<sup>1</sup>Cátedra de Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias, INITRA (UBA), <sup>2</sup>Cátedra y Laboratorio de Reproducción Animal (UNLP), <sup>3</sup>Facultad de Agronomía y Zootecnia (UNT)

# Tuberculosis en animales silvestres. Optimización de técnicas diagnósticas para mejorar la sensibilidad y especificidad de detección

PONCE, L<sup>1,2</sup>; MARTINEZ VIVOT, M<sup>1</sup>; CARUSSO, C<sup>1</sup>; ROSSO, MP<sup>1</sup>; PETTA, A<sup>3</sup>; MARFIL, MJ<sup>1</sup>; BARANDIARAN, S<sup>1,4</sup>.

La tuberculosis bovina es una enfermedad endémica en la Argentina que afecta distintas especies domésticas y silvestres. Su prevalencia en la fauna silvestre del país es desconocida. El complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT), complejo *Mycobacterium avium* (MAC) y las micobacterias no tuberculosas (MNT) se distribuyen en todo el mundo y muchas veces representan un problema para salud humana y veterinaria. Teniendo en cuenta la creciente importancia epidemiológica de la interrelación entre la fauna silvestre, la ganadería y el ser humano, el desarrollo de herramientas de detección rápida de alta especificidad y sensibilidad es vital. La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es una buena técnica para identificar las diferentes micobacterias. Las secuencias blanco más utilizadas son *hsp65* para detectar género, *IS6110* para micobacterias del CMT e *IS1245* para MAC. Esto significa realizar como mínimo 3 PCR independientes para la identificación molecular de estos tres grandes grupos. Por ello, el objetivo de este plan de trabajo es desarrollar una PCR multiplex para detectar y diferenciar, en forma simultánea, las principales micobacterias que afectan a la

fauna silvestre de forma simple y rápida. Se adaptará la técnica de PCR tetraplex a punto final descrita por Wilton & Cousins (1992). Con ella se espera lograr diferenciar, en una sola amplificación, las micobacterias pertenecientes al CMT, las involucradas en el complejo MAC y, dentro de las MNT diferenciar, a su vez, *M. intracellulare*, especie muy poco estudiada en individuos de fauna silvestre. Se utilizarán los primers MYCGEN-f/MYCGEN-r (que identifica género), MYCGEN-f/MYCAV-r (que identifica *Mycobacterium avium*), MYCINT-f/MYCGEN-r (que identifica *Mycobacterium intracellulare*) y TB1-f/TB1-r (que identifica CMT). Se utilizará el ciclado propuesto por los autores, con una modificación (agregado de una elongación final a 75°C durante 10 min.). En la actualidad, se está trabajando en la puesta a punto de la técnica en la Cátedra de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias. La aplicación de esta técnica permitirá obtener información sobre la presencia de micobacterias, patógenas y saprófitas, en muestras de fauna silvestre. A su vez, podría aportar información para demostrar la existencia de reservorios de tuberculosis en nuestro país.

Este trabajo es financiado por el proyecto UBACyT 20020170100153BA

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de enfermedades infecciosas. <sup>2</sup>Becaria Maestría UBACyT.

<sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>4</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

# Evaluación morfológica y morfométrica de espermatozoides congelados/descongelados de *Mazama gouazoubira*

PONTÓN, A<sup>1</sup>; TORRES, P<sup>1,2</sup>; RIVOLTA, M<sup>1,2</sup>; FISCHMAN, ML<sup>1,2</sup>; CISALE, H<sup>1,2,3</sup>.

*Mazama gouazoubira* es un ciervo considerado como amenazado debido a la pérdida de su hábitat. Las técnicas de reproducción asistida son una herramienta fundamental en los programas de conservación, siendo el análisis de la calidad de los espermatozoides parte esencial de estas técnicas, en las que el estudio de la morfología y morfometría resulta muy importante. La determinación de la morfología espermática se ha establecido en torno a estimaciones subjetivas, en la actualidad se han desarrollado sistemas automatizados de análisis de morfología espermática conocidos como sistemas CASA (Computer Assisted Sperm Analysis). El objetivo fue evaluar morfológica y morfométricamente espermatozoides congelados/descongelados de *M. gouazoubira*, describiendo una técnica para el análisis de estas características espermáticas en ciervos, además de la identificación y cuantificación de las principales alteraciones morfológicas y la determinación de los parámetros morfométricos, comparándolos en espermatozoides criopreservados con glicerol al 3 y 5%. Se utilizó una muestra de un ejemplar de *M. gouazoubira* obtenida *postmortem* a partir de epidídimos, criopreservada con dos concentraciones de glicerol (3% y 5%). Se trabajó con 11 pajuelas, 5 con glicerol al 3% y 6 con glicerol al 5%; de cada una se realizaron cuatro extendidos que fueron teñidos con Tinción 15<sup>o</sup> y evaluados en el sistema CASA, Proiser, ISAS v1.0, analizándose un total de 3556 espermatozoides; se obtuvieron parámetros morfométricos directos (área, largo, ancho,

perímetro) y derivados (elipticidad, rugosidad, elongación, regularidad). Se identificaron cuatro grupos de espermatozoides: normales, macrocéfalos, microcéfalos y piriformes. Para comparar los valores morfométricos de los espermatozoides criopreservados con glicerol al 3% y 5% se utilizó la prueba de Wilcoxon (NS: 5%); para comparar cada uno de los parámetros en los distintos grupos morfológicos se empleó la prueba Kruskal Wallis (NS: 5%). Del total de espermatozoides evaluados el 73,51% fueron normales, 7,90% macrocéfalos, 11,28% microcéfalos y 7,31% piriformes. Se establecieron valores expresados como media  $\pm$  desvío estándar, para los parámetros morfométricos de los cuatro grupos de espermatozoides, con ambas concentraciones de glicerol. Al comparar espermatozoides criopreservados con 3 y 5% de glicerol se encontraron diferencias significativas en todos los parámetros directos y derivados. Al comparar los cuatro grupos morfológicos, por separado para cada concentración de glicerol, se encontraron diferencias significativas en todos los parámetros directos con excepción del ancho entre microcéfalos y piriformes, y el perímetro entre normales y piriformes. Todos los protocolos contemplados dentro del estudio permitieron establecer una técnica para el análisis de la morfología y morfometría espermática, la que podría ser aplicada en otros ciervos. Los datos obtenidos indicarían que un mayor porcentaje de glicerol empleado como crioprotector permeable altera el tamaño espermático, produciendo una disminución del mismo.

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

# Tratamiento y prevención de la Queratosis Actínica a causa de radiaciones ultravioletas en *Ovis orientalis aries*

PORTILLO, FA<sup>1,3</sup>; SESTO, I<sup>1,2</sup>; POSTMA, GC<sup>4</sup>; COPPOLA, MI<sup>1,2</sup>.

La Queratosis Actínica (QA) es una lesión que se presenta clínicamente como máculas, pápulas o placas con una superficie descamativa y una base eritematosa, y es potencialmente capaz de asentar una enfermedad de mayor gravedad, el carcinoma de células escamosas (CCE). Desde el punto de vista histológico se caracteriza por una displasia de los queratinocitos confinada a la epidermis. Por ello puede considerarse una lesión precancerosa o CCE intraepidérmico o in situ. Las radiaciones ultravioletas (RU) se caracterizan por ser mutagénicas, y generan un mayor impacto en zonas corporales desprovistas de manto y pigmentación. El siguiente trabajo tuvo como objetivo realizar una comparación entre diferentes métodos de protección física aplicados en el pabellón auricular de animales afectados a fin de evitar la progresión y la aparición de nuevas lesiones dérmicas a causa de RU. Se tomaron biopsias del tejido afectado de dos ovejas adultas que se encontraban en la Unidad Didáctico-Productiva Tambo de Pequeños Rumiantes de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA que fueron remitidas a la Cátedra de Patología (FCV. UBA) para su estudio histopatológico. Las muestras se procesaron por técnicas de rutina para su inclusión en parafina y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Para la protección mecánica contra la radiación UV, se recurrió a diferentes sustancias de color negro no nocivas

para la piel, de forma tal de absorber la mayor cantidad de radiación posible. Se compararon tinta para sellos, tinta china, marcador indeleble y grasa bovina con ferrite (óxido de hierro) negro. Las diferentes sustancias se aplicaron sobre las lesiones y sobre el tejido circundante en las 6 ovejas de raza Frisona más afectadas del rebaño. Se realizó un seguimiento durante 30 días para observar la duración de las sustancias sobre las orejas de los animales y evaluar el estado de los tejidos afectados. Los resultados del análisis histopatológico arrojaron que las lesiones observadas en el tejido eran compatibles con una queratosis actínica y los cambios displásicos observados en el epitelio podrían ser precursores de un CCE. Con respecto a los diferentes métodos de protección física aplicados, se observó que la sustancia con mayor permanencia sobre el tejido afectado resultó ser la mezcla de grasa bovina y ferrite alcanzando un total de diez días de duración. A su vez, presentó mayor duración en los animales más afectados. Finalmente, con respecto a la efectividad del tratamiento sólo se observó una leve a moderada mejoría en las ovejas menos afectadas. A modo de conclusión, la fotoprotección física como tratamiento para la QA parecería ser poco eficaz, probablemente siendo de mayor impacto a la hora de prevenir lesiones. Para este propósito, la mezcla de grasa y ferrite sería la mejor de las sustancias evaluadas por su mayor duración.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>1</sup>Tambo de Pequeños Rumiantes. <sup>2</sup>Cátedra de Producción de Ovinos. <sup>3</sup>Cátedra de Química Biológica. <sup>4</sup>Cátedra de Patología Básica.

# Caracterización del gen *groEL* en *Streptococcus equi* subsp. *Equi* y su relación con el fenotipo y el genotipo de los aislamientos

PORTILLO, FA<sup>1</sup>; BUSTOS, CP<sup>2</sup>; MESPLET, M<sup>2</sup>; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, JF<sup>3,4</sup>; VELA, AI<sup>3,4</sup>.

*Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*) es el agente etiológico de la adenitis equina, enfermedad infecciosa que afecta al tracto respiratorio superior del equino. Frecuentemente, los animales clínicamente recuperados pueden seguir portando la bacteria en sus bolsas guturales por largos periodos de tiempo y ser una fuente de infección para otros animales susceptibles. *S. equi* es un coco grampositivo, beta hemolítico adaptado a la especie equina que posee numerosos factores de virulencia entre los que se destacan la proteína M (SeM), la cápsula y la recientemente reportada capacidad de formar biofilm. La proteína GroEL pertenece a la familia de chaperoninas y está relacionada con la formación de biofilm en *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*). Debido a la estrecha relación entre *S. zooepidemicus* y *S. equi*, este gen podría ser también relevante en la producción de biofilm de *S. equi* y la infección subclínica de los caballos portadores. El objetivo del presente estudio fue caracterizar el gen *groEL* en aislamientos de *S. equi* y relacionar los alelos encontrados con su fenotipo y genotipo. Se trabajó con 34 aislamientos argentinos de *S. equi* previamente caracterizados. Se estandarizó la PCR para la amplificación del gen *groEL* y se secuenciaron los productos de PCR.

Las relaciones genéticas entre las secuencias nucleotídicas obtenidas fueron analizadas mediante el programa MEGA v.5.05 basado en el análisis de *cluster* UPGMA. Se analizaron los alelos *groEL* obtenidos y las características de los aislamientos. Nuestros resultados indican una baja diversidad de las secuencias en el gen *groEL*. Si bien se distinguieron 9 alelos distintos entre los 34 aislamientos, el 76,5% presentaban el mismo alelo (n= 26). Asimismo, no se encontró relación entre los alelos del gen *groEL* con la capacidad de formar biofilm ni con la presencia de cápsula, los alelos del gen *seM*, los pulsotipos obtenidos por PFGE y el origen los aislamientos. Esta caracterización del gen *groEL* permitió encontrar variaciones entre los aislamientos estudiados lo cual resulta interesante ya que *S. equi* es un microorganismo genéticamente estable y clonal. Ya que la capacidad de producir biofilm no se asoció con un alelo concreto, ésta podría vincularse con la expresión de la proteína, como fue reportado en *S. zooepidemicus*. Por lo tanto, se prevén futuras investigaciones evaluando la expresión de este gen durante el proceso de formación de biofilm para comprender el posible rol de la proteína GroEL en las infecciones persistentes de *S. equi* en los portadores de adenitis equina.

Este trabajo fue realizado durante la movilidad académica financiada por la beca UBAInt.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>1</sup>Cátedra de Química Biológica; <sup>2</sup>Cátedra de Enfermedades Infecciosas. <sup>3</sup>Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Sanidad Animal. <sup>4</sup>Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Ciencias Veterinarias, Centro VISAVET.

# Inclusión del Meloxicam en el destartraje canino: monitoreo de sus concentraciones

POSSE, L; PASSINI, S; LUPI, M; MONFRINOTTI, A; ALBARELLOS, G; MONTOYA, L.

La aceptación e inclusión de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) en la práctica veterinaria se ha incrementado enormemente en los 90, con la verificación del importante rol que estas drogas cumplen en el manejo del dolor perioperatorio. El Meloxicam (MLX) es un antiinflamatorio no esteroide preferencial COX-2 ya utilizado en protocolos quirúrgicos para coadyuvar a las drogas anestésicas y con pocos efectos colaterales. El objetivo de esta experiencia fue estudiar el comportamiento del meloxicam en caninos con odontolitiasis sometidos a destartraje por medio de la medición de las concentraciones alcanzadas en dos momentos quirúrgicos. Se sometieron a destartraje (Ultrasonido Ultratec 5000), seis caninos mestizos adultos (28+/-10kg), previamente categorizados en función de su enfermedad gingival. Dicha maniobra se realizó en dos tiempos quirúrgicos, lado derecho (A) con MLX, lado izquierdo (B) sin MLX. Se utilizó la misma intensidad por el mismo operador, bajo anestesia mediante un protocolo que incluyó: premedicación con MLX intramuscular 36(+/-8 min) previo al inicio de la cirugía (Grupo A) (Meloxivet, 0,2 mg/kg John Martin), y para los dos lados, inducción con ketamina, midazolam, mantenimiento con infusión continua endovenosa durante 22 minutos promedio (+/-3 min) de xilacina, ketamina y lidocaína. Todos los animales fueron medicados con antibiótico, intubados y mantenidos con fluidos a 5 ml/

kg. Previo y durante la infusión se monitoreó glucemia, parámetros hemodinámicos y neurológicos. También se evaluó el tiempo de recuperación (TR) finalizada la infusión y otros parámetros a los 30 minutos, una y dos horas de finalizado el procedimiento. Se tomaron muestras de sangre a través del catéter al inicio de la cirugía (T1) y al final de la cirugía (T2) que luego fueron luego analizadas por HPLC para medir la concentración de MLX. Las diferencias para cada variable en los distintos tiempos fueron analizadas mediante un test no paramétrico Wilcoxon para datos dependientes ( $p < 0,05$ ). La inclusión del MLX no produjo efectos colaterales ni presentó diferencias en el grado de sedación con respecto al grupo B. El grupo A presentó menor score total y menores valores de glucemia, no hallándose diferencias estadísticamente significativas con el grupo B. Los animales no debieron recibir rescate analgésico durante o posterior al término de la cirugía manteniendo períodos tranquilos y mostrando una recuperación sin alteraciones. Las concentraciones halladas de MLX fueron entre 0,46 ug/ml(+/-0,30) y 0,49 ug/ml(+/- 0,24) en el inicio y final de la cirugía respectivamente. Dichas concentraciones son menores a las halladas por otros autores y tales resultados podrían deberse a la vía de administración utilizada. Son necesarios trabajos complementarios para poder estudiar el comportamiento de los AINEs durante protocolos quirúrgicos.

# Evaluación del desarrollo gonadal en hembras de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* expuestas a distintos alimentos de producción nacional

REBAGLIATI CID, A; LAMBERTI, M; TIMPANARO, S; STUMPF, L; LÓPEZ GRECO, L.

En acuicultura es importante estudiar el impacto de la dieta sobre la condición nutricional de los progenitores, para garantizar una excelente *performance* reproductiva (maduración gonadal, fecundidad, número de desoves por hembra) y una progenie de alta calidad. En este sentido, una dieta con un adecuado contenido de lípidos y proteínas es vital para la acumulación de nutrientes en la gónada. La oogénesis es un proceso energéticamente costoso caracterizado por la acumulación de vitelo (*lipoglicocarotenoproteína*) que proviene de dos fuentes distintas: la endógena (sintetizada por el propio ovario) y la exógena (transferencia de nutrientes desde el hepatopáncreas), siendo esta última dependiente de modo directo del alimento. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dos dietas de producción nacional (CENADAC, Corrientes), sobre el desarrollo gonadal en hembras de *C. quadricarinatus*, a través de la coloración ovárica y del índice gonadosomático (IGS). Las tres dietas ensayadas fueron: Tetra (TE, control), Con ensilado (CE) y Sin ensilado (SE). En cuanto a su valor nutricional, TE fue la más proteica con un 48% respecto de CE (44%) y SE (38%) y TE fue la menos lipídica con un 9%, respecto de CE (13,5%) y SE (11,5%). En cuanto a la composición de ácidos grasos, TE presentó un perfil más diverso (24 clases) mientras que CE y SE presentaron las mismas 7 clases de ácidos grasos. Para cada dieta se utilizaron 16 hembras pre-adultas con una masa corporal inicial de (7,0±1,0)g que fueron individualizadas en cubas plásticas (2,5L) con un tubo de PVC (10cm x 4,5cm de diámetro) como refugio. Se mantuvieron

con aireación constante y a una temperatura controlada de (27±1)°C realizando un recambio total del agua dos veces por semana. Fueron alimentadas diariamente al 1,5% de su masa corporal. El ensayo fue de tipo crónico y finalizó una vez alcanzada la tercera muda, estableciendo un tiempo de aproximadamente 15 días de postmuda para el sacrificio de los individuos. Se midió la masa corporal final y la masa del ovario para el cálculo del índice gonadosomático (IGS). También se registró el color del ovario para la determinación de su estadio de maduración. En cuanto a la coloración ovárica, el 93% de las hembras de TE presentaron un ovario de color verde y el 7% de color naranja. En las hembras de CE también hubo un mayor número de ovarios color verde (70%), mientras que un 30% presentaron ovarios color crema. En cambio, la proporción de ovarios color verde en las hembras alimentadas con SE fue del 36% mientras que de color crema fueron el 64%. La coloración verde indica que el ovario está en la última etapa de maduración normal y que tiene los niveles de pigmentación adecuados. El IGS (evaluado mediante ANOVA de un factor) no difirió estadísticamente ( $p>0,05$ ) entre TE (1,5±0,8%), CE (1,6±1,1%) y SE (2,3±1,0%). Estos primeros resultados indicarían que hay algún impacto en el desarrollo gonadal de las hembras alimentadas con la dieta SE al menos a nivel de sus carotenoides, que será corroborado con posteriores análisis bioquímicos e histológicos. Esto no nos permite por el momento recomendar que esta dieta pueda ser usada en reemplazo de la dieta control.

UBACYT 2018-2021 20020170100021BA, PIP 2015-2017 11220150100544, PICT 2016-0759, y PICT 2016-2464.

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, Buenos Aires, Argentina.

# Efecto crioprotector del Dodecil Sulfato de Sodio sobre la célula espermática en caballos criollo argentino

REMEZOVSKI, NC<sup>1,3</sup>; MIRAGAYA, MH<sup>3</sup>; CORVA, S<sup>2</sup>; PLAZA, J<sup>3</sup>; STORNELLI, MA<sup>1</sup>.

Se ha incluido Dodecil Sulfato de Sodio (SDS) en diluyentes usados para congelamiento de semen en algunas especies con buenos resultados, afectándose la estabilidad de las membranas espermáticas si se adicionan altos porcentajes. El objetivo fue evaluar el efecto protector de diferentes concentraciones de SDS en un diluyente base (Lactosa-EDTA-yema de huevo) sobre el espermatozoide equino durante el proceso de congelación-descongelación. Se utilizaron 10 padrillos, clínicamente sanos y fértiles. Se recolectaron con vagina artificial tipo Missouri dos eyaculados de cada animal. Luego del filtrado se evaluaron las características macroscópicas: Color, Aspecto, Volumen (ml) y microscópicas: Movilidad (M) (AndroVision®, Minitüb GmbH, Tiefenbach, Germany) Movilidad progresiva (MP); M Rápida (MR); M Lenta (ML); M en círculo (MCIR); M Local (MLOC); Espermios Inmóviles (EI). 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 Kenney, dividido en alícuotas, centrifugado, resuspendido a  $200 \times 10^6$  esp/mL en el diluyente base con diferentes concentraciones de SDS (SDS0 [0%]; SDS0,6 [0,062%]; SDS12 [0,125%]; SDS20 [0,250%]; SDS50 [0,500%]), empaquetado en pajuelas de 0,5 ml y congelado sobre vapores de nitrógeno líquido. El semen descongelado a 37° durante 1 minuto fue sometido a las

mismas pruebas que el semen fresco. Las comparaciones entre tratamientos (diluyentes) se realizaron mediante el análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM de SAS<sup>®</sup> 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 con el semen congelado-descongelado en todos los diferentes tratamientos ( $70 \pm 37,4$  vs  $24,3 \pm 6,9$ ;  $86,91 \pm 8,85$  vs  $60,19 \pm 15,74$ ;  $57,06 \pm 14,1$  vs  $25,74 \pm 13,79$ ;  $82,58 \pm 8,14$  vs  $57,94 \pm 18,63$  [;  $P < 0.05$ ]). No se observaron diferencias en ninguno de los parámetros seminales al comparar SDS0, SDS0,6, SDS12, SDS20 pos-descongelado. Se observaron diferencias significativas cuando se compararon los diluyentes SDS0, SDS0,6, SDS12, SDS20 con el diluyente SDS50, observándose un descenso de todos los parámetros seminales con este último ( $30 \pm 1$  vs  $3,4 \pm 4,7$ ;  $64 \pm 14$  vs  $33,7 \pm 14,2$ ;  $28 \pm 8$  vs  $8 \pm 7,2$ ;  $63 \pm 11$  vs  $14,8 \pm 15,8$ ), [;  $P < 0.05$ ]). Si bien no se observó efecto protector del SDS a bajas concentraciones, nuestros resultados muestran el efecto deletéreo de altas concentraciones de detergente sobre la célula espermática. Es posible que concentraciones inferiores a 0,062% de SDS en el diluyente puedan ejercer efecto protector sobre el espermatozoide del equino durante la criopreservación.

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). Cátedra y Laboratorio de Reproducción Animal. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). Cátedra de Bioestadística. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA), INITRA. Cátedra de Teriogenología.

# Evaluación del bienestar animal en ratones nude con un trasplante tumoral subcutáneo mediante el análisis de las frecuencias comportamentales en la caja

RESASCO, A<sup>1</sup>; KLUG, K<sup>2</sup>; AYALA, MA<sup>2</sup>; CARBONE, C<sup>2</sup>; DIAZ, SL<sup>1</sup>.

