

**V Jornadas de Jóvenes
Investigadores
“Ciencia y Sociedad”**

**10, 11 y 12 de junio de 2015
Buenos Aires - Argentina**



Conferencia

Primera preñez obtenida en la llama a partir de embriones producidos *in vitro*

Trasorras, V.; Baca Castex, C.; Chaves, G.; Carretero, I.; Neild, D.; Alonso, A.; Arraztoa, C.; Miragaya, M.

Los Camélidos Sudamericanos (CSA) se encuentran representados por cuatro especies, dos de las cuales, la alpaca (*Vicugna pacos*) y la llama (*Lama glama*) son domésticas, mientras que el guanaco (*Lama guanicoe*) y la vicuña (*Vicugna vicugna*) son silvestres. En los últimos años se ha desarrollado un creciente interés en la producción de CSA, no sólo en los países sudamericanos sino también en diferentes países alrededor del mundo. La llama es un animal dócil, fácil de manejar, con buenas cualidades de fibra y carne, pero que no supera la calidad del guanaco o la vicuña. El estudio de la aplicación de biotecnologías de la reproducción en la llama tiene varios propósitos, entre los cuales se destacan la utilización de estas técnicas en hembras seleccionadas por su calidad genética y además su utilización como modelo para su posterior aplicación en las especies silvestres. Debido a que estas especies presentan un período de gestación largo (335 a 360 días) y sólo paren una cría al año, resulta interesante aplicar técnicas de reproducción asistida para optimizar el manejo reproductivo de aquellas hembras genéticamente superiores e incrementar el progreso genético de estas especies. El objetivo del trabajo fue obtener crías de llamas a partir de embriones producidos *in vitro* mediante fertilización *in vitro* (FIV) de ovocitos madurados *in vivo* y utilizando semen fresco.

Se realizaron tres experimentos. En todos los experimentos se utilizaron gametas a partir de animales vivos. Los complejos ovocito-cumulus (COC's) fueron recuperados de hembras superestimuladas con 1500 UI de eCG mediante aspiración folicular vía laparotomía por el flanco. Las muestras de semen se obtuvieron mediante electroeyaculación bajo anestesia general.

En el experimento I el objetivo fue evaluar el desarrollo embrionario *in vitro* en dos medios de cultivo (SOFaa y DMEM-F12) a partir de la utilización de dos tipos de coloides para seleccionar espermatozoides para la FIV: Percoll® y Androcoll-ETM. Se utilizaron 148 COC's expandidos para la FIV; 80 COC's fueron inseminados con semen procesado con Percoll® y 68 COC's fueron inseminados con semen procesado con Androcoll-ETM, de los cuales sólo 1 COC fue descartado al momento del cultivo embrionario por su deterioro morfológico. Luego de 24 horas de la FIV, los supuestos cigotos se dividieron al azar en los medios de cultivo SOFaa y DMEM-F12. Se encontraron diferencias significativas ($p=0,0004$) en la cantidad de blastocistos desarrollados en el medio SOFaa a partir de la utilización de semen procesado con Percoll® (0/41) vs. Androcoll-ETM (9/34). No se encontraron diferencias significativas ($p=0,0915$) en la cantidad de blastocistos

desarrollados en el medio DMEM-F12 a partir de la utilización de semen procesado con Percoll® (0/39) vs. Androcoll-ETM (3/33) para realizar la FIV. Utilizando semen fresco procesado con Percoll®, no se obtuvieron embriones en ninguno de los dos medios de cultivo (0/80). A partir de semen fresco procesado con Androcoll-ETM, se obtuvo un 18% (12/67) de blastocistos producidos *in vitro*. No se encontraron diferencias significativas ($p=0,1092$) en la cantidad de blastocistos desarrollados en el medio SOFaa (9/34) vs. DMEM-F12 (3/33) y tampoco ($p=0,5091$) en la cantidad de blastocistos que alcanzaron el estadio eclosionado en ambos medios de cultivo (SOFaa: 3/34; DMEM-F12: 0/33). Los embriones producidos *in vitro* ($n=12$), fueron transferidos a hembras receptoras sincronizadas pero en ninguna se observó la presencia de vesícula embrionaria mediante ultrasonografía transrectal.

El objetivo del experimento II fue evaluar si el agregado de suero fetal bovino (SFB) el día 0 de cultivo mejora el desarrollo embrionario *in vitro*. Se utilizaron 65 COC's expandidos para la FIV, a partir de semen procesado con Androcoll-ETM, de los cuales sólo 1 COC fue descartado al momento del cultivo embrionario por su deterioro morfológico. Luego de 24 horas de la FIV, los supuestos cigotos se dividieron al azar en ambos medios de cultivo con el agregado de SFB. Luego de 6 días de cultivo *in vitro*, se evaluó el desarrollo embrionario. No se encontraron diferencias significativas ($p=0,0596$) en la cantidad de blastocistos desarrollados en el medio SOFaa (10/32) vs. DMEM-F12 (3/32). Se encontraron diferencias significativas ($p=0,0350$) en la cantidad de blastocistos que alcanzaron el estadio eclosionado entre ambos medios de cultivo con el agregado de SFB (SOFaa: 8/10; DMEM-F12: 0/3). Los embriones producidos *in vitro* ($n=9$), fueron transferidos a hembras receptoras sincronizadas pero en ninguna se observó la presencia de vesícula embrionaria mediante ultrasonografía transrectal.

El objetivo del experimento III fue evaluar si la renovación del medio de cultivo cada 48 horas mejora el desarrollo embrionario *in vitro*. Se utilizaron 36 COC's expandidos para la FIV, a partir de semen procesado con Androcoll-ETM, de los cuales sólo 1 COC fue descartado al momento del cultivo embrionario por su deterioro morfológico. Luego de 24 horas de la FIV, los supuestos cigotos se colocaron en medio SOFaa con el agregado de SFB y se realizó la renovación del medio de cultivo cada 48 horas. Se obtuvo un 31% de división celular en las primeras 48 horas de cultivo. En el día 4 de cultivo se obtuvo un 14% (5/35) de blastocistos eclosionados, de los cuales 3 blastocistos se encontraban realizando el proceso de eclosión. Los 2 blastocistos ya eclosionados, fueron transferidos el día 5 de cultivo a hembras receptoras sincronizadas, debido al gran tamaño alcanzado. El día 6 de cultivo se obtuvo un 15% (5/33) de blastocistos eclosionados. Se logró obtener una preñez (1/7) en una hembra a la cual se le transfirió, en el cuerno uterino izquierdo con cuerpo lúteo ipsilateral, un blastocisto eclosionado el día 6 de cultivo *in vitro*. Se observó la presencia de vesícula embrionaria mediante ultrasonografía transrectal a los 23 días luego de la transferencia embrionaria (TE). A partir de los 37 días pos-TE se observó disminución del tamaño de la vesícula embrionaria, con la consiguiente desaparición a los 42 días luego de la TE.

Este trabajo representa el primero en lograr una preñez en la llama por transferencia intrauterina de embriones producidos mediante fertilización *in vitro* a partir de ovocitos de hembras superestimuladas y semen fresco procesado con Androcoll-ETM, utilizando como medio de cultivo SOFaa con el agregado de SFB y realizando la renovación del medio cada 48 horas. El objetivo final de la producción *in vitro* de embriones, es desarrollar embriones de alta calidad, capaces de llevar a cabo una gestación normal y dando como resultado el nacimiento de crías sanas, meta que aún no ha podido ser alcanzada en los CSA.

Resúmenes

Identificación de una banda proteica en filtrados libres de células de *Campylobacter fetus* con posible efecto citoletal

Acevedo, M.E.^{1,2}; Solana, H.²; Chiapparrone, M.L.¹; Catena, M.¹

La campylobacteriosis digestiva es producida por *Campylobacter jejuni* y *C. coli*, entre otros. Dichas especies expresan una toxina de distensión citoletal (cytolethal distending toxin-CLDT) de 68 kDa. La misma ha sido caracterizada genotípicamente y evaluado su efecto en varias líneas celulares. Por otro lado, la campylobacteriosis genital bovina es causada por *C. fetus subsp. fetus* y *C. fetus subsp. venerealis*. En estas subespecies existen estudios preliminares de la patogenia de la enfermedad, pero poco se conoce sobre la probable presencia de una toxina citoletal. Ensayos previos de nuestro grupo, han demostrado que el filtrado libre de células (FLC) de *C. fetus* posee efecto citoletal en células HeLa y CHO, desconociéndose si los hallazgos se relacionarían con la presencia de una CLDT específica. El objetivo del presente trabajo fue la identificación de las proteínas presentes en el filtrado libre de células de *Campylobacter fetus*. Se evaluaron 10 FLC de diferentes cepas del tracto reproductor de bovinos. Se cuantificaron las proteínas totales por el método de Bradford utilizando como

control negativo el filtrado del Caldo Brucella (CB) libre de campylobacter. Posteriormente, se analizó el contenido proteico de los FLC por medio de electroforesis en SDS-PAGE al 10% utilizando el CB como control negativo. Los 10 FLC analizados presentaron una gran variabilidad en la concentración de sus proteínas totales (de 0,0349 a 3,731 mg/mL). En seis FLC se observó una única banda proteica con un peso molecular de aproximadamente 70 kDa, la cual no se visualiza en el CB control. Los cuatro FLC restantes no presentaron ninguna banda visible. La variabilidad en la concentración de proteínas detectadas en los diferentes FLC podría deberse al comportamiento individual de cada cepa, siendo éste motivo de estudio en futuros trabajos. La proteína de 70 kDa detectada en los FLC de *C. fetus* podría estar asociada al efecto de citoletalidad descrito en células HeLa y CHO, para lo cual se preveen estudios de purificación y análisis. La electroforesis en SDS-PAGE posee un límite mínimo de detección cercano a los 8 µg, por lo cual se deberán realizar estudios posteriores para evaluar aquellos FLC que no presentaron banda.

¹Lab. de Microbiología Clínica y Experimental. ²Lab. Biología Celular y Molecular. CIVETAN-CONICET. FCV-UNCPBA.

Histología ovárica de *Philodryas patagoniensis* (Serpentes: Colubridae)

Aguirre, F.D.¹; Hernando, A.B.¹; Lombardo, D.M.²

El estudio de la biología reproductiva en los animales es uno de los pilares para la comprensión de las adaptaciones de los organismos a diferentes ambientes. También, aporta datos fundamentales para la determinación del estado de vulnerabilidad de las especies y su eventual protección. *Philodryas patagoniensis* es un colúbrido de frecuente hallazgo en los pastizales del NEA. Si bien existen reportes sobre varios aspectos de su reproducción, no se han realizado estudios histológicos de la actividad de los órganos reproductivos. En este trabajo se presenta una descripción de la histología ovárica de *P. patagoniensis* con el fin de ampliar los conocimientos sobre su biología reproductiva. Para ello, se analizaron 25 hembras de diferente longitud hocio-cloaca colectadas a lo largo de un año en la provincia de Corrientes. Los ejemplares fueron trasladados al laboratorio y sacrificados según el protocolo establecido en la Guía para la Eutanasia Animal propuesta por la IACUC (The Institutional Animal Care and Use Committee). Posteriormente se diseccionaron

con el fin de aislar el sistema reproductor para la preparación de las muestras. Se realizaron cortes histológicos de ovario siguiendo la rutina convencional de deshidratación, inclusión en parafina y coloración con H-E. Los ovarios de *P. patagoniensis* presentan nichos germinales y folículos previtelogénicos, vitelogénicos y atrésicos. Los nichos germinales contienen las ovogonias que inician la foliculogénesis cuando las células prefoliculares comienzan a rodearlas. Los folículos continúan su crecimiento y desarrollo fuera de los nichos. Durante este proceso sufren cambios en el número de capas del epitelio folicular y en la morfología de sus células. El ovocito experimenta un aumento de tamaño por acumulación de vitelo y el núcleo adquiere una posición excéntrica. Los folículos que no completan su maduración se denominan atrésicos y terminan degenerando. Estos resultados servirán de base para caracterizar el ciclo reproductivo de *P. patagoniensis* al complementarlos con el estudio histológico de la actividad reproductiva de los machos.

¹Laboratorio de Herpetología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Av. Libertad 5470. Corrientes (Argentina). ²Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Chorroarín 280. Buenos Aires. (CABA). C.P. 1428.

La modulación por histamina de la presentación de antígenos por células dendríticas involucra la vía vacuolar

Alcain, J; Gori, S.; Borge, M.; Salamone, G.; Vermeulen, M.

Las células dendríticas (CDs) son capaces de presentar antígenos del medio extracelular asociados a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (CMHI), lo que conduce a la activación de los linfocitos T CD8+. Previamente, demostramos que la histamina (HIS) potencia la presentación cruzada de ovoalbúmina (OVA) soluble por CDs murinas. La HIS media sus acciones a través de receptores acoplados a proteínas G. El receptor H1 se asocia a la subunidad Gq, cuya señalización involucra a PKC. Objetivo: teniendo en cuenta estos antecedentes, analizamos los posibles mecanismos responsables de esta modulación por la HIS. Los ensayos se realizaron utilizando CDs diferenciadas a partir de precursores de médula ósea en presencia de factor recombinante de colonias de granulocitos-macrófagos (CSF-GM). La concentración de HIS utilizada en todos los ensayos fue de 1 μ M, y la de bafilomicina

(B) de 5 μ M. Los extractos para los ensayos de Western blot se realizaron luego de 30 min de estimulación con los diferentes tratamientos. En primer lugar, observamos que el tratamiento de CDs con B, un inhibidor de la ATPasa, conduce a la inhibición en la expresión de los CMHI-OVA en la superficie de las CDs tratadas con HIS (CDs: 2,2 \pm 0,7; HIS: 3,3 \pm 0,9; CDsB: 1,7 \pm 0,5; HISB: 1,1 \pm 0,4. % CDs positivas \square ES; * $p < 0,05$ n = 6, t de Student, CDs vs. HIS, CDB y HIS vs. HISB). Asimismo, la actividad citotóxica (CTL) de CDs es incrementada en un 30% por la amina ($p < 0,05$, n=4). Llamativamente, la HIS parece activar la vía de la PKC, efecto que es revertido en presencia del inhibidor de la ATPasa. Nuestros resultados demuestran que la interacción de HIS con las CDs activa la vía de señalización de PKC y que la vía vacuolar representaría el mecanismo central de inducción de complejos clase I-OVA.

Puesta a punto del método microbiológico para la determinación de la amikacina: selección del microorganismo patrón

Alonso, M.; Kreil, V.

El método microbiológico relaciona en forma directa concentraciones de antibiótico con el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano en agar. Utilizando concentraciones conocidas de antibiótico, se calcula una regresión lineal y se obtiene una curva estándar a partir de la cual se pueden interpolar los diámetros de concentraciones no conocidas para construir las curvas de disposición plasmática. El objetivo de este trabajo fue seleccionar el microorganismo patrón más adecuado para determinar las concentraciones de amikacina en plasma canino, mediante el método microbiológico. Se prepararon las diluciones en plasma canino correspondientes a la curva de concentraciones estándar de 100 µg/ml a 0,19 µg/ml, realizando diluciones al medio de la concentración anterior. Se inoculó agar con 1 ml de una suspensión en caldo cerebro corazón (turbidez 1 McFarland) de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (grupo BS, n= 6) o de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (grupo SE, n = 6), por cada 100 ml de agar. Se prepararon 12 placas de Petri estériles

con 27 ml del agar inoculado y se realizaron 10 perforaciones en cada placa, donde se sembraron 50 µl de plasma con antibiótico para cada punto de la curva estándar. Las placas fueron incubadas a 34°C durante 18 h, y los halos fueron leídos con calibre digital. Para el grupo BS y SE, los límites de cuantificación y de detección del método fueron de 3,12 µg/ml y 1,56 µg/ml; mientras que la exactitud (desvío) fue menor a 12,5% y al 19.6%, la variación interdía (precisión) fue menor al 7,6% y al 4,8%, y el coeficiente de correlación de la regresión lineal (r^2) de la curva estándar fue de 0,995 y 0,9875, respectivamente. Nuestros resultados muestran que ambas bacterias produjeron curvas estándar con los mismos límites de cuantificación y detección. Sin embargo, dado que la exactitud y el coeficiente de correlación de la regresión lineal fueron superiores para el grupo BS, se considera al *Bacillus subtilis* ATCC 6633 como el microorganismo patrón más adecuado para futuros estudios farmacocinéticos de amikacina en canino.

Puesta a punto del método microbiológico para la determinación de la amikacina: mejora del límite de detección

Alonso, M.; Kreil, V.