La manifestación del efecto de drogas antitumorales en ratones inmunodeficientes (nude) continúa siendo una etapa importante en los ensayos preclínicos, por lo que los esfuerzos para mejorar la investigación de estos modelos animales se siguen incrementando. En este sentido, el bienestar animal juega un rol preponderante en el refinamiento de dichos experimentos. Típicamente se lo describe como el estado de un animal en sus intentos por enfrentarse con el medio ambiente, en el que entran en juego una serie de componentes tanto físicos como psicológicos. En particular los comportamientos que pueden ser observados de forma sencilla y no invasiva pueden ser indicadores sensibles del estado interno de un animal, comparados con las herramientas clásicas de control clínico. El objetivo fue evaluar posibles diferencias comportamentales en ratones hembra que poseían un trasplante tumoral subcutáneo con una línea celular de adenocarcinoma de pulmón humano (A549), comparándolos con animales que carecían de dicho tumor, a los 15, 30 y 45 días post-trasplante. Se utilizó la técnica de animal focal en la que se efectuó un registro continuo de todas las pautas de comportamiento que realizaron en 20 minutos. Las observaciones se realizaron inmediatamente después de colocar a cada ratón individualmente en una caja limpia con lecho de marlo de maíz. Los comportamientos que se analizaron fueron: elevarse, excavar, empujar, saltos tipo "pochoclo", acicalarse, sacudirse y defecar/orinar. El estudio estadístico se realizó

con modelos lineales mixtos utilizando el *R lme4* en los que el grupo experimental, el día y el individuo fueron incluidos en el análisis. Se detectaron diferencias estadísticamente significativas únicamente en la comparación entre los días ( $p < 0,05$ ). Sin embargo, se registró una tendencia en la pauta empujar ( $p = 0,065$ ), en la que los ratones con tumor tendieron a realizarla más que los ratones sin tumor. Este comportamiento lo expresan, además de para confeccionar el nido, para cubrir objetos que naturalmente les generan ansiedad. Por este motivo, y porque se ha demostrado que drogas ansiolíticas lo disminuyen, podría asociarse con un aumento leve de la ansiedad al grupo con tumor. Con respecto a las otras variables comportamentales que podrían asociarse con un aumento de la ansiedad (defecación y acicalamiento), no se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0,1$ ). La ausencia de diferencias entre tratamientos nos permitiría inferir que la presencia del tumor no les indujo alteraciones en la movilidad y tampoco en la motivación para realizar comportamientos asociados a la exploración del ambiente (elevarse, cavar), al autocuidado (acicalamiento) y al juego (saltos tipo "pochoclo"). Si bien la ausencia de alteraciones en dichas pautas permitiría descartar alteraciones severas en el bienestar de estos animales, las mismas no deberían considerarse aisladamente sino que se debería realizar un enfoque holístico en el cual se integren múltiples variables tanto fisiológicas como comportamentales.

<sup>1</sup>CONICET. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Biología Celular y Neurociencia Prof. E. De Robertis (IBCN). Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina. Paraguay 2155, 3° piso, C1121ABG. <sup>2</sup> Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias. Laboratorio de Animales de Experimentación (LAE), La Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

# Estudio de sensibilidad antibiótica de *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* aislados de útero de yeguas

RETAMAR, GC<sup>1,2</sup>; BONOFILIO, L<sup>3</sup>; MOLLERACH, M<sup>3</sup>; MUÑOZ, AJ<sup>1</sup>; MESPLET, M<sup>1</sup>.

*Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) forma parte de la microbiota de nasofaringe y vagina de los equinos y si bien es considerado un patógeno oportunista, es el más aislado en endometritis en yeguas. Estudios recientes sugieren que las cepas aisladas en endometritis pudieron haber evolucionado para adaptarse al ambiente uterino y utilizar diversos mecanismos, como ser la resistencia a los antimicrobianos para mantenerse en estado silente. En los últimos años, se ha observado un aumento de la resistencia de *S. zooepidemicus* a diferentes antibióticos. El objetivo de este trabajo fue analizar la sensibilidad antibiótica de 30 aislamientos de *S. zooepidemicus* recuperados de úteros de yeguas con problemas reproductivos obtenidos entre 2009-2017. Se evaluó la sensibilidad a penicilina, ceftazidima, enrofloxacin, eritromicina, y clindamicina mediante la metodología de difusión con discos y la concentración inhibitoria mínima (CIM) mediante la técnica de dilución en medio sólido según CLSI. Asimismo, mediante el test doble disco (D-Test) se determinaron los fenotipos de resistencia a macrólidos-lincosamidas-estreptograminas B (MLS<sub>B</sub>), según recomendaciones del CLSI. Todos los aislamientos resultaron sensibles a penicilina y

a eritromicina. Esto resulta destacable ya que la penicilina es el antibiótico de elección en el caso de una infección por este agente. Todas las cepas resultaron resistentes a enrofloxacin luego de analizar la CIM, lo que es de destacar dado que es un antibiótico muy usado en la clínica diaria. Los datos obtenidos respecto a la ceftazidima y clindamicina difieren de datos bibliográficos previos donde se describe una sensibilidad del 100% mientras que en este trabajo se determinó una resistencia de 57 y 80% (I+R) respectivamente. Con respecto a la resistencia a macrólidos, se detectó solamente el fenotipo L. La importancia de este trabajo no solo radica en el estudio de los aislamientos para realizar un correcto tratamiento y así evitar pérdidas económicas y evitar fallas en el tratamiento debido a la resistencia antibiótica, sino también a que el equino está estrechamente relacionado al humano por trabajo o deporte, por lo que la presencia de resistencia a los antibióticos en bacterias aisladas de equinos representa un riesgo para la salud pública. Es necesario el uso racional de los antibióticos con su correspondiente análisis previo de sensibilidad para así evitar tanto la resistencia a antimicrobianos como la recidiva de la enfermedad.

Este trabajo es financiado por el proyecto UBACyT 20020170100537BA

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

<sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Cátedra de Microbiología. Depto de Microbiología, Inmunología, Biotecnología y Genética. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Buenos Aires. Argentina. CONICET. gretamar@fvet.uba.ar

# Mortalidad en endoscopia respiratoria en 218 perros y 107 gatos realizadas en CABA y GBA (2010-2019)

RICART, MC<sup>1,2</sup>; RODRÍGUEZ, S<sup>2,3</sup>; FERNÁNDEZ, V<sup>2,3</sup>.

La endoscopia respiratoria es un método diagnóstico y terapéutico de mínima invasión para las enfermedades de la cavidad nasal, laringe y traqueobronquiales en perros y gatos. Este método complementario comienza a ser indicado con más frecuencia en nuestro medio para el diagnóstico y para tratamientos endoluminales en animales con signos clínicos de enfermedad respiratoria, pero se desconoce su mortalidad. La mortalidad reportada en cirugías diagnósticas es 0,74%. El objetivo de este trabajo fue determinar la mortalidad anestésica en endoscopias respiratorias en perros (P) y gatos (G) de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) y Gran Buenos Aires (GBA), Argentina. Este trabajo retrospectivo incluyó endoscopias respiratorias realizadas por el mismo grupo de trabajo en 218 perros y 107 gatos, entre los años 2010 y 2019 en CABA y GBA. Todos los animales presentaron signos clínicos de enfermedad respiratoria. La mortalidad se calculó en base a los animales que murieron durante el procedimiento endoscópico incluso hasta las 36 hs posteriores, no se incluyeron animales eutanasiados. Se relevaron las características poblacionales (raza, edad y sexo), categoría ASA y tipos de endoscopia respiratoria: rinolaringoscopia (Rino), laringoscopia (Laringo), laringotraqueobroncoscopia (LTB) o una combinación de ellos. Todos los animales realizaron previo al procedimiento estudios prequirúrgicos. En las rinoscopias se solicitó además perfil hemostático. Todos

los procedimientos se realizaron bajo anestesia general: isoflurano y previa inducción con propofol o TIVA (propofol-ketamina-remifentanilo), según criterio para cada caso. Se trabajó con tres endoscopios según la talla del animal y tipo de endoscopia: broncoscopio Olympus 5,2 mm, gastroscopio 8,7 mm o uretroscopio rígido 2 mm Carl Storz. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para la comparación entre grupos, utilizando un nivel de significancia de  $p < 0,05$ , con el programa Statistix 7.0. Las razas de P más frecuentes fueron: 32% Mestizo y 7% Bulldog francés, con 124 machos y 94 hembras; las de G: 83% Común Europeo y 12% Siamés con 46 machos y 61 hembras. La edad promedio fue 7,5 años (DS 2,6). La mortalidad global fue 0,62%, se realizaron 195 Rino, 2 Laringo, 68 LTB y 59 combinación; con una frecuencia de categoría: ASA I: 15, ASA II: 238, ASA III: 67, ASA IV: 4. No se observaron diferencias significativas en la mortalidad entre los tipos de endoscopias respiratorias, pero sí según la categoría ASA, murieron 2 P categoría ASA II. La mortalidad obtenida es similar a otros trabajos multicéntricos publicados, aunque en esos trabajos se evalúan sólo cirugías. Estos resultados sugieren que la endoscopia respiratoria es un estudio con baja mortalidad, lo que resulta importante para utilizar más frecuentemente este método complementario en la evaluación de la vía aérea en perros y gatos. Al indicar el estudio endoluminal se lograrán diagnósticos y tratamientos certeros con mínima invasión del animal.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Clínica Médica de Pequeños Animales. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>EndoVete. Práctica Privada de Endoscopia Veterinaria. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Hospital Escuela. Servicio Anestesiología y Algiología del Hospital Escuela. Buenos Aires, Argentina. \*cricart@fvvet.uba.ar

# Mortalidad anestésica en endoscopias digestivas en 230 perros y 36 gatos realizadas en CABA y GBA (2010-2019)

RICART, MC<sup>1,2</sup>; RODRÍGUEZ, S<sup>2,3</sup>; FERNÁNDEZ, V<sup>2,3</sup>.

La mortalidad anestésica en procedimientos quirúrgicos, incluyendo a las cirugías diagnósticas es de 0,74%. Así mismo, Redondo y colaboradores reportaron una mortalidad anestésica en caninos y felinos del 1,29% en un estudio con 2.000 animales. La mortalidad en endoscopias humanas es 0,0014%. El objetivo de este trabajo fue determinar la mortalidad anestésica en endoscopias digestivas en perros (P) y en gatos (G) en Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) y Gran Buenos Aires (GBA), Argentina. Este trabajo retrospectivo incluyó 230 perros y 36 gatos a los cuales se les realizó endoscopia digestiva por el mismo grupo de trabajo, entre los años 2010 y 2019, provenientes de CABA y GBA, Argentina. La mortalidad se calculó en base a los animales que murieron durante el procedimiento endoscópico, incluso hasta las 36 h posteriores, no se incluyeron animales eutanasiados intra o postprocedimiento. Se relevaron las características poblacionales de cada especie (raza, edad y sexo), categoría ASA y tipo de estudio realizado: endoscopia digestiva alta (FEDA), digestiva baja (FCC) o digestiva doble (DD). Todos los animales realizaron previamente una consulta cardiológica y análisis de sangre prequirúrgicos (hemograma y bioquímica sanguínea). Todos

los procedimientos se realizaron bajo anestesia general con isoflurano o TIVA (propofol-ketamina-remifentanilo) según lo requiriese cada caso. Se trabajó con un fibrogastroscoPIO Olympus 8,7 mm con canal de trabajo de 2mm. Para el análisis se utilizó la prueba de Chi-cuadrado para la comparación entre grupos, utilizando un nivel de significancia de  $p < 0,05$ , con el programa Statistix 7.0. Las razas más frecuentes de P fueron: Mestizo 28% y Caniche toy 10%, con 124 machos y 106 hembras; en G: Común Europeo 61% y Siamés 25% con 23 machos y 13 hembras. Edad promedio de  $7,37 \pm 3,8$  años. La mortalidad global fue 1,14% (2 P y 1 G), con una frecuencia de categoría del estado físico: ASA I: 77, ASA II: 169, ASA III: 19, ASA IV: 1. Se observaron diferencias significativas entre la mortalidad y la categoría ASA ( $p < 0,01$ ), 2 muertos ASA II y 1 ASA IV. No se observaron diferencias significativas en la mortalidad entre las especies ni entre los tipos de endoscopias (FEDA, FCC ni DD). Es importante conocer las tasas de mortalidad de las endoscopias digestivas en pequeños animales para comunicarlo adecuadamente a los propietarios al indicar el procedimiento y resaltar las ventajas de un método mínimamente invasivo.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Clínica Médica de Pequeños Animales. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>EndoVete. Práctica Privada de Endoscopia Veterinaria. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Hospital Escuela. Servicio Anestesiología y Algiología del Hospital Escuela. Buenos Aires, Argentina. \*cricart@fvvet.uba.ar

# Análisis histoquímico de polifenoles de la planta medicinal *Ligaria cuneifolia*

RICCO, MV<sup>1,2</sup>; BARI, ML<sup>2,3</sup>; BAGNATO, F<sup>2</sup>; VARELA, BG<sup>4</sup>; WAGNER, ML<sup>4</sup>; ÁLVAREZ, MA<sup>1,2</sup>; RICCO, RA<sup>4</sup>.

*Ligaria cuneifolia* (R. et P.) Tiegh (Loranthaceae) conocida como “muérdago criollo”, “liga” o “liguilla” es una especie hemiparásita, semileñosa y nativa, distribuida en la región central y norte de Argentina. Las preparaciones de *L. cuneifolia* son usadas en medicina popular por sus propiedades terapéuticas. La infusión preparada a partir de sus partes aéreas es utilizada como sustituta del muérdago europeo (*Viscum album* L. -Santalaceae-) como antihipertensivo. Además, la infusión y la decocción son usadas como antihemorrágicas, abortivas, emenagogas, ocitólicas, en caso de fracturas y dolor de garganta. Estudios farmacológicos corroboran el uso de *L. cuneifolia* en medicina popular como antihipertensivo, según el hospedador, como antioxidante, antimicrobiano, antiproliferativo y antitumoral, así como hipolipemiente, actividades atribuibles a su contenido en lectinas y compuestos polifenólicos. El objetivo fue realizar un análisis histoquímico de los polifenoles presentes en *L. cuneifolia*. Se recolectaron ejemplares fructificados de *L. cuneifolia* que crecían sobre espinillo, en la localidad de Merlo, San Luis. Del material fresco, se realizaron cortes transversales de hoja, tallo primario y embrión con un micrótopo de deslizamiento. Posteriormente, se llevaron a cabo las reacciones histoquímicas de AEDBE para la observación de flavonoides y reactivo de vainillina - clorhídrico para la observación de proantocianidinas (taninos condensados). Todos los cortes se observaron bajo microscopio

óptico de campo claro y de fluorescencia. En la hoja se observó principalmente la presencia de flavonoides en la epidermis (adaxial y abaxial), y en las primeras capas del parénquima asimilador en empalizada subyacente, con una reacción difusa y de menor intensidad, en el resto del parénquima. Las proantocianidinas se observaron principalmente en la epidermis (adaxial y abaxial), en el parénquima asimilador en empalizada subyacente y determinadas células del parénquima esponjoso central. En el tallo primario los flavonoides se presentaron en muy alta concentración en la epidermis (y en la cutícula) y en las primeras capas del tejido parenquimático; las proantocianidinas se localizaron en alta concentración en la epidermis, corteza primaria y en menor medida en la médula. En el embrión la reacción para flavonoides fue difusa, con mayor presencia en la cutícula. Las proantocianidinas se localizaron en la epidermis y en alta concentración en el tejido parenquimático. Estos resultados muestran la presencia y localización de polifenoles, donde la distribución observada cuenta de un rol ecológico de éstos compuestos, en relación a la protección UV (presencia de flavonoides en cutícula y epidermis, fundamentalmente) y de defensa hacia herbívoros y patógenos (flavonoides y taninos condensados). Éstos resultados, junto a la caracterización química y dinámica de polifenoles anteriormente realizados, permiten ahondar en el conocimiento y la función de los metabolitos polifenólicos de *L. cuneifolia*.

Agradecimientos: Subsidio UBA 20020170100121BA (2018-2020) y PICT (2015-2024).

<sup>1</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. <sup>2</sup>CEBBAD-Cátedra de Farmacobotánica y Farmacognosia, Carreras de Farmacia y Bioquímica, Universidad Maimónides, Hidalgo 775, lab. 603, CABA. <sup>3</sup>Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica. <sup>4</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Cátedra de Farmacobotánica. Junín 956, 4° piso, CABA.

# Manipulación de la apertura estomática por bacterias fitopatógenas del género *Xanthomonas*

RÍOS, CA<sup>1</sup>; CONFORTE, V<sup>2</sup>; MALAMUD, F<sup>3</sup>; VOJNOV, A<sup>2</sup>; GUEDEBLAT, GE<sup>1</sup>.

La bacteria *Xanthomonas campestris* es el agente causal de la podredumbre negra de las crucíferas, mientras *Xanthomonas citri* lo es de la canchrolosis de los cítricos. Ambas colonizan a su planta hospedadora a través de los poros estomáticos, necesarios para el intercambio de gases de las hojas. Los estomas se cierran en respuesta a moléculas derivadas de microbios como flagelina. Ambas especies desarrollaron la capacidad de impedir dicho cierre, *X. campestris* a través de un compuesto secretado de aproximadamente 300 daltons que requiere de componentes de señalización de la hormona de defensa ácido jasmónico para actuar; mientras que *X. citri* lo hace a través de un péptido natriurético de 33 aminoácidos (lo que corresponde a un peso molecular de aproximadamente 3300 daltons), cuya secuencia codificante no está presente en otras especies del género. La síntesis del compuesto de *X. campestris* se encuentra bajo la regulación del sistema *rpf/DSF*, el cual regula la comunicación célula a célula, la síntesis de virulencia y la formación de biofilms. Además, se sabe que el grado de activación del receptor de luz fitocromo B modula la sensibilidad a los jasmonatos, involucrados en respuestas de defensa. En este trabajo se propusieron como objetivos determinar a) si *X. citri*, además del péptido natriurético previamente mencionado, secreta también un compuesto de bajo peso molecular similar al de *X. campestris* capaz de inhibir el cierre estomático, b) si varias mutantes de *X. citri* afectadas en la formación de biofilm

lo están también en su capacidad de inhibición del cierre estomático, y c) si la carencia o sobreproducción de fitocromo B (PHYB) altera la sensibilidad a la inhibición estomática por *X. campestris* en la planta *Arabidopsis thaliana*. La metodología consistió en la realización de ensayos de apertura estomática sobre explantos de hojas de *A. thaliana* en presencia de suspensiones bacterianas o de extractos obtenidos a partir de sobrenadantes de cultivos bacterianos. El peso molecular de las fracciones de extractos de sobrenadantes de cultivos de *X. citri* y *X. campestris* con actividad de inhibición de la apertura estomática fue estimado mediante cromatografía de exclusión molecular, utilizando una columna Biogel P2. Los resultados obtenidos indicaron que *X. citri* secreta un compuesto al medio extracelular con capacidad de inhibir la apertura estomática, y que su peso molecular es similar al del compuesto secretado por *X. campestris*, y distinto del de el péptido natriurético previamente reportado. Por otro lado, el análisis de diez mutantes de *X. citri* afectadas en la formación de biofilm mostró que todas ellas están fuertemente afectadas en su capacidad de inhibición de la apertura estomática, lo cual sugiere una relación entre la formación de biofilms y la capacidad de colonización de la bacteria a través de los poros estomáticos. Por último, se halló que la mutante *phyB* es insensible a la inhibición de la apertura estomática por extractos de *X. campestris* o de *X. citri*, lo cual la haría menos susceptible a la infección por dichos fitopatógenos.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Departamento de Fisiología y Biología Molecular y Celular. Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada (IBBEA)-CONICET. Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. César Milstein. Fundación Pablo Cassará. CONICET. Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Nacional de Luján, Argentina.

# Imiquimod genera estrés oxidativo en células endoteliales normales y de hemangioma murino

ROCCO, RODRIGO; WAINSTOK, ROSA; COCHÓN, ADRIANA\*; GAZZANIGA, SILVINA\*

Imiquimod (IQ) podría ser una alternativa terapéutica para el tratamiento de los hemangiomas infantiles que revisten complicaciones, dado que las células que los constituyen muestran ser sensibles a la droga. Utilizando un modelo *in vitro* de células endoteliales transformadas murinas (H5V), hemos demostrado previamente que IQ induce apoptosis en H5V mientras que células endoteliales normales (1G11) resultaron ser menos sensibles. Para comprender si el estrés oxidativo está involucrado en la muerte celular por IQ, se estudió en ambos modelos celulares la ocurrencia de especies reactivas del oxígeno (ROS), posibles cambios en los sistemas antioxidantes y el estado mitocondrial. Las células se trataron con IQ (0-50 µg/ml) durante 2, 4 o 12 h. y se analizaron para determinar ROS con la sonda DCF-DA, estabilidad mitocondrial con Mitotracker CMXRos y las actividades de las enzimas antioxidantes catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD). El estado redox se evaluó midiendo los niveles de glutatión reducido y oxidado (GSH/GSSG). A 2h de tratamiento, las células H5V mostraron un aumento (40±11%; p<0,01) respecto del control en los niveles de ROS acompañado por una caída abrupta en la actividad CAT (70±12%; p<0,01) y sin cambios en la actividad de SOD. A las 4 hs de tratamiento, H5V mostró un aumento concentración-dependiente de hasta 250±15% en las ROS; ≈50% de inhibición

de CAT y SOD, una disminución del 30% de GSH/GSSG junto con un 50% de pérdida del potencial de membrana mitocondrial. Por su parte, las células 1G11 mostraron un aumento del 50±10% de las ROS respecto del control, disminución de la actividad de CAT (40±20%) y SOD (50±15%), una disminución del 40% de GSH/GSSG. En todos los casos el p<0.01. Sin embargo, no hubo pérdida de estabilidad mitocondrial. Después de 12h, las células H5V mostraron niveles recuperados para CAT o inducidos dependiendo de la concentración de IQ y un aumento del 25% respecto del control para SOD. Estos cambios fueron acompañados por una disminución del 57% de GSH/GSSG y la estabilidad mitocondrial permaneció deteriorada (40±10%; p<0.01) para ≥ 5 µg/ml de IQ. Las células 1G11 exhibieron un comportamiento similar, recobrando la actividad control de ambas enzimas antioxidantes y una disminución de alrededor del 65% de GSH/GSSG. Sin embargo, la estabilidad mitocondrial continuó sin modificaciones evidentes. En conclusión, los cambios reportados indican que el tratamiento con IQ produciría estrés oxidativo tanto en las células de hemangioma como en las células endoteliales normales. Sin embargo, dicho estrés no sería suficiente para causar disfuncionalidad mitocondrial en células de endotelio normal que resultan ser las más resistentes a la droga.

Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Dpto. de Química Biológica. IQUIBICEN - Universidad de Buenos Aires. Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

# Actividad diferencial en ovarios y evaluación de la proliferación de ovocitos y células de la granulosa de un murciélago sudamericano, *Eumops patagonicus* (Chiroptera: Molossidae)

RODRÍGUEZ, FE<sup>1,2</sup>; OLEA, GB<sup>1,2</sup>; AGUIRRE, MV<sup>2</sup>; LOMBARDO, DM<sup>3</sup>.

En el orden Chiroptera existe una gran diversidad en cuanto a patrones reproductivos, pudiéndose afirmar que engloban todas las variaciones existentes en los mamíferos. En la familia Molossidae, se han realizado estudios en el sistema reproductor de las hembras y la dinámica ovárica, en especies como *Molossus fortis*, *Molossus rufus*, *Molossus molossus*, y *Mops condylurus*. En esta familia se ha observado una dominancia completa y característica del ovario derecho, pero actualmente no se conoce la explicación de éste hecho. El objetivo del presente estudio fue conocer la morfología e histología de los ovarios de *Eumops patagonicus* y la actividad proliferativa de los ovocitos y las células foliculares. Para éste estudio fueron capturadas 20 hembras en diferentes meses del año, las cuales fueron eutanasiadas con el fin de aislar el tracto reproductor. El material fue procesado siguiendo la técnica histológica convencional de deshidratación e inclusión en parafina y coloreados con Hematoxilina – Eosina. Los cortes se realizaron a 3µm de espesor y procesados siguiendo la técnica de Inmunohistoquímica, utilizando el método de estreptoavidina-biotina para evaluar la actividad proliferativa de los ovocitos y células de la granulosa mediante la marcación de la proteína PCNA. Se utilizó el anticuerpo

PCNA anti-mouse (1:100). Se analizó tanto ovario derecho (OD) como ovario izquierdo (OI), en ambos se distinguió la zona cortical de la región medular con escaso tejido intersticial glandular (TIG). En cuanto a la composición del córtex, a lo largo del año, en el OI se observaron ovocitos formando nidos, folículos primordiales, primarios y secundarios. La región medular fue escasa. En el OD se pudieron distinguir todas las estructuras de la foliculogénesis. En cuanto al TIG, fue más abundante en el OD que en el OI, pero menor al descrito para *M. rufus* y *M. molossus*. En el invierno se encontraron hembras recién preñadas y cuerpos lúteos ocupando gran superficie del ovario. Estos resultados preliminares concuerdan con la asimetría funcional y morfológica de los ovarios, descritas para otras especies de la familia Molossidae. En el OD se pudieron observar todos los estadios de la foliculogénesis incluyendo la formación del cuerpo lúteo en hembras preñadas a diferencia del OI. Sin embargo, la actividad proliferativa de los folículos se pudo evidenciar en ambos ovarios mediante el marcaje de PCNA positivo, pero en el OD fue mayor comparando tipos foliculares semejantes. Por ello concluimos que *E. patagonicus* presenta asimetría morfológica y funcional así como otros miembros de la familia Molossidae.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. IQUIBA-NEA. Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM). Corrientes, Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). CABA, Argentina.

# Análisis filogenético y expresión génica en distintos tejidos de la familia de subtilisinas de cebada

RODRÍGUEZ, MI<sup>1</sup>; WIRTH, SA<sup>2</sup>; ROBERTS, IN<sup>1</sup>.

Las serín-proteasas vegetales se dividen en 14 familias, de las cuales la familia de las subtilisinas (familia S8) es una de las más numerosas. Las subtilisinas vegetales caracterizadas a la fecha han sido asociadas a numerosos aspectos del crecimiento y desarrollo en distintas especies de plantas, estando mayormente involucradas en la movilización de reservas de semillas, muerte celular programada, desarrollo reproductivo y senescencia. Al día de hoy es poco lo que se conoce sobre las subtilisinas de cebada. El objetivo de este trabajo fue identificar los genes que componen la familia de subtilisinas de cebada y analizar su expresión en diferentes tejidos y estadios de crecimiento. En cebada pudimos identificar 40 genes completos para subtilisinas. Previamente habíamos descripto que en *Brachypodium distachyon*, una especie modelo para cereales, esta familia se compone de 60 genes. El análisis filogenético de la familia de subtilisinas de cebada, *B. distachyon* y arroz (descrita por otros autores) revela una alta homología de secuencias y correspondencia en la organización en “clusters” de dichos genes, tanto a nivel intra- como inter-específico, lo que indica que se trata de una familia de proteasas muy conservada en los cereales. En el presente trabajo, se analizó mediante RT-qPCR la expresión de los genes codificantes para subtilisinas de cebada en granos en germinación, plántulas de 4d y plantas en estado reproductivo. Los tejidos analizados fueron espigas, aristas, tallo, hoja verde y hoja senescente de plantas

en estado reproductivo (5.5 en escala Zadoks) y coleoptile, raicillas y grano desbrotado de 4 días de germinación. En los mismos tejidos se determinó la concentración de proteínas, aminoácidos libres y actividad de subtilisinas utilizando AAPFpNA, un sustrato específico para dichas proteasas. En los tejidos senescentes de plantas en estado reproductivo, tanto hojas como tallos, se observó mayor expresión de las subtilisinas denominadas AK362004, AK365933, AK368436, AK371975, AK370424, AK365171, AK372994 y AK368425. En cambio, en hoja verde, los genes de mayor expresión fueron AK363635, AK363612, AK366129, AK372865, AK374646 y AK373846. En los granos en germinación y plántulas los genes de mayor expresión fueron AK357668, AK368290, AK375048, AK368100, AK355289, AK355951, AK358704 y AK357644. En algunos casos se observaron genes que sólo mostraron expresión en un solo tejido, como AK375659, AK372403 y AK374513 en espigas y AK357759, AK360191 y AK358242 en coleoptiles. En todos los casos, los genes asociados a los distintos tejidos se informan en orden decreciente de nivel de expresión. Cuatro de los genes analizados no se expresaron en ninguna de las muestras examinadas. En conjunto, estos resultados demuestran que los distintos genes que componen la familia de subtilisinas de cebada se asocian en forma altamente específica a algún estadio de desarrollo y/o tejido en particular.

<sup>1</sup>INBA-CONICET/FAUBA. <sup>2</sup>Laboratorio de Agrobiotecnología, IBBEA-UBA-CONICET y DFBMC-FCEN-UBA. mirodriguez@agro.uba.ar

# Determinación de atrazina en aguas subterráneas del norte de Grecia

RODRIGUEZ, MS<sup>1,2</sup>; PARLAKIDIS, P<sup>3</sup>; VRYZAS, Z<sup>3</sup>; PÉREZ CARRERA, A<sup>1,2</sup>; FERNÁNDEZ-CIRELLI, A<sup>1,2</sup>.

El agua subterránea es la principal fuente de agua potable de Grecia. La atrazina es un herbicida sintético del grupo de las triazinas que se encuentra prohibido en la Unión Europea desde el 2004. En los últimos años, diversos autores han informado la presencia de este herbicida en el agua subterránea de Grecia. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia de Atrazina en aguas subterráneas del valle Ardas ubicado al norte de la provincia de Evros, Grecia. Se efectuaron muestreos mensuales (n= 5) en el período de marzo- septiembre 2017 en cinco fuentes de agua potable de distintos puntos de la cuenca: dos pozos de riego y cuatro pozos experimentales ubicados a 10-20 km de las fronteras entre Grecia y Turquía. La cantidad total de muestras analizadas fue de cincuenta y cuatro. Se realizó la extracción de atrazina en

fase sólida. Para el análisis cromatográfico se utilizó HPLC / DAD. Los límites de detección variaron entre 0,001 a 0,005 µg / L y los límites de cuantificación de 0,01 a 0,05 µg / L. Para comparar los resultados se realizaron las pruebas de ANOVA y la comparación de pares de Tukey. Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las estaciones de muestreo en relación a atrazina. Se observó que el 45% de las muestras de agua superaron el límite máximo establecido por la Unión Europea para herbicidas en agua potable de 0,1 µg/L. Los resultados obtenidos indican que existe un riesgo de consumir agua subterránea contaminada con atrazina, por lo tanto, con el fin de disminuir este riesgo, se debería profundizar en el monitoreo de este herbicida en el área de estudio y por otro lado, identificar las posibles fuentes de triazinas en el valle Ardas.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires – CONICET. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de Agricultura, Farmacología y Ecotoxicología. Departamento de Agricultura. Universidad Demócrito de Thace, Orestiada, Grecia. olerodriguez@gmail.com

# Análisis de riesgo por consumo de agua y pescado del arroyo Ramos (Misiones, Argentina)

ROLÓN, ME<sup>1</sup>; AVIGLIANO, E<sup>1</sup>; ROSSO, JJ<sup>2</sup>; MABRAGAÑA, E<sup>2</sup>; VOLPEDO, AV<sup>1</sup>.

La mayor parte de la población de Misiones consume agua subterránea o superficial pobremente tratada. En muchos casos, los efluentes domiciliarios y cloacales se vierten directamente sobre los mismos cuerpos de agua de donde se extrae el agua para consumo. El presente trabajo se propone analizar el riesgo para la salud humana por consumo de agua y de músculo de peces de dos especies (*Rhamdia quelen* y *Oligosarcus jeninsii*) en el arroyo Ramos (departamento Oberá) de la provincia de Misiones. Se colectaron muestras de agua (N=3) y peces (N=24) entre los meses de Mayo y Octubre 2016 y Abril 2017. Se determinaron elementos traza (Fe, Hg, Ni, Pb, Se, V y Zn) en las muestras de agua y tejido muscular de peces (previa digestión ácida utilizando un horno asistido por microondas) mediante

espectrometría de masas acoplado a plasma inductivamente (ICP-MS). Se determinaron dos índices de riesgo por ingesta de elementos traza a través del consumo de agua (HQ) y pescado (THQ) para la población, considerando la relación entre la ingesta diaria crónica y la dosis de referencia oral. Los valores más elevados de HQ para la población adulta fueron para Ni (0,015), V (0,005), Pb (0,004) y Zn (0,004). Los valores de THQ más altos fueron para Hg (*R. quelen*: 0,03; *O. jeninsii*: 0,09) y Zn (*R. quelen*: 0,007; *O. jeninsii*: 0,002), y los valores más bajos fueron para Se (*R. quelen*: 0,003; *O. jeninsii*: 0,001) y Fe (*R. quelen*: 0,002; *R. quelen*: 0,0005). Los valores totales de los índices HQ (0,04) y THQ (<0,09) obtenidos fueron menores a 1, por lo cual no habría riesgo por consumo de agua o pescado.

<sup>1</sup>CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Grupo de Biotaxonomía Morfológica y Molecular de Peces, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC-CONICET), Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. euge.r@hotmail.com

# Protective effects of dexmedetomidine in early experimental sepsis

RONCHI, J<sup>1</sup>; OLEA, G<sup>1</sup>; HUESPE, L<sup>2</sup>; FARIZANO, D<sup>2</sup>; SCHELOVER, E<sup>3</sup>; AGUIRRE, MV<sup>1</sup>; STOYANOFF, TR<sup>1</sup>.

Sepsis and septic shock are characterized by life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to infection. They are common and fatal disorders, representing the major determinant of morbidity and mortality in intensive care units (ICU). This highlights the importance of the study of new therapeutic strategies to mitigate these effects. Dexmedetomidine (DEX) is a common sedative drug used in the intensive care unit and several evidences have shown that may induce a variety of cytoprotective effects on early sepsis. In this study, we aimed to evaluate the protective effect of DEX on a murine model of lipopolysaccharide (LPS) induced-endotoxemia by histological and biochemical examinations. Male inbred Balb/c mice were divided into four

experimental groups: I) Control; II ) LPS ( 8 mg / kg , ip) , III ) DEX ( 50µg/ kg , ip ) and IV ) DEX+LPS. Histopathological analyses for renal, pulmonary and hepatic tissues, and biochemical determinations were performed at 24h post LPS administration. DEX+LPS group showed a significant improvement in renal function, as well as, a significant attenuation of histopathological alterations induced by LPS from 24 hs. Our data revealed that DEX treatment remarkably improving metabolic acidosis and hypoglycemia. This study demonstrates that DEX exerts protective effects on kidneys, liver and lungs in endotoxemic mice. Further in vivo studies will be performed to determine the molecular mechanisms involved in these improvements.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas (LIBIM). <sup>2</sup>Hospital Escuela "José de San Martín". Centro de Investigaciones Clínicas. <sup>3</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina.

# Áreas urbanas y periurbanas de la región metropolitana de Buenos Aires: evaluación de los efectos ambientales en los usos del suelo

ROSITANO, F<sup>1,2\*</sup>; CIVEIRA, G<sup>1,3</sup>.

Los ecosistemas urbanos son afectados por un proceso de ocupación edilicia paulatina de las áreas vegetadas que modifica al paisaje generando la presencia de lotes vacíos, ecosistemas residuales, agricultura de subsistencia, necesidades básicas insatisfechas y la ocupación ilegal de tierras. En las áreas urbanas, es necesaria la preservación de los usos del suelo con bajo impacto ambiental como los espacios vegetados que proveen de servicios de los ecosistemas (SE). Un posible indicador para la evaluación del impacto ambiental en ecosistemas es la productividad primaria neta (PPN). Este indicador es relevante debido a que se encuentra relacionado con los SE que brindan los ecosistemas. Asimismo, ha sido observado que los ciudadanos que se encuentra en ambientes vegetados presentan mejores condiciones en su calidad de vida. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos ambientales sobre la PPN de los usos del suelo de las diferentes actividades en la Región Metropolitana de Buenos Aires (RMBA). La PPN y la PPN/habitante se evaluaron como indicadores de impacto ambiental. La PPN se calculó para cada municipio y tipo de uso del suelo (AV: área verde; AE: agricultura extensiva; AI: agricultura intensiva; AUP: agricultura urbana y periurbana), mientras que la PPN/habitante se calculó para cada tipo de uso y nivel de urbanización. Con esta información, se determinaron aquellos usos de suelo, municipios y niveles de urbanización con diferentes niveles de PPN. Esto, a su vez,

permitió construir un ranking de usos con diferentes niveles de cargas ambientales para cada municipio y nivel de urbanización de la RMBA. La PPN se calculó utilizando los datos de rendimientos de los tipos de vegetación (tn) y la superficie que ocupan los mismos (has) a nivel de municipio, a las cuales se les aplican los índices de cosecha (IC: relación entre la materia seca de lo cosechado y la biomasa aérea de la planta). La PPN de las áreas vegetadas determinó que en los municipios del periurbano los usos AI y AE presentaron mayor PPN. En general, en los municipios urbanos, las AV fueron las que mayor PPN presentaron. La PPN como indicador permite inferir un mayor impacto ambiental para los municipios con menores usos vegetados como los urbanos. Al analizar la PPN/habitante, se observó una relación mayor en los municipios del periurbano donde el número de habitantes es menor y la PPN, mayor. Este indicador permite asociar los usos vegetados con la calidad de vida de la población debido a que un menor índice indicaría efectos ambientales negativos sobre la población incidente. En conclusión, este trabajo permitió identificar aquellos municipios y usos de suelo con diferentes niveles de PPN que pueden generar efectos ambientales no deseados. Asimismo, se identificaron aquellas opciones de uso que presentaron diferentes relaciones entre la PPN y el nivel de la población, lo que permitió identificar en mayor detalle los efectos ambientales para las áreas urbanas y periurbanas que pueden afectar a la calidad de vida de la población en la RMBA.

<sup>1</sup>Facultad de Agronomía y Ciencias Agroalimentarias. Universidad de Morón. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía  
<sup>3</sup>Instituto de Suelos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. \*rositano@agro.uba.ar

# Desarrollo de una nueva herramienta diagnóstica para detectar tuberculosis en fauna silvestre

ROSSO, P; MARFIL, MJ; EIRIN, ME; BUCAFUSCO, D; TAMMONE, A; PEÑA MARTINEZ, J; STEMLER, A; BARANDIARAN, S.

La tuberculosis bovina (TBb) es una enfermedad infecciosa crónica que afecta a animales domésticos, silvestres y al hombre. Uno de los principales obstáculos para lograr el saneamiento en el marco del Plan de Control y erradicación de la TBb, es la existencia de reservorios de vida silvestre, los cuales son muy difíciles de identificar, y posteriormente de controlar. La prueba de ensayo de liberación de interferón-gamma cuantifica el IFN $\gamma$  producido por linfocitos-T sensibilizados en respuesta al contacto con antígenos específicos de *Mycobacterium bovis* mediante la técnica ELISA. De esta manera se mide la respuesta inmunitaria de tipo celular específica de memoria que caracteriza a la tuberculosis. Una limitante de esta técnica es que los kits comerciales están orientados a ser usados en bovinos y bubalinos, quedando muchas especies de animales silvestres fuera del rango. A su vez, estos kits son importados y su costo es muy elevado, dificultando su uso incluso en bovinos. Se propone, mediante un análisis predictivo comparativo, identificar regiones conservadas en la molécula de IFN $\gamma$  en 4 especies silvestres relacionadas filogenéticamente (jabalí, pecarí, ciervo axis y venado de las pampas). El fin es obtener un inmunógeno capaz de generar anticuerpos VHHs que reconozcan al marcador de infección en una plataforma de ELISA. Se realizará una búsqueda bibliográfica de la secuencia de IFN $\gamma$  de las especies de interés. Se diseñarán *primers* utilizando el programa Primers3Plus para evidenciar las

regiones codificantes de IFN en diferentes especies. Hasta el momento se analizaron las secuencias codificantes para la molécula de IFN $\gamma$  disponibles en el *Gene Bank* en un gran número de especies animales y se observó un alto grado de conservación, por lo tanto, se dedujo que, en las especies propuestas, la misma presenta poca variabilidad con respecto a las secuencias de IFN $\gamma$  conocidas. En base a esta premisa, diseñamos un par de *primers* capaces de amplificar la secuencia de interés mediante una reacción de PCR. Una vez confirmada la recuperación de IFN en las especies de interés, el segmento amplificado será insertado en un vector plasmídico. Con el vector resultante, se transformarán bacterias competentes *E coli* DH5a y se seleccionarán los clones recombinantes que posean el injerto por medio de *colony*-PCR. La producción de la proteína recombinante será evaluada en ensayos de Western Blot con un anticuerpo anti-histidina. Las proteínas expresadas serán purificadas, cuantificadas y se conservarán a -80°C, para ser inoculadas en el futuro en el modelo de llama. De confirmar el supuesto de sensibilidad y especificidad de los *primers* diseñados para amplificar las regiones codificantes del IFN, se podrá detectar la presencia de IFN $\gamma$  en la sangre de un gran número de especies, no solo en las anteriormente propuestas, sino también en otras de interés productivo, como es el bovino. La creación de un kit diagnóstico Nacional contribuirá a incrementar la eficiencia del Plan Nacional de Control y Erradicación de la TBb y permitirá reducir costos.

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

<sup>2</sup>Instituto de Biotecnología. IABIMO-CONICET. Buenos Aires. Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Virología. IABIMO-CONICET. Buenos Aires. Argentina. <sup>4</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>5</sup>Centro de Investigaciones Veterinarias (CIVETAN). <sup>6</sup>Conservation Land Trust.

# Estudio retrospectivo de la presencia de *Trichinella* en muestras de cerdos, jabalíes y productos porcinos en Argentina

RUARTE, MT<sup>1,2</sup>; MORICI, GE<sup>1</sup>; DOMINGUEZ, MG<sup>1</sup>.

La triquinosis en Argentina es una zoonosis parasitaria endémica causada por el nematodo del género *Trichinella* spp. que abarca varias especies con diferente distribución geográfica. Se reconocen en la actualidad doce genotipos dentro de este género, nueve de rango especie como *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi* (T3), *T. pseudospiralis* (T4), *T. murrelli* (T5), *T. nelsoni* (T7), *T. papuae* (T10), *T. zimbabwensis* (T11) y *T. patagoniensis* (T12) y tres que aguardan una clarificación taxonómica T6, T8 y T9, de los cuales 4 han sido encontradas en Argentina: *T. spiralis*, *T. britovi*, *T. pseudospiralis* y *T. patagoniensis*. El hombre contrae la enfermedad por el consumo de carne infectada cruda o mal cocida de cerdo, presas de caza infectadas o salazones preparadas con estas materias primas. En el período 2016 a 2017 se notificaron 1148 y confirmaron 96 casos clínicos humanos a nivel nacional según consta en el Boletín Integrado de Vigilancia del Ministerio de Salud de la Nación. El objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio retrospectivo entre los años 2013 y 2018 de la detección de larvas de *Trichinella* e identificación de las mismas a nivel de especie en muestras de cerdos, jabalíes y productos porcinos recibidos en nuestro laboratorio. Se analizaron un total de 93 muestras, de las cuales 66 fueron cerdos, 17 jabalíes y 10 productos

chacinados porcinos, recolectados desde abril de 2013 hasta noviembre de 2018 en distintas localidades de cuatro provincias argentinas, algunas de las cuales estuvieron implicadas en brotes humanos. Las muestras se analizaron mediante la técnica de digestión artificial rápida (DAR). En el caso de muestras positivas se extrajo el ADN con proteinasa K, seguido de la técnica nested-multiplex PCR de las secuencias repetidas del segmento de expansión V y los espaciadores de los transcritos internos 1 y 2 del ADNr para identificar el genotipo al que pertenece. Luego se procedió a la secuenciación del producto amplificado para confirmar por comparación con las secuencias depositadas en el GenBank a través del programa CLUTALW. De las 93 muestras analizadas, se encontraron larvas morfológicamente compatibles con *Trichinella* en 12 muestras, que correspondieron a 5 cerdos, 1 jabalí y 6 chacinados; las cuales resultaron poseer un 100% de identidad con *T. spiralis* al analizarlas molecularmente. Los datos obtenidos en el presente trabajo indican que *T. spiralis* es la especie predominante en las muestras que se estudiaron y resultaron positivas y que estuvieron involucradas en infecciones humanas en Argentina. Esto debe ser tenido en cuenta en la implementación de estrategias de prevención y control de esta zoonosis en el país.

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. <sup>2</sup>Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina.

# Conjugación de un anticuerpo específico frente a suero de ciervo con peroxidasa para su uso como reactivo.

SAIET, J; CALABRESE, A; CARRIZO, A; COLAVECCHIA, S.

La conjugación de anticuerpos antígeno-específico mono o policlonales con peroxidasa (HRP) se da por su unión covalente, la misma no altera la funcionalidad del sitio de unión al antígeno ni el sitio activo de la enzima. La conjugación resulta beneficiosa para detectar y cuantificar antígenos o anticuerpos a través de pruebas inmunoenzimáticas como por ejemplo el ELISA ya que se utilizan estos anticuerpos para diversas pruebas y generalmente son de alto costo. El objetivo de este trabajo fue la conjugación de un anticuerpo específico frente a suero de ciervo con peroxidasa para su uso como anticuerpo secundario en pruebas serológicas. Para ello se utilizaron 250 ul de antisuero de ciervo producido en conejo, los cuales fueron renaturalizados con diálisis frente a 2 L de PBS con el agregado de Sephadex G-25. Se incubó por 16 h a 4°C en agitación. Posteriormente, se disolvieron 10mg de HRP en 1ML de buffer carbonato pH 9,2 y se incubaron con 0.25 ML de NaIO<sub>4</sub>, dejando incubar 2 h a temperatura ambiente en

oscuridad. Se agregaron 0,25 ML del dializado y se incubó por 3 h más. Se lavó la columna con buffer carbonato para eluir el conjugado y se agregaron 28 ul de Na<sub>2</sub>HBO<sub>4</sub>, incubando 30 min en oscuridad; Se repitió este paso dos veces. Se agregaron 0.0225 ML de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se incubó en agitación por 30 min a 4°C, luego se centrifugó por 15 min a 10.000 RPM a 4°C. Se resuspendió el pellet en 0,1875 ML de buffer TEN y se dializó en 2 L del mismo buffer por 2 días en agitación a 4°C. Luego de obtener la muestra de la membrana se le agregó BSA para estabilizar. Se realizó una prueba de ELISA para evaluar la especificidad y el título obtenido. De la prueba de ELISA se obtuvieron títulos de: 1:100 para llama, bovino y ovino, y 1:200 para ciervo, cabra y seroalbúmina bovina. Dado que el anticuerpo específico anti-suero de ciervo sin conjuguar arrojaba títulos mayores en estudios previos (1:10000) se deberán utilizar anticuerpos purificados para una futura conjugación para evaluar la mejora en el título obtenido.