Durante la puesta a punto del método microbiológico, que relaciona en forma directa concentraciones de antibiótico con el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano, puede ser necesario realizar ajustes para mejorar los límites de cuantificación y detección. Una estrategia utilizada es realizar una predifusión previa a la incubación de las placas en la estufa, con el fin de facilitar la difusión del antibiótico en el medio de cultivo sólido, y aumentar el diámetro de los halos de inhibición. El objetivo de este trabajo fue comparar las curvas de calibración y los límites de cuantificación y detección, con predifusión (grupo CP) y sin predifusión (grupo SP), durante la puesta a punto del método microbiológico para la amikacina en plasma canino. Se prepararon diluciones para la curva de concentraciones estándar de 100 µg/ml a 0,19 µg/ml, realizando diluciones al medio de la concentración anterior en plasma canino. Se utilizaron agar Mueller Hinton como medio de cultivo y *Bacillus subtilis* ATCC 6633 como microorganismo patrón. Se prepararon 12 placas de Petri estériles con 27 ml del agar inoculado y se realizaron 10 perforaciones en cada una, donde se sembraron 50 µl de plasma con

antibiótico para cada punto de la curva estándar. Para el grupo SP, 6 placas fueron colocadas en la estufa a 34°C inmediatamente después de finalizada la siembra, mientras que el grupo CP, se esperaron 30 minutos antes de colocar las 6 placas a incubar. La lectura de los halos se realizó con calibre digital luego de 18 h de incubación. Se realizó un test de paralelismo para evaluar las pendientes de las curvas de calibración ($P > 0,05$). El límite de cuantificación y detección para el grupo CP fue de 0,78 µg/ml, mientras que para el grupo SP fue de 3,12 µg/ml y 1,56 µg/ml, respectivamente. Las pendientes de las curvas de calibración para el grupo CP y SP fueron $8,22 \pm 0,26$ y $8,66 \pm 0,28$, respectivamente. La ordenada al origen del grupo CP fue $12,48 \pm 0,30$ y para el grupo SP, $8,92 \pm 0,38$. El valor promedio de ambas pendientes fue de 8,284, y las diferencias entre pendientes no fueron significativas. El límite de detección y cuantificación fue menor tras la realización de la predifusión, sin modificar la pendiente de la curva de calibración. Podemos concluir que la aplicación de esta estrategia resultó en una mejora en la detección de las concentraciones del antibiótico en plasma canino.

Puesta a punto de toma de muestra para el aislamiento de bacterias ácido lácticas de intestino de pollos

Alonso, M.Z.; Romanelli, A.; Libonatti, C.; Garcia, M.C.; Sansinanea, A

Las bacterias ácido lácticas (BAL) constituyen un grupo de microorganismos Gram positivos capaces de producir ácido láctico a partir de carbohidratos como el mayor producto final de la fermentación de azúcares. Una de las alternativas de utilización de las mismas en producción animal, es el uso como probióticos para mejorar la funcionalidad del intestino y estimular el sistema inmunitario, entre otras. Si bien, hay varios estudios realizados en pollos, no existe una uniformidad de criterios. Dichos trabajos reportan diferentes metodologías de toma de muestra a partir de distintas porciones del intestino ya sea por hisopado, homogenizado, contenido e inclusive materia fecal. El objetivo de este trabajo fue comparar diferentes metodologías de toma de muestra para el aislamiento de bacterias ácido lácticas, a partir de distintas porciones del intestino de pollo. Los ensayos se llevaron a cabo en la Sala de Necropsia y en el Laboratorio de Fisiología Celular de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA. Se sacrificaron 7 pollos. De

cada uno de ellos se extrajo el ciego y el íleon. Las muestras fueron conservadas en refrigeración hasta su procesamiento. En el laboratorio se realizó un hisopado y un homogenizado de cada una de las porciones por duplicado. Se incubaron en caldo MRS en condiciones de microaerofilia durante 24hs. Posteriormente se realizó una siembra en superficie en agar MRS para observar el crecimiento. Los homogenizados de ciego e íleon presentaron un abundante crecimiento en forma de pátina, impidiendo el aislamiento de las BAL, comparado con los hisopados de ambas porciones de intestino. Si bien en los hisopados se observó menos crecimiento, los de íleon presentaron menos contaminación y colonias aisladas de BAL. En base a los resultados obtenidos, se considera que los hisopados de íleon son más convenientes, ya que presentaron menos contaminantes y permiten aislar fácilmente las colonias de BAL. Por tal motivo, esta metodología de toma de muestra para aislamiento se seleccionó para ensayos posteriores en nuestro Laboratorio.

Niveles de elementos traza de importancia toxicológica en muestras de riñón de bovinos de argentina

Alvarez Gonçalvez, C.V.; Fernandez Cirelli, A.; Pérez Carrera, A.

En contraste con los contaminantes orgánicos, los elementos traza inorgánicos no son degradados en el medio ambiente y se acumulan en el agua, suelo, sedimentos y organismos vivos. Estos elementos pueden ser transferidos del agua a los tejidos bovinos y acumularse en ellos en concentraciones que podrían ser peligrosas para los seres humanos, o que podrían producir un impacto negativo en la salud de los animales o la producción. Uno de los objetivos de mi tesis doctoral es la cuantificación de arsénico (As) y otros elementos traza, tales como cromo (Cr), cadmio (Cd) plomo (Pb), mercurio (Hg) y uranio (U) en tejidos bovinos. Para cumplir con dicho objetivo, se analizó el contenido de estos elementos en muestras (n=18) de riñón bovino procedente del sudeste de Córdoba. Se colectaron muestras de tejidos de riñón bovino directamente después de la faena. Las muestras se digirieron con ácido nítrico en microondas y se cuantificaron los metales usando espectrometría de masas

con plasma acoplado inductivamente. Se usó material de referencia certificado. Los datos se analizaron estadísticamente. Se encontró una concentración de As total en el riñón que varió entre 109 y 408 $\mu\text{g}/\text{kg}$, con una media de $266 \pm 38 \mu\text{g}/\text{kg}$. En el caso del Cr, los niveles variaron entre $< 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ y $1485 \mu\text{g}/\text{kg}$, con una media de $279 \pm 192 \mu\text{g}/\text{kg}$. En cuanto al Pb, los niveles variaron entre 119 y $813 \mu\text{g}/\text{kg}$, con una media de $390 \pm 91 \mu\text{g}/\text{kg}$. Respecto del Cd, los niveles variaron entre 82 y $2542 \mu\text{g}/\text{kg}$, con una media de $771 \pm 302 \mu\text{g}/\text{kg}$. En el caso del U variaron entre 8 y $85 \mu\text{g}/\text{kg}$, con una media de $23 \pm 9 \mu\text{g}/\text{kg}$. Para el Hg los valores variaron entre 8 y $137 \mu\text{g}/\text{kg}$, con una media de $40 \pm 16 \mu\text{g}/\text{kg}$. Todos los valores corresponden a masa seca. Los resultados obtenidos evidencian la presencia de elementos tóxicos en riñón bovino. Esto muestra la necesidad de profundizar los estudios del efecto y la transferencia de elementos traza desde las matrices ambientales al ganado bovino, con el fin de asegurar la calidad y seguridad alimentaria.

Efectos de la alimentación con leche de descarte sobre la salud de terneras de crianza artificial

Alvarez, G.^{1,2}; Moscuza, C.H.^{1,2}; Ambros, L.^{1,3}; Fernandez Cirelli A.¹

La alimentación con leche de descarte durante la crianza artificial (CA) de terneras provoca un efecto negativo en su salud, que se profundiza al co-existir con fallas en la transferencia de inmunidad pasiva (TP). El objetivo del trabajo fue evaluar la salud de terneras de CA alimentadas con leche de descarte y su relación con la TP. Para ello se evaluaron 9 terneras los días 1, 7 y 21 de la CA; de las cuales 3 presentaban falla de transferencia pasiva (FTP) y 6 una transferencia pasiva efectiva (TPe). Para el análisis estadístico se utilizó el Test de Medidas Repetidas y el Test de Tukey para comparaciones múltiples. Se consideró un $p \leq 0,05$. Para la mayoría de los parámetros en estudio no se evidenciaron diferencias significativas entre

grupos aunque el tiempo sí ejerció efecto sobre ellos, relacionado al desarrollo normal de las terneras y a la presencia de diarreas efímeras. Las proteínas totales (PT) y albuminas mostraron diferencias tanto entre grupos ($p=0,008$) como las debidas al efecto tiempo ($p=0,001$), con tendencia a la disminución. En el grupo TFe las PT permanecieron dentro de los valores normales, no así para el grupo FTP que curso con hipoproteïnemia por déficit de globulinas (las albuminas permanecieron normales). La FTP no tuvo un efecto importante sobre la salud de las terneras debido al manejo integral de la crianza artificial que compensó el déficit de inmunidad pasiva.

¹Instituto de Investigaciones en Producción Animal. UBA-CONICET. ²Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica en Rumiantes. FCV-UBA. ³Cátedra de Farmacología. FCV - UBA.

Análisis histológico y morfométrico del oviducto de alpaca (vicugna pacos). Comparación entre animales según presencia de cuerpo lúteo

Angiono, G.M.; Boviez, J.D.; Lombardo, D.M.

En el oviducto se llevan a cabo importantes eventos reproductivos. En alpaca aún no se han descrito características histológicas y morfométricas particulares del oviducto y sus variaciones entre estadios reproductivos. En dicha especie las fases luteal y folicular se definen por seguimiento ecográfico y/o niveles hormonales de progesterona y estrógenos, en ausencia de tales métodos es necesario establecer otro criterio de categorización. En el presente trabajo se utilizaron muestras de oviducto de alpaca (*Vicugna pacos*), no lactantes ni preñadas, obtenidas en mataderos de la región Huancavelica (Perú). Las muestras se clasificaron posmortem, según la presencia/ausencia de cuerpo lúteo. Las mismas se fijaron en formol al 10%, se procesaron para obtener cortes en parafina y se colorearon con las técnicas de hematoxilina y eosina, tricrómico de Mallory y Picosirius red. Se estudiaron los segmentos ampolla, istmo, unión útero-tubal y papila, en los cuales se evaluó el diámetro total, espesor de la muscular, espesor de la mucosa, área de luz libre y características estructurales de la mucosa. Se realizó la observación mediante microscopio de campo claro, captura digital (software LASZ-Leica Co) y análisis (software

QWin Plus Ver 3.0-Leica Co.) de imágenes. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Se observaron diferencias significativas en el diámetro, espesor de la muscular y área de luz total ($H=10$, $p=0,013$; $H=23$ $p=0,0001$; $H=15$, $p=0,0014$; $n=9$) entre segmentos. También se observaron diferencias significativas en el espesor de la mucosa y en el área de luz total entre animales con ($n=6$) y sin cuerpo lúteo ($n=3$), ($H=4,29$ $p=0,03$; $H=2,75$ $p=0,09$). Respecto a las características de la mucosa, se observó la presencia de pliegues con ramificaciones, en los cuales se observan proyecciones de músculo liso a nivel de la UUT y papila. A su vez se observó la presencia de cavéolas de aspecto glandular, las cuales se encuentran en la base y sobre los pliegues, aumentando en cantidad en dirección craneal, siendo abundantes en la ampolla. El epitelio varía de cúbico a cilíndrico pseudoestratificado, el epitelio caveolar es cúbico a cilíndrico simple de aspecto vacuolado. Los hallazgos encontrados sugieren diferencias estructurales en cada segmento, las mismas manifestarían cambios entre estadios reproductivos relacionados a los eventos que allí ocurren.

Farmacocinética plasmática de cefuroxima axetil en caninos

Aramayona, S.; Lorenzini, P.; Passini, S.; Lupi, M.; Montoya, L.; Albarellos, G.

La cefuroxima es activa contra las bacterias Gram (+), Gram(-), aerobios y anaerobios. La cefuroxima se puede administrar por vía oral (PO) como axetil y por vía parenteral como sal sódica. La bibliografía encontrada describe que la administración postprandial mejora la absorción de la Cefuroxima Axetil (humanos). La cefuroxima es un antibiótico tiempo dependiente por lo que se utiliza el $T_{>CIM}=4$ $\mu\text{g/ml}$ para evaluarla. El objetivo de este trabajo fue describir la farmacocinética plasmática y biodisponibilidad oral de cefuroxima axetil (suspensión) luego de su administración a caninos en condiciones de ayuno y postprandial; buscando una posible utilidad clínica. Se trabajó con 6 caninos raza Beagle, 4 machos y 2 hembras, clínicamente sanos, con un peso (media \pm DE) de $14,08\pm 1,43$ kg y edad 2-7 años. Se utilizó cefuroxima (20 mg/kg) en forma sódica (Cefuroxima Richet 1.5g) para la aplicación intravenosa (IV) y cefuroxima axetil suspensión (Cefurox GlaxoSmithKline, Inglaterra) para la administración PO. Se tomaron muestras sanguíneas seriadas en tiempos preestablecidos pos-administración del antibiótico. Se separó el plasma y se conservó a -20°C hasta su procesamiento. Las concentraciones plasmáticas

se determinaron por el método microbiológico utilizando *Kokuria rhizophila* ATCC 9341 como cepa test. Los principales parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante el programa WinNonlin y Graph Pad. Los principales parámetros farmacocinéticos de Cefuroxima axetil (suspensión) luego de su administración PO a perros ayunados o postprandial fueron respectivamente: C_{max} : $9,81\pm 2,37$ y $9,35\pm 2,48$ $\mu\text{g/ml}$; T_{max} : $1,67\pm 0,41$ y $1,21\pm 0,33$ h; F : $41,44\pm 10,62$ y $37,63\pm 7,04$ %. Cefuroxima se eliminó rápidamente con una vida media y un MRT para las vías IV y PO en ayunas y PO postprandial respectivas de: $t_{1/2}$: $0,98\pm 0,15$, $0,82\pm 0,16$ y $1,10\pm 0,16$ h y MRT: $1,33\pm 0,16$, $2,54\pm 0,31$ y $2,39\pm 0,29$ h. Los valores de $T_{>CIM}$ observados fueron de 3,5, 2,5 y 3 h para las vías IV, PO en ayunas y PO postprandial, respectivamente. Según los resultados, la cefuroxima a una dosis de 20 mg/kg a caninos, debería administrarse cada 7, 5 y 6 horas para las vías IV, PO en ayunas y PO postprandial, respectivamente. La administración de alimento a los caninos permite espaciar el intervalo posológico en solo una hora, con la administración de una suspensión oral.

Estudio de la presencia de elementos traza en leches de origen ovinos, caprinos y bovinos

Arellano, F.E.^{1,3}; Perez Carrera, A.L.^{1,3}, Calzetta Resio, A.N.^{1,2}

El marco de mi tesis doctoral se enfatizó el estudio de la calidad de leche de origen ovino, bovino y caprino, teniendo en cuenta que las tendencias actuales en el consumo de productos agropecuarios demandan estándares de calidad cada vez más estrictos. En el caso de la leche y sus productos derivados, la acumulación de algunos elementos traza inorgánicos (ej. As, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb, U, V y Zn) puede afectar la salud humana. Estos elementos pueden llegar a los animales a través del agua de bebida y del forraje, y acumularse en los distintos tejidos. El objetivo de este trabajo es presentar los principales resultados obtenidos hasta el momento, destacando la caracterización de elementos traza en leches comerciales de distintas marcas de origen bovino y caprino, y de leche cruda de origen ovino. Para la determinación de la concentración total de los elementos traza en estudio, se digirieron las muestras con 5 ml de ácido nítrico al 65% en un digestor microondas (GmBH, Germany). Luego se diluyeron con agua ultrapura (18,2 mW*cm), se acidificaron con HNO₃ al 10%. La determinación de elementos traza se realizó mediante espectrometría de

masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS). Los resultados obtenidos muestran que las leches comerciales de origen bovino y caprino presentan As en un amplio rango, desde 2,9 a 167,2 ppb para bovinos y de 21,0 a 64,0 ppb en caprinos, mientras en leche ovina los valores fueron menor al LOD (<7). El Cr varía de 3,0 a 178,9 ppb, superando en un 15% de las muestras el LMR de 0,1 ppm establecido en el Mercosur (Res. 12/2011). En el caso del V y U las muestras de leche caprina presentan la mayor concentración media de 77,6 ppb y 20,7 ppb respectivamente. En el caso del Pb, en leche cruda ovina los niveles superan el LMR de 50 ppb establecido en el MERCOSUR en un 60% de las muestras, mientras que si se considera el LMR de la UE (20ppb), el 100% de estas muestras superan este valor. En el caso de los micronutrientes estudiados se observó que el Zn es el de mayor concentración en todas las muestras, el resto varía según el tipo de leche. Estos resultados preliminares demuestran la necesidad de profundizar los estudios sobre esta temática a fin de garantizar la calidad de productos lácteos para consumo humano.