# Ensayo ecotoxicológico: exposición de *Armadillidium sp* a Zn presente en sustrato y agua del sistema agropecuario

SÁNCHEZ FULGUEIRAS, L<sup>1,3</sup>; ALVAREZ-GONCALVEZ, CV<sup>3</sup>; ARELLANO, F<sup>1,2,3</sup>; PÉREZ CARRERA, A<sup>1,2,3</sup>.

En las regiones ganaderas los suplementos minerales que contienen cinc (Zn) o cobre (Cu) para alimentar a los animales pueden llegar al suelo a través de las excretas, pudiendo afectar la calidad de los recursos hídricos, del suelo de uso pecuario o la producción de forraje. Mediante el uso de ensayos ecotoxicológicos se puede evaluar la acción de determinados compuestos sobre la biota, empleando como indicador a un organismo vivo. Para estudiar el impacto de los elementos traza como el Zn en la biota del suelo, se utilizó a la especie *Armadillidium sp.* conocido también como bicho bolita (Subphylum Crustacea, Orden Isopoda). Se expuso a los individuos a soluciones de ZnSO<sub>4</sub> de distintas concentraciones (0,05 mg/L, 0,5 mg/L, 1 mg/L, 5 mg/L, 50 mg/L, 100 mg/L, 500 mg/L, 2g/L, 5 g/L). Por cada concentración se realizaron 5 réplicas, con un N total de 50 individuos. Se mantuvieron condiciones favorables de humedad, temperatura y oscuridad durante el experimento. Se determinó el peso, la sobrevivencia y la actividad de los individuos con lapsos de 48 horas durante 5 días. Las concentraciones de 0,05 mg/L a 100 mg/L no resultaron

significativamente letales. Sin embargo, se observó una disminución en la actividad a partir de los dos días luego de la exposición para todas las concentraciones. Todos los individuos presentaron un aumento notable de peso las primeras 48 horas y un descenso a las 72 horas de exposición. La concentración de 5g/L resultó letal para todos los individuos expuestos, observándose un aumento progresivo de la mortandad a partir de los 500 mg/L de ZnSO<sub>4</sub>. Los resultados obtenidos permitieron establecer que la DL50 encuentra próxima a los 500 mg/L (R<sup>2</sup>= 0,57). Si bien estas concentraciones son muy elevadas en comparación con las encontradas en agua y suelos de producción ganadera relevados previamente (<LD a 2,5 mg/L o <LD a 670 mg/kg respectivamente) nos permite tener un parámetro de las concentraciones de contaminantes que afectan a esta especie en estudio y su practicidad en su uso como un bioindicador. La continuidad en el estudio con esta especie y su exposición a otros contaminantes (individualmente y en combinación) nos permitirá determinar si su uso como bioindicador es aplicable.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires-CONICET. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigaciones en Producción Animal <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Química Orgánica de Biomoléculas. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. Av. Chorroarín 280. farellano@fvet.uba.ar

# Descripción de caso: osteopatía hipertrófica pulmonar (enfermedad de Pierre Marie) secundaria a bronconeumonía en un equino de salto

SÁNCHEZ PARRA, ERICK ALEXANDER<sup>1</sup>; GARCÍA LIÑEIRO, JOSÉ ALBERTO<sup>2</sup>.

La osteopatía hipertrófica pulmonar es una enfermedad rara, poco frecuente en la clínica equina, y no se tiene establecida una etiología clara, pudiéndose atribuir a abscesos y tumores pulmonares como causa más común en los equinos. Las lesiones radiológicas se caracterizan por una proliferación bilateral simétrica de tejido conectivo vascular y periostial en la diáfisis o metáfisis de los huesos de los miembros. En lo que respecta al cuadro clínico se evidencian deformaciones voluminosas, simétricas y difusas que se hacen evidentes a la inspección en las partes no cubiertas por musculatura, su consistencia es dura y en algunos casos no presenta dolor, hay notables claudicaciones y un andar rígido, siendo en casos agudos asintomática. El objetivo de este trabajo es describir un caso clínico de Osteopatía hipertrófica pulmonar, en un equino de raza silla argentino de 2 años, destacando como uno de sus datos anamnésticos que padeció de adenitis equina con complicaciones de bronconeumonía y fue tratado durante 10 días con (penicilina + estreptomycin). A los 2 meses de finalizado el tratamiento se comienza a sospechar de esta enfermedad secundaria, ya que se observan deformaciones en la cuartilla de forma simétrica sin presencia de dolor ni claudicación en el equino a las cuales no se prestó atención, pero luego de 4 meses más de evolución, se solicitó un estudio radiográfico. observándose neoformación óseas en la falange proximal

de los 4 miembros propias de Osteopatía hipertrófica pulmonar, por lo cual se sugieren realizar unas placas de tórax, encontrándose una masa redondeada cerca al corazón, estando los pulmones con patrón pulmonar compatible a fibrosis en el árbol bronquial. Se procedió a realizar una ecografía torácica para corroborar los hallazgos encontrados y se pudo comprobar que esta masa estaba cerca a la pared costal. Los aspectos radiológicos, ecográficos fueron contundentes para realizar este diagnóstico, y se destaca como situación poco común las lesiones propias de Pierre Marie en los huesos de las 4 cuartillas. En la literatura han reportado que no hay un tratamiento específico para la enfermedad, estando dirigido a la causa primaria o subyacente de esta patología, Se ha demostrado que la vagotomía disminuye el flujo de sangre a las extremidades y revierte los cambios periósticos asociados a esta patología, Debido a que la Osteopatía hipertrófica suele ser secundaria a una condición subyacente grave o fatal, generalmente se considera que tiene un pronóstico desfavorable. Para concluir es importante frente a un cuadro pulmonar, un adecuado tratamiento y seguimiento, y considerar su posible asociación ante deformaciones simétricas Óseas compatibles con reacción perióstica en los 4 miembros el diagnóstico de enfermedad de Pierre Marie.

<sup>1</sup>Carrera de Especialización en Medicina Deportiva del Equino Escuela de Graduados Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. <sup>2</sup>Cátedra de Salud y Producción de Equinos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Argentina.

# Primera detección de *Leptospira* spp. En *Tadarida brasiliensis* y *Eptesicus* spp.

SARULLO, V<sup>1,2</sup>; HAMER, M; WATANABE, O<sup>1</sup>; GRUNE, S<sup>1,2</sup>; MARTINEZ, M<sup>1</sup>; BRIHUEGA, B<sup>1</sup>.

La Leptospirosis es una enfermedad zoonótica que afecta tanto a humanos como a animales de producción y de compañía. El agente etiológico es una bacteria espiroqueta perteneciente al género *Leptospira* spp. La enfermedad se transmite por el contacto directo o indirecto con agua u orina contaminada con cepas patógenas de la bacteria, que se diseminan al ambiente. En los últimos años, el número de casos reportados de animales silvestres como portadores de este patógeno ha incrementado, y junto con ello, la necesidad de estudiar a *Leptospira* spp. como agente infeccioso en estos animales. El objetivo del siguiente trabajo fue detectar la presencia de *Leptospira* spp. en muestras de murciélagos de la Provincia de Buenos Aires, remitidos de diferentes Centros de Zoonosis de la misma Provincia. Para ello se trabajó con 50 riñones de las especies *Eptesicus* spp., *Eumops* spp. *Molossus molossus*, *Tadarida brasiliensis* y *Promops* spp.; y 12 sueros de las especies *Eptesicus furinalis* y *Tadarida brasiliensis*. El ADN genómico se extrajo con Chelex-100 y se usó como templado para una dúplex PCR que amplifica los genes *secY*

y *flaB*, específicos para detectar especies de leptospirosis patógenas. Los anticuerpos contra *Leptospira* spp. fueron determinados por la Técnica de Aglutinación Microscópica (MAT), prueba “gold standard” para el diagnóstico de leptospirosis y de referencia internacional. De los riñones analizados, 3 especies fueron positivas por PCR a leptospirosis patógenas: *Eumops* spp. y *Tadarida brasiliensis*. Todos los sueros analizados de las especies *Eptesicus furinalis* y *Tadarida brasiliensis* mostraron títulos  $\geq 1/25$  para *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, *Leptospira interrogans* serovar Cynopteri, *Leptospira interrogans* serovar Bataviae, y *Leptospira borgpetersenii* serovar Ballum. Este trabajo reporta la primera detección de leptospirosis patógenas en murciélagos de la Provincia de Buenos Aires por PCR, como también el primer reporte de serología positiva en esta familia de mamíferos en el país. Estos hallazgos resaltan la importancia de estos animales no sólo como transmisores de agentes virales, sino también como portadores y posibles diseminadores de agentes bacterianos como *Leptospira* spp.

<sup>1</sup>Laboratorio de Leptospirosis. Instituto de Patobiología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

# Diferente perfil fermentativo de hidratos de carbono de *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* de muestras clínicas

SARCONE, N<sup>1</sup>; ETCHEVARNE, C; PEREZ, AE; BUSCEMA, MR<sup>1</sup>; BUSTOS, CP; MUÑOZ, AJ<sup>1</sup>.

*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 sintomatología clínica en varios huéspedes produciendo brotes en perros, cerdos, equinos, cabras, ovejas y humanos. Dicha bacteria presenta un número variable de sistemas de fosfotransferasa (PTS) implicados en la utilización de azúcares específicos. Según estudios previos esto estaría implicado en la capacidad de sobrevivir en nichos ecológicos particulares y adaptarse a ciertas zonas anatómicas. Los azúcares utilizados por el sistema PTS pueden variar entre diferentes grupos de bacterias, reflejando la fuente de carbono más disponible en el ambiente donde cada grupo se encuentra y a la vez conferir una ventaja selectiva para las cepas patógenas. El objetivo de este trabajo fue estudiar el perfil de fermentación de hidratos de carbono en aislamientos de *S. zooepidemicus* provenientes de diferentes patologías en equinos. Se utilizaron 14 aislamientos de *S. zooepidemicus* provenientes de mucosas nasofaringe, linfonódulos y útero de equinos con sintomatología clínica identificados entre los años 2010 a 2019 provenientes del cepario de la Cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA. Se utilizaron 3 ml de caldo púrpura suplementado con los diferentes hidratos de carbono al 1%.

Los azúcares evaluados fueron manosa, lactosa, trehalosa, salicina, rafinosa, sorbitol, arabinosa, sacarosa, galactosa, glucosa y dextrosa. Como inóculos se utilizaron 200 µ de los aislamientos cultivados en caldo Todd Hewitt Broth a 37°C con atmósfera enriquecida con CO<sub>2</sub> por 24 h. Los cultivos fueron examinados después de una incubación a 37°C con 5 % de CO<sub>2</sub> por 24 h, mediante la observación del color del medio de cultivo, ya que el viraje del pH produce el cambio de púrpura a amarillo, significando la utilización del azúcar correspondiente. Los resultados evidenciaron la utilización de hidratos de carbono con el típico perfil de fermentación correspondiente a *S. zooepidemicus* y se observaron diferencias en cuanto a la fermentación de manosa, salicina, galactosa, sacarosa y dextrosa por la mayoría de las cepas, evidenciándose diferencias en aislamientos provenientes de la misma o diferente patología. Rafinosa y arabinosa no fueron fermentados por ninguna de las bacterias estudiadas. No se observó relación entre la fermentación de azúcares y lugar anatómico de procedencia de los aislamientos. Se prevén estudios posteriores en los que los perfiles de fermentación se compararán con los genotipos para intentar comprender si existen cepas más adaptadas a ciertos nichos ambientales que favorezcan su patogenia. Esto contribuirá a una mejor comprensión de la epidemiología de este agente y la relación existente entre el huésped y el agente que es lo que permite el desencadenamiento de la enfermedad tanto en el equino como en las diferentes especies.

Este trabajo fue financiado por el Proyecto UBACyT 20020170200241BA.

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

# Aptitud de agua de bebida para ganado bovino de cría en la Cuenca del Salado

SASSANO, NA<sup>1</sup>; CARBÓ, LI<sup>1</sup>; VOLPE, SM<sup>1</sup>; GIL, SB<sup>2</sup>; ORLANDO, AA<sup>1</sup>.

La aptitud del agua para su uso en producción animal está determinada por características físicas, bacteriológicas y químicas. En consecuencia, la calidad del agua puede verse afectada por diversos componentes químicos que pueden alterar el desarrollo de la actividad ganadera al dañar la salud de los animales y/o reducir la productividad. Existen factores que inciden sobre el nivel de tolerancia a diferentes calidades del agua, como lo son, el clima, la composición del alimento, el tipo de animal, el tipo de explotación, entre otros. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad química del agua subterránea de diferentes partidos de la Cuenca del Salado (Cds) en su aptitud para ganado bovino de cría. Las muestras de agua subterránea fueron recolectadas de molinos y bombas de establecimientos ganaderos dedicados a la producción de bovinos de cría en la Cds (n=37). Los muestreos y análisis de agua se realizaron por metodología estándar (APHA, 2005). En todas las muestras cada parámetro fue evaluado según los criterios de calidad específicos para cría bovina, considerando valores establecidos como seguros para la producción y salud animal. Los parámetros analizados fueron: pH, sales totales (ST), carbonatos y bicarbonatos (Carb+Bicarb), dureza (Dz), cloruros (Cl), sulfatos (SO<sub>4</sub>), nitratos (NO<sub>3</sub>), nitritos (NO<sub>2</sub>) y arsénico (As). El diagnóstico de la aptitud de las muestras se realizó analizando los parámetros en forma progresiva, según el orden descripto para el

análisis. Las muestras rechazadas no continuaron en la secuencia de diagnóstico. La totalidad de las muestras resultaron aptas para consumo, sólo una de éstas podría producir una reducción de la productividad debido al contenido de SO<sub>4</sub> y NO<sub>3</sub>. Los SO<sub>4</sub> podrían alterar el tenor de Calcio/Fósforo normales en el suero, reduciendo la absorción del calcio, afectándose las funciones reproductivas, generando menor fertilidad y menores índices de preñez y parición. Estos inconvenientes podrían evitarse suplementando estratégicamente a la hacienda con sales ricas en dichos elementos. También hay que considerar la mayor tolerancia que se presenta en animales adultos tras un periodo de acostumbramiento a aguas con elevado tenor de SO<sub>4</sub> o por consumo elevado de fibra ya que la digestibilidad de la lignina se favorece por su presencia. La presencia de NO<sub>3</sub> supone algún tipo de contaminación con materia orgánica en descomposición. La misma puede deberse a la infiltración de aguas que provengan de terrenos muy fértiles, de áreas donde se concentran animales y a falta de limpieza de los elementos que componen la aguada. Por último, cabe destacar que ciertos forrajes y malezas acumulan NO<sub>3</sub>, que de sumarse a los provenientes del agua, aumentan la probabilidad de problemas productivos y de intoxicación en los animales. Se debe considerar al agua, y los compuestos presentes en ella, como un factor productivo y sanitario, inseparable de los demás y fundamental para todo establecimiento ganadero.

# Osteosíntesis de fractura de ilion mediante placa de bloqueo cónico. Reporte de caso.

SAVAN, C<sup>1</sup>; FERNANDEZ MENDY, M<sup>1</sup>; CORRA, J<sup>1</sup>; MELE, E<sup>2</sup>; GUERRERO, J<sup>1</sup>.

Las fracturas de pelvis son comúnmente provocadas por accidentes automovilísticos. En el caso de fracturas púbicas e isquiáticas pueden ser tratadas con reposo y restricción del ejercicio. Sin embargo, en las fracturas acetabulares y fracturas iliales está indicada la resolución quirúrgica. Se puede optar por distintos implantes: clavos y alambre en 8, tornillos de compresión interfragmentaria, placas de reconstrucción, placas LCP. Las placas LCP proporcionan un bloqueo tornillo-placa gracias a su rosca brindando estabilidad angular a los fragmentos lo que la hace funcionar como un fijador interno. En la actualidad existe un novedoso sistema de bloqueo llamado Fixin®. El sistema está constituido por tres partes: placa de acero, arandela de titanio y tornillo de titanio. La arandela va enroscada a la placa y el tornillo queda bloqueado con la arandela por un sistema de acople cónico. Esta composición le confiere muchas ventajas. Por una parte, se considera un sistema “flexible” porque admite ciertos micro-movimientos a nivel del foco de fractura que permiten una cicatrización ósea más temprana. Por otra parte, posibilita la retirada del conjunto arandela-tornillo sin problemas mediante un instrumento especial. El 1 de noviembre de 2018 ingresó al servicio de emergencia del Hospital Escuela de FCV-UBA un canino, caniche, macho de 1 año de edad

recientemente atropellado por un auto. Luego de ser estabilizado y descartado otro tipo de lesión, se derivó al servicio de cirugía por una fractura en el cuerpo del ilion, en el pubis y una luxación sacroilíaca. Se indicaron prequirúrgicos de rutina y se repitieron radiografías de cadera para planificar la resolución de la fractura iliaca. El día 7 de noviembre se realizó la osteosíntesis utilizando una placa Fixin® V1805 1.7 mm, placa de soporte lateral en L largo también utilizada para fracturas de fémur distal. En el postquirúrgico se indicaron antibióticos durante siete días, analgésicos y antiinflamatorios durante tres días. A la semana se realizó el control clínico donde se observó que el paciente está descargando peso en el miembro operado y sin presencia de dolor aparente. A los 60 días se realizó un nuevo control radiológico presentado una excelente consolidación ósea. A modo de conclusión, se recalca la pronta recuperación y regreso a las funciones que tuvo el paciente, sumado a la experiencia adquirida por el equipo en el uso de este novedoso sistema de placas con bloqueo cónico, sin precedentes en el país; además, es importante destacar que se trata de una línea de implantes denominadas Micro, preparadas para pacientes de tamaño menor a 4 kg, algo inexistente en nuestro mercado.

# Estudio morfológico y morfométrico de espermatozoides de peces autóctonos de la Cuenca del Plata

SCHULMAN, E<sup>1</sup>; RIVOLTA, MA<sup>1,2</sup>; TORRES, P<sup>1,2</sup>; LÓPEZ, G<sup>3</sup>; CISALE, H<sup>1,2,4</sup>; FISCHMAN, ML<sup>1,2</sup>.

La morfología normal de las estructuras espermáticas, junto con otros parámetros como movilidad, viabilidad, concentración e integridad de membranas son determinantes de la calidad del semen. Cualquier anomalía en alguno de estos atributos podría indicar una disminución de la capacidad fecundante. En la actualidad, la evaluación de la morfología y morfometría no se realiza de rutina en peces. Los objetivos de este trabajo fueron 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). La puesta a punto de las técnicas se realizó con semen de tilapia (*Oreochromis niloticus*), especie exótica cuyo ciclo reproductivo se puede inducir mediante el manejo de las condiciones ambientales (horas luz y temperatura del agua), lo que permitió contar con animales en etapa reproductiva durante todo el año. Tanto en tilapia como en las especies autóctonas, las muestras se recolectaron mediante masaje en la zona ventral. A fin de analizar la morfología espermática, se realizaron coloraciones con Rosa de Bengala, Eosina–Nigrosina y Giemsa, las que se evaluaron mediante microscopía de campo claro (X100). Para el análisis a nivel nuclear, los espermatozoides fueron tratados con Azul de Toluidina y con la reacción de Feulgen. A pesar de haberse realizado modificaciones de tiempo y temperatura en los protocolos, y de

haber utilizado la técnica de descondensación con DDT, los núcleos no se colorearon. La Tinción 15 permitió la detección y evaluación de las cabezas espermáticas por medio del CASA, obteniéndose parámetros directos -longitud (L); ancho (W); perímetro (P) y área (A)- e indirectos -elipticidad, elongación, regularidad, rugosidad. En una segunda etapa, se obtuvieron muestras de semen de sabalito (*Cyphocharax voga*), pejerrey (*Odonthestes bonariensis*), y dientudo (*Oligosarcus jenynsii*). Dado su escaso volumen, se realizó un pool de semen de cada especie. Éstos se diluyeron en solución salina hiperosmolar (1:2). Para el análisis morfológico se emplearon las coloraciones antes mencionadas. Las determinaciones morfométricas se hicieron sobre frotis coloreados con T15, obteniéndose los siguientes resultados: sabalito L 2,6  $\mu\text{m}$  (+/-0,29); W 2,42  $\mu\text{m}$  (+/-0,24); P 8,3  $\mu\text{m}$  (+/-0,86); A 5,18  $\mu\text{m}^2$  (+/-1,1); pejerrey L 2,92  $\mu\text{m}$  (+/-0,26); W 2,79  $\mu\text{m}$  (+/-0,26); P 9,43  $\mu\text{m}$  (+/-0,85); A 6,65  $\mu\text{m}^2$  (+/-1,2); dientudo L 2,84  $\mu\text{m}$  (+/-0,24); W 2,68  $\mu\text{m}$  (+/-0,25); P 9,15  $\mu\text{m}$  (+/-0,78); A 6,23  $\mu\text{m}^2$  (+/-1,07); y a partir de ellos los parámetros indirectos. El presente trabajo permitió poner a punto coloraciones simples, de utilidad para estudiar la morfología y morfometría de espermatozoides de peces autóctonos. Si bien se deben analizar más muestras, el presente trabajo permitió obtener valores preliminares de referencia de parámetros espermáticos, que no se incluyen en la evaluación seminal de rutina.

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

# Cambios alométricos en la forma del caparazón del camarón ornamental *Neocaridina davidi*

SGANGA, DE; TOMAS, AL; LÓPEZ GRECO, LS.

*Neocaridina davidi*, nativo de China, Corea, Taiwán y Vietnam, es una de las especies de camarones ornamentales más populares. Posee un marcado dimorfismo sexual en cuanto al tamaño, las hembras son más grandes que los machos, y en cuanto a la coloración, presentando las hembras un color rojo más intenso. Además, los adultos son dimórficos en cuanto a la forma del caparazón. Para investigar la variación en la forma del caparazón de *N. davidi* respecto a su tamaño, a lo largo de su ontogenia y hasta alcanzar la madurez sexual, se aplicó una técnica cuantitativa novedosa, el análisis morfométrico. Juveniles recién eclosionados fueron colocados en acuarios plásticos en condiciones controladas de temperatura, fotoperiodo y pH, y con aireación constante. A cada acuario se le colocó una porción de musgo de Java (*Vesicularia* sp.), y los camarones fueron alimentados con alimento balanceado. Se analizaron en total 240 camarones: 130 hembras y 110 machos. Los mismos fueron pesados y fotografiados a los 18, 26, 34, 45 o 54 días de edad. Se determinó el sexo de los ejemplares en base a la morfología

del primer y segundo par de pleópodos del macho, y el estadio de desarrollo ovárico por medio de la observación del ovario a través del caparazón semi-transparente. A partir de las fotografías, se digitalizaron cuatro landmarks y diez semilandmarks para el cefalotórax. Las coordenadas de semilandmarks fueron deslizadas y la configuración de landmarks fue alineada por medio de un análisis generalizado de Procrustes. Se evaluaron las diferencias en la forma del cefalotórax para todas las edades y para ambos sexos. La variación de la forma del cefalotórax se correlaciona significativamente con el tamaño, es decir, la variabilidad observada está ligada al crecimiento alométrico. Se observan ligeros cambios en la forma del caparazón a lo largo de la ontogenia, ensanchándose el mismo en la parte ventral a partir de los 45 días de edad que coincide con el inicio del desarrollo gonadal en hembras. Si bien no se pudo observar el desarrollo del testículo en machos, se esperaba que ocurriese en el mismo período, ya que a partir de los 45 días de edad se comenzaron a observar machos con el vaso deferente lleno de espermatozoides.

UBACYT 2018-2021 nro. 20020170100021BA, PIP 2015-2017 nro. 11220150100544, PICT 2016-0759

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.

# Evaluation of three commercial diets in relation to offspring quality for the culture of the ornamental shrimp “Red Cherry” *Neocaridina davidi*

SGANGA, DE; LÓPEZ GRECO, LS.

*Neocaridina davidi* is a popular freshwater ornamental species traded worldwide for aquarium keeping. Its culture generally relies on commercially available feeds. Diet composition and nutritional value often affect offspring quality, because crustacean embryos and lecithotrophic larvae or juveniles depend exclusively on the nutrients present in egg yolk which is provided by females. The aim of this study was to evaluate three commercial diets for the culture of *N. davidi*, in terms of offspring quality.

One female and two males of the same age were randomly assigned to each replica and fed 7% with one of the following commercial diets: TetraColor® (Tetra, Melle, Germany), Crusta Sticks® (Tropical, Chorzów, Poland), Basic® (Labcon, Camboriú, Brazil). Immediately after hatching, a random sample of 5 to 10 juveniles I (JI) from each brood was photographed to quantify the area of the perigastric organ occupied by lipid droplets, and weighed.

Another random sample of 12 JI from each brood was subjected to a food restriction test, which lasted 32 days. Each JI was placed in a plastic container and maintained under the same conditions than brooders. JI were assigned to the same diet treatment as their parents and to one of the following restriction treatments: daily feeding during the 32-day period or food deprivation for the initial 8 post-hatching days and then daily feeding until day 32. Mortality was checked daily throughout the test and surviving 32-day-old shrimps were weighed. Juvenile I weight was similar for all diets. However, the amount of lipid droplets found in the perigastric organ region in Juveniles I from brooders fed Crusta Sticks®, was about 20 % lower than that from brooders fed TetraColor® or Basic®. Even though offspring survival to the food restriction test was similar for all diets, the weight of 32-day-old juveniles was lower when brooders were fed Basic® diet.

UBACYT 2018-2021 nro. 20020170100021BA, PIP 2015-2017 nro. 11220150100544, PICT 2016-0759

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.

# Identificación fenotípica de estafilococos coagulasa positivos aislados de animales de compañía (perros y gatos)

SMITH, VL; MOREIRA, JE; MAS, JA; SREDNIK, ME; COLOMBATTI OLIVIERI, MA.

Las bacterias del género *Staphylococcus* son bacterias patógenas oportunistas en la mayoría de las especies animales. *Staphylococcus pseudintermedius* es el principal estafilococo coagulasa positivo (ECP) patógeno oportunista, aislado de lesiones de piel, mucosas y orina de perros y gatos, seguido de *Staphylococcus aureus*. Los recientes estudios moleculares, consolidan la aparición del término “Grupo *Staphylococcus intermedius*” (GSI), el cual comprende tres grandes subgrupos: *S. intermedius*, *S. delphini* y *S. pseudintermedius*. Se ha propuesto que todas las cepas provenientes de perros pertenecen a *S. pseudintermedius*, a menos que futuras investigaciones del genoma evidencien nuevas especies relacionadas. La identificación de la especie y la diferenciación entre *S. aureus* y *S. pseudintermedius* es esencial actualmente, ya que existen diferencias sustanciales en cuanto al potencial zoonótico entre estas dos especies, y sus puntos de corte en las pruebas de sensibilidad *in vivo* pueden ser diferentes. En la actualidad, la diferenciación entre los miembros del GSI requiere tests moleculares. Sin embargo la diferenciación entre *S. aureus* y *S. pseudintermedius* es factible mediante la realización cuidadosa de test fenotípicos.

El objetivo de este estudio fue identificar fenotípicamente n=141 aislamientos de ECP aislados de muestras clínicas de perros y gatos de la zona de CABA y Gran Buenos Aires. Se analizaron n=141 aislamientos de estafilococos provenientes de muestras clínicas de perros (96,2%) y gatos (3,8%). Para la identificación se realizaron las siguientes pruebas: tinción de Gram, catalasa (CAT), óxido-fermentación (OF), coagulasa(COA), acidez anaerobia de manitol (AM), Vogues Proskauer (VP), ONPG, acidez aerobia de xilosa (AX) y trehalosa (AT). Siguiendo la caracterización fenotípica para la identificación, 64,5% (n=91) fueron identificados como ECP, 35,5% (n=50) fueron identificados como estafilococos coagulasa negativos. Dentro de los ECP, el 89% (n=81) pertenecen al GSI, y el 11% (n=10) restante fueron identificados como *S. aureus*. El esquema de pruebas bioquímicas utilizadas resulta ser un buen algoritmo para la identificación fenotípica de las especies ECP, y poder diferenciar entre *S. aureus* y el GSI. Para continuar con la identificación de las especies dentro del GSI, se realizarán las correspondientes pruebas moleculares.

# Osteomielitis: diagnóstico y control evolutivo con ecografía musculoesquelética

SORIANO, M<sup>1</sup>; FORT, S<sup>1</sup>; BRUZZONE, C<sup>2</sup>; CORRAL, J<sup>2</sup>; MERCADO, M<sup>1</sup>; PALLARES, C<sup>1</sup>.

Las complicaciones más frecuentes en el tratamiento de las fracturas son la osteomielitis, el retraso en la unión, la no unión y la mala unión. La osteomielitis es la más grave de ellas. Las técnicas de imagen son fundamentales en el proceso diagnóstico. La ecografía surge como una nueva herramienta para la detección temprana de complicaciones. El objetivo de este trabajo fue observar la utilidad de la ecografía para el diagnóstico y localización de focos osteomielíticos en fases pre-radiológicas en caninos. Se analizaron 5 pacientes caninos que asistieron a la Unidad de Fisioterapia del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.B.A. con diagnóstico de fractura abierta en distintos miembros. Se utilizó un ecógrafo marca CHISON con transductor lineal de 7,5-10 MHz. El día inicial se realizó radiografía y ecografía, para luego hacer un seguimiento ecográfico semanal durante cuatro semanas y control radiográfico a los 20 días. Se realizó biopsia, cultivo y antibiograma para establecer la etiología de la enfermedad e instaurar el tratamiento adecuado. El diagnóstico de laboratorio fue poco sensible y excesivamente variable. En este grupo de pacientes se pudo observar que el diagnóstico ecográfico precoz tuvo concordancia con el diagnóstico radiológico y biopsia. Los cambios radiológicos revelaron

osteólisis, reacción perióstica y secuestros a partir de 10 a 14 días posteriores del inicio de la infección. La ecografía permitió detectar características de la osteomielitis a las 48 horas del comienzo de la misma. Además permitió localizar el sitio y la extensión de la infección, identificar anomalías de la superficie ósea y factores tales como cuerpos extraños o fístulas, y proporcionar una guía para la aspiración o biopsia. La radiografía es un método económico y disponible pero de baja sensibilidad y especificidad en las infecciones. La Resonancia Magnética Nuclear es altamente sensible para la detección de osteomielitis pero es costosa y requiere sedación. Si bien la radiografía simple sigue siendo el método inicial que se usa de rutina en clínica, la ecografía musculoesquelética provee información adicional en una etapa temprana de posibles complicaciones, permitiendo evaluar tejidos blandos y articulaciones adyacentes. Es una técnica rápida e inocua, útil en regiones de difícil valoración por la presencia de material de osteosíntesis, no utiliza radiación ionizante, y ofrece imágenes en tiempo real brindando así una nueva herramienta en cirugía traumatológica con implementación de tratamiento precoz con el objeto de evitar las complicaciones pertinentes a corto y largo plazo.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales. Cátedra de Enfermedades Quirúrgicas. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Unidad de Cirugía.

# Análisis de perfiles de proteínas en líquido sinovial de equinos con diferentes patologías articulares

SOTO, SA<sup>1</sup>; PERRONE, G<sup>2</sup>; GONZALEZ, C<sup>2</sup>; RENDINE, E<sup>2</sup>; IVE, P<sup>2</sup>; DE SIMONE, EA<sup>1</sup>.

El líquido sinovial (LS) se produce como un filtrado a partir del plasma. Uno de los principales componentes del LS son las proteínas. La concentración de proteínas en el líquido sinovial es de aproximadamente 2g/dl, algo menor a la concentración plasmática. La proteína mayoritaria del LS es la albúmina sérica. Si bien, aún no están bien definidas posibles variaciones en la composición de las principales proteínas del LS en diferentes patologías articulares el análisis del LS puede resultar de utilidad para evaluar dichas patologías. El objetivo de este trabajo fue evaluar diferencias en la composición de proteínas del LS, que pudieran correlacionarse con el diagnóstico y evaluación de tratamientos en equinos con patologías articulares. Se trabajó con muestras de LS de equinos deportivos (n=32). Las muestras correspondieron a: i) fracturas que requirieron cirugía (FX) (n=6), ii) Osteoartritis sin tratar (OA)(n=11), iii) Osteoartritis tratada con plasma rico en plaquetas (OA+PRP) (n=7) y iv) animales controles sin patología articular (C) (n=8). Las muestras correspondieron a las articulaciones de carpo o tarso. La composición de proteínas del LS se analizó mediante SDS-PAGE al 12%. Los geles se colorearon con Coomassie Blue y se analizaron mediante densitometría (software Image J). Se seleccionaron para analizar 5 grupos de proteínas de acuerdo a sus pesos moleculares. Los grupos de proteínas

analizados fueron: I) Proteínas de alto PM ~150-220kDa, II) Proteínas con PM ~70-100 kDa, III) Albúmina sérica PM~65kDa, IV) Proteínas PM ~45-60kDa, V) Proteínas PM ~20-25kDa. Se utilizó el test de ANOVA para el análisis estadístico con el post test de Tukey. Los gráficos y el análisis estadístico se realizaron con el software Graph Pad 8. El grupo I de proteínas presentó diferencias entre el grupo C y el resto de los grupos, siendo significativamente menor en los grupos OA y OA+PRP (C vs OA p<0,05 y C vs OA+PRP p<0,01). Las proteínas del grupo III correspondiente a la albúmina disminuyó de intensidad respecto al control en todos los grupos, siendo las diferencias significativas en los grupos OA (p<0,01 vs control) y OA+PRP (p<0,001 vs control). Las proteínas del grupo II, IV y V no presentaron diferencias significativas entre grupos. Se encontraron para dos grupos de proteínas (I y III) diferencias en la composición entre dos grupos con patología articular (OA y OA+PRP) y el grupo control. Respecto a los animales del grupo FX si bien el mismo no presentó diferencias significativas mostró la misma tendencia que los grupos OA y OA+PRP. Actualmente nos encontramos analizando mayor número de muestras que permita confirmar estos resultados. El análisis de la composición proteica permitirá avanzar hacia el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad articular.

# Generation and characterization of nanobodies against the lotp protein of *Candidatus* 'Liberibacter asiaticus', agent of citrus greening

SPERAT, W<sup>1</sup>; GOMEZ, J<sup>1</sup>; PAGLIALI, F<sup>2</sup>; GONZALEZ, C<sup>2</sup>; VOJNOV, A<sup>1</sup>; IBAÑEZ I<sup>1</sup>.

*Candidatus* 'Liberibacter' spp., all vectored by psyllid insects, are recognized as the etiological agents of four devastating plant diseases: citrus greening (also known as Huanglongbing, or HLB), Zebra Chip disease, 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 causal agents of the citrus HLB disease and is transmitted by *Diaphorina citri*, the Asian citrus psyllid. During insect feeding, the bacteria are introduced into the phloem and colonize sieve tubes and, though the plant eventually develops chlorosis and dies, it may remain asymptomatic for months or 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. Research of the pathogens is extremely complicated, for only one of the genus members (*Liberibacter crescens*) can be grown *in vitro*. Lemon is the most important fruit crop in Argentina, for it makes up most of fruit export. Even though the disease still has not reached the Argentine lemon producers, the development of both research and diagnostic tools are of the utmost importance to stay ahead of the disease. In this context, our objective is to develop immunological tools that will allow the study and early diagnosis of HLB. To this end we have selected LotP, a protein from CLAs that is overexpressed *in planta* with respect to the vector, and has been suggested to help with the evasion of the immune system through its interaction with CLAs's GroEL chaperonin homolog. The His-tagged protein was expressed in *Escherichia coli*, purified and subsequently immunized in

*Lama glama*. After the immunization protocol, the variable fragments of the Lama heavy-chain antibodies (VHHs) were cloned in the pHEN4 phagemid vector to generate an immune library in *E. coli*; the virus particles expressing the VHH-P1III fusion protein were purified from the supernatant. Selection and characterization of positive binders was done as follows: purified LotP protein was biotinylated *in vitro*, and added to ELISA plates, which had been previously coated with NeutrAvidin; the phages were pre-incubated with NeutrAvidin to eliminate non binders, and incubated with the target protein; 20, 25 and 30 washes were done with PBST in the first, second and third round of panning, respectively. Lastly, bound phages were eluted, first by incubating with trypsin, and secondly by adding *E. coli* cells. Serial dilutions of the elutions were plated to observe the enrichment with respect to the negative control. The eluted phages were used to infect *E. coli* cells and grown overnight to amplify the specific binders. As a next step, ELISA plates were coated with LotP and incubated with purified monoclonal phages to check for positive binders; an unrelated His-tagged protein was used as a negative control. Those clones that had higher affinity with respect to the control were grown and amplified by PCR, followed by a restriction step with the *Hinf*I enzyme. The restriction patterns showed different families of VHH sequences, some clones were selected and sent for sequencing in order to continue characterizing them. In conclusion, we have obtained several possible candidates to test against infected plants and psyllids. These antibodies will be very useful tools to study the bacteria *in planta*, and could present us with the opportunity to detect the disease before the symptoms manifest.

<sup>1</sup>ICT-Milstein CONICET. <sup>2</sup>Department of Microbiology and Cell Science. Genetics Institute. Institute of Food and Agricultural Sciences.

# Farmacocinética de ciprofloxacina (comprimidos de administración oral) en caninos

STRANGES, A; PASSINI, S; LUPI, M; LORENZINI, P; ALMOÑO, B; ALBARELLOS, G.

La ciprofloxacina es un antibiótico bactericida cuyo mecanismo de acción es inhibir la síntesis de ADN, actuando sobre la ADN girasa y topoisomerasa IV bacterianas. Sus vías de administración son enteral o parenteral (intravenosa). Tiene diversos efectos colaterales, entre ellos alterar los cartílagos articulares en animales en crecimiento (en los cuales se encuentra contraindicado). Se distribuye ampliamente en todos los tejidos y fluidos corporales, ya que son muy liposolubles. Se metaboliza parcialmente en hígado y se elimina por riñón, bilis y materia fecal. Dentro de su espectro se encuentran las bacterias gram-negativas (enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa*), algunos gram-positivos (*Staphylococcus* spp.), *Mycoplasma* spp., *Leptospira* spp., *Chlamydia* spp y algunas micobacterias. Es un antibiótico de eficacia "concentración-dependiente" por lo que es importante que las concentraciones plasmáticas sean elevadas para obtener éxito terapéutico. Tiene una CIM <0.5 ug/ml para la mayoría de los microorganismos sensibles. La administración de los comprimidos de ciprofloxacina tiene una pobre biodisponibilidad en caninos, lo que conduce a concentraciones plasmáticas que son insuficientes para cumplir con el parámetro farmacocinético/farmacodinámico mencionado anteriormente. Por esto, las modificaciones en su administración tendientes a mejorar la biodisponibilidad de los comprimidos serían de utilidad para mejorar la eficacia de este antimicrobiano. Las experiencias se realizarán siguiendo un diseño cruzado con

5 caninos de raza Beagle, clínicamente sanos. Cada animal recibió los 2 tratamientos (A y B) en orden aleatorios: A) Ciprofloxacina (25 mg/kg) comprimidos via PO y B) Ciprofloxacina (25 mg/kg) comprimidos via PO disgregados y disueltos en agua (5 ml). Posteriormente se obtuvieron muestras sanguíneas (2ml/muestra) seriadas entre los 5 minutos y 24 horas post-administración. Luego se separó el plasma por centrifugación y se conservó a -20°C hasta su procesamiento. Las concentraciones plasmáticas se determinaron por el método microbiológico utilizando *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 y se calcularon los principales parámetros farmacocinéticos mediante un programa computarizado (WinNonlin 7.1). Se compararon estadísticamente los distintos tratamientos (test de t para datos pareados, P<0,05) (GraphPad Prism 5.0). Los principales parámetros farmacocinéticos obtenidos para el tratamiento A) fueron: ABC(0-inf) (ug\*h/ml) 15.45±9.58, Cmax (ug/ml) 2,47±1,50, Tmax (h) 1.87±0,60, T ½a (h) 0.78±0,44, T ½ (h) 2.73±0,60; mientras que los principales parámetros para el tratamiento B) fueron: ABC(0-inf) (ug\*h/ml) 28.08±6.75, Cmax (ug/ml) 5.47±1.55, Tmax (h) 1.51±0.72, T ½a (h) 0.70±0,63, T ½ (h) 2.29±0,75. Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos para los parámetros: Cmax y AUC. Estos resultados indican una mayor absorción de ciprofloxacina en caninos cuando se administra el comprimido disgregado y diluido en agua respecto de la absorción de la formulación original.

# Evaluación del efecto toxicológico de flúor mediante el uso del bioensayo *Allium cepa*

TACHELLA, PR<sup>1</sup>; RODRIGUEZ, MS<sup>1,2</sup>; PÉREZ CARRERA, AL<sup>1,2</sup>; FERNÁNDEZ CIRELLI, A<sup>1,2</sup>.

El flúor (F) es un elemento que puede estar presente en aguas naturales, normalmente asociado a la presencia de arsénico, vanadio y molibdeno. El consumo de agua y forraje con niveles elevados de F puede condicionar un sistema productivo y poner en riesgo la salud de los animales. Los bioensayos de toxicidad permiten evaluar la acción combinada de sustancias nocivas en el agua y también de aquellas que, si bien no son tóxicas, pueden alterar su calidad. *Allium cepa* es uno de los organismos estandarizados más recomendados para evaluar la toxicidad de aguas y efluentes debido a su sensibilidad. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de F presente en agua de bebida animal en *Allium cepa* como bioindicador primario de los posibles efectos sobre los sistemas de producción. Se prepararon 3 tratamientos con F (T1:0,50 mg/L, T2: 1 mg/L y T3: 2 mg/L) y agua destilada, un control positivo con dicromato de potasio y un control negativo con agua destilada. Las concentraciones de los tratamientos fueron definidas considerando como referencia el límite aceptable para F en las guías de calidad de agua de bebida animal, utilizando en los

ensayos una concentración superior y una inferior. Los bioensayos se realizaron por triplicado durante 72 h, finalizado el tiempo, se determinó la longitud de las raíces de cada bulbo para cada uno de los tratamientos a fin de obtener un valor. Finalmente, para el análisis de los datos se realizó ANOVA y Tukey con InfoStat<sup>®</sup>. No se observaron diferencias significativas ( $p>0,05$ ) entre los tratamientos, pero sí con el control negativo y positivo. Se observó un aumento significativo ( $p<0,05$ ) en el crecimiento radicular en T1 (0,50 mg/L) en relación con los controles, pero en T3 (2 mg/L) se observó una inhibición del crecimiento radicular, no observándose diferencias significativas ( $p>0,05$ ) con T1 y T2 pero sí con el control. Los resultados obtenidos permiten verificar que *Allium cepa* presenta una gran sensibilidad ante la exposición a F, observándose efectos inhibitorios en sus raíces en concentraciones menores a los valores máximos recomendados para bebida animal. Esto permite ser considerado como un buen indicador para utilizar como complemento al momento de evaluar la aptitud del agua para uso agropecuario.

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

# Procesamiento de pericardio bovino como bioprótesis para la resolución de defectos cavitarios en grandes animales

TAMBELLA, VM<sup>1</sup>; CANTATORE, SE<sup>1,2</sup>; GARCÍA, JP<sup>3</sup>; NEJAMKIN, P<sup>1</sup>; VIVIANI, P<sup>1</sup>; ROSATTI, JJ<sup>1</sup>; RIVULGO, VM<sup>1</sup>; MOSCUZZA, CH<sup>1,4</sup>.

En Medicina Veterinaria los defectos cavitarios tienen una elevada incidencia en grandes animales. Para resolverlos, se han desarrollado una serie de técnicas quirúrgicas cuya invasividad varía según la severidad del proceso. En casos complejos, la literatura de cirugía en humanos enfatiza el uso de mallas prostéticas que pueden ser de origen sintético o biológico (bioprótesis). Estas últimas tienen como ventajas ser resistentes a la infección o rechazo antigénico e integrarse de forma natural al tejido del huésped. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar una bioprótesis de pericardio bovino de sencilla obtención, preparación y conservación, y bajo costo de producción. Las piezas de pericardio bovino fueron obtenidas de frigoríficos de la cuenca Mar y Sierras a partir de corazones de 2,5 kg, eliminando restos de grasa y tejido conectivo mediante disección manual. Se colocaron en PBS estéril con refrigeración hasta llegar al laboratorio del Hospital Escuela de Grandes Animales (HEGA), se fijaron estiradas en glutaraldehído al 0,5% dentro de un contenedor estéril, y se preservaron refrigeradas por 14 días. Luego se realizaron lavados con solución estéril de PBS pH 7,4. Se formuló un medio antibiótico/antimicótico (AA) de bajo costo, donde fueron colocadas las prótesis

durante 24 horas, refrigeradas a 4 °C. A fin de disponer de un stock de prótesis en condiciones de ser utilizadas en cirugías reparadoras, se pusieron a prueba dos formas de conservación, en solución formolada al 2% o en glicerol bufferado al 98%, ambos estériles. Durante la obtención de la bioprótesis se realizaron controles histopatológicos y microbiológicos cada 10 días. El control histopatológico incluyó la evaluación de la histoarquitectura y la preservación de las fibras de colágeno. La evaluación microbiológica incluyó el control del crecimiento de agentes contaminantes mediante su incubación simultánea en agar chocolate y caldo infusión cerebro-corazón. En ninguno de los controles realizados al día 10, 20, 30 y 60 se evidenció crecimiento microbiano. A la histopatología, el tejido no presentó modificaciones apreciables comparado con el tejido madre durante los 60 días de monitoreo. Estos resultados fueron idénticos para ambos métodos de conservación. El protocolo anteriormente descrito permitió desarrollar una bioprótesis de práctica obtención y estable en el tiempo. Este tipo de bioprótesis constituye una potencial alternativa para la reparación de defectos cavitarios en grandes animales, y tiene la ventaja de poder almacenarse durante al menos 2 meses.