¹ Instituto de Investigaciones en Producción Animal, CONICET

² Centro de Estudios para la Producción y Seguridad alimentaria, FCV-UBA

³ Cátedra de Química Orgánica, FCV-UBA

Expresión de la proteína s100 en el tegumento de *Rhinella Bergi* (Anura: Bufonidae)

Arias, A.¹; Cheij, E.¹; Olea, G.¹; Céspedes, J.¹; Álvarez, B.¹; Lombardo D.M.²

Una de las características más notables de los anfibios es el tegumento, el cual funciona como interfaz entre el organismo y ambiente. Este órgano es una compleja estructura involucrada en una gran variedad de funciones, dentro de las cuales se destacan la quimio, electro y mecanorrecepción, para lo cual, el tegumento presenta células sensoriales capacitadas para la recepción de dichos estímulos. Los iones de calcio juegan un papel fundamental en la fisiología de las células sensoriales debido a que son necesarios para generar el impulso nervioso de las células sensoriales a las terminaciones nerviosas. Entre los mecanismos que regulan las concentraciones citoplasmáticas intracelulares de calcio, hay varias proteínas conocidas colectivamente como proteínas vinculantes de calcio, como es el caso de la proteína S100, la cual puede ser utilizada como un marcador selectivo para células mecano y quimiosensoriales. Información vinculada al análisis de la expresión de la proteína S100

para la identificación selectiva de células mecano y quimiosensoriales en el tegumento de vertebrados solo se ha realizado en algunos taxones, siendo escasa la información para anfibios anuros. Con el objetivo de localizar y evidenciar la expresión de la proteína S100 en células sensoriales del tegumento de *Rhinella bergi*, se realizó un análisis inmunohistoquímico en cortes transversales de tegumento, utilizando un anticuerpo anti S100 incubado por 60 min. a 37°C; y revelado según el protocolo indirecto de "L-streptoavidina biotina". A partir de los resultados obtenidos se pudo observar por inmunodetección que la proteína S100 colocalizó marcación específica en la membrana plasmática y en la zona peri nuclear de las células mecanorreceptoras asociados a las espinas tegumentarias en juveniles y adultos. Futuros análisis se focalizaran en establecer la asociación entre la localización y la función de dichas células.

¹Laboratorio de Herpetología. Dpto de Biología. FaCENA-UNNE. Av. Libertad 3400. Corrientes (Argentina). ²Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Chorroarín 280, Buenos Aires, (CABA). C.P. 1428. cheij.esteban@hotmail.com

Evaluación de la proliferación celular durante el desarrollo testicular de *Salvator Merianae* (Squamata: Teiidae)

Arrieta, M.B.¹; Álvarez, B.B.¹; Dallard, B.E.²; Siroski, P.A.²; Lombardo, D.M.³

En este trabajo, se analizó la expresión del antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) en el testículo de *Salvator merianae* (Iguana overa) durante diferentes estadios del desarrollo embrionario. El objetivo fue evaluar la actividad mitótica del epitelio germinal y el momento de su probable inicio durante el desarrollo utilizando un marcador de proliferación celular (PCNA). Se realizaron cortes histológicos de 20 gónadas (5 de cada estadio) en embriones de *S. merianae* en distintos estadios del desarrollo: 12 (estadio 15), 18, 22 y 24 días de incubación. La expresión de PCNA se evaluó mediante inmunohistoquímica utilizando anti-PCNA (clon PC-10) en una dilución 1:400 y el sistema de revelado streptavidina-peroxidasa-diaminobencidina (DAB). Embriones de estadio 15 (12 días de desarrollo) mostraron expresión de PCNA en el epitelio germinal de la gónada indiferenciada. A los 15 días de incubación se observó un aumento en el

número de células epiteliales inmunomarcadas con PCNA en comparación con estadio anterior. La diferenciación sexual de la gónada fue histológicamente evidente a partir del día 22, momento en que se observó la formación de cordones sexuales en la médula y la regresión de la corteza. En este estadio se observó un aumento en la intensidad de marcación para PCNA en las células de pre Sertoli dentro de los túbulos seminíferos. A los 24 días de incubación, los testículos presentaron mayor cantidad de tejido intersticial y dentro de cada túbulo se evidenciaron células PCNA inmunomarcadas, mostrando actividad de pre espermatogonias. Los resultados presentados son preliminares y permiten inferir que la actividad mitótica del tejido germinal para la formación del testículo se hace evidente a partir de los 12 días del desarrollo demostrado por la expresión de PCNA. Cabe destacar que los resultados son originales ya que es la primera evidencia de expresión de PCNA para esta especie.

¹Embriología Animal Laboratorio de Herpetología FaCENA-UNNE. Corrientes Argentina. ²Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, ICIVET-Litoral, (UNL-CONICET). Santa Fé, Argentina. ³Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias UBA. Buenos Aires, Argentina.

Patrones de migración del bagre anádromo *Genidens barbuis* en dos estuarios de sudamérica

Avigliano, A.; Volpedo, A.

El bagre marino *Genidens barbuis* es una especie comercial y anádroma que se distribuye desde Bahía (Brasil) hasta San Blas (Argentina). Debido a la sobrepesca realizada en las últimas dos décadas, las poblaciones disminuyeron drásticamente y la especie fue declarada en peligro para Brasil y vulnerable para Argentina. El objetivo de este trabajo fue evaluar los patrones de migraciones ontogenéticas *G. barbuis* en dos estuarios de Sudamérica con el fin de contribuir a la recuperación de este importante recurso. Se determinaron las relaciones Sr:Ca y Ba:Ca de los otolitos de 5 peces capturados en el estuario del Río de la Plata (54,0-78,1 cm) y 6 capturados en Lagoa dos Patos (Brasil) por ablación laser acoplada a ICP-MS (LA-ICP-MS). Se determinaron las relaciones Sr:Ca y Ba:Ca con un laser New Wave UP193FX desde el núcleo hacia el borde del otolito (desde el momento del nacimiento al de captura), se identificaron los anillos anuales de crecimiento bajo lupa y se reconstruyeron las diferentes historias de vida relacionando

la distancia de cada anillo respecto del núcleo con la distancia trazada por el laser. Se observó una elevada plasticidad en el comportamiento migratorio de *G. barbuis* para ambos estuarios. Sin embargo, 3 de los 5 peces del Río de la Plata analizados, mostraron una fuerte tendencia a la dependencia estuarina y ausencia de migración anádroma. El resto de los ejemplares nació en el estuario del Río de la Plata y migraron al océano luego del primer año de vida. De los 6 peces de Lagoa dos Patos, solo uno mostro dependencia estuarina hasta el noveno año de vida, que ingreso al océano y comenzó su migración reproductiva al agua dulce a la edad de 11 años. El resto de los ejemplares nació en la región estuarina de Lagoa dos Patos, se desplazaron al océano entre el primer y segundo año de vida y comenzaron la migración anadroma luego del séptimo u octavo año de vida. El patrón de migración de *G. barbuis* es muy complejo y debe ser estudiado con mayor detalle. La información aquí presentada es de importancia para el manejo pesquero de este importante recurso.

Gonadotropins and insulin effect on glucose uptake in porcine cumulus-oocyte complexes

Barrios Exposito, M.J.¹; Elia, E.M.²; Paz, D.^{2,3}; Cetica, P.^{1,4}; Alvarez, G.¹

GLUT4 is an insulin-dependent glucose transporter. FSH and LH stimulate glycolysis in porcine cumulus-oocyte complexes (COCs). We evaluated the influence of gonadotropins and insulin on glucose uptake in porcine COCs during *in vitro* maturation (IVM). COCs were obtained from ovarian follicles of slaughtered gilts and cultured 44 h in medium 199, under treatments with gonadotropins, insulin and both combined. After maturation, COCs were inseminated with fresh boar semen in concentration 20.000 sperm/ml in mTBM, for 18 hours. Glucose concentration in IVM medium was determined by spectrophotometry analyzing the product of glucose oxidation by enzyme assay. GLUT4 presence was determined by immunocytochemistry under confocal microscopy. Percentages of IVM

and IVF were subjected to a chi-square test. Glucose consumption was analyzed by ANOVA and Tukey test (95% confidence). Gonadotropins alone or combined with insulin increased glucose consumption and meiotic maturation rate ($p < 0.05$), but insulin alone had no effect. Pronuclear formation increased by gonadotropins, insulin and their combination ($p < 0.05$). Immunofluorescence revealed GLUT4 in the porcine COC for the first time. The mark increased in cumulus cells and in the oocyte after maturation with insulin and in cumulus cells after maturation with gonadotropins. Gonadotropins and insulin have different effects on glucose uptake. The first ones stimulate glucose consumption through GLUT4, while insulin only induces GLUT4 expression.

¹INITRA, Facultad de Ciencias Veterinaria, ²IFIByNE-CONICET, ³Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, ⁴INPA, Universidad de Buenos Aires.

Sistemas de vigilancia local: estudio de riesgo de infección por *Leptospira spp.* En la reserva ecológica costanera sur

Berra, Y.¹; Escati, L.¹; Marcos, E.M.^{1,2}; Orozco, M.M.³; Degregorio, O.J.¹

Múltiples agentes infecciosos son compartidos entre el hombre, animales domésticos y especies silvestres, constituyendo un factor de riesgo en la emergencia de patógenos. Las modificaciones en los ecosistemas han propiciado la creciente y estrecha relación entre especies, lo que incrementaría el riesgo de infección/transmisión de enfermedades. La Reserva Ecológica Costanera Sur (RECS) se halla ubicada en el borde de un área urbana y una problemática frecuente es la circulación de perros sin tenedor responsable. *Leptospira spp.* es un agente zoonótico cosmopolita y diversos serovares pueden infectar roedores, marsupiales y perros domésticos. El objetivo fue determinar y caracterizar los factores de riesgo de infección de *Leptospira spp.* en perros y mamíferos silvestres del área núcleo y zona borde de la RECS y comparar los resultados entre áreas. Durante 2014 se llevaron a cabo cuatro campañas estacionales. En el área núcleo y borde de la RECS se colocaron trampas de captura viva para mamíferos silvestres en líneas transectas. Las muestras de los perros se obtuvieron mediante colaboración de la Agencia

de Protección Ambiental. Los mamíferos silvestres fueron anestesiados. Se colectaron muestras de sangre y orina, y se colectaron los riñones de los roedores que fueron eutanasiados. El diagnóstico se realizó mediante microaglutinación en placa (MATT), cultivo y PCR. Se capturaron 27 perros y 76 mamíferos silvestres: 57 roedores (*Oligoryzomys flavescens* Deltamis kempii, *Scapteromys aquaticus*, *Mus musculus*, *Cavia aperea*), 13 *Didelphis albiventris* y 6 *Lutreolina crassicaudata*. El esfuerzo de captura fue de 2887 trampas (2,67 trampas-noche). Se analizaron 45 sueros resultando un perro positivo (MATT, título 1/800 para *L. canicola*) y 82 muestras (60 riñones/22 orinas) por PCR, resultando negativas; 74 de esas muestras fueron cultivadas obteniéndose un 84,9% negativo y 15,1% que aún están en estudio. Futuras campañas conseguirán incrementar la sensibilidad del muestreo. Los resultados permitirán establecer el rol de los perros, zarigüeyas y roedores como posibles reservorios de leptospirosis en la RECS y evaluar su incorporación a los sistemas de vigilancia en salud.

¹Cátedra Veterinaria en Salud Pública, FCV, UBA. ²Instituto de Zoonosis Dr. Luis Pasteur CABA. ³Laboratorio de Eco-epidemiología, FCEyN, IEGEBA-CONICET, UBA.

Vitrificación de embriones murinos en cápsulas Beem®

Bezenzette, G.M.; Cartagena, M.E.; Gulín, J.E.N.; Lorenzo, M.S.; Maruri, A.; Tello, M.F.; Lombardo, D.M.

La criopreservación de gametas y embriones se ha vuelto una herramienta indispensable para la conservación de recursos zoogenéticos. La vitrificación se basa en el uso de soluciones con alta concentración de crioprotectores que mediante un rápido enfriamiento evitan la formación de cristales. Numerosos métodos y soportes se basan en minimizar el volumen de las soluciones de vitrificación, optimizando el proceso. A pesar de la utilización de dichos métodos, poco se conoce sobre sus efectos a largo plazo. El objetivo fue obtener embriones murinos para vitrificados en cápsulas de inclusión BEEM® y evaluar su viabilidad post desvitrificación. Hembras CF1, de 8 semanas de edad fueron superovuladas administrando por vía intraperitoneal 5 UI eCG y 5 UI de hCG, procediendo al apareo monogámico con machos CF1 de 9 semanas de edad. Al día siguiente se evaluó la presencia de tapón vaginal (TV) y se realizó el desapeo. Luego, las hembras con TV fueron eutanasiadas en dos tiempos: 74 h (T1) y 90 h (T2) post hCG. Los embriones fueron recuperados por lavaje uterino con medio TCM 199-Hepes 25 mM + 5% SFB, penicilina y estreptomycin (SL). Luego fueron expuestos a la solución de equilibramiento (50% de

solución de vitrificación + 50% de medio TCM 199-Hepes) durante 5 min y posteriormente a la solución de vitrificación (15% EG, 15% DMSO, 0,5 M sacarosa, 20% SFB en TCM 199-Hepes 25 mM) durante 1 min. Finalmente, los embriones fueron colocados con el mínimo volumen en las cápsulas BEEM® y sumergidos en N₂ líquido. Para desvitrificarlos, las cápsulas se colocaron en agua a 37°C agregando 50 µL de solución de calentamiento (TCM 199-Hepes + 1M sacarosa) durante 3 min. Luego se realizaron lavados sucesivos con SL y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su evaluación. La viabilidad embrionaria se determinó a través de la tinción vital con yoduro de propidio y Hoechst 33342 bajo microscopio de epifluorescencia. El tiempo óptimo de recuperación embrionaria fue T2 obteniendo mórulas compactas y blastocistos (estadio transferible). La viabilidad para T1 fue 75% (n=4) mientras que para T2 fue 86% (n=36). Estos resultados preliminares indicarían que dicho método de vitrificación es una alternativa para criopreservar embriones de mamíferos. Se continuará realizando ensayos *in vivo* de transferencia embrionaria no quirúrgica para evaluar el efecto de esta técnica sobre distintos índices reproductivos.

Recuento de células somáticas y sólidos útiles para evaluar la calidad de leche ovina-raza frisona

Bisso, C.¹; Roldan, F.¹; Gonzalez, S.²; Lopez Barrios, M.¹; Marey, E.¹; Calzetta Resio, A.¹

La producción de leche ovina y la elaboración de quesos artesanales han aumentado en nuestro país en el último tiempo. La normativa actualmente sólo especifica detección de residuos de plaguicidas, así como de medicamentos veterinarios. En este sentido, surge la necesidad de estandarizar parámetros de detección rutinaria, factibles de ser incluidos como factores de decisión para desarrollar un programa de control lechero que involucre no solo los nutrientes por los que se reconoce económicamente al productor (proteína y grasa) sino también parámetros de higiene como el RCS (Recuento de Células Somáticas). Por ello este trabajo se orientó a cuantificar estos nutrientes claves, el RCS y se analizó su asociación. Se analizaron 73 muestras de leche ovina por duplicado procedentes de tres tambos de la pcia. de Bs. As., a lo largo de 8 semanas de lactación. La determinación de RCS se llevó a cabo utilizando el método de referencia, directo con microscopio óptico (norma ISO 13366-1 IDF 148-1 2008 parte 1); la determinación de proteína y materia grasa se llevó a cabo utilizando el analizador de leche ultrasónico LAC-SA Milk Analyzer, BOECO, Alemania). Los valores obtenidos se analizaron

con el software estadístico Infostat y estadística 7. Se realizó el análisis descriptivo de cada una de las variables de interés para cada semana del estudio. Respecto de los valores promedios máximos y mínimos obtenidos para RCS, se puede informar que fueron con sus correspondientes desvíos los siguientes: $237,5 \times 10^4$ cel/ml ($\pm 164,64$) en la semana 1 y $126,6 \times 10^4$ cel/ml ($\pm 47,12$) en la semana 3. En tanto que los contenidos promedios máximos de proteínas y materia grasa fueron de $3,85 \pm 0,13$ % y $6,72 \pm 1,01$ % respectivamente. Se realizó análisis de Correlación de Spearman para el parámetro proteína/grasa trabajando con un nivel del 5% de significancia (p -valor= $2,03 \times 10^{-3}$) resultando dicha asociación negativa leve ($r = -0,35$). Al mismo nivel no se observó asociación entre las variables RCS y proteínas y RCS y grasa. Por lo expuesto se concluye que dichos controles deberán realizarse en forma independiente en vistas de que el contenido de nutrientes no se modifica en presencia de altos RCS, como cabría esperar en otras especies. Por tanto, el RCS podría elegirse como método de diagnóstico en la determinación de mastitis subclínica relacionándolo con hallazgos microbiológicos de la leche ovina.