<sup>1</sup>Hospital Escuela de Grandes Animales (HEGA). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (FCV-UNCPBA). Tandil (BA). Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigación Veterinaria Tandil (CIVETAN). CONICET-CICPBA-UNCPBA. FCV-UNCPBA. Tandil. Argentina. <sup>3</sup>Servicio de Diagnóstico Veterinario. FCV-UNCPBA. <sup>4</sup>Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica de Rumiantes. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires (FCV-UBA).

# Cocultivo de células luteales porcinas y complejos cumulus ovocito porcinos durante la MIV: efecto sobre el endurecimiento de la zona pelúcida Post-MIV

TEPLITZ, GM<sup>1,2</sup>; LORENZO, MS<sup>1,2</sup>; CRUZANS, PR<sup>1,2</sup>; LOMBARDO, DM<sup>2</sup>.

La alta incidencia de penetración polispermica es una de las problemáticas más relevantes en la producción *in vitro* (PIV) de embriones en la especie porcina. Dentro de las causas reportadas se encuentra la utilización de condiciones inadecuadas de maduración. Uno de los mecanismos propuestos para el bloqueo de la polispermia es el aumento en la resistencia de la zona pelúcida (ZP) a la digestión proteolítica (endurecimiento de la ZP), como una consecuencia de la exocitosis de los gránulos corticales luego de la fecundación. Existe evidencia que la ZP de ovocitos de cerdas y vacas recién ovuladas se endurece considerablemente antes de la fecundación. Este endurecimiento de la ZP pre-fecundación podría estar involucrado en el control de la polispermia, y la ausencia de este proceso en ovocitos madurados *in vitro* podría ser una de las razones de su alta incidencia. Trabajos previos en nuestro laboratorio demostraron que el cocultivo de células luteales porcinas y complejos cumulus ovocito (COC) durante la maduración *in vitro* (MIV) reduce los porcentajes de penetración polispermica con respecto al control. Para comprender mejor los mecanismos involucrados, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del cocultivo de COC porcinos y una monocapa de células luteales sobre el endurecimiento de la ZP luego

de la MIV. Luego de la MIV, los ovocitos tanto del grupo cocultivo como del control, se desnudaron con hialuronidasa 1 mg/mL, se lavaron con PBS y se introdujeron en gotas de 50 µL de una solución de pronasa 0.4% (g/v) en PBS. La digestión de la ZP se observó en forma continua bajo microscopio invertido, a un aumento de x200 con una platina térmica a 37°C. El tiempo de digestión para cada ovocito se registró como el intervalo entre el momento en que se ponen en la solución de pronasa hasta el momento en que la ZP no se visualiza. Los resultados se analizaron con el software GraphPad Prism 5 (ANOVA de una vía) y se consideró significativo un  $p \leq 0.05$ . El tiempo de digestión no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. En el control (n= 52) fue de  $198,8 \pm 17,3$  seg y en el cocultivo (n= 53)  $180 \pm 10,5$  seg. El mecanismo implicado en la disminución de la polispermia utilizando el sistema de cocultivo no tendría relación con el pre-endurecimiento de la ZP. El bloqueo de la polispermia se establece luego de modificaciones bioquímicas en la ZP debido a la exocitosis de los gránulos corticales luego de la fecundación. De acuerdo con lo concluido, proponemos evaluar a futuro el endurecimiento de la ZP post-fecundación *in vitro*/activación partenogénica y evaluación de la reacción cortical.

<sup>1</sup>CONICET. <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Cátedra de Histología y Embriología. gmteplitz@gmail.com.

# Evaluación de la condición nutricional de los juveniles de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* expuestos a distintos alimentos de producción nacional

TIMPANARO, S<sup>1</sup>; BATTISTA, A<sup>1</sup>; WICKI, G<sup>2</sup>; LÓPEZ GRECO, L<sup>1</sup>; STUMPF, L<sup>1</sup>.

Tres alimentos fueron ensayados para evaluar la condición nutricional en juveniles de *Cherax quadricarinatus* a través del índice hepatosomático (IHS) y su histología. Tetra (TE) fue el alimento control con 48% de proteína bruta y 9% de lípidos, Con ensilado (CE) y Sin ensilado (SE) fueron los alimentos de producción nacional compuestos, respectivamente, por 44%, y 38% de proteína bruta, y 13,5%, y 11,5% de lípidos. Para cada alimento se seleccionaron 20 juveniles de 0,9±0,2 g que fueron individualizados con refugio, aireación y temperatura controlados, en frascos de vidrio de 1350ml. Se consideró como unidad experimental cada frasco. Alcanzada la cuarta muda, cada individuo fue sacrificado y se extrajo su hepatopáncreas. Se calculó su IHS y una pequeña porción se destinó para análisis histológicos. La masa relativa del hepatopáncreas provee una estimación indirecta del estado energético en los crustáceos ya que cuando son expuestos a estrés nutricional presentan diferentes estrategias para prevenir el daño celular o muerte tales como: reducción en la actividad metabólica y/o incremento en la movilización de reservas energéticas. Otro indicador de estrés nutricional son los cambios observados en la estructura del órgano, siendo las alteraciones más comunes la desorganización de los túbulos y la pérdida de la luz estrellada del túbulo. A nivel celular, las células B pueden hipertrofiarse

y coalescer para finalmente ocurrir la muerte celular y las células R pueden reducir su tamaño y número. Por lo tanto, el análisis histológico de este órgano constituye un método muy sensible para detectar tempranamente síntomas de deficiencias nutricionales y es muy práctico para evaluar el valor nutricional de las dietas. No se observaron diferencias significativas entre los IHS de los juveniles alimentados con los 3 alimentos, representando en promedio el 6,9% de la masa corporal total. En la caracterización histológica del hepatopáncreas no se encontraron diferencias cualitativas en la estructura, así como en sus componentes celulares, es decir, en los órganos de los individuos que consumieron los alimentos CE y SE no fueron observados un mayor espacio intertubular o desorganización estructural al compararse con el alimento control. En conclusión estos resultados de los 2 alimentos de producción nacional son prometedores para la especie en esta etapa de alto crecimiento, ya que en función de los parámetros evaluados no estarían afectando su condición nutricional. Estos son los primeros resultados que demuestran que es posible utilizar alimentos que se componen de ingredientes autóctonos y algunos de descarte (ensilado) para un adecuado crecimiento de la especie. La utilización de estos alimentos de menor costo, podría ser la clave para volver a fomentar el cultivo de la langosta en nuestro país aumentando la diversificación de cultivos.

UBACYT 2018-2021 nro. 20020170100021BA, PIP 2015-2017 nro. 11220150100544, PICT 2016-0759, y PICT 2016-2464

<sup>1</sup>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. <sup>2</sup>Centro Nacional de Desarrollo Acuícola – CENADAC-Corrientes, Argentina.

# Evaluación de parámetros zootécnicos en hembras pre adultas de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* alimentadas con 2 dietas nacionales.

TIMPANARO, S; REBAGLIATI CID, A; LAMBERTI, M; STUMPF, L; LÓPEZ GRECO, L.

La langosta de pinzas rojas, *Cherax quadricarinatus* es un interesante modelo acuícola, debido a que es considerado de alta calidad para consumo humano. Toneladas de carne son producidas anualmente a nivel mundial pero no ocurre lo mismo en Argentina. La problemática surge a partir de que el alimento utilizado para su cultivo tiene un alto costo, lo que llevó a la interrupción del mismo en 2006. En busca de una solución se hace necesario evaluar la eficiencia de alimentos elaborados con insumos locales, los cuales reducen el precio considerablemente. En el desarrollo de los crustáceos podemos identificar al menos dos etapas claves: el período de alto crecimiento (juveniles) y el inicio de la maduración gonadal (pre-adultos). Ambas etapas son moduladas por la fuente de alimento utilizada y la dinámica de las reservas energéticas. En particular, en las hembras pre-adultas es su estado nutricional el que determinará la calidad de los huevos, el éxito del desarrollo embrionario y la calidad de la progenie. El objetivo fue evaluar el impacto de dos dietas nacionales en distintos parámetros zootécnicos sobre hembras pre-adultas de *C. quadricarinatus*, contrastando con una dieta comercial de alta eficiencia y costo. Para ello se seleccionaron 48 hembras (7,0±1,0g y 64,6±6,2mm de largo total). Se las individualizó en cubas plásticas de 20x13x12 cm (2,5L; 27±1°C) y se las distribuyó entre las dietas: Control-TE, Con ensilado-CE, o Sin ensilado-SE (16 réplicas por dieta). TE fue la dieta más proteica (48%) respecto de las dietas alternativas CE (44%) y SE (38%).

Sin embargo, TE fue la menos lipídica (9%), mientras que CE y SE presentaron un 13,5% y 11,5% respectivamente. Se les proporcionó alimento 1 vez al día correspondiente al 1,5% en promedio de su masa corporal. El experimento finalizó con la tercera muda de las langostas. Las variables fueron analizadas mediante ANOVA de un factor. La supervivencia fue similar entre las dietas (~88%). En cuanto a la masa corporal, se observaron diferencias significativas a partir de la muda 2, donde las hembras de CE pesaron menos (12,3±1,3g) que las de SE (13,7±2,1g) y de TE (14,5±1,4g); en la muda 3 solo se observaron diferencias entre las de CE (16,3±2,3g) y TE (20,3±2,0g), mientras SE (18,0 ± 3g) no difirió significativamente con ninguna de ellas. El largo total final fue similar entre las dietas (en promedio 91,3±2,12mm). Las diferencias entre las dietas comenzaron a observarse en el tiempo necesario para alcanzar la muda 2, donde las alimentadas con CE (69±43 días) y con SE (63±22 días) difirieron de las alimentadas con TE (35±10 días). Sin embargo, en el tiempo necesario para la muda 3, solo se observaron diferencias entre CE (111±35 días) y TE (64±17 días) siendo SE (86±32 días) similar a ambos. Respecto de la conversión alimenticia, las hembras con TE fueron más eficientes (1,0±0,2) que las alimentadas con CE (1,5±0,5) y SE (1,8±0,8). Estos resultados estarían indicando que, en la etapa de maduración gonadal el crecimiento de las hembras fue afectado por las dietas alternativas y por lo tanto no serían dietas óptimas para reemplazar a la dieta control.

UBACYT 2018-2021 nro. 20020170100021BA, PIP 2015-2017 nro. 11220150100544, PICT 2016-0759, y PICT 2016-2464.

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, Buenos Aires, Argentina.

# Dinámica de las reservas energéticas en juveniles de la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* durante condiciones de restricción alimenticia y bajo alta densidad

TIMPANARO, S<sup>1</sup>; CÁRDENAS SARMIENTO, P<sup>2</sup>; LÓPEZ GRECO, L<sup>1</sup>; STUMPF, L<sup>1</sup>.

La langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus* es una especie cultivada en varios países siendo su carne un producto de alta calidad para el consumo humano. Posee características que la hacen interesante para ser cultivada como, por ejemplo, una baja vulnerabilidad nutricional ya que es capaz de tolerar prolongados períodos de inanición o restricción alimenticia, observada incluso en las primeras etapas del desarrollo que son fisiológicamente críticas. También presenta crecimiento de tipo compensatorio luego de períodos de alimentación intermitente y un posterior período de alimentación diaria. En cuanto a la dinámica de las reservas energéticas durante la compensación, un adecuado catabolismo y una posterior recuperación de las mismas es esencial para disparar este tipo de respuesta. En el presente trabajo se evaluó la dinámica de las proteínas, lípidos y glucógeno en juveniles de *C. quadricarinatus* bajo un protocolo diseñado para inducir el crecimiento compensatorio y expuestos a una alta densidad (97 langostas/m<sup>2</sup>). Se utilizaron 240 juveniles (0,07±0,01g) distribuidos en 2 regímenes de alimentación, con 15 réplicas en cada uno. La unidad experimental fue un tanque plástico (33,5×25×19 cm; 8 L) con 8 juveniles. El régimen control fue la alimentación diaria (AD) durante los 60 días que abarcó el experimento, mientras que el tratamiento consistió en un régimen de alimentación intermitente (AI) cuya dinámica fue alternar 4 días consecutivos de inanición con 4 días consecutivos de alimentación. Esta

intermitencia ocurrió durante los primeros 20 días, posteriormente se alimentó diariamente del día 21 al 60. Se determinaron proteínas, lípidos y glucógeno en juveniles a tiempo inicial, al concluir el periodo de alimentación intermitente, en la mitad del periodo de recuperación y al finalizar el experimento. Para cada tiempo, juveniles de 3 réplicas de cada régimen fueron utilizados. Los animales fueron liofilizados, luego se pulverizó el cuerpo entero de los animales en cada réplica para homogeneizar la muestra. En el experimento se observó una incipiente respuesta de compensación, pero no suficiente para alcanzar una recuperación del crecimiento. En cuanto a las reservas energéticas, se observó una marcada tendencia a una reducción del 50% de los niveles de lípidos y 30 % para glucógeno luego de 20 días de alimentación intermitente. Al finalizar la alimentación diaria, estos niveles se recuperaron casi al 100% comparado con el control. Por otra parte, la proteína total se mantuvo similar entre los 2 regímenes de alimentación en cada etapa del experimento. La dinámica en las reservas energéticas en los juveniles de AI no fue acompañada por una recuperación del crecimiento y suponemos que la alta competencia por el alimento fue la clave. Los juveniles bajo restricción alimenticia y alta densidad pudieron haber cambiado la prioridad en el destino de estos recursos energéticos. Quizás para hacer frente a este doble estrés, la compensación de los lípidos y glucógeno fue en detrimento de la compensación del crecimiento.

UBACYT 2018-2021 nro. 20020170100021BA, PIP 2015-2017 nro. 11220150100544, PICT 2016-0759, y PICT 2016-2464.

<sup>1</sup>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. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de Posgrados. Sede Bogotá. Laboratorio de Genética Molecular. Bogotá. Colombia.

# Reproducción experimental de la infección de *Eimeria* spp. en pollos parrilleros a partir de un aislamiento de campo

TOMAZIC, ML<sup>1</sup>; DELGADO, F<sup>2</sup>; BALBIANI, F<sup>2</sup>; JAUREGUI, G<sup>2</sup>; CHACANA, P<sup>2</sup>; SCHAPIRO, JH<sup>2,3</sup>;

DE FRANCESCHI, M<sup>4</sup>; PALACIOS, L<sup>4</sup>; RODRÍGUEZ, AE<sup>2</sup>.

La coccidiosis es la afección parasitaria de mayor trascendencia económica en explotaciones avícolas. La producen protozoarios del género *Eimeria* que afectan el intestino delgado y los ciegos de las aves. Su control se logra mediante la administración continua de coccidiostáticos y coccididas suministrados en el alimento o con vacunas. El SENASA en su última resolución (1119/2018) prohibió la comercialización de alimentos para animales con antibióticos -entre otros- debido a la resistencia antimicrobiana que pueden generar. La implementación de un modelo de infección experimental además de evaluar la patogenia de distintos aislamientos, servirá para la evaluación de alternativas de control existentes (compuestos naturales, aditivos, vacunas). El objetivo de este trabajo fue reproducir experimentalmente la infección de *Eimeria* spp. a partir de un aislamiento de campo para evaluar su efecto en pollos parrilleros y poner a punto el modelo *in vivo*. Para ello, se aislaron y purificaron los ooquistes a partir de materia fecal de la cama de una granja comercial ubicada en la provincia de Buenos Aires, que usa coccidiostatos como control. La purificación se realizó por flotación con solución saturada de NaCl. Estos ooquistes fueron sometidos a un proceso de esporulación a 27°C con dicromato de potasio al 2% y se cuantificaron utilizando una cámara de Neubauer. Luego se inocularon 2 grupos de 3 pollos parrilleros Cobbs de 15 días de edad criados a piso, alimentados con alimentos comerciales sin ningún tipo de

medicación, con una dosis de 5.000 (grupo 1) y 50.000 (grupo 2) ooquistes esporulados. Un grupo sin inocular (grupo 3) y tratado de la misma forma fue usado como grupo control. Los animales fueron pesados al inicio y al final del experimento y fueron sacrificados a los 7 días post inoculación (dpi). Se realizaron las necropsias de todos los animales analizando externa e internamente los tractos intestinales en forma macroscópica para localizar y asignar un puntaje de las lesiones de acuerdo a la clasificación descrita por Johnson & Reid, 1970. La examinación de las distintas especies de *Eimeria* se hizo mediante la observación microscópica y medición de los ooquistes. Asimismo se extrajeron muestras para hacer análisis histopatológico para completar la descripción de las lesiones y se realizó el recuento de ooquistes por gramo de materia fecal (OPG) desde el día 1 dpi. Se obtuvieron OPGs promedio de 5.000 y 21.500 para los grupos 1 y 2 respectivamente, las lesiones observadas fueron consideradas con un puntaje entre 0 y 1 para ambos grupos y no hubo diferencias en las ganancias de peso respecto al grupo control. Con los resultados obtenidos muestran que se logró reproducir la infección y sugieren una baja patogenicidad del aislamiento utilizado para este experimento. El establecimiento del modelo de infección servirá de base para futuras pruebas de nuevos compuestos anticoccidiales alternativos a las drogas así como también, de nuevas vacunas para la mejora del control de esta parasitosis.

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVet). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>2</sup>IPVET. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). <sup>3</sup>Escuela de Veterinaria de la Universidad del Salvador (USAL). <sup>4</sup>Universidad Nacional de Luján (UNLU)

# Detección de *Mycobacterium bovis* en leche bovina a través de bacteriología y PCR

TOMAZIC, ML<sup>1</sup>; CELI, AB<sup>1</sup>; GARRO, CJ<sup>1</sup>; GARBACCIO, SG<sup>1</sup>.

La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad infecto-contagiosa de importancia mundial. El agente causal, *Mycobacterium bovis*, además de afectar al ganado tiene implicancias en salud pública al tratarse de una zoonosis. La transmisión de este microorganismo se produce principalmente a través de secreciones nasales y en segundo lugar por medio de la leche. Esta última vía de excreción es considerada intermitente y de baja frecuencia (entre el 0.7% y 10%). El diagnóstico se basa en la prueba intradérmica (IDR) mientras que, a nivel laboratorio, se puede realizar la confirmación diagnóstica a partir del aislamiento y caracterización del agente causal (bacteriología-PCR). A diferencia del diagnóstico bacteriológico convencional, la técnica PCR puede brindar un resultado rápido, disminuyendo significativamente el tiempo necesario para arribar a un resultado (8 semanas versus 48hs). El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de *M. bovis* en muestras de leche de bovinos naturalmente infectados mediante bacteriología y PCR. Se analizaron 194 muestras de leche de bovinos positivos a la IDR pertenecientes a un rodeo lechero con TB endémica. El material destinado a bacteriología fue decontaminado y posteriormente sembrado por duplicado en medios de cultivos Stonebrink. Los crecimientos micobacterianos fueron analizados por tinción de

Ziehl Neelsen y PCR. Por otro lado, se realizó un análisis de PCR directo de la muestra de leche. Para ello se realizó la extracción de ADN utilizando un kit comercial (*PuriPrep T-Kit, Inbio HighWay*, Argentina) y luego se amplificaron por PCR utilizando cebadores de la secuencia de inserción IS6110, específica del complejo *M. tuberculosis*. El revelado se efectuó por medio de corrida electroforética, utilizando geles de agarosa al 2%. Se obtuvieron resultados positivos a bacteriología en 6 casos, es decir en el 3% (6+/194) del material analizado, de las cuales cuatro muestras dieron positivas también por PCR a partir del cultivo. Por otra parte, se detectaron 56 positivos por medio de PCR, es decir el 29% (56+/194). Estos resultados demuestran una marcada diferencia en la cantidad de muestras positivas obtenidas por PCR en relación a los aislamientos logrados (56 versus 6). El bajo número de aislamientos obtenidos estuvo en consonancia con trabajos previamente publicados sugiriendo que, a través del análisis bacteriológico, podría ser subestimada la eliminación del microorganismo a través de la leche. Estos hallazgos ponen de manifiesto la necesidad de continuar trabajando para la mejora en la detección de *M. bovis* en leche y generar un mayor conocimiento acerca de su excreción y el rol que tiene este fluido biológico en la transmisión de la TB.

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UEDD INTA-CONICET). CICVyA. Instituto de Patobiología Veterinaria. garbaccio.sergio@inta.gob.ar

# Detección y diferenciación molecular en simultáneo de especies de *Eimeria* spp. que infectan aves comerciales

TOMAZIC, ML<sup>1</sup>; DELGADO, F<sup>2</sup>; BALBIANI, F<sup>2</sup>; JAUREGUL, GR<sup>2</sup>; SCHAPIRO, JH<sup>2,3</sup>; PALACIOS, L<sup>4</sup>;

DE FRANCESCHI, ME<sup>4</sup>; RODRÍGUEZ, AE<sup>2</sup>.

La producción de carne aviar enfrenta en la actualidad nuevos desafíos por lo cual los productores requieren de mejores técnicas diagnósticas para adoptar a tiempo medidas de control. La coccidiosis aviar es una parasitosis intestinal, altamente contagiosa que causa pérdidas económicas significativas en los sistemas de producción intensiva. La coccidiosis subclínica, de difícil diagnóstico, causa el 80% de las pérdidas económicas ya que influye directamente en la ganancia de peso de los animales de producción. La coccidiosis es causada por parásitos del género *Eimeria* y se transmiten vía fecal-oral a través del ooquiste esporulado. Hasta el momento se conocen siete especies que infectan a las aves. El diagnóstico tradicional se realiza por observación microscópica de los ooquistes en materia fecal. La determinación de las especies se realiza por morfometría del ooquiste, y observación de la localización y tipo de lesiones intestinales en las necropsias. Esto requiere de personal entrenado y capacitado, además de muestras con gran cantidad de ooquistes para la determinación de cada especie. Por otra parte el diagnóstico de la coccidiosis subclínica se realiza por raspajes seriados de la mucosa intestinal. De esta manera el diagnóstico tradicional de la coccidiosis es laborioso, consume mucho tiempo y no es definitivo, poniendo de manifiesto la necesidad de contar con un diagnóstico específico, sensible y rápido. El objetivo de este trabajo fue la implementación de técnicas moleculares como la PCR-multiplex que permita la detección y

diferenciación de especies de *Eimeria* spp. en simultáneo. La PCR-multiplex se puso a punto con ADN extraído de dos vacunas vivas con diferente mezcla de especies (Evalon<sup>®</sup>, Hipra, y Fortegra<sup>®</sup>, MSD). Se establecieron las mejores condiciones de amplificación mediante PCRs simples para 5 de las 7 especies: *E. tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. brunetti* y *E. necatrix* y luego, se combinó en una PCR-multiplex las primeras 4 especies. A partir de las camas de un establecimiento productivo de pollos parrilleros ubicado en la provincia de Buenos Aires, se aislaron por flotación en solución saturada de NaCl los ooquistes de *Eimeria* spp., se esporularon *in vitro*, y se extrajo el ADN con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico, tal como se estableció previamente. Por otra parte, se realizó el diagnóstico tradicional luego de una infección experimental *in vivo* realizada con una dosis conocida del mismo aislamiento de campo. En este trabajo, por primera vez en la Argentina, se logró la detección por biología molecular de las especies *E. maxima*, *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. necatrix*, lo cual coincide con la observación microscópica y la localización de las lesiones intestinales de los pollos infectados experimentalmente. Si bien es necesario completar el estudio para el resto de las especies (*E. mitis* y *E. praecox*), estos resultados preliminares lograron una detección específica y rápida de las especies involucradas, lo cual puede contribuir al desarrollo de estrategias eficaces de control y prevención de la coccidiosis aviar.