¹Cátedra de Tecnología, Protección e Inspección Veterinaria de Alimentos y ²Cátedra de Bioestadística, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

Síndrome urémico hemolítico: estudio de posibles reservorios urbanos de cepas de *Escherichia coli* productor de toxina shiga en Ciudad de Buenos Aires

Blanco Crivelli, X.; Bentancor, A.

Escherichia coli Shigatoxigénico (STEC) es una de las principales causas de síndrome urémico hemolítico (SUH). El bovino ha sido señalado como el principal reservorio de la bacteria. Asimismo otras especies animales han sido identificadas como hospederos de este patógeno. El objetivo fue estudiar el posible rol que cumplen los roedores del género *Rattus* en el ciclo epidemiológico de STEC en centros urbanos. Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. En cada ejemplar capturado se recolectaron 2 muestras sucesivas mediante hisopado rectal para estudios bacteriológicos. Se realizó la ruta para la identificación de cepas STEC O157 y no-O157 con detección del patógeno mediante PCR convencional. En las cepas aisladas se realizó subtipificación de las toxinas presentes, se verificó la producción de toxina Shiga y se caracterizaron las cepas mediante bacteriología clásica y serotipificación. Se evaluó la susceptibilidad a STEC en animales portadores mediante necropsia e histopatología. Asimismo se realizaron ensayos de infección en ratas Sprague Dawley (SD). Se capturaron 118 roedores del género *Rattus* (*R. rattus*: 20/118 y *R. norvegicus*: 98/118). Para la búsqueda de STEC no-O157 por PCR múltiple 1/20

muestras de *R. rattus* y 0/98 muestras de *R. norvegicus* fueron sospechosas al rastillaje, lográndose 4 aislamientos del mismo animal. Los aislamientos pertenecieron al serotipo O108:H11, con dos perfiles de virulencia diferentes: stx1a / stx2a / stx2c / stx2dactivable / saa / ehxA / subA (3/4), stx1a / stx2a / saa / ehxA / subA (1/4). En el animal portador no se observaron lesiones macroscópicas ni microscópicas compatibles con aquellas producidas por la toxina Shiga. Además once muestras analizadas (n: 118) resultaron eae+ lográndose 17 aislamientos *Escherichia coli* enteropatógeno (EPEC) a partir de 8 animales. Los serotipos EPEC aislados fueron O71:H40 (4), O71:H- (2), O88:H25 (1), O76:H- (1), O109:H46 (7), O108:H21 (1) y O138:H40 (1). Los ensayos de infección en ratas SD señalaron que los roedores del género *Rattus* ante concentraciones altas del patógeno en dosis única podrían comportarse como portadores transitorios de STEC por períodos breves de tiempo. Los resultados obtenidos sugieren una baja circulación de cepas STEC en roedores del género *Rattus* por lo que no puede asegurarse ni tampoco rechazarse que constituyen un reservorio ecológico del patógeno.

Percepción del riesgo ambiental en alumnos universitarios

Bonafina, C.

La percepción ambiental es un concepto personal que muestra la sensibilidad para detectar amenazas medioambientales. Su importancia radica en que es posible conocer a través de ella conductas pro-ambientales. El objetivo principal fue analizar la percepción ambiental de alumnos en diferentes años de carrera universitaria. La percepción del riesgo es un proceso influenciado por conocimientos adquiridos que varía según las características socio-culturales y demográficas de los individuos. Se administraron cuestionarios a 671 alumnos de carreras agronómicas en 2002, 2004, 2008 y 2009. Se analizó la existencia de diferencias significativas a través de la prueba χ^2 de Pearson para datos categorizados ($p < 0.05$) en las respuestas según sexo y año en curso de la carrera. Los resultados muestran

que el principal componente de la calidad de vida, fue el bienestar social. El nivel de renta tuvo menor participación en mujeres. Las situaciones problemáticas de mayor riesgo ambiental fueron, las aguas contaminadas, los basurales no controlados, y suelos con químicos tóxicos. La percepción del riesgo asociado a actividades agropecuarias fue mayor en los alumnos de 4º año. Y las mujeres mostraron una mayor percepción en las situaciones: suelos con químicos tóxicos, radiaciones electromagnéticas, accidentes en centrales nucleares y estaciones de servicios. La percepción ambiental ha ido modificándose a través del tiempo junto a la creciente evidencia de los impactos ambientales generados por los sistemas de producción, mostrando, en la actualidad, una importante valoración del medio ambiente natural.

Efecto de un compuesto natural, sobre la acción del inoculante *bradyrhizobium* en soja

Bouzas, J.; Zilli, C.; Hernandez, A.; Balestrasse, K.

La soja, establece una asociación benéfica con bacterias del género *Bradyrhizobium* formando nódulos en las raíces. Los nódulos son órganos especializados donde se reduce el nitrógeno molecular (N_2) a amonio (NH_4^+), a través del complejo enzimático Nitrogenasa. Los objetivos del presente trabajo fueron. 1. Incrementar la velocidad del crecimiento de la cepa E 109 de *Bradyrhizobium japonicum*, 2. Aumentar el número de nódulos y/o su eficiencia en fijar N_2 atmosférico y 3. Aumentar el contenido de leghemoglobina. Se utilizó un medio estándar para el cultivo de rizobios. Se usaron semillas de soja (*Glycine max.*) que fueron esterilizadas superficialmente y luego inoculadas con E 109 con y sin el agregado de

un fitoquímico con propiedades antioxidantes. Se evaluaron 2 concentraciones 12,5 y 25 μM . Las plantas fueron germinadas y crecidas en una cámara de cultivo con un ambiente controlado. Se realizó el análisis estadístico de ANOVA ($P < 0.05$) seguido de un test multiple de Tukey. Se realizaron curvas de crecimiento de la bacteria y se obtuvo un incremento significativo de la velocidad máxima de las mismas. Cuando se evaluó la calidad del inoculo en plantas de soja, estas presentaron un mayor número de nódulos y peso fresco de la planta. Además se determinó contenido de leghemoglobina, el cual se incrementó significativamente, por lo tanto, se puede establecer que el agregado de dicho compuesto aumenta la fijación biológica de N_2 .

Impacto de lluvias intensas en la lixiviación de nitrógeno luego de abonado y fertilización de suelo con cobertura vegetal

Breglia Lahore, A.; Carbó, L.I.; Toro, S; Urquiza, M; Bontá, M.A.; Herrero, M.A.

En los últimos años se han presentados de lluvias intensas durante la preparación del suelo, la siembra e implantación de forrajeras. Esto favorece lixiviación, no solo afectando al agua subterránea sino también generando pérdidas de nutrientes en el sistema productivo. El objetivo fue evaluar el efecto de lluvias intensas sobre la lixiviación de nitrógeno en lotes destinados a la siembra de forrajeras luego del abonado o fertilización inorgánica (urea) sobre un suelo con cobertura vegetal. Se diseñaron lisímetros de columnas (25cm de diám. y 70cm de largo), de suelo no disturbado (serie Ramallo 4), que se mantuvieron en condiciones controladas y estabilizados por más de un año. Se aplicó un DCA, con 3 tratamientos (n=3), siendo T1: aplicación de estiércol, T2: urea, con dosis equivalente a de 100 kg N disponible/ha/año, y C: control, no fertilizado. La cobertura vegetal consistió en un raigrás anual. El estiércol se obtuvo de un corral en un tambo, se secó en estufa hasta peso constante. El mismo presentaba 0,87% de N Kjeldhal. Luego de la fertilización, cada lisímetro fue sometido a lluvias artificiales a distintos momentos (M) e intensidad: M1: una hora después de la fertilización, con volumen

equivalente a una lluvia de 30mm, y M2: a los 7 días, con un equivalente a 90 mm. Se tomaron muestras secuenciales (m) cada 100 ml para M1 y cada 500 ml para M2. Se determinó N-amonio ($N-NH_4$) (espectroscopía), N-nitratos ($N-NO_3$) (reflectometría) y N-nitritos ($N-NO_2$) (colorimetría) de cada una de ellas. Se calcularon los valores de mg totales lixiviados, en base al volumen de cada m, se calculó el acumulado y se llevaron a kg N lixiviados/ha. Se calcularon las diferencias de los T1 y T2 con respecto al C, como incremento con respecto al C (IC%), para descontar la degradación de la materia orgánica del suelo. Los tratamientos lixivieron un promedio acumulado de T1: $48,77 \pm 4,18$ kg N/ha (IC%: 3,5), y T2: $59,77 \pm 1,56$ kg N/ha (IC%: 28,18) y C: $46,63 \pm 8,64$ kg N/ha. Cabe destacar que durante estas primeras lluvias, no todos los compuestos nitrogenados de estiércol han comenzado su mineralización lo cual puede explicar la diferencia encontrada con la urea, cuya concentración fue numéricamente mayor. Hubo buena degradación de materia orgánica del año anterior, lo cual queda evidenciado por las altas concentraciones detectadas en el testigo.

Desarrollo de formulados tópicos de nanoplata para uso en caninos

Bruschi, C.¹; Landoni, M.F.²

Las heridas cutáneas son un problema en animales domésticos debido a que representan ambientes favorables para el crecimiento bacteriano. La colonización bacteriana puede interferir con el proceso de curación y promover una respuesta inflamatoria local exagerada. Por lo tanto, la prevención y el tratamiento inmediato de la colonización bacteriana es una preocupación en cuidado de heridas. El objetivo principal de este trabajo es desarrollar una formulación tópica para la prevención de la colonización bacteriana de las heridas dérmicas en caninos a base de nanoplata, para ello nos planteamos como objetivos particulares determinar la CIM de nanoplata frente a cepas bacterianas estándar y una cepa multi resistente, y evaluar *in vitro* la actividad antimicrobiana de nanoplata formulada como gel y como crema para uso tópico. La actividad antimicrobiana de las nano-moléculas de plata fue evaluada a través de la CIM sobre una cepa estándar de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y una cepa multiresistente aislada de un caso clínico de dermatitis (ST 303, Cepario de la

Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP). El perfil de multiresistencia de la cepa ST303 incluye penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, sulfas potenciadas y levofloxacina. Se desarrollaron dos formulaciones tópicos, un gel y una crema, con tres concentraciones de nanoplata (0,1, 0,5 y 1%). La determinación de las propiedades anti-bacterianas de las formulaciones se realizó por el método de standard-cup. Las CIM de nanoplata estimadas para la cepa multiresistente (10 µg/ml) fue numéricamente superior a la estimada para la cepa ATCC (7,8 µg/ml), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. La capacidad antimicrobiana de nanoplata no fue modificada por la matriz farmacéutica. Las diferencias en la eficacia antibacteriana de la nanoplata entre las tres concentraciones ensayadas, no fueron significativas. La nanoplata es un activo prometedor como agente antimicrobiano tópico. Tanto el gel como la crema demostraron, a las concentraciones ensayadas efecto antibacteriano frente a una cepa multiresistente de *Staphylococcus aureus*.

¹Facultad de Ciencias Exactas. ²Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

Clonado del gen de la VP2 de una cepa 2C de parvovirus canino en un sistema de expresión eucariota

Bucci, M.¹; Romanutti, C.¹; Keller, L.²; Mattion, N.¹; La Torre, J.¹; Gallo Calderón, M¹

El Parvovirus Canino es un virus, con un genoma a ADN de cadena simple, altamente contagioso, que provoca miocarditis y gastroenteritis hemorrágicas severas en cachorros, mostrando altas tasas de morbilidad y mortalidad. El genoma codifica para 2 proteínas estructurales, VP1 y VP2 (componente principal de la capsida) y 2 proteínas no estructurales. El PVC ha evolucionado; las variantes PVC2a, PVC2b, y PVC2c reemplazaron secuencialmente a la cepa original PVC2. En nuestro país la PVC2c, es la predominante Si bien la vacunación es la manera más práctica, efectiva y económica de prevenir la enfermedad, se han reportado muchos casos de animales que aun estando vacunada, se enferman. El objetivo del presente trabajo fue obtener el gen de la VP2 de PVC en un sistema de expresión eucariota. A partir de un hisopado rectal obtenido de un perro con sintomatología clínica de PVC, se extrajo el ADN y se amplificó por PCR un fragmento del gen de la VP2, obteniéndose un diagnóstico molecular positivo para PVC, y confirmando la presencia de la cepa PVC2c, por secuenciación. Posteriormente, se amplificó por PCR el gen

completo de la VP2, se clonó en pGEM®-T Easy Vector y se secuenció. Luego, fue subclonado en el vector pcDNA™HisMaxC, el cual permite la expresión de la proteína fusionada a 6 Histidinas. Se realizaron transfecciones de células Hek 293 (Human Embryonic Kidney 293), mediante 2 métodos diferentes: el de lipofección con Lipofectamina 2000 y el de Cloruro de Calcio. Se analizaron los lisados celulares en un gel de SDS-poliacrilamida al 8%. La detección de la expresión de las proteínas recombinantes se realizó mediante la técnica de Western Blot, utilizando un anticuerpo comercial anti Histidina. Los experimentos de Westernblot mostraron, en la transfección realizada con lipofectamina, la obtención de una banda de aproximadamente 70 Kda que correspondería a la VP2 de PVC, la cual no está presente en las transfecciones realizadas con el vector vacío. Se logró expresar la proteína VP2 de PVC, en un sistema de expresión eucariota. Si bien estos resultados son preliminares, permiten pensar la estrategia de eventualmente, desarrollar un inmunógeno actualizado a ADN contra el Parvovirus Canino.

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. Cesar Milstein, CONICET.

²Fundación de Estudios en Virología Animal (FEVAN).

Adenitis equina: aislamiento y caracterización de *Streptococcus equi* subsp. *equi* de Buenos Aires

Bustos, C.; Guida, N.

La Adenitis equina es una enfermedad infecciosa ampliamente difundida que afecta al tracto respiratorio y linfonódulos de cabeza y cuello de equinos jóvenes. Es producida por *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*), un coco grampositivo, beta hemolítico del grupo C de Lancefield. Es un patógeno primario, que no forma parte de la microflora nasofaríngea y que puede permanecer en bolsas guturales y nasofaringe de equinos recuperados de la enfermedad generando el status de portador. Los factores de virulencia incluyen cápsula, proteína M, superantígenos, estreptolisina y estreptoquinasa, entre otros. Estudios epidemiológicos basados en técnicas de biología molecular como single locus sequence typing (SLST) o pulsed field gel electrophoresis (PFGE) fueron usados pero aún no se realizaron estudios en nuestro país. El objetivo fue aislar y caracterizar cepas argentinas de *S. equi*. Muestreo de animales enfermos (punción de linfonódulos) y recuperados (hisopado nasofaríngeo); estudios citológicos, aislamiento e identificación fenotípica (beta hemólisis, aglutinación en latex para clasificación en grupo C de Lancefield, API 20 Strep y PCR multiplex); sensibilidad antibiótica (difusión en disco

y concentración inhibitoria mínima: CIM); caracterización fenotípica (detección de cápsula, biofilm y adherencia) y genotípica (PFGE). Se muestrearon 95 equinos clínicamente sanos y 42 con signología sospechosa de Adenitis. Se obtuvieron 90 aislamientos de 32 animales enfermos y 8 portadores. Se detectó resistencia a clindamicina y estreptomycin y sensibilidad intermedia a eritromicina, enrofloxacin y trimetoprim-sulfametoxazol. Se detectó cápsula de diferente grosor en el 83.53% de los aislamientos testeados y biofilm en portaobjetos en el 75.43% de los aislamientos estudiados con formación de polisacárido extracelular y aglomerados celulares. Se detectaron 3 perfiles con hasta 2 bandas de diferencia con las enzimas BspI y SmaI mediante PFGE. Los estudios citológicos muestran infección subclínica en los portadores. Se evidencia un alto porcentaje de sensibilidad antimicrobiana, debiéndose confirmarse la resistencia con la CIM. Se observa expresión de cápsula y biofilm en la mayor parte de los aislamientos. Se detecta homogeneidad genotípica con la técnica de PFGE en los aislamientos estudiados clasificándose como subclones del mismo clon circulante en Buenos Aires durante 2010-2013.