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET). Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). <sup>2</sup>IPVET, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). <sup>3</sup>Escuela de Veterinaria de la Universidad del Salvador (USAL); <sup>4</sup>Universidad Nacional de Luján (UNLU)

# Frecuencia de los diferentes tipos de lesiones en la columna lumbar de caninos

TOSCANO, J; ROLLA, D; MERCADO, M; CORTI, L.

La fórmula vertebral en caninos es  $C_7T_{12}L_7S_2Ca_{20-23}$ . Las vértebras lumbares presentan cuerpos aplanados dorsoventralmente, e incrementan en anchura de la primera a la última. Las apófisis transversas son largas y aplanadas que sobre sobresalen hacia afuera, semejantes a placas y están dirigidas craneal y ventralmente, no forman articulaciones unas con otras ni con el sacro. Las apófisis espinosas son anchas ventralmente, estrechas dorsalmente y a excepción de la última, inclinadas un poco cranealmente, su altura disminuye a partir de la IV. El disco intervertebral es una estructura compleja, cuya función principal es resistir y proporcionar estabilidad a la columna vertebral frente a diferentes cargas deformantes, permitiendo una cierta flexibilidad, siempre y cuando estas cargas estén dentro unos límites fisiológicos, en el espacio L2-L3 el disco es de mayor grosor. Los objetivos del trabajo fueron realizar un análisis epidemiológico retrospectivo de los casos evaluados y tratados en el Servicio de fisioterapia, seleccionando específicamente la región de la columna lumbar y las lesiones específicas con su frecuencia de aparición. El estudio fue realizado con pacientes derivados al Servicio de Fisioterapia y Rehabilitación del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires,

se seleccionaron las Historias Clínicas, en el período comprendido entre los años 2014-2018. Solamente se incluyeron en el universo de la muestra los pacientes que previamente fueron diagnosticados por estudio radiológico de columna lumbar, los resultados fueron agrupados para su análisis por lesión informada a saber espondilosis deformante, discopatía, discoespondilitis, fractura, luxación, alteraciones congénitas. El examen radiológico fue realizado en el servicio de radiología del Hospital Escuela y las imágenes obtenidas con sus informes correspondientes se encuentran adjuntas en la historia clínica del paciente, en el Sistema informatizado de Historias Clínicas del Hospital Escuela [http://www.fvet.uba.ar/mussy/public\\_html](http://www.fvet.uba.ar/mussy/public_html). De un total de 552 pacientes que fueron derivados por lesiones de columna, fueron incluidos en el estudio 187 (33,9%) que presentaron específicamente lesión lumbar. Los resultados fueron agrupados por tipo de lesión y frecuencia de aparición: discopatía (52%), espondilosis (43,2%), fractura (1,9%), discoespondilitis (1,4%), alteraciones congénitas (1%), luxación (0,5%). En conclusión el estudio retrospectivo permitió evidenciar la frecuencia de aparición de los distintos tipos de lesiones hallados en la región lumbar, siendo más frecuente la discopatía y la espondilosis deformante.

# Evaluación de tres tiempos de observación de los parámetros comportamentales en vicuñas durante captura comunitaria

VACA, A<sup>3</sup>; FERRARI, HR<sup>1</sup>; MARCOPPIDO, GA<sup>2</sup>.

Diversos estudios han demostrado que la captura y la esquila de vicuñas (*Vicugna vicugna*) representan situaciones puntuales de estrés agudo que pueden ser evaluadas a través del estudio de los parámetros comportamentales. No obstante, la toma de datos *in situ* podría presentar ciertas dificultades o requerir de tiempos excesivos para estos animales, debido a que se trata de una especie a priori silvestre. El objetivo del estudio fue evaluar la influencia de tres tiempos de observación sobre los parámetros comportamentales en vicuñas durante captura comunitaria. La toma de datos se realizó durante las capturas comunitarias en la Provincia de Jujuy durante la temporada de Chakus 2017. Se categorizaron los siguientes comportamientos en vicuñas, (1) Alerta (vigilancia, postura de pie); (2) Mantenimiento (descansar, grooming, lamidos); (3) Locomoción (caídas o saltos, huida); (4) Comportamientos agonísticos (movimientos bruscos, agresión, sustracción); (5) Posición de orejas y (6) vocalizaciones. Estos

parámetros comportamentales se evaluaron en corrales Pre y Post esquila mediante la utilización de intervalos de muestreo de 1 minuto de observación con 5 minutos de descanso entre cada observación empleando un cronómetro y cámara de video. La toma de video se realizó por encima del límite superior de los corrales. A posteriori se realizaron segmentaciones de los 30 segundos centrales y de los 15 segundos centrales de cada filmación. Se realizó la prueba de Friedman para el análisis estadístico de los datos. No se observaron diferencias significativas entre los 15, 30 y 60 segundos de duración de la observación sobre los parámetros comportamentales ( $p > 0,05$ ). En las condiciones de estudio y en los animales observados, es factible disminuir el intervalo de observación de 60 segundos a 15 segundos sin que cambien los resultados, atributo sumamente relevante para la toma de indicadores *in situ*, los cuales deben tener, entre sus propiedades, la practicidad.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Bienestar Animal. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Patobiología, CICVyA. INTA Castelar. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Unidad para el Cambio Rural. Buenos Aires, Argentina. avaca@agro.uba.ar

# Caracterización de comportamiento en situación de captura comunitaria de la especie *Vicugna vicugna*

VACA, A<sup>3</sup>; FERRARI, HR<sup>1</sup>; MARCOPPIDO, GA<sup>2</sup>.

La técnica de captura de vicuñas para su posterior esquila (“Chaku”) consiste en el arreo/captura de esta especie armando cercos compuestos por personas. Se ha demostrado que la captura y la esquila representan situaciones puntuales de estrés agudo. El estrés de los animales puede medirse a través de indicadores cuantitativos (fisiológicos y/o bioquímicos) e indicadores cualitativos (comportamiento). Los cambios comportamentales asociados pueden ser variables según la intensidad de estrés, presentado conducta de miedo, intento de escape, vocalizaciones, agresividad e hiperactividad, todas ellas relacionadas al estrés agudo. El objetivo del trabajo fue caracterizar los indicadores comportamentales en la especie Vicuña. La toma de datos de los indicadores comportamentales, se realizó durante las capturas comunitarias en la Provincia de Jujuy durante la temporada de Chakus 2017. Una variedad de diferentes comportamientos en vicuña descriptos en la bibliografía fueron categorizados y utilizados para caracterizar la respuesta comportamental al estrés durante el manejo: (1) Alerta (vigilancia, postura de pie); (2) Mantenimiento (descansar, grooming, lamidos); (3) Locomoción (caídas, saltos, huida); (4) Comportamiento agonístico (movimientos bruscos, agresión, sustracción); (5) Posición orejas y (6) Vocalizaciones. Los muestreos comportamentales se realizaron

en los siguientes momentos: Corrales pre y post esquila. El tamaño del intervalo de muestreo fue de 1 minuto, con 5 minutos de descanso entre cada observación, empleando un cronómetro y cámara de video. La toma de video se realizó por encima del límite superior de los corrales. Se utilizó estadística descriptiva para la caracterización de los datos. Los resultados están expresados como % promedio  $\pm$  EE. Las categorías de comportamiento que se presentaron en mayor proporción tanto en el corral Pre esquila como en el corral Post esquila fueron los referentes a: Alerta (Pre esquila  $99,93 \pm 0,06$ ; Post esquila  $100,00 \pm 0,00$ ), Posición de orejas erectas (Pre esquila  $79,21 \pm 7,47$ ; Post esquila  $73,41 \pm 6,08$ ) y en menor medida Locomoción (Pre esquila  $5,56 \pm 2,25$ ; Post esquila  $0,26 \pm 0,27$ ) siendo insignificantes las categorías vocalizaciones y comportamientos agonísticos. Se determinó que algunos de los indicadores comportamentales utilizados en otro tipo de ganado (categorías alerta y posición de las orejas) fueron observados en alta proporción en los individuos y en el sitio de estudio, lo cual permitiría de manera complementaria proponerlos como efectivos para determinar el estado de bienestar de esta especie. Cabe señalar que la validación de los indicadores comportamentales queda ad referendum de los indicadores fisiológicos y metabólicos.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Bienestar Animal. Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Patobiología, CICVYA, INTA Castelar. Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>Unidad para el Cambio Rural. Buenos Aires, Argentina. avaca@agro.uba.ar

# Caracterización anatómica e histológica del cerebro y cerebelo de la morena atigrada

VALLEJOS, E<sup>2</sup>; ARCE, CA<sup>1</sup>; GARCIA MUZZACHIODI, B<sup>1</sup>; ECHAZARRETA, L<sup>2</sup>; FLORES QUINTANA, C<sup>2</sup>.

El cerebro en los teleósteos está ubicado en la caja craneana, cerca de los primordiales órganos de los sentidos. Tiene la función de la integración por medio del control sobre los distintos sistemas y las conexiones con el ambiente circundante. El tejido nervioso está funcionalmente muy relacionado con el sistema endócrino. Ambos se encargan de transmitir señales a los órganos efectores de maneras distintas. Muchas señales del sistema nervioso de los peces son de naturaleza eléctrica y viajan rápido a través del cuerpo. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar anatómica e histológicamente el cerebro y el cerebelo de *Gymnotus carapo*. Para ello, se capturaron ejemplares adultos de esta especie proveniente de un ambiente natural de la provincia de Corrientes. Los individuos fueron anestesiados con solución de Benzocaína al 2%, sumergiéndolos en forma de baño. Se constató la pérdida de eje de nado, movimientos bucales y operculares; sacrificándose con un corte transversal en la médula espinal. Se realizó una incisión craneal con la finalidad de que ingrese el fijador al encéfalo, usándose formol tamponado al 10 %. Posteriormente, se realizó disección bajo una lupa binocular estereoscópica (OLYMPUS SZ40) para obtener la totalidad del tejido. Las muestras fueron procesadas con técnica histológica de rutina y los cortes fueron coloreados con H y E y se analizaron con microscopio óptico. Se registraron fotográficamente distintas áreas. Macroscópicamente, en la parte anterior del encéfalo, se observó el bulbo olfatorio, de

forma redondeada y conectados a los hemisferios telencefálicos a través del tracto olfativo. Los lóbulos ópticos se observaron caudal y lateralmente a los hemisferios. Los mismos presentaron forma ovalada y fue detectada la conexión de los nervios ópticos los cuales se encontraron en la parte ventral del cerebro. Los hemisferios presentaron forma ovoide y cilíndrica. Histológicamente se individualizaron 6 capas, la primera que corresponde a la capa plexiforme conformada por principalmente por fibras; la segunda capa de la granulosa externa, constituida principalmente por células nerviosas de forma piramidal y células estrelladas. A continuación se observó la capa piramidal externa, capa de la granulosa interna, capa piramidal interna y una capa de neuronas polimorfas. A diferencia del cerebelo, en el cual se observó la capa molecular como la capa más externa. Debajo de la misma se evidenció la capa granulosa, que se tiñe de forma intensa con la Hematoxilina. El análisis histológico comparativamente con los mamíferos se observa, que el patrón de configuración morfológica se mantiene. *G. carapo* presentó el patrón general de teleósteos, presentando el cerebelo como la estructura más grande del encéfalo, sugiriendo según la morfología presentada que esta especie utiliza primordialmente la vista como el gusto para explotar su hábitat. Esta investigación tiene el fin de acompañar con la actualización de la información para una concientización sobre su ecología y mantenimiento de esta especie.

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Histología Animal. <sup>2</sup>Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Ciencias Veterinarias. Histología y Embriología.

# ***Escherichia coli* productor de diarrea infantil: persistencia ambiental y virulencia**

VASQUEZ PINOCHET, S; SANIN, M; BENTANCOR, A; BLANCO CRIVELLI, X.

Las enfermedades diarreicas agudas y el síndrome urémico hemolítico 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). Con el objetivo de determinar la persistencia de STEC en una matriz, arena, sometida a condiciones ambientales estresantes como calor, desecación y falta de nutrientes, se inocularon cepas STEC, serotipos O157:H7 (*stx1/stx2/eae*), O145:NM (*stx2/eae*) y *E. coli* NCTC12900 (control negativo), en arena seca y estéril, con una suspensión bacteriana equivalente al 0,5 Mc Farland en solución fisiológica (SF) para cada estudio. La matriz, 10 g de arena, se homogeneizó con 10 ml de la mezcla en una proporción 1:1 (P:V). La dosis del inóculo se determinó mediante cuenta viable (CV). Se pesó diariamente la mezcla arena: suspensión bacteriana y se consideró seca al registrar tres pesos consecutivos con valor constante. Los ensayos se mantuvieron en ambiente controlado a 37 °C. Se evaluó curva de muerte mediante CV, por diluciones sucesivas en base 10, y siembra por disseminación en agar Mac Conkey (AMC), de una suspensión de 2 g de arena en 10 ml de SF. Cuando los microorganismos dejaron de crecer en AMC se determinó su viabilidad mediante siembra de 200 µl de una suspensión (2 g arena: 10 ml de SF) en caldo tripteína soja (CTS) y se incubó 37°C ON. Se evaluó desarrollo y en caso de turbidez se consideraron cepas viables no cultivables (VNC). En VNC

diariamente, se realizó una suspensión de la arena y 200 µl se sembraron en CTS, caldo MacConkey (CMC), agua de peptona (H<sub>2</sub>Op) y caldo RMVP a fin de establecer el medio más adecuado para resucitar a la bacteria. Cada medio se sembró por triplicado. Las cepas VNC recuperadas fueron evaluadas bioquímicamente y por PCR del gen *uidA*. Se determinó la presencia de genes de virulencia durante todas las etapas del ensayo: toxina Shiga 1 y 2 (*stx1* y *stx2*) e intimina (*eae*). La viabilidad de los serotipos evaluados en la matriz de arena sometida a desecación (37°C) varió según la cepa en estudio. La viabilidad por CV fue de 3, 18 y 5 días para *E. coli* O157:H7, O145:NM y NCTC12900 respectivamente, con recuentos bajos para las dos últimas cepas. O145:NM y NCTC 12900 permanecieron VNC hasta los días 48 y 44 post inoculación, respectivamente. Se observaron mejores resultados al utilizar CTS y H<sub>2</sub>Op para resucitar a las cepas. Las células resucitadas eran bacilos Gram heterogéneos, sin cambios aparentes en rutas metabólicas evaluadas, *uidA*+. La cepa O145:NM presentó sus genes de virulencia durante todo el ensayo; aún queda por evaluar la expresión de dichos genes luego del estrés. Los resultados obtenidos 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. Siendo necesario considerar el ambiente en la dinámica epidemiológica de las infecciones por STEC.

# Evaluación clínica del efecto de aceite de cannabis como terapia complementaria en casos de epilepsia refractaria a fármacos convencionales en caninos

VAZ, S; LEONE, F<sup>2</sup>; ANDRINOLO, D<sup>3</sup>; DANIELA, S<sup>3</sup>; LANDONI, MF<sup>1</sup>.

La utilización de cannabis con fines terapéuticos pone en relieve la acción de los fitocannabinoides obtenidos de la planta *cannabis sativa*; dichos compuestos median sus acciones como agonistas de los receptores del sistema neuromodulador endocannabinoide. Los presentes casos, forman parte de un proyecto interdisciplinario de investigación, el cual se basa en la eficacia clínica de esta molécula en cuadros de epilepsia de origen idiopática, refractaria a fármacos convencionales. El objetivo del presente estudio es evaluar la eficacia de dos aceites de cannabis, elaborados por el CIM / Facultad de Ciencias Exactas UNLP/ CONICET, uno de alta dominancia THC (28:1  $\Delta$ -9-TETRAHIDROCANNABINOL (THC): CANNABIDIOL (CBD); 7.26 mg THC: 0.26 mg CBD/ml) y el otro de dominancia equilibrada (1:1 THC: CBD; 5 mg THC: 5 mg CBD/ml) para el tratamiento de epilepsia refractaria canina. Dicho estudio es multicéntrico, prospectivo, no randomizado, controlado. Se aplicó un diseño del tipo “pre-test/post-test”. Todos los caninos enrolados en dicho estudio se les diagnosticó epilepsia primaria mediante el hallazgo negativo de patologías por medio de análisis sanguíneos y resonancia magnética. A la fecha contamos con 6 caninos enrolados en el estudio, 2 (dos) de los cuales han superado los 2 meses de tratamiento, por lo que las observaciones pueden ser evaluadas estadísticamente. Estos pacientes mostraban al inicio del tratamiento cuadros epilépticos severos. Paciente 1. Historial de convulsiones generalizadas 4 a 6 crisis convulsivas por día de aproximadamente 3 minutos de duración con lenta recuperación. Inició el tratamiento con una dosis de 5 gotas totales/día. Basándose

en las manifestaciones clínicas y resultados de laboratorio, el día 38 de tratamiento, se decidió realizar modificaciones en la dosificación de fenobarbital y cannabis, el fenobarbital se administraba a una dosis de 400 mg totales diarios divididos en dos tomas, la reducción fue de 50 mg en la toma matutina, lo cual conforma una dosis de 350 mg totales diarios, con respecto al aceite de cannabis se decidió aumentar la dosis a 7 gotas totales/día. El paciente se encuentra sin crisis convulsiva alguna desde el 07/04/2019. Paciente 2. Historial de convulsiones generalizadas 6 episodios por día (crisis epiléptiforme en clúster) de aproximadamente de 30 minutos de duración. Estatus epiléptico, en ocasiones (sin recuperación de la consciencia entre episodios). Inició el tratamiento con una dosis de 5 gotas totales/día, se observa una reducción en la frecuencia (1 crisis convulsiva cada 2 días) e intensidad de las mismas. A partir de la semana 2 se decidió aumentar la dosis de aceite de cannabis a 8 gotas totales/día. Esta modificación redujo la frecuencia de las crisis convulsivas de manera significativa (1 en un período de 2 semanas), las mismas resultaron de baja intensidad y con mínimo componente motor. El día 39 de tratamiento, se decidió incrementar la dosis a 9 gotas totales/día. El paciente no presenta crisis convulsiva alguna desde el día 29/03/2019. La administración de aceite de cannabis de alta dominancia THC (28:1 THC: CBD) a la dosis inicial de 5 gotas totales/ día, provocó en los dos pacientes una disminución significativa de la frecuencia e intensidad de las crisis convulsivas. Los presentes resultados permiten inferir la importancia de la presencia de THC en las formulaciones a administrar.

<sup>1</sup>Cátedra de Farmacología General y Clínica; <sup>2</sup>Área de Neurología. Hospital de Pequeños Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP. <sup>3</sup>Área Toxicología. Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIM) CONICET Facultad de Ciencias Exactas. UNLP.

# Evaluación del perfil metabólico de la cerda lactante utilizando como suplemento a la dieta convencional forraje verde hidropónico de avena

VELÁSQUEZ AMORES, S<sup>1</sup>; LORENZO SMIRNOFF, A<sup>2,3</sup>; PILLADO, S<sup>1</sup>; DE SIMONE, E<sup>3</sup>; ACERBO, M<sup>4</sup>; DE LUCA SAROBE, VERÓNICA<sup>2</sup>.

El forraje verde hidropónico (FVH) contiene un perfil nutricional de interés en la producción ganadera por lo cual se lo podría utilizar como suplemento en las dietas tradicionales. Durante la lactancia la cerda necesita para cubrir sus requerimientos de mantenimiento y producción de leche altos niveles de proteína, energía y minerales, entre otros. El análisis de los perfiles metabólicos en esta etapa permitirá evaluar la respuesta a las diferentes dietas o estrategias de suplementación dado que con ellos se puede analizar la interrelación de distintos metabolitos plasmáticos. Nuestro objetivo fue suplementar a cerdas en lactancia con FVH de avena y determinar el perfil metabólico mediante el análisis sanguíneo de glucemia, proteínas totales, albúminas y urea. Para ello se utilizaron cerdas del criadero de la Facultad de Cs Veterinarias (UBA) las cuales fueron divididas en dos: grupo control (C, n=4) alimentadas con dieta convencional y grupo forraje verde hidropónico (FVH, n=6) alimentadas con dieta convencional y suplementación de FVH. La ingesta de la dieta correspondiente comenzó 7 días previos al parto y continuó hasta el destete. A cada cerda se le realizaron 5 extracciones de sangre, de 10 ml cada vez mediante punción de vena yugular. Las mismas se realizaron una semana previa al parto y cada semana hasta el destete el día 28 posparto. Para la comparación entre dos grupos se utilizó t de Student y fue considerada como significativa una  $p < 0,05$ . El análisis de los resultados de glucemia (mg/dl) obtenidos

no mostró diferencias significativas entre los distintos momentos de extracción dentro del mismo grupo así como tampoco entre los grupos C y FVH. Sin embargo, analizado todos los resultados de cada grupo en conjunto se observa que las cerdas alimentadas con FVH (n=22) presentan una glucemia menor respecto al grupo C (n=19):  $75,9 \pm 2,2$  vs  $84,05 \pm 2,5$  mg/dl respectivamente ( $p < 0,05$ ). Respecto a las proteínas plasmáticas totales (mg/dl) no se ha observado diferencia significativa entre los distintos grupos ni dentro del mismo grupo en diferentes días. Sin embargo analizando las albúminas plasmáticas en particular se observó que consideradas en conjunto a lo largo de la experiencia las cerdas del grupo FVH (n=20) presentan mayor concentración respecto al grupo C (n=15):  $3,75 \pm 0,1$  vs  $3,35 \pm 0,1$  mg/dl respectivamente ( $p < 0,05$ ). Considerando que cada grupo estaba consumiendo su dieta correspondiente desde una semana previa al parto y hasta el día 28 posparto, se decidió evaluar los resultados de urea plasmática (mg/dl) en conjunto y se observó que las cerdas que consumen la suplementación con FVH (n=20) presentan menor concentración respecto al grupo C (n=16):  $34,5 \pm 2$  vs  $42,8 \pm 2,9$  respectivamente ( $p < 0,05$ ). En conclusión, la mayor concentración plasmática de albúmina evidencia el buen estado nutricional que promueve el consumo de FVH y, las menores concentraciones plasmáticas de glucosa y urea dan muestra de la mejor eficiencia en la producción láctea.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>2</sup>Cátedra de Nutrición Animal. <sup>3</sup>Cátedra de Fisiología Animal. <sup>4</sup>Cátedra de Producción de Porcinos.

# Evaluación de parámetros productivos en cerdas lactantes usando forraje verde hidropónico como suplemento a la dieta convencional. Resultados preliminares.