Formación de biofilm por *Streptococcus equi* subsp. *Equi*. En portaobjetos con tinción de Alcian blue

Bustos, C.; Lanza, N.; Marfil, J.; Muñoz, A.; Moras, E.; Guida, N.

El biofilm se puede definir como una comunidad de microorganismos que crecen adheridos a superficies inertes o tejidos vivos embebidos en una matriz extracelular compuesta principalmente de agua e hidratos de carbono: polisacárido extracelular (PSE). De esta manera resisten condiciones adversas del medio, acción de desinfectantes y antimicrobianos y del sistema inmune. Se ha estudiado el biofilm en otros estreptococos productores de infecciones respiratorias en humanos, hallándose una mayor producción en cepas acapsuladas aisladas de portadores. *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi*) es un coco grampositivo, beta hemolítico del grupo C de Lancefield y agente causal de la Adenitis equina. Los factores de patogenicidad más importantes son la cápsula, la proteína M, los superantígenos, la estreptoquinasa y la estreptolisina. En estudios anteriores hemos demostrado la formación de biofilm por *S. equi* en microplacas y tubos de vidrio en un bajo número de aislamientos. El objetivo fue determinar la formación de biofilm con PSE en *S. equi*. Los aislamientos se sembraron en Todd Hewitt broth (THB) con 0,2% de extracto de

levadura (EL) y 10% de suero equino (SE) overnight a 37°C en atmósfera enriquecida con CO₂. Se diluyó el inóculo 1/10 en medio fresco y se sembró en portaobjetos nuevos y estériles que se incubaron 18 hs a 37°C en atmósfera enriquecida con CO₂. Luego de lavar 3 veces con agua destilada estéril y fijar con metanol 1 minuto se procedió a la tinción con alcian blue al 2% por 10 minutos y cristal violeta al 4% por 30 seg. Los portaobjetos se dejaron secar al aire y se observaron a 40 y 100 aumentos. Se trabajó con 57 aislamientos. Se observó formación de biofilm en el 75.44% con aglomerados de bacterias pequeños (24/43) y grandes (19/43) y presencia de PSE. En el 24.56% sólo se evidenció adherencia sin producción de biofilm observándose cocos en cadenas en diferentes concentraciones sin formación de aglomerados ni PSE. Se evidenció la capacidad de formar biofilm por *S. equi* identificándose el PSE en un alto porcentaje. Se debe profundizar en el estudio de este factor de patogenicidad, su relación con la cápsula y su posible rol en la permanencia de *S. equi* en el tracto respiratorio de animales recuperados de la enfermedad.

Complicaciones de la adenitis equina. Reporte de casos.

Galinelli, N.¹; Peron, A.¹; Bustos, C.²

La Adenitis equina (Ae) es una enfermedad del tracto respiratorio superior producida por *Streptococcus equi* subsp. equi. Una vez superado el cuadro clínico, aproximadamente el 10% de los pacientes pueden portar la bacteria en nasofaringe y bolsas gurgurales (BG) con la típica formación de condroides. Las complicaciones de la Ae incluyen empiema de BG, septicemia con formación de abscesos internos, artritis, encefalitis (Adenitis bastarda) y reacciones inmunomediadas como púrpura hemorrágica, miositis y artritis. Caso 1: Potro de 7 meses, raza árabe (Arabia Saudita, Al Khalediah Equine Hospital), con antecedentes de linfadenitis retrofaríngea (2 meses antes) y perteneciente a un establecimiento con antecedentes de brotes de Ae. El potro se presentó con dificultad respiratoria severa, mucosas cianóticas, FR 80 mov/min, FC 88 L/min y una deformación en más en el primer tercio de la región yugular izquierda que comprimía la traquea. Se realizó traqueotomía de emergencia y se evaluó ecográficamente la masa siendo compatible con un absceso, que fue drenado y lavado hasta su resolución. El potro sufrió además signos clínicos compatibles con púrpura hemorrágica: petequias y pericarditis (diagnosticada mediante ecografía). Se instauró

tratamiento antibiótico sistémico de amplio espectro y antiinflamatorios además de los cuidados necesarios para resolver el absceso. Los signos de purpura y el absceso resolvieron totalmente. Caso 2: Yegua adulta (14 años) raza polo, dedicada a la reproducción, con antecedentes de Ae. La yegua presentó signos de dificultad en la deglución, caquexia y elevación de recuento de glóbulos blancos (18.000 cel/ μ l). Al examen clínico los parámetros se encontraban normales. Mediante endoscopia se observó protusión medial de las BG que impedía el paso del alimento hacia el esófago. Se diagnosticó presencia de pus caseificado (condroides) y fluido en ambas BG. Se instauró tratamiento sistémico y local. Debido al mal estado general se decidió la eutanasia del paciente. A la necropsia se encontraron grandes cantidades de condroides que ocupaban las bolsas gurgurales y que obstruían la entrada del esófago. La Ae afecta la producción hípica pudiendo comprometer el futuro deportivo además de la salud de los animales: cuando se presenta con signología severa y casos mortales y cuando cursa con complicaciones como hemiplejía laríngea, poliartritis, púrpura hemorrágica o pericarditis.

¹Medico Veterinario Práctica Privada. ²Cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA.

Desarrollo y uso terapéutico de anti-tnf- α en 3 casos de equinos con osteoartritis crónica

Caggiano, N.¹; Perrone, G.²; Lastra, Y.¹; Rubatino, F.¹; Ferreto, A.¹; De Simone, E.¹; Chiappe Barbará, M.A.¹

La Osteoartritis (OA) es una enfermedad inflamatoria que evoluciona produciendo cambios degenerativos y pérdida del cartílago articular, instalándose así el cuadro en forma crónica. La enfermedad se inicia con la aparición de micro traumas reiterados que no se resuelven y desencadenan el proceso inflamatorio articular. El TNF- α induce liberación de MMP-2 y MMP-9, que participan de manera central en la degradación de la matriz extracelular que desencadena la destrucción del cartílago articular. El TNF- α es una citoquina pleotrópica clave en los procesos inflamatorios y un mediador proinflamatorio que potencia todo el proceso, incrementando la permeabilidad vascular e induciendo al endotelio a expresar moléculas de adhesión que favorecen la diapédesis de leucocitos. La implicancia biológica del TNF α en las artritis y otros tipos de procesos reumáticos sugieren el potencial terapéutico de utilizar un anti-TNF α . El TNF- α soluble posee capacidad inmunogénica por lo tanto es muy posible desarrollar anticuerpos contra esta molécula al inmunizar con la misma o con

péptidos relacionados. Objetivos: Evaluar el desarrollo y uso terapéutico de anti-TNF-alfa en 3 casos de equinos con osteoartritis crónica. i) Se desarrolló de suero anti-TNF α en conejos. ii) Se administró anticuerpos anti-TNF-alfa en equinos con osteoartritis y se evaluó el score clínico. iii) En el laboratorio de fisiología se evaluó la actividad MMP, IL-1, IL-4, IL-6, TNF- α y óxido nítrico. En todos los casos se observó mejoría clínica y una disminución notable, e incluso valores de cero, en los perfiles de MMPs 2 y 9. En 2/3 de los animales se mostró una mejoría notable en los perfiles de TNF- α e IL-6 llevando estos valores a los niveles basales considerados normales. Mientras que respecto a la IL-4, IL1- β y óxido nítrico, los resultados fueron variables. En un animal se observó signos de inflamación aguda leve post inoculación que desapareció a las 48 hs. La terapia anti-TNF resultó alentadora en cuanto a que los animales que presentaron tratamiento mejoraron su score clínico, permaneciendo esta mejoría durante un tiempo variable, de 6 a 12 meses, según los distintos animales.

¹Cátedra de Fisiología Animal y Bioquímica Fisiológica. ²Cátedra de Producción Equina. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. mach@fvet.uba.ar

Efecto de distensión y desprendimiento en células MDBK tratadas con filtrados libres de células de *Campylobacter fetus*

Cagnoli, C.; Chiapparrone, M.I.; Catena, M.

Las citotoxinas CDT (Cytolethal distending toxin) constituyen una familia de toxinas proteicas, capaces de detener la proliferación de numerosas líneas celulares. En las células blanco desencadenan señales que impiden la transición entre las fases G2 y M del ciclo celular. También ocasionan la distensión de la célula y provocan su muerte, que se observa con el plegado y la desintegración de la membrana celular y núcleo fragmentado. Dentro de las especies bacterianas que producen estas toxinas están los *Campylobacter* termófilos. El objetivo del presente ensayo fue determinar si el filtrado libre de células (FLC) de cepas de *Campylobacter fetus* aisladas a partir fallas reproductivas en bovinos poseen efecto CDT sobre células MDBK. Cultivos confluentes en placas de 24 pocillos de células MDBK fueron tratados por triplicado con FLC de seis cepas de *Campylobacter fetus*. Como control

se utilizaron los cultivos sin tratamiento. Se realizaron observaciones diarias pos tratamiento en microscopio invertido (10 y 20X). A las 96 h se realizó una coloración con Giemsa. Se determinó el coeficiente de distensión (positivo $\geq 1,3$) y se caracterizó la morfología celular con respecto al control. En las observaciones diarias se visualizaron el redondeamiento, la distensión celular y posterior desprendimiento de la monocapa en la totalidad de los cultivos tratados. El coeficiente de distensión celular fue positivo para la totalidad de los FLC (entre 1,75 a 2,57) y el efecto de desprendimiento celular se observó entre un 60 al 90% de la monocapa. El estadio celular en el que se encontraban la mayoría de las células fue entre profase e interfase. El efecto descrito como CDT fue hallado en las cepas de *Campylobacter fetus* aislados de fallas reproductivas.

Otolito sagitta: su desarrollo e importancia en la identificación de stocks de mugílidos.

Callicó Fortunato, R.^{1,2}; Volpedo, A.^{1,2}

Los otolitos de los teleósteos son complejos cuerpos policristalinos compuestos por carbonato de calcio localizados en el oído interno de los peces. Estas estructuras se utilizan para estudios de identificación específica, estudios de stocks y migraciones ícticas. En este trabajo se analizó el desarrollo morfológico del otolito sagitta y su composición química para identificar los stocks de diferentes mugílidos en la costa bonaerense, Argentina y en la costa valenciana, España. En Argentina se analizó a *Mugil liza*, mientras que en España se trabajó con *Mugil cephalus* y *Liza ramada*. Se seleccionaron 4 áreas de muestreo en la costa bonaerense y 3 en la costa valenciana, donde se colectaron peces entre febrero de 2011 y 2013. Se registró de cada espécimen el largo total (LT) en mm y se extrajeron los otolitos sagitta, que luego fueron fotografiados. Se analizó la morfología de los otolitos a lo largo del desarrollo en las 3 especies estudiadas. Los resultados de este estudio

mostraron cambios morfológicos de los otolitos en las 3 especies a lo largo de su desarrollo. Se reconocieron diferentes etapas en su crecimiento, características de cada especie. Además, para *M. cephalus*, se estudió la composición química del otolito en dos de los humedales seleccionados. Los otolitos fueron digeridos en ácido nítrico al 10% por 24hs, se determinaron las concentraciones de Sr, Ba y Ca con ICP-OES. Se analizaron las relaciones Sr/Ca y Ba/Ca de los otolitos mediante un ANOVA con comparaciones de Bonferroni. Se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,01$) entre las relaciones estudiadas, siendo en la Albufera menor la relación Sr/Ca y mayor la de Ba/Ca en relación a la de las Salinas de Santa Pola. Se realizó un análisis de determinante y el 87,5 % de los individuos fue ubicado en el humedal del que provenía. Los resultados podrían estar sugiriendo que existen dos stocks de subadultos asociados a cada humedal.

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

Comportamiento farmacocinético de la eritromicina en ovejas durante el pico de lactancia

Carbonnet, G.; Monfrinotti, A.; Ambros, L.; Kreil, V.; Tarragona, L.; Veksler Hess, J.

La caracterización del perfil farmacocinético de una droga es de fundamental importancia para su uso racional. En animales en lactación tanto el volumen como producido como las características composicionales de la leche podrían modificar la farmacocinética de una droga, es por ello que su estudio en cada etapa es necesario para instaurar una correcta posología. La eritromicina es un antimicrobiano que por su espectro sería una herramienta útil para el tratamiento de infecciones de frecuente aparición en ovinos. Considerando que durante el pico de la lactancia, se ve un aumento en la incidencia de mastitis clínicas, el objetivo del presente trabajo fue caracterizar la farmacocinética de la eritromicina en ovejas durante el pico de la lactancia. Se emplearon 6 de ovejas de segunda o tercera lactancia (peso $54,66 \pm 8,77$ kg), a los 30 ± 4 días después del parto. Los animales recibieron una dosis de 15 mg/kg de eritromicina (Laboratorio Burnet), la vía de administración fue la intramuscular. Se tomaron muestras de sangre (2ml) de la vena yugular a tiempos predeterminados durante

24 horas. Las concentraciones de la droga fueron cuantificadas mediante el método microbiológico utilizando *Micrococcus luteus* (ATCC 9341) como microorganismo patrón. Las curvas de disposición fueron analizadas por métodos no lineales, utilizando el programa informático PcNonlin 4.0. Lexington, USA). El protocolo empleado ha sido aprobado por el Comité de Investigación para Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, FCV, UBA. Los perfiles de concentración plasmática en función del tiempo fueron analizados a través de un modelo no compartimental. La concentración máxima fue de $1,24 \pm 0,34$ µg/ml, el tiempo máximo $1,40 \pm 1,34$ horas. La vida media fue de $3,66 \pm 0,70$ horas, el área bajo la curva de $10,67 \pm 1,54$ µg·h/ml y el tiempo medio de residencia $6,30 \pm 1,21$ horas. El perfil encontrado es indicativo de una amplia llegada a nivel tisular, siendo esta característica de importancia para la acción de estas drogas, futuros trabajos serían necesarios para estudiar la llegada de la droga a la leche. Este trabajo forma parte del proyecto UBACyT 20020130200106BA.

Efecto del cambio en el volumen corriente en caninos anestesiados sin patología pulmonar

Ceballos, M.; Zaccagnini, A.; Rovati, O.; Tarragona, L.; Otero, P.

Durante el mantenimiento de la anestesia general es mandatorio garantizar un adecuado intercambio gaseoso. Para cumplir este objetivo, la ventilación implementada debe garantizar un volumen minuto respiratorio (VMR) y una ventilación alveolar (VA) adecuados. El objetivo del presente estudio fue analizar el impacto de un cambio en el volumen corriente (VC) sobre el intercambio gaseoso y la mecánica pulmonar, en caninos ventilados a un mismo VMR. Seis caninos machos sanos (36 ± 4 meses y $13,8 \pm 2,7$ kg), fueron anestesiados mediante una infusión continua de propofol, remifentanilo y vecuronio en dos oportunidades diferentes,

en las cuales fueron ventilados (Neumovet Graph), durante 30 minutos, en decúbito dorsal en modo "volumen control" con un VMR de $\approx 3,3$ L/min y una $FiO_2=0,4$. Los animales recibieron alternativamente 10 o 15 mL/kg de VC en cada una de las anestесias. Durante el procedimiento se monitorearon las siguientes variables cuantitativas: frecuencia cardíaca (FC), presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) y media (PAM), complacencia dinámica (Cdyn), volumen de CO_2 espirado (VT_{CO_2}), PaO_2 , $PaCO_2$, pH, SpO_2 , $EtCO_2$ (end tidal CO_2) y gasometría arterial. Los resultados (media \pm DS) se analizaron con un test de Wilcoxon ($p < 0,05$).

Los datos obtenidos se expresan en la siguiente tabla.

	FC lat/min	PAS mmHg	PAD mmHg	PAM mmHg	$EtCO_2$ mmHg	SpO_2 %	FR Resp/min	PaO_2 mmHg	$PaCO_2$ mmHg	pH	Cdyn mL/cmH ₂ O	VD/VT	VMR L/min	$VT_{CO_2}/resp$ mL CO_2 /resp
10 ml/kg	86,5 $\pm 16,23$	143,67 $\pm 25,24$	60,5 $\pm 7,94$	80,83 $\pm 11,99$	47,5 $\pm 3,39$	97,5 $\pm 1,05$	24,83 $\pm 2,99$	223,35 $\pm 18,34$	51,7 $\pm 6,95$	7,24 $\pm 0,14$	25 $\pm 7,1$	0,79 $\pm 0,03$	3,38 $\pm 0,96$	1,48 $\pm 0,38$
15 mL/kg	85,5 $\pm 13,28$	144 $\pm 27,61$	65,83 $\pm 12,7$	85 $\pm 5,5$	38 $\pm 3,9$	97,33 $\pm 1,51$	15,17 $\pm 5,08$	239,58 $\pm 7,17$	42,42 $\pm 4,16$	7,35 $\pm 0,07$	26,83 $\pm 5,6$	0,66 $\pm 0,08$	3,28 $\pm 1,8$	3,36 $\pm 0,69$
p-valor	0,9999	0,9999	0,2708	0,6784	0,031	0,999	0,0032	0,238	0,0308	0,0004	0,6687	0,0312	0,999	0,0024

La variación del VC produce cambios significativos sobre las variables $EtCO_2$, FR, $PaCO_2$, pH, VD/VT y VT_{CO_2} . La disminución del VC de 15 a 10 mL/kg promueve una menor eliminación del CO_2 por cada respiración, hipercapnia y disminución del pH, a expensas de un aumento del espacio muerto fisiológico.

La reducción del VC impacta principalmente sobre la VA y por tanto sobre el intercambio gaseoso. Esto se refleja inevitablemente sobre el medio interno, por lo que se recomienda realizar un exhaustivo monitoreo al momento de definir el VC para cada animal, durante la anestesia general.

Uso del PCR como diagnóstico de hemoplasmas en Encarnación y Asunción

Centurión, Rossana MV, Messick Joanne, PHD,

Al haber dificultad en el diagnóstico por métodos convencionales como la citología o el hemograma se ha seleccionado al PCR para la detección de este tipo de organismos (Sykes, 2010). Los objetivos fueron demostrar la presencia de los Micoplasmas para luego determinar cuál de los tres tipos fue encontrado en las muestras. Animales de la especie felina, sin distinción de sexo, raza con o sintomatología de hemobartonella, desde los 3 meses y adultos a 10 años que acudieron a clínicas de las mencionadas ciudades desde marzo 2010 hasta agosto del 2011. De 1ml de sangre entera se realizó la centrifugación de las muestras, para la extracción de ADN a partir de suero con el kit DNeasy Blood and Tissue kit 250, Qiagen®. Para la verificación de ADN en las muestras se utilizó al Gliceraldehído 3 –fosfato deshidrogenasa (GAPDH). Los productos de 399bp fueron resueltos en gel de agarosa al 1,5% y bromuro de etidio. Al haber ADN fueron sometidas a tres protocolos para la detección de Mycoplasma. Un total de 42 animales de la especie felina

formaron parte del estudio, fueron 17 hembras (40%) y 25 machos (60%). Cuatro provenientes de la ciudad de Asunción y 38 de la Ciudad de Encarnación. Luego de la realización del protocolo para GAPDH, se detectaron ADN en 28 muestras (66,66%) las muestras que amplificaron 399 pb fueron consideradas con presencia de ADN, para luego someterlas a los protocolos de PCR para la determinación de la cepa de Mycoplasma haemominutum (Mhm). Las muestras que amplificaron 192pb fueron consideradas positivas a Mycoplasma haemominutum (Mhm). Se seleccionaron felinos domésticos con el objeto de detectar la presencia de Hemoplasmas por medio del PCR, así como el tipo por medio de la extracción de ADN a partir de sangre entera sin anticoagulante, de un total de 42 felinos, 2 (4,76%) resultaron positivos a Hemoplasmas. Mycoplasma haemominutum es el más prevalente de los tres tipos, con porcentajes que van de un quinto (20%) a un medio (50%) de gatos que presentan o no signos clínicos, aumentando la prevalencia de infección en gatos más viejos (Sykes, 2010).

Ontogenia de las glándulas parotoideas en *Rhinella Bergi* (Anura: Bufonidae)

Cheij, E.¹; Arias, A.¹; Olea, G.¹; Céspedes, J.¹; Álvarez, B.¹; Lombardo D.²

Dentro de la familia Bufonidae, las especies del género *Rhinella* poseen estructuras glandulares peculiares, denominadas glándulas parotoideas. Las mismas se hallan dispuestas en una posición post-orbital y son responsables de la producción y almacenamiento de una secreción espesa, que contribuye a la protección contra depredadores y parásitos. En este trabajo se presenta una descripción detallada de la ontogenia de la glándula parotoidea de *Rhinella bergi*, a fin de proporcionar un análisis exhaustivo de las características de la macroglándula en dicha especie. Fragmentos del tegumento de la región post-orbital fueron fijados en solución de Bouin durante 12 horas y conservados en Formol al 10%. Se realizó el análisis bajo microscopía electrónica de barrido (MEB) para caracterizar la estructura macroscópica de dicha región. Las observaciones

histológicas se realizaron a partir de cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-Eosina, Alcian Blue y PAS. El tegumento de la glándula parotoidea se remodela a través de la ontogenia, en las larvas es liso mientras que en los adultos presenta tubérculos y espinas. A nivel histológico se observa una reorganización, las glándulas granulares se acumulan y sus alvéolos aumentan de tamaño progresivamente hasta que alcanzan el tamaño adulto. Los núcleos del epitelio alveolar se disponen periféricamente. El citoplasma sincitial está formado por una matriz esponjosa dentro de la cual están alojados los gránulos secretores de diámetros diferentes. Mediante esta detallada descripción morfológica e histológica de las glándulas parotoideas, se pretende sumar conocimientos sobre el desarrollo del género *Rhinella* durante la etapa larval y post-metamórfica.

¹Laboratorio de Herpetología. Dpto de Biología. FaCENA-UNNE. Av. Libertad 3400. Corrientes (Argentina). ²Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Chorroarín 280. Buenos Aires. (CABA). C.P. 1428. cheij.esteban@hotmail.com

Factores socio-económicos, prácticas de higiene y parasitosis intestinales en niños de barrios periurbanos de La Plata

Cociancic, P.; Zonta, M.L.; Navone, G.T.

Las parasitosis intestinales representan un grave problema de salud principalmente en los niños y están influenciadas por factores socio-económicos, prácticas culturales y hábitos higiénicos. El objetivo del presente trabajo fue establecer la relación existente entre las enteroparasitosis y los factores socio-económicos y prácticas de higiene en la población. Se realizaron talleres con adultos y niños en barrios periféricos del Partido de La Plata (Buenos Aires), donde se debatió acerca de la biología, formas de contagio y estrategias de prevención de las parasitosis intestinales. Se completaron encuestas epidemiológicas y se analizaron muestras de materia fecal y escobillado anal seriados de niños de ambos sexos menores de 14 años. Para el análisis estadístico se utilizó el programa Epi Info 7. Los diagnósticos se entregaron mediante un certificado a los padres de los niños para recibir el correspondiente tratamiento médico. Del total de niños analizados, el 66,3% (130/196) estuvo parasitado principalmente por *Blastocystis* sp. (32,7%), *Enterobius vermicularis* (25,0%)

y *Giardia lamblia* (19,9%). La presencia de parásitos estuvo asociada con el nivel inicial de educación de los padres y madres y con padres desempleados o con trabajo inestable ($p < 0,05$). Además, el contacto con mascotas, la higiene deficiente de manos luego de jugar con ellos y el alimentarse de vegetales crudos sin previo lavado, se vinculó con estar parasitado ($p < 0,05$). En la devolución de estos resultados a la comunidad, se observó un gran interés por parte de los habitantes a adoptar las medidas de prevención adecuadas. Los resultados obtenidos indican que la prevalencia de parasitosis observada en los niños se relaciona especialmente con bajo nivel educativo y situación socio-económica inestable. Además resultó interesante el hecho de analizar las pautas de higiene adquiridas en el seno familiar y su correlación con las infecciones parasitarias. Nuestra intervención y la participación activa de la comunidad para la consolidación y multiplicación del conocimiento pretenden contribuir a la disminución de estas infecciones y a la mejora de la calidad de vida de los habitantes.

Evaluación de candidatos vacunales contra la paratuberculosis bovina en el modelo murino

Colombatti Olivieri, M.A.¹; Moyano, R.D.¹; Montenegro, V.¹; Mon, M.L.¹; Viale, M.¹; Santangelo, M.P.¹; Delgado, F.²; Mundo S.³; Romano, M.I.¹

La Paratuberculosis (PTB) es una enfermedad crónica causada por *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (Map). Considerando las pérdidas económicas que produce por la reducción en la producción y la prematura eliminación de los animales enfermos, es necesario controlar la enfermedad y desarrollar una vacuna. El objetivo fue evaluar la protección conferida en el modelo murino, por la inoculación subcutánea con cepas locales de Map con el fin de encontrar un candidato vacunal. Se prepararon los inóculos de una cepa virulenta para el ratón (6611) y una poco virulenta (1543/481) eliminando los grumos bacterianos por pasaje en aguja 25G. La cepa 6611 se evaluó viva e inactivada por calor, la cual se administró con adyuvante incompleto de Freund. La cepa 6611 viva, al igual que la 1543/481 viva se administró con PBS. Se inocularon con una concentración de 3×10^5 bact/ratón por vía subcutánea a 32 ratones hembra BALB/c de 5-6 semanas de edad (8 animales por vacuna y 8 controles inoculados con PBS1x) y se les dio un refuerzo con la misma vacuna a los 17 días.

Al mes de la última dosis vacunal se desafiaron por vía intraperitoneal con 1×10^8 bact/ratón de una cepa virulenta (1347/498). A los tiempos 34 días post-vacunación (pre-desafío y a las 11 semanas post-desafío se sacrificaron 4 animales/grupo y se procedió a la extracción del bazo para recuento de UFC en placas de Middlebrook 7H10 suplementado. El recuento de UFC en bazo en el tiempo pre-desafío se observaron entre 100-200 colonias en los animales vacunados con la cepa 6611 viva pero no se observaron en los inoculados con la cepa 1543/481 viva. Con respecto a los animales desafiados, la vacuna de la cepa 6611, tanto viva como muerta, produjo una reducción significativa, de un 82%, del recuento de UFC con respecto a los animales sin vacunar o vacunados con la cepa 1543/481. Los resultados indican que la cepa virulenta (6611) sería capaz de conferir mejor protección que una cepa atenuada o de poca virulencia en el modelo murino. Además no se observaron diferencias en el recuento de UFC al usarla viva o inactivada por calor. Por lo que dicha cepa administrada con adyuvante oleoso podría ser una buena candidata vacunal.

¹Inst. Biotecnología INTA Castelar; ²Inst. Patobiología INTA Castelar ³Cátedra Inmunología Fac. Cs. Veterinarias UBA

Evaluación preliminar de ecotoxicidad y de biomasa en emergencia de raigras perenne abonado con purín bovino

Condoluci, F.; Andrade, N.; Volpe, S.; Sardi, G.M.I.; Herrero, M.A.

La acumulación de purines producida por la concentración de animales en corrales e instalaciones (carne-leche), pueden convertirse en una oportunidad para ser utilizados como abono en forrajeras. La calidad del purín varía según el contenido salino del agua del lavado de las instalaciones y por la cantidad de agua utilizada generando diferente grado de dilución de los nutrientes. Se realizaron dos ensayos para analizar el efecto purín-especie vegetal en las etapa de plántula, ensayo 1 (E1; 22 días) y de planta adulta ensayo 2 (E2; 110 días). El objetivo en este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de purín bovino en la etapa de emergencia de Raigras perenne (*Lolium perenne*). En E1 y E2 se aplicaron los tratamientos con 3 niveles de materia seca (%MS) en % (0; 5 y 15) y 4 valores de conductividad eléctrica (CE) en $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ (5; 10; 15 y 20), con 4 repeticiones y un control. Las soluciones de los tratamientos se prepararon con estiércol, homogeneizado y secado a 60°C , a peso constante, agua destilada y cloruro de sodio y se determinó por métodos

estándar: %MS, pH, CE. La siembra de 10 semillas se llevó a cabo en el E1 en recipientes de vidrio (350cc), sobre un sustrato estéril (arena, caolín, turba molida y CaCO_3). En E2 se utilizaron recipientes plásticos (1000cc), con arena estéril saturada con agua destilada antes de la siembra. En ambos ensayos los recipientes fueron dispuestos sobre mesada con luz natural a temperatura ambiente ($24 \pm 3^{\circ}\text{C}$) e irrigados a la siembra con 20ml y 40ml /solución tratamiento en E1 y E2 respectivamente. Se determinó % de emergencia (E%) a los 14 días, coincidente con el poder germinativo. Se observó en los promedios en $\text{E1}=45 \pm 5$ y una tendencia similar en $\text{E2}=42 \pm 5$, considerados valores bajos para esta especie en condiciones normales. El mayor impacto negativo se observa en los tratamientos con 20 CE y 5,15 %MS mostrando valores menores a 20%. A medida que aumenta la CE y %MS en el purín, disminuye el E%. Al finalizar el período de E1 y E2 se medirán la longitud de raíz y tallo y producción de biomasa, parámetros necesarios para evaluar los efectos de la aplicación del purín en Raigras (*Lolium perenne*).

Variabilidad de las horas de frío en las fases cálida y fría del enos

Cornejo Riise, E.; Maio, S.; Zalazar, S.M.F.

En algunos cultivos criófilos la acumulación de horas de frío (HF) regula la actividad de desarrollo de las plantas; afectando el rendimiento y la sincronización de tareas culturales. En nuestro país se observa una tendencia de acumulación de HF que aumenta hacia latitudes más altas y a su vez disminuye en las cercanías al Atlántico o fuentes de agua o humedad. Sin embargo, esta acumulación esta influenciada por la variabilidad interanual del clima asociada, en parte, a las fases del fenómeno El Niño-Oscilación del Sur (ENOS). En la región pampeana este fenómeno tiende a producir mayores temperaturas y precipitaciones durante su fase cálida; (El Niño) y por el contrario en los años en que se manifiesta la fase fría; (La Niña) se observa menores temperaturas y precipitaciones. El objetivo de este trabajo es determinar cómo se ve afectada la acumulación de HF en la región pampeana argentina cuando se presenta cada una de las fases (cálida o fría) del ENOS. Se estableció como área de estudio la región pampeana argentina. Se utilizaron datos de temperatura mínima mensual del periodo 1951-2010 de 42 estaciones meteorológicas. Se promediaron 16 años Niño y 17 Niña, y se aplicó

la ecuación de Damario (2008) para el cálculo de las HF. Para ambas fases, la distribución espacial de las HF, sigue un patrón con gradiente de noreste a sudoeste, aumentando de norte a sur observándose diferencias en valores de HF mayores a 150 hs en el norte de Córdoba, noreste y centro de Santa Fe, y desde el centro oeste de Entre Ríos descendiendo hasta el norte de Azul (Bs. As). Por otro lado valores menores a 50 hs en el sur de Buenos Aires. Esto podría traer graves consecuencias para los productores durante el fenómeno; por un lado la acumulación temprana de las HF durante los años Niña pueden desatar una floración temprana tornando la producción susceptible a las heladas y por otro lado durante años Niño en algunas localidades pueden no llegar a acumularse las HF necesarias en la etapa vegetativa lo que deriva en una asincronización de la floración y menores rendimientos. El ENOS provoca anomalías en las HF, generando vulnerabilidad en la producción frente a la ocurrencia del evento. Las regiones de mayor impacto se encuentran en Santa Fe, Entre Ríos y noreste de Buenos Aires incluyendo ciudades de gran relevancia en la producción como San Pedro.

Evaluación del nivel intracelular de especies reactivas de oxígeno, apoptosis y viabilidad de ovocitos inmaduros bovinos conservados con dimetiltiourea (DMTU)

Cruzans, P.; Lorenzo, M.S.; Maruri, A.; Tello, M.F.; Lombardo, D.M.