VELÁSQUEZ AMORES, S<sup>1</sup>; CAGGIANO, N<sup>2</sup>; PILLADO, S<sup>1</sup>; ACERBO, M<sup>3</sup>; DE LUCA SAROBE, V<sup>2</sup>.

La performance de la cerda en lactancia está influenciada por la dieta, y cómo, esta es aprovechada tanto para el mantenimiento de la misma como para la producción de leche. La adición de forraje verde hidropónico (FVH) como suplementación a la dieta convencional sería una alternativa para cubrir los requerimientos y evitar problemas productivos. Nuestro objetivo fue suplementar a cerdas en lactancia con FVH de avena y determinar los siguientes parámetros productivos: espesor de grasa dorsal (EGD) y tiempo de manifestación del celo post-parto en la cerda, y número de lechones por parición y pesos de los mismos al nacimiento y al destete. Para ello se utilizaron cerdas del criadero de la Facultad de Cs Veterinarias (UBA) las cuales fueron divididas en dos: grupo control (C, n=4) alimentadas con dieta convencional y grupo forraje verde hidropónico (FVH, n=6) alimentadas con dieta convencional y suplementación de FVH. La ingesta de la dieta correspondiente comenzó 7 días previos al parto y continuó hasta el destete. El EGD se determinó mediante ecografía en el punto P2 el día 60 de gestación, al parto y el día 28 de lactancia. Para la comparación entre dos grupos se utilizó t de Student y fue considerada como significativa una  $p < 0,05$ . Los resultados obtenidos en mm de EGD fueron para el grupo C:  $20,5 \pm 0,9$ ,  $24,3 \pm 1,4$  y  $22,6 \pm 0,2$ ; y para el grupo FVH:  $19,6 \pm 1,0$ ,  $24,1 \pm 1,0$  y  $21,7 \pm 0,7$  gestación, parto y lactancia respectivamente. Si bien, mediante análisis estadístico no se

observaron diferencias significativas entre los distintos grupos ni dentro del mismo grupo, se puede advertir en ambos una tendencia a la disminución del EGD entre el parto y la lactancia.

La manifestación del celo pos destete se evidenció el día  $5,3 \pm 0,5$  en el grupo C y el día  $5,0 \pm 0,3$  en el grupo FVH no observándose diferencia significativa. Sin embargo, analizando los datos de manera individual podemos observar que el 80% de las cerdas del grupo FVH entran en celo 5 días pos destete en tanto que el 50% de las cerdas del grupo control lo hacen el día 6. Las cerdas del grupo C parieron en promedio  $13,5 \pm 1,3$  lechones con un peso vivo de  $1,2 \pm 0,1$  kg/lechón y destetaron  $9,3 \pm 0,7$  lechones con un peso vivo de  $8,8 \pm 0,7$  kg/lechón. Las cerdas del grupo FVH parieron en promedio  $12,6 \pm 0,7$  lechones con un peso vivo de  $1,4 \pm 0,1$  kg/lechón y destetaron  $10,3 \pm 0,9$  lechones con un peso vivo de  $8,1 \pm 0,1$  kg/lechón. Si bien disminuyó el peso de la camada destetada en el grupo FVH, la cantidad total, en kilos de lechón destetado, aumentó en el grupo FVH respecto al grupo C:  $83,3$  vs  $81,9$ , esto es debido al mayor número de lechones destetados. En conclusión, si bien continuamos trabajando en el proyecto podemos decir que sería conveniente suplementar a las cerdas en lactancia con FVH dado que presentan una tendencia a adelantar la manifestación del celo posdestete y a aumentar los kilos de lechón destetado.

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias. <sup>2</sup>Cátedra de Nutrición Animal. <sup>3</sup>Cátedra de Producción de porcinos.

# Estudio *in vitro* de la permeabilidad de butorfanol a través de mucosa nasal equinas

VELLOSO, MI<sup>1</sup>; VITA, M<sup>2</sup>; ANDREETA, A; LANDONI, MF<sup>1</sup>.

La vía de administración intranasal tiene un gran potencial para su uso en medicina veterinaria porque es una vía incruenta, no invasiva y directa hacia el sistema nervioso central. El butorfanol es un analgésico opioide de uso extendido en la clínica equina y su excelente perfil farmacocinético permite su administración por todas las vías incluida la intranasal. En este estudio, se determinaron y compararon las velocidades de penetración de una formulación de butorfanol a través de las porciones respiratoria y olfatoria de la mucosa nasal equina. Para ello, se obtuvo mucosa de la cavidad nasal de cadáveres equinos del servicio de necropsia de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. La misma, se lavó cuidadosamente y se cortó en cuadrados simétricos para montarlas sobre celdas de difusión de Franz. Las celdasceptoras contenían solución fisiológica estéril a 38°C con agitación constante. En la celda donante, se colocó una formulación realizada en nuestro laboratorio compuesta por ácido cítrico 0.02 M, citrato de sodio 0.03 M, cloruro de sodio 1.09 M y butorfanol a la dosis de 10 mg/cm<sup>2</sup>.

Desde la celda aceptora, se tomó una alícuota cada hora y se cuantificó el fármaco mediante espectrofotometría UV/Vis en placas de 96 pocillos con una metodología previamente validada. Se construyó una curva concentración acumulativa de butorfanol en función del tiempo para cada fragmento de la mucosa. Los valores del flujo de penetración, constante de penetración y tiempo lag para las porciones respiratoria y olfatoria fueron  $90.69 \pm 13.72 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ,  $0.0091 \pm 0.0014 \text{ cm h}^{-1}$  y  $0.20 \pm 0.32 \text{ h}$  y  $27.11 \pm 12.47 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ,  $0.0027 \pm 0.0012 \text{ cm h}^{-1}$  y  $0.86 \pm 0.22 \text{ h}$  respectivamente. Estos resultados reflejan dos comportamientos distinguibles en las cinéticas de penetración, los cuales se asociaron con los pasajes de butorfanol en mucosas respiratoria y olfativa. Si bien es necesario hacer un análisis más exhaustivo antes de concluir estadísticamente, se afirma que el pasaje *in vitro* de butorfanol en mucosas nasales equinas es distinto para regiones respiratoria y olfativa. Además, los presentes resultados brindan información para continuar con la realización de formulaciones *in vitro* con una subsiguiente aplicación clínica en equinos.

<sup>1</sup>Cátedra de Farmacología General. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. <sup>2</sup>Cátedra de Anatomía. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

# Desarrollo de una PCR dúplex para el diagnóstico diferencial de leptospirosis en animales: primer reporte de detección de leptospiras intermedias en suero bovino

WATANABE, O<sup>1</sup>; HASENAUER, FC<sup>1</sup>; SARAUULLO, VR<sup>1,2</sup>; HAMER, M<sup>1</sup>; MARTÍNEZ, ML<sup>1</sup>;

BRIHUEGA, BF<sup>1</sup>; GRUNE LOFFLER, S<sup>1,2</sup>.

La importancia de la leptospirosis como enfermedad pecuaria radica no sólo a nivel económico-productivo, sino también a nivel de la Salud Pública, por ser el ganado una fuente importante de infección de esta zoonosis. En la producción bovina, las pérdidas económicas están causadas por abortos, natimortos, nacimiento de terneros débiles, mastitis y agalactia. Históricamente las leptospiras han sido clasificadas con diversos criterios, tanto serológicos como genéticos. Actualmente la clasificación genética está tomando mayor importancia, llegando al consenso de que este género (compuesto hasta la fecha por 35 especies) se encuentra dividido filogenéticamente en 3 grupos: patógenas, intermedias y saprófitas. Las especies patógenas son consideradas como los agentes etiológicos de la leptospirosis animal y humana. Por el contrario, las especies saprófitas sólo se hallan en el ambiente, sin estar descrita hasta la fecha su capacidad de infectar hospedadores. El grupo más nuevo consiste en las especies intermedias, cuya primera mención data de 1998. Estas especies han sido aisladas tanto a partir de muestras ambientales como de animales y de humanos enfermos, aunque su potencial patógeno no ha sido comprobado aún. Este nuevo grupo potencialmente patógeno no está siendo estudiado actualmente en nuestro país. La escasa información existente se debe principalmente a la falta de actualización de las herramientas diagnósticas disponibles en Argentina. La importancia de su estudio en un país con una intensa actividad pecuaria como el nuestro radica en

la posibilidad de estar subdiagnosticado esta enfermedad. En este trabajo, se describe el desarrollo de una PCR dúplex utilizando 2 pares de primers con el objetivo de detectar diferencialmente la presencia de leptospiras tanto del grupo patógeno como del grupo de las intermedias, en muestras clínicas animales. Para el grupo patógeno, se utilizó un par de primers para amplificar el gen *secY*, tomado de la bibliografía existente. El par de primers para el grupo de las intermedias se diseñó *in silico* mediante el análisis de las bases de datos genéticos disponibles y posterior confirmación sobre muestras de ADN de cepas conocidas (*Leptospira licerasiae* serovar Varillal cepa VAR010 y *L. fainei* sv. Hurstbridge cepa BUT6). Una vez puesta a punto la PCR, se sometieron a la misma 75 sueros bovinos con sospecha clínica de leptospirosis y diagnóstico serológico negativo o no concluyente a través de la prueba “gold standard” Test de Microaglutinación (MAT). De éstos, 14 sueros resultaron positivos a la PCR, 3 a leptospiras patógenas (la MAT negativa hace pensar que se trató de cuadros agudos) y 11 a leptospiras intermedias. Estos resultados evidencian la circulación de leptospiras de este nuevo grupo y resaltan la necesidad de comenzar a ahondar en su estudio a nivel nacional, a la vez que demuestran el gran valor práctico de esta PCR que permite diferenciar ambos grupos de leptospiras, sin antecedentes en el país. Este es el primer reporte en Argentina de la detección de leptospiras intermedias en muestras de sueros bovinos.

<sup>1</sup>Laboratorio de Leptospirosis (Centro de Referencia OIE), Instituto de Patobiología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

# Identificación *in silico* de blancos inmunoterapéuticos y diagnósticos para el coccidio *Sarcocystis aucheniae* en el metabolismo del glicosilfosfatidilinositol

WIESER, SN<sup>1</sup>; DECKER FRANCO, C<sup>1,2\*</sup>; SORIA, M<sup>2,3</sup>; DE ALBA, P<sup>1</sup>; FLORIN-CHRISTENSEN, M<sup>1,2</sup>; SCHNITTGER, L<sup>1,2\*</sup>.

La carne de los camélidos sudamericanos (CS) llama y alpaca es una importante fuente de proteínas y de ingresos económicos para pequeños productores de la región andina. En los últimos años, este tipo de carne ha ganado relevancia para el mercado gastronómico local e internacional. No obstante, su comercialización y valor económico han disminuido debido a la presencia de macroquistes en las fibras musculares, provenientes de la infección con el protozoo coccidio *Sarcocystis aucheniae*. No hay medicamentos ni vacunas disponibles para curar o prevenir estas infecciones. La única forma certera de diagnóstico es el examen histopatológico *post mortem*. La identificación de nuevas moléculas que puedan servir como blancos moleculares para el desarrollo de medicamentos, kits de diagnóstico y vacunas es de extrema importancia para controlar la sarcocistiosis de CS. Se ha demostrado para otros protozoos patógenos que el glicosilfosfatidilinositol (GPI) es una molécula crítica implicada en la supervivencia y patogenicidad del parásito. Por lo tanto, este estudio se centró en la identificación de las enzimas que participan en el camino biosintético del GPI y el repertorio de proteínas ancladas por GPI (GPI-anchored proteins, GPI-APs) en *S. aucheniae*. Para ello, se extrajo el ARN total del estadio bradizoíto del parásito y se secuenció el transcriptoma, seguido de un ensamblado *de novo* del mismo. Se generó

una base de datos de transcriptos en la cual se buscaron secuencias homólogas a las de enzimas encargadas de la síntesis de GPI en los organismos modelo para esta ruta *Saccharomyces cerevisiae* y *Toxoplasma gondii*. Se identificaron 11 enzimas de *S. aucheniae* que con su acción secuencial en el retículo endoplásmico pueden producir una molécula de GPI conteniendo N-glucosamina y 3 manosas y transferirla a una proteína naciente que tenga la señal de anclaje adecuada. Por otro lado, se realizaron búsquedas para identificar GPI-APs, que se caracterizan por portar un péptido señal N-terminal y una única región transmembrana C-terminal que coincide con una señal de anclaje a GPI. Se identificaron 24 GPI-APs, de las cuales 9 son probablemente específicas de *S. aucheniae* y 15 son homólogas a proteínas de membrana de otros coccidios. Entre estas últimas, 13 pertenecen a la superfamilia SRS, un extenso grupo de proteínas de coccidios ancladas por GPI, que median relevantes interacciones parásito-hospedador. Por medio de un análisis filogenético se evidenció un gran grado de divergencia en la familia SRS tanto entre las proteínas de *S. aucheniae*, como entre éstas y las de los coccidios *T. gondii*, *S. neurona* y *N. caninum*. En investigaciones subsiguientes, se estudiará el posible uso de las proteínas blanco halladas en este trabajo para el desarrollo de medidas de control contra la sarcocistiosis de CS.

Financiado por ANPCyT (PICT2014-3747)

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología Veterinaria. CICVyA. INTA-Hurlingham. Argentina. <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Buenos Aires. Argentina. <sup>3</sup>Microbiología Agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires (UBA). Buenos Aires. Argentina. schnittger.leonhard@inta.gov.ar \*contribuyeron igualmente en ese trabajo.

# Ultrasonografía Doppler color como método precoz de diagnóstico de gestación en la llama (*Lama glama*)

ZAMPINI, EG<sup>1,3</sup>; GALLELLI, MF<sup>1,3</sup>; GAMBAROTTA, M<sup>2</sup>; MIRAGAYA, MH<sup>1</sup>; TRASORRAS, VL<sup>1,3</sup>.

La llama es una especie monotoca y de gestación prolongada (335 a 360 días), por lo que diagnosticar la preñez tempranamente permitiría acortar el intervalo entre partos y mejorar los índices productivos. El embrión de llama ingresa al útero entre los 6 y 6,5 días luego de la ovulación y comienza a secretar estradiol-17 $\beta$  entre los 7 y 15 días de gestación, sin embargo aún no se conoce su relación con el flujo sanguíneo uterino (FSU) en dicho lapso de tiempo. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el FSU en llamas donantes de embriones utilizando ecografía Doppler color, 8 días luego del servicio natural, previo al momento de la recuperación embrionaria mediante lavaje uterino transcervical. En un grupo de hembras (n=13), se monitoreó diariamente la dinámica ovárica por palpación y ultrasonografía transrectal hasta detectar la presencia de un folículo  $\geq 6$  mm en crecimiento, momento en que se les asignó servicio natural (día 0) con un macho de fertilidad probada junto a una dosis endovenosa de 8  $\mu$ g de busarelina (análogo sintético de la GnRH). La ovulación se corroboró mediante ecografía transrectal el día 2. El día 8, previo al lavaje uterino, se constató la presencia del cuerpo lúteo (CL) y se evaluó el FSU en cada hembra, colocando el transductor vía transrectal sobre cada cuerno uterino (CU). Se capturaron

videos que posteriormente fueron procesados y analizados mediante el software Image J1.52a (National Institute of Health, USA), para calcular el número total de píxeles coloreados (modo Doppler) sobre el área del CU (modo B) y así obtener el porcentaje del área del CU con emisión de flujo (ACUE%). Luego, se realizó el lavaje uterino transcervical con el fin de recuperar el embrión. En hembras con lavaje uterino positivo (se recuperó embrión; n=7), se registraron valores de ACUE% significativamente superiores ( $p=0,0001$ ;  $10,1\% \pm 5,9$ ) respecto a hembras con lavaje uterino negativo (n=6;  $3,5\% \pm 1,1$ ). Además, en las hembras con lavaje uterino positivo, se observó un mayor ACUE% en el CU ipsilateral al ovario con CL, aunque el pequeño tamaño de la muestra aún no permite establecer diferencias estadísticamente significativas. Hasta el momento podemos concluir que es posible detectar en la llama un aumento local del FSU en presencia de un embrión, el día 8 post-servicio natural. Esta información resultaría sumamente útil para la toma de decisiones de manejo, tales como la realización o no de lavajes uterinos en programas de transferencia embrionaria o la segregación temprana de las hembras vacías para asignarles nuevamente servicio y lograr preñarlas en lapsos de tiempo cortos.

# Desarrollo de un vector adenoviral optimizado como candidato vacunal contra la fiebre aftosa

ZIRALDO, M<sup>1</sup>; BIDART, J<sup>2</sup>; SEKI, C<sup>1</sup>; PERIOLO, O<sup>1</sup>; DE VICENZO, C<sup>1</sup>; ROBILOLO, B<sup>1</sup>; ZAMORANO, P<sup>2</sup>; MATTION, N<sup>1</sup>; D'ANTUONO, A<sup>1</sup>.

La fiebre aftosa (FA) es una enfermedad causada por el virus de la Fiebre Aftosa (VFA), que afecta a especies de interés pecuario. Dada las graves implicaciones comerciales para el país afectado, la FA es considerada por la Organización Mundial de Sanidad Animal como la principal enfermedad animal de declaración obligatoria. Amplia evidencia internacional sustenta la necesidad de desarrollar candidatos vacunales que induzcan una respuesta inmune eficaz y duradera contra los diferentes serotipos del VFA y que no estén basados en el cultivo del VFA infectivo. Una estrategia que ha demostrado ser exitosa es el empleo de plataformas basadas en el adenovirus recombinante humano tipo 5 (Ad). Nuestro laboratorio generó el Ad-P12A3C que dirige la expresión de las proteínas estructurales y la proteasa viral 3C del VFA cepa O1 Campos. La inmunización con este candidato, en modelo murino, no protegió a los animales frente al desafío viral. El objetivo de este trabajo es optimizar estos vectores adenovirales para que induzcan inmunidad protectora, al menos contra el desafío homólogo, como ocurre con la vacuna inactivada de uso actual. Con este fin se generó el vector Ad-P12A3C<sub>OP</sub> con el objetivo de expresar mayores niveles de subunidades del VFA O1 Campos. El nuevo candidato contiene la unidad transcripcional heteróloga (cassette P12A3C) insertada en sentido opuesto respecto al genoma adenoviral y bajo el control del

promotor CMV optimizado. Por medio de análisis por Western blot y ELISA se determinó que los niveles de acumulación de proteínas del VFA, en extractos citoplasmáticos totales de células HEK293A infectadas con el vector modificado Ad-P12A3C<sub>OP</sub> fueron 15 veces superiores respecto a aquellas infectadas con el vector anterior Ad-P12A3C. Las subunidades del VFA generadas fueron reconocidas por un panel de sueros de bovinos vacunados, sugiriendo que los determinantes antigénicos se expondrían en una conformación similar a la del virus nativo. El vector Ad-P12A3C<sub>OP</sub> se evaluó en pruebas de inmunogenicidad y desafío en un modelo murino. Los resultados obtenidos demostraron que ratones inoculados con dos dosis de Ad-P12A3C<sub>OP</sub> alcanzaron un título de anticuerpos específicos 10 veces superior al del grupo inoculado con Ad-P12A3C. Más aún, el 70% de los ratones inoculados con el vector Ad-P12A3C<sub>OP</sub> fueron protegidos ante el desafío viral homólogo. En conclusión, las modificaciones introducidas, inversión del cassette heterólogo que codifica las proteínas del VFA y la optimización del promotor, permitieron en esta primera etapa, desarrollar un vector capaz de aumentar significativamente el nivel de expresión de las proteínas virales capsidales, resultando ser un candidato vacunal más inmunogénico y capaz de aportar protección frente al desafío con virus vivo de la cepa O1 Campos, en un modelo murino.

<sup>1</sup>Centro de Virología Animal (CEVAN) – CONICET. <sup>2</sup>Instituto de Virología - INTA

# Estrategias de optimización de vectores adenovirales recombinantes para mediar la generación de partículas similares al virus de la fiebre aftosa

ZIRALDO, M; GONZÁLEZ, M; NUÑEZ, D; MATTION, N; D'ANTUONO, A.

Considerada por la Organización Mundial de Sanidad Animal como la principal enfermedad animal de declaración obligatoria, la fiebre aftosa (FA) es una enfermedad que afecta a una amplia variedad de animales biungulados, cuyo agente etiológico es el virus de la fiebre aftosa (VFA). Dados los recientes brotes en países libres de FA, causantes de cuantiosas pérdidas económicas, existe un continuo interés en desarrollar vacunas que no estén basadas en el cultivo de VFA infectivo. En ese sentido las partículas tipo virus (PTV), desprovistas del genoma viral, se presentan como inmunógenos atractivos ya que conservarían todo el repertorio de epitopes conformacionales del virus salvaje. Nuestro laboratorio desarrolló un vector derivado de Adenovirus (Ad) que porta un cassette que expresa la poliproteína P12A-3C, que incluye las proteínas que conforman la cápside del VFA cepa O1 Campos más la proteasa viral 3C (Ad<sub>Op</sub>). El análisis de las subunidades generadas reveló que las proteínas virales estructurales se asocian formando un complejo macromolecular con velocidad de sedimentación intermedia entre las subunidades 75S (PTV) y 12S (capsómeros) del VFA. Así el objetivo de este trabajo fue generar un nuevo Ad que favorezca el ensamblado de PTV del VFA. Para conseguirlo, se introdujeron mutaciones puntuales en la secuencia que codifica la proteína capsidal VP2, que estabilizarían la interfaz entre los protómeros que conforman la cápside viral, y mutaciones en la secuencia de la proteasa viral 3C, que disminuirían su actividad proteolítica, favoreciendo la

sobrevivencia de las células huéspedes. De esta forma se generaron el genoma pAd<sub>Op</sub>[VP2<sub>S93F/Y98F</sub>] que porta la mutación doble S93F/Y98F en VP2 y los genomas pAd<sub>Op</sub>[3C<sub>C142S</sub>] y pAd<sub>Op</sub>[3C<sub>G38S/F48S</sub>] que portan las mutaciones C142S y G38S/F48S, respectivamente, en 3C. Por medio de experimentos de Western blot de lisados de células transfectadas, se verificó que los nuevos vectores dirigen la expresión y el correcto procesamiento de las proteínas estructurales VP1 y VP3. A continuación, se rescataron exitosamente cada uno de los Ad y se evaluó su capacidad de dirigir el ensamblado en PTV de las proteínas heterólogas del VFA. Para ello, se procesaron por centrifugación en gradientes de sacarosa extractos citoplasmáticos de células infectadas con cada uno de los Ad y se analizaron las fracciones por ELISA. Estos experimentos permitieron identificar en los tres lisados un componente mayoritario con una velocidad de sedimentación intermedia entre las subunidades 75S y 12S del VFA, pero lo más relevante fue que en el caso de Ad<sub>Op</sub>[VP2<sub>S93F/Y98F</sub>] se observó un componente adicional con una velocidad de sedimentación similar al de las cápsides vacías. En conclusión, los resultados muestran el vector Ad<sub>Op</sub>[VP2<sub>S93F/Y98F</sub>] dirige la expresión de elevados niveles de proteínas capsidales del VFA, sugiriendo además que la presencia de la doble mutación en VP2 favorecería el ensamblado de PTV por un fenómeno de estabilización de las mismas. En cambio no se encontró evidencia que las mutaciones en 3C favorezcan la formación de PTV.