Luego de la faena, los ovarios sufren condiciones isquémicas por la oclusión del flujo sanguíneo que reduce el oxígeno y el suministro de energía. En los tejidos isquémicos la reoxigenación genera especies reactivas de oxígeno (ERO) que son tóxicas para las células. El objetivo fue evaluar el efecto del agregado de un antioxidante, dimetiltiourea (DMTU), en el medio de recuperación de los complejos cumulus-ovocito (COC) bovinos obtenidos por aspiración folicular y conservados por 1 hora y 30 minutos. Los COC se obtuvieron por punción de folículos de ovarios de faena y fueron conservados por una hora y media en medio de recuperación y fluido folicular. El medio de recuperación fue TCM-199 con o sin el agregado de 2 o 20 mM de DMTU, obteniéndose 3 grupos: control (sin antioxidante), DMTU 2 mM y DMTU 20 mM. Luego los ovocitos inmaduros se desnudaron para medir los niveles intracelulares de ERO y evaluar la apoptosis temprana (tinción con Anexina V) y viabilidad (tinción con IP). Se observó un aumento significativo en el contenido intracelular de ERO en el grupo DMTU 20 mM (n = 60) respecto al grupo control (n = 109) y

DMTU 2 mM (n = 124) (p-valor = 0,0008). No se observaron diferencias significativas al comparar el grupo control y DMTU 2 mM. Se detectaron niveles de apoptosis temprana (Anexina V positivos) en los grupos control (8,8%, n = 181), DMTU 2 mM (5,5%, n = 145) y DMTU 20 mM (4,7%, n = 170), pero no se observaron diferencias significativas entre los distintos grupos (p-valor = 0,2493). Se detectaron diferencias significativas en el porcentaje de ovocitos muertos (IP positivos) entre los tres grupos (control: 25,4%, n = 165; DMTU 2 mM: 14,6%, n = 116 y DMTU 20 mM: 43%, n = 186) (p-valor = 0,0001). Por lo tanto, el agregado de 2 mM de DMTU al medio de recuperación de los COC bovinos obtenidos por aspiración folicular y conservados por 1 hora y media fue beneficioso para la supervivencia ovocitaria. En cambio, la mayor concentración del antioxidante produjo una mayor concentración intracelular de ERO y fue perjudicial para la viabilidad de los ovocitos. No hubo diferencias en los porcentajes de apoptosis temprana entre los distintos grupos, por lo cual la muerte ovocitaria podría no ser por apoptosis.

Efecto de la L-carnitina sobre la maduración *in vitro* de ovocitos porcinos, criotolerancia a la vitrificación y competencia para el desarrollo embrionario *in vitro*

Cruzans, P.; Maruri, A.; Lorenzo, S.; Tello, F.; Lombardo, D.

La vitrificación es una técnica de criopreservación que consiste en el enfriamiento rápido de las células en un medio líquido, en ausencia de formación de cristales de hielo. El gran contenido de lípidos intracelulares en los ovocitos porcinos dificulta su criopreservación. La L-carnitina (LC) desempeña un papel importante en el catabolismo de los lípidos, permitiendo el transporte de ácidos grasos desde el citosol a las mitocondrias, donde se metabolizan a través de la beta oxidación. Tiene actividad antioxidante y en ovocitos se observó que mejora la maduración *in vitro* y el posterior desarrollo embrionario, modifica la distribución de los lípidos intracitoplasmáticos y la actividad mitocondrial y, en ratones y bovinos, mejora la criopreservación. Hasta la fecha, no hay reportes de cómo actúa la LC en la criopreservación de ovocitos porcinos. El objetivo es evaluar si el agregado de LC al medio de maduración redistribuye y/o disminuye la cantidad de lípidos intracitoplasmáticos, favorece la función mitocondrial y disminuye la concentración intracelular de especies

reactivas de oxígeno favoreciendo la maduración ovocitaria, mejorando la calidad embrionaria y la criotolerancia a la vitrificación de los ovocitos porcinos madurados *in vitro*. Los complejos cumulus-ovocito (COCs) se obtendrán por aspiración folicular de ovarios de cerdas de faena. Los COCs se madurarán *in vitro* por 42-44 h sin LC (control) o con distintas concentraciones de LC en el medio de maduración. Se evaluará la maduración nuclear (Hoechst 33342), la distribución de los lípidos intracelulares por la tinción con rojo Nilo y el desarrollo embrionario para seleccionar la concentración adecuada de LC que se utilizará para madurar *in vitro* a los ovocitos que serán vitrificados. Los ovocitos desnudos madurados con o sin LC se vitrificarán utilizando como soporte cápsulas BEEM. Luego, en los ovocitos desvitrificados se evaluará apoptosis temprana (anexina V-IP) y tardía (TUNEL), distribución de los lípidos intracelulares actividad mitocondrial (JC-1), concentración intracelular de ERO, desarrollo embrionario y en los embriones apoptosis tardía (TUNEL).

Estudio clonal y filogenético de aislamientos de *Escherichia coli* productores de toxina shiga pertenecientes al serogrupo O174

Cundon, C.; Bentancor, A.

Escherichia coli shigatoxigénica (STEC) se caracteriza por la producción de toxina Shiga. Esta cepa es reconocida como el principal agente etiológico de Síndrome Urémico Hemolítico. Dentro de los serogrupos no-O157; el serogrupo O174 se destaca como problemática local y no es considerado en protocolos estándar europeos ni americanos. El objetivo fue determinar la relación clonal y filogenética de las cepas STEC aisladas de roedores en centros urbanos y su relación con las aisladas de otras fuentes, utilizando como modelo el serogrupo O174. Se recolectaron 49 cepas STEC O174 pertenecientes a los serotipos H21 y H28 de distintas fuentes (bovinos, alimento, humanos y rata), origen (CABA, Buenos Aires y Uruguay) y años. Por PCR se confirmó el serogrupo y serotipo y se llevó a cabo la subtipificación de la toxina Shiga. Por PFGE se determinó la relación clonal de 34 de las cepas. La estrategia de tipificación de secuencias en loci múltiples o MLST se utilizó para determinar en 11 cepas siete genes housekeeping. En 41/49 de

las cepas recolectadas se confirmó el serogrupo O174; 30/41 H21 y 11/41 H28. 39/41 cepas presentaron un perfil Shiga 2 (57% Stx 2c; 30% Stx 2a, 13% Stx 2b) y 2/41 perfil Shiga 1 y Shiga 2 (Stx 2c/ Stx 1a). La relación clonal fue del 64,01% de similitud por PFGE con XbaI. Se designaron 29 patrones de corte para la enzima. 3 clados tuvieron 100% de similitud. De 11 cepas analizadas con estrategia MLST; 2 de ellas presentaron un perfil ST:160 CG:21 compartido con 6 aislamientos presentes en la base de datos internacional y 9 un perfil ST:89 CG:34 compartido con 38 aislamientos. La técnica de PCR para determinación de serogrupo presentó mayor sensibilidad que la técnica serológica. El perfil de toxina Shiga 2 fue el más prevalente y el subtipo 2c fue el predominante; el cual no es el más prevalente entre las cepas no-O157. La similitud clonal de las cepas en estudio es escasa lo que infiere que existe diversidad de clones circulantes. La distribución de ST y CG en las cepas analizadas demostró alta relación filogenética entre ellas.

Construcción de bibliotecas de nanoanticuerpos para la obtención de anticuerpos específicos contra la cepa O1/campos del virus de la Fiebre Aftosa

De Nicola, J.; Bozzo, J; Mattion, N; Grippo, V.

La Fiebre Aftosa es considerada económicamente la enfermedad infecciosa más importante que afecta a especies de interés pecuario. Los Nano-anticuerpos o VHHs se caracterizan por su alta especificidad, estabilidad, afinidad por el blanco, y un reducido tamaño (15kDa) que permite fijar mayor densidad de anticuerpos, incrementando la sensibilidad diagnóstica. El objetivo fue inducir una elevada respuesta inmune contra el VFA en llamas para construir bibliotecas de Nano-anticuerpos que permitan la obtención de anticuerpos específicos contra la cepa O1/Campos del VFA. Se inmunizaron dos llamas (*Lama glama*) con la cepa O1/Campos del VFA, 3 veces cada 15 días. A partir de linfocitos de sangre total periférica, se aisló el ARN total y se obtuvo ADN copia por RT-PCR. En una primera PCR, se amplificaron las regiones variables de cadenas pesadas tanto de anticuerpos convencionales (producto de 900bp) como de anticuerpos de cadena única (producto de 700bp). En una segunda PCR, se amplificó solo el repertorio de VHH (400bp) y estos fragmentos fueron clonados en el vector pHEN4 y tales construcciones se electroporaron en la cepa *E. coli* TG1 obteniéndose 2 bibliotecas de Nano-anticuerpos cuya calidad fue comprobada por

colony-PCR y subsecuente digestión con la enzima de restricción *Hin*fl. Se comprobó la inducción de una alta respuesta inmune contra la cepa O1/Campos en las llamas inmunizadas por ELISA en fase líquida. El título fue menor a 1,10 para el suero pre-inmune y alcanzó después de las inmunizaciones un valor de 4,95 y 3,80 para la llama 1 y 2, respectivamente. Mediante dos PCR consecutivas se obtuvo el fragmento VHH del tamaño esperado (400bp) y se clonó en el vector fagémido pHEN4. Se generaron 2 bibliotecas inmunes de Nano-anticuerpos cuyo tamaño fue mayor al aceptado (>107 UFC/ μ g ADN) y con un alto porcentaje de clones con inserto completo (94,4% y 100%, respectivamente) determinado por "colony-PCR". Por último, la alta variabilidad de los anticuerpos fue corroborada por digestión enzimática para proceder a la selección de anticuerpos específicos por "phage display". Se obtuvieron las dos primeras bibliotecas inmunes de VHH en el Instituto para la obtención de Nanoanticuerpos específicos contra la cepa O1/Campos del Virus de la Fiebre Aftosa, con potencial aplicación en el desarrollo y la innovación del diagnóstico de esta infección.

Esmalte y unión cemento-esmalte de dientes permanentes de perro: ultramorfología normal y caracterización de las enfermedades que los afectan

De Puch, G.; Hernández, S.Z.; Negro, V.B.

La unión cemento-esmalte (UCE) es el sitio del diente en donde se relacionan el esmalte y el cemento, generando diferentes variantes. En el ser humano existen cuatro tipos de UCE (casos de Choquet): el cemento cubriendo al esmalte (tipo 1), el esmalte cubriendo al cemento (tipo 2), el cemento y el esmalte terminando juntos (tipo 3) y el caso en que cemento y esmalte no llegan a juntarse quedando la dentina expuesta (tipo 4). Las enfermedades que más frecuentemente afectan al esmalte y a la UCE de los dientes del perro son: las caries dentales, la hipoplasia del esmalte (Hp), la reabsorción dental (RD) y la enfermedad periodontal (EP). La atrición (At) es el desgaste natural que sufren los dientes por uso, la abrasión (Ab) es su desgaste por alguna conducta anormal. Estas últimas no son enfermedades, sino que se las incluye en el estudio como una alteración de la pieza dental. El objetivo fue describir los tipos de UCE encontrados en el perro y presentar los resultados preliminares sobre la prevalencia de las alteraciones del esmalte y UCE. Para realizar la

caracterización de los tipos de UCE se procesaron 88 dientes de perro, permanentes y de diferentes tipos (incisivos, caninos, premolares y molares) se observaron con el microscopio electrónico de barrido (MEB) y se tomaron microfotografías. Para evaluar la prevalencia de las lesiones del esmalte y UCE se examinó la cavidad oral de 175 perros. En relación con la UCE se observaron: 20 dientes con UCE tipo 4, 19 con tipo 1, 36 presentaron el tipo 3, y 5 mostraron regiones de UCE tipo 2, el resto de las piezas dentales no fueron analizadas por estar dañadas. Los resultados obtenidos sobre la prevalencia de las lesiones fueron: Ab: 13,71%, At: 52%, Hp: 1,71%, Caries: 0,57%, EP: 78,28% y RD 0%. Conclusión: en el presente estudio, el perro presentó los mismos casos de Choquet que el ser humano. Se concluye que la EP fue la patología que más frecuentemente afectó a dientes de los perros estudiados y que tanto las caries, como las reabsorciones dentales serían lesiones con muy baja prevalencia.

Método directo para el análisis de los patrones de recombinación en aves

Del Priore, L.

Existen dos enfoques para analizar los patrones de recombinación meiótica y por ende para construir los mapas de recombinación genómicos: una estimación de la recombinación directa, y un método genético indirecto que aprovecha los polimorfismos en el ADN. El método directo o citológico utiliza la localización de la proteína MLH1 sobre los complejos sinaptonémicos (CS) en paquitene. Se ha demostrado que la localización de MLH1 reproduce de manera precisa la distribución del crossing over en células meióticas en paquitene en mamíferos y en aves. El objetivo fue describir el método directo utilizando como ejemplo a la codorniz (*Coturnix japonica*). Microextendidos de CS a partir de ovocitos y espermatozoides de codornices. Inmunodetección del CS, de los centrómeros y de MLH1. Recuento y análisis de focos de MLH1 en 300 núcleos

en paquitene de ambos sexos. Comparar la longitud genética obtenida por este método con la longitud obtenida por el método indirecto. A partir de la inmunodetección de la proteína MLH1 sobre los CS pudimos construir el mapa de recombinación promedio entre machos y hembras de la codorniz. La longitud genética obtenida a partir de este estudio (2580 cM) es considerablemente mayor que las estimaciones a partir de estudios de ligamiento. El mapa de ligamiento más completo tiene una longitud de 1904 cM. El método directo tiene ciertas ventajas sobre el método indirecto. Entre ellas podemos mencionar que provee una visión de los patrones de recombinación genética en células individuales, permitiendo una estimación directa de las distancias genéticas y de la frecuencia de recombinación a partir del mismo set de datos.

Anovulación en hembras felinas tratadas con andrógenos postnatales: reporte preliminar

Demalde, L; Carranza, A.; Lopez Merlo, M.; De La Sota, P.; Batista, P.; Blanco, P.; Gobello, C.

Los andrógenos pueden inducir la esterilidad anovulatoria si se administran durante el periodo crítico postnatal del desarrollo reproductivo. Objetivo: Probar los efectos reproductivos del enantato de testosterona administrado a hembras felinas neonatas. También se evaluó la seguridad clínica del tratamiento. Ocho gatas mestizas fueron asignadas aleatoriamente dentro de las primeras 24 hs de nacidas a uno de los siguientes tratamientos: Enantato de testosterona (Testoviron Depot 250, Bayer, Argentina) 12,5 mg SC (ET; n=5) o Placebo: 0,05 cc aceite de maiz SC (PL; n =3). Las hembras fueron seguidas hasta la pubertad (examen físico, comportamiento sexual, peso corporal, citología vaginal). Una vez alcanzada la misma, fueron expuestas a machos adultos fértiles durante todo el período del estro. Veinticuatro días más tarde se tomaron muestras de sangre para la detección de la ovulación (progesterona >5ng/ml), la gestación fue diagnosticada por ecografía y posteriormente se sometieron a ovariectomía. Los ovarios fueron examinados macroscópicamente. Las diferencias entre grupos fueron analizadas por

Fisher Exact Test o un Test de Student. Los datos se expresaron como media \pm SEM y los valores de $P < 0,05$ se consideraron significativos. La edad y el peso corporal a la pubertad no presentaron diferencias significativas entre los grupos ET y PL ($P > 0,1$). Todas las gatas ET presentaron exposición del clítoris entre las semanas 3 y 13, mostraron un comportamiento estral normal y fueron receptivas durante el estro puberal. Mientras que todas las gatas PL (3/3) ovularon después del estro, la ovulación se produjo en sólo una de las 5 hembras ET (1/5; $P > 0,1$). La preñez ocurrió en todas las hembras PL y en ninguna de las hembras ET ($P > 0,1$). Como efecto secundario en 1/5 gatas ET se observó la presencia de un nódulo mamario transitorio ($P > 0,1$). La evaluación macroscópica de los ovarios reveló folículos en crecimiento, sin la presencia de cuerpos lúteos en el grupo ET; el peso de los ovarios no presentó diferencias significativas entre los grupos ET y PL ($0,2 \pm 0,05$ vs. $0,2 \pm 0,02$ g; $P > 0,1$). Se concluye que el enantato de testosterona causó una alta proporción de infertilidad anovulatoria en gatos domésticos postnatos.

Caracterización de la respuesta inmune humoral frente a vacunación contra ERB

Díaz, A.*; Ledesma, M.*; Leoni, J.; Manghi, M.; Ferrari, A.; Castro, M.

La Enfermedad Respiratoria Bovina (ERB) es causada por agentes etiológicos virales y bacterianos (como *Pasteurella multocida* (PM) y *Mannheimia haemolytica* (MH) entre otros), afectando al ganado y generando grandes pérdidas económicas. La vacunación frente a ERB no siempre provee una protección adecuada frente a la forma neumónica de la enfermedad, pudiendo desencadenar en la muerte del ganado. El objetivo de este trabajo es comparar la respuesta inmune (RI) humoral generada frente a una vacuna comercial (VC) (compuesta por varios antígenos virales y bacterianos) y una vacuna experimental (VE)

(compuesta por un solo componente antigénico, MH) en un modelo murino. Se inmunizaron varios lotes de ratones con dichas vacunas, evaluamos nivel y avidéz de anticuerpos (Ac) (IgGt, IgM, IgG1 específicos anti MH y PM) por ELISA. La inmunización con la VE genera un nivel de Ac y avidéz contra ambos componentes analizados de la VC (MH y PM), que no difiere significativamente del generado por esta última. Ambas formulaciones generan un nivel de Ac que difiere significativamente del control. La VE genera una respuesta contra PM y MH comparable a la de la VC, a pesar de estar formulada con un solo componente antigénico.

Gusanos de seda híbridos para abastecer la producción local de seda (Lepidoptera: Bombyx mori L.)

Dobler, S.

El *Bombyx mori* es un insecto del orden Lepidóptera. A nivel mundial se destaca la importancia del mejoramiento genético, mencionando como objetivos principales la productividad y calidad del hilo de seda, adaptación a las condiciones ambientales locales y resistencia y/o tolerancia a enfermedades. La productividad y calidad del hilo de seda está determinado por el nivel de heterosis del híbrido involucrado. En Argentina no existe producción de híbridos. El objetivo fue evaluar los parámetros productivos de un híbrido, originado del cruzamiento de una línea FA-UBA y otra de origen europeo. Se criaron 2 líneas y los 2 cruzamientos entre ellas en condiciones ambientales controladas. Luego de la incubación de los huevos las larvas fueron alojadas en cajas plásticas, con 3 repeticiones de cada línea y cruzamiento distribuidas al azar. Se alimentaron 4 veces al día con hojas frescas de morera (*Morus alba* L.). Luego de la cosecha de los capullos para cada línea y cruzamiento se midieron 3 variables cuantitativas: largo y peso de los capullos enteros y peso de los capullos sin pupa. También se determinó el peso de 20.000 capullos frescos,

el porcentaje de seda bruta y el peso de seda por telaino. Los datos fueron analizados por ANOVA con los genotipos (líneas endocriadas e híbridos) como el efecto principal y se realizaron comparaciones múltiples (Tukey) para cada variable. Se encontraron diferencias altamente significativas (al 1%) entre medias de genotipos para todos los caracteres, siendo el efecto de heterosis muy marcado. Las Longitudes del Capullo (mm) fueron: 30,2±0,35 promedio y ES parental; 36,05±0,40 del híbrido directo y 34,53±0,40 del recíproco. El Peso del Capullo Entero (g) 1,17±0,03 parental; 1,57± 0,03 el híbrido directo, y 1,54 g ±0,04 el recíproco. El Peso de Corteza, 0,21±0,06 parental vs. 0,30±0,07 el híbrido directo y 0,29±0,07 el recíproco. El peso fresco (kg) de 20.000 capullos fue superior en híbridos. El porcentaje de seda bruta de los híbridos fue superior a la media de los padres. Los híbridos produjeron un 39% más seda que la media de los padres. El cruzamiento de las dos líneas utilizadas presentó un marcado efecto de heterosis para todas las variables analizadas, lo que se traduce en una mayor producción de seda para los híbridos.

Mecanismo de propulsión en el nado anguiliforme

Doisenbant, G.

Una gran parte de los organismos acuáticos se desplazan mediante movimientos peristálticos generando ondas viajeras a través de sus cuerpos flexibles. Este trabajo busca caracterizar el movimiento en un tipo particular de nado: el nado anguiliforme. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el mecanismo de propulsión en el nado anguiliforme, describiendo el movimiento de la sanguijuela medicinal, caracterizando los patrones de flujo que aparecen en el agua y obteniendo los parámetros característicos. Los animales nadan en un canal de experiencias y se aprovecha la técnica de velocimetría por imágenes de partículas para conocer la dinámica de generación de vórtices. Luego mediante fluidodinámica computacional se realiza una simulación que reproduce el movimiento del animal dentro del agua. El nado de la sanguijuela en estado de régimen

ocurre siempre de la misma manera presentando un único patrón de movimiento que puede ser descrito matemáticamente mediante una función senoide modulada. En cada ciclo de nado se desprenden dos pares de vórtices contrarrotativos. La simulación numérica, luego de validarse con la experiencia, permite obtener parámetros característicos del nado difíciles de medir en forma experimental. El estudio de los mecanismos de propulsión de los seres vivos es una importante fuente de conocimiento para la creación de dispositivos de propulsión biomiméticos, inspirados en los procesos de selección natural. El desarrollo de nuevos materiales flexibles y resistentes permite pensar en la aplicación práctica de los resultados de este estudio para mejorar la eficiencia energética en la propulsión de buques más sustentables que los actuales.

Eficacia de la vitrificación de mínimo volumen sobre ovocitos bovinos madurados *in vitro* evaluada por parámetros morfológicos

Donato, A.; Dalvit, G.

El congelamiento lento de embriones y ovocitos es el método estándar de criopreservación, aunque presenta escaso éxito en ovocitos bovinos. Por lo cual la vitrificación representa una alternativa posible, no siendo aún de rutina en esta especie y con resultados variables en los métodos actuales. Los protocolos de vitrificación utilizan altas concentraciones de crioprotectores intracelulares que en exposiciones prolongadas pueden conducir a daños celulares por toxicidad y estrés osmótico. Recientemente hemos obtenido embriones viables criopreservados por el método de vitrificación de mínimo volumen (Cryotech); sin embargo, hay pocos estudios que evalúen el efecto de este método en ovocitos. El objetivo fue evaluar la morfología y viabilidad en ovocitos bovinos vitrificados y descongelados. Se obtuvieron complejos ovocito-cumulus (COCs) inmaduros por aspiración de folículos antrales de ovarios de vacas de faena. Los COCs fueron madurados en medio 199 con 50µg/ml de sulfato de gentamicina, 5% de suero fetal bovino, 0,2µg/ml de FSH y 2µg/ml de LH, bajo aceite mineral a 39°C, 5% CO₂ en aire y 100% de H²

durante 24hs. Los ovocitos madurados fueron desnudados y vitrificados por Cryotech utilizando crioprotectores permeables (etilenglicol, DMSO), componentes osmóticamente activos (sacarosa) y una lámina fina como soporte. Se descongelaron utilizando concentraciones decrecientes de soluciones de sacarosa en sucesivos pasajes hasta llegar a soluciones isotónicas. Posteriormente, los ovocitos se evaluaron morfológicamente mediante lupa estereoscópica, y se comprobó su viabilidad mediante la técnica del fluorocromo diacetato de fluoresceína. Hasta el momento hemos vitrificado/descongelado 29 ovocitos madurados *in vitro* de los cuales 28 permanecieron viables (96,6%), mantuvieron su morfología normal, conservando la integridad de la membrana plasmática, espacio perivitelino reconstituido y presentando un citoplasma homogéneo. De estos resultados se deduce que el método propuesto presenta altísima eficiencia comparándolo con el congelamiento lento y lo reportado por la bibliografía sobre otros métodos de vitrificación, planteándose así como una alternativa viable para la preservación de ovocitos.

Evaluación de la persistencia en el ambiente de larvas de *trichinella patagoniensis* en *cavia porcellus*

Ercole, M.¹; Fariña, F.^{1,2}; Ribicich, M.¹

Durante la última década, una nueva especie perteneciente al género *Trichinella* fue descubierta en Argentina: *T. patagoniensis*. Hasta el presente, ha sido aislada de pumas (*Puma concolor*). La transmisión de *Trichinella* spp en la naturaleza depende entre otras cosas, de la capacidad de las larvas de tolerar las condiciones ambientales cuando el hospedador muere. El objetivo del trabajo fue determinar la capacidad que poseen las larvas de *Trichinella patagoniensis* de sobrevivir en el tejido muscular del hospedador post-mortem. Se inocularon 12 cobayos hembra (*Cavia porcellus*), vía oral con 2000 larvas 1 (L1) de *T. patagoniensis* (código ISS2311) en un volumen de 60µl. Al día 42 post-infección (PI) se realizó la eutanasia de los animales. Se extrajeron las vísceras de los mismos, y se colocaron las respectivas carcasas

sobre tierra contenida en cajas plásticas. Las mismas permanecieron expuestas a las influencias climáticas del medio ambiente. Semanalmente se procedió a la recuperación de larvas de la musculatura a través de la técnica de digestión artificial y las mismas fueron inoculadas (300 L1) en ratones Balb/C. Luego de 42 días de infección, se procedió a la eutanasia y posterior digestión de los ratones, con el objeto comprobar la infectividad de las larvas. Se recuperaron L1 de las carcasas de las cobayas en el ambiente, hasta la tercera semana. Dichas larvas resultaron infectivas en ratones hasta la semana 2. Los datos procesados hasta el presente sugieren que, bajo las condiciones ambientales, las larvas 1 de *T. patagoniensis* presentes en carne en descomposición de cobayos, permanecen infectivas en el ambiente durante 2 semanas.

¹Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, FCV. UBA.

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

Sistema de vigilancia local: tenencia de animales no tradicionales. Estudio preliminar

Escati, L.¹; Berra, Y.¹; Martinez, M.C.¹; Marcos, E.M.^{1,2}; Degregorio, O.J.¹

La estrecha relación entre hombre y animales domésticos y silvestres domesticados puede generar peligros para la salud, en especial en grupos de alto riesgo. Se desconocen aspectos de la tenencia de especies no tradicionales y su implicancia en sistemas de vigilancia de enfermedades. Se propone desarrollar un modelo de tenencia de animales no tradicionales en áreas de riesgo de la ciudad, compatible con los modelos de tenencia ya desarrollados. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la tenencia de animales no tradicionales analizando factores demográficos y su relación con actitudes, percepciones, motivaciones y conductas de las personas y percepciones de riesgos de transmisión de agentes entre las poblaciones. Se realizó un estudio observacional bajo el modelo de encuesta social explicativa en: grupo 1: domicilios en áreas ya caracterizadas, grupo 2: en el Instituto Dr. Luis Pasteur y grupo 3: Barrio Rodrigo Bueno (CABA). Los resultados obtenidos fueron: Grupo 1: Se realizaron 140 encuestas, el 14% tiene animales no tradicionales pero el 62% los

tuvo previamente. Los obtuvieron como regalo (63%), compra (37%), 11% los colectó de la calle y 5% lo trajo del interior del país. El 53% tiene aves, 26% peces, 16% quelonios y 11% psitácidos y roedores. Grupo 2: Se encuestaron 160 personas, el 16% tiene animales no tradicionales pero el 57% los tuvo previamente. Los obtuvieron como regalo (56%), compra (52%), 28% los colectó de la calle. El 32% tiene peces, 28% psitácidos, 24% quelonios, 20% aves y 8% reptiles. Grupo 3: Se colectaron 54 encuestas, el 3% tiene animales no tradicionales pero el 29% los tuvo previamente. Todos fueron obtenidos por medio de compra. El 66% son aves y el 33% peces. En todos los grupos el 96% considera muy posible o posible que los animales silvestres y sinantrópicos transmitan enfermedades al hombre. Conclusiones: Este estudio es el primer aporte al conocimiento de la tenencia de especies animales no tradicionales en CABA, considerando áreas con diferente riesgo epidemiológico de transmisión de enfermedades.

¹Cátedra Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. ²Instituto de Zoonosis Dr. Luis Pasteur CABA.

Producción de leche de cabras criadas en Ciudad de Buenos Aires

Esmoris, S.¹; Galotta, L.¹; Sánchez Larrañaga, J.²

Argentina tiene 4 millones de cabras distribuidas principalmente en Santiago del Estero (17,4%), Neuquén (16,7%) y Mendoza (16,6%). El principal destino de la producción es la carne, sin embargo, actualmente, se ha visto un incremento en la comercialización e industrialización de la leche. La cría de caprinos es una de las principales fuente de ingresos económicos para pequeños productores de escasos recursos tecnológicos y bajo nivel sociocultural. Dentro de las ventajas de estos animales puede mencionarse la rusticidad y capacidad de adaptación, así como el escaso espacio necesario para su crianza. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el nivel de producción de leche de cabras criadas a corral en la Ciudad de Buenos Aires. El periodo de estudio comprendió 2 lactancias (2013-2014) de 6 cabras Anglo nubian de segunda y tercera parición, criadas a corral en forma intensiva en un espacio de 700 m² en el predio de la FCV, UBA, alimentadas con fardo de alfalfa y

suplementación de maíz. El manejo reproductivo fue similar los dos años (sincronización de celo y servicio natural). Los cabritos fueron criados en forma artificial. Se realizó ordeño manual dos veces/día respetando las condiciones higiénico-sanitarias. Los resultados se presentan como media \pm desvío estandar. El porcentaje de preñez fue del 100% al primer servicio. El nacimiento de cabritos/madre fue de $1,83 \pm 0,43$ el primer año y de $1,63 \pm 0,39$ el segundo. El promedio de leche por día por animal fue de $1,96 \pm 0,62$ l el primer año y $2,20 \pm 0,90$ l el segundo. Si bien estos animales no son criados con el objetivo de la comercialización de leche, los parámetros productivos observados y el nivel producido, superior a la media reportada en Argentina (1,23 l/día), permiten concluir que la especie caprina puede adquirir importancia como fuente secundaria de ingresos para productores que cuenten con espacios reducidos para su explotación. Este trabajo forma parte del proyecto UBACyT 2014-2017 20020130200106BA.

¹Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), UBA, ²alumna de posgrado

Estudio de la cinética y del comportamiento del biofilm mixto de streptococcus equi subsp. Zooepidemicus y levaduras aisladas de equinos en presencia y ausencia de antimicrobianos

Etchecopaz, A.¹; Guida, N.¹; Iovanniti C.²

El biofilm se puede definir como una compleja comunidad funcional de una o más especies microbianas adheridas unas a otras y a una superficie sólida, adoptando una disposición tridimensional y envuelta en una sustancia extracelular polimérica. Pueden estar formados por un único tipo de microorganismo, o más comúnmente, por varios de ellos, generando biofilm mixtos de bacterias y/u hongos, manifestando fenotipos que nunca se expresan en sus especies por separado. Los objetivos fueron: Primera etapa: Identificación de levaduras en mucosa genital y nasofaríngea de equinos. Segunda etapa: Estandarización de la técnica de formación de biofilm. Se tomaron muestras de nasofaringe de 71 equinos y de fondo de vagina en 8 yeguas. Se han aislado las levaduras y se procedió a la identificación de género por métodos convencionales y a especie a través de biología molecular. Hemos aislado

un total de 59 levaduras de nasofaringe y 6 de vagina. Las cuales hemos podido identificar dentro del género *Cándida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula*, además hemos empezado a utilizar biología molecular llegando con certeza a la identificación de especie en algunas cepas. Hemos aislado levaduras de mucosa nasofaríngea y genital equina y llegado a identificar las mismas a nivel de género. Utilizando PCR y posterior secuenciación se puede llegar a identificaciones de especie con mayor precisión, es por eso que realizamos estudios de biología molecular a algunas cepas poco convencionales para llegar a identificarlas a nivel de especie. Paralelamente, hemos empezado con la estandarización de la técnica de formación de biofilm individual para levaduras de los diversos géneros. Se espera realizar una estandarización precisa de la técnica, así como de las identificaciones, para cumplir con los objetivos propuestos.

¹Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

²Centro de Micología Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Estudio de la transmisión transmamaria de *T. Patagoniensis* en ratones Balb/c

Fariña, F.^{1,2}; Krivokapich, S.³; Ribicich, M.¹

En 1916 se sugirió por primera vez la posibilidad de que exista transmisión vertical de *Trichinella* spp., producto del hallazgo de gran número de larvas en la leche de una mujer que se encontraba lactando. Desde ese momento hasta la actualidad, se sospecha que la transmisión vertical de parásitos del género *Trichinella* podría ocurrir en mujeres embarazadas durante la fase parenteral de la infección o postnatal, durante la lactancia. El objetivo del trabajo fue evaluar la transmisión vertical de *T. patagoniensis* en ratones Balb/c preñadas. Se utilizaron 20 ratones hembras Balb/c de 7 semanas de edad, que se dividieron en 2 grupos de estudio de 10 individuos cada uno, en función del momento en el que fueron inoculados: Grupo 1: 15 días de aparecido el tapón y Grupo 2: 18 días de aparecido el tapón; cada grupo fue dividido en 2 subgrupos (a y b) de 5 animales. Cada subgrupo fue inoculado por vía oral con 100 y 500 larvas de

T. patagoniensis respectivamente. Se empleó una cepa de *T. patagoniensis* proveniente de un puma de montaña, que fue mantenida en ratones CF1. Se procedió a la eutanasia y posterior digestión artificial de las crías al día de 30 de nacidas, y de las madres, a los 48 días post-infección. No se evidenció presencia de larvas 1 en ninguna de las muestras de las crías analizadas. En las madres, el valor medio de LPG para el grupo 1a y 1b, fue de $120,35 \pm 44,6$ y $1279,7 \pm 396,9$. En cuanto a las hembras de los grupos 2a y 2b, el valor medio de LPG fue de $166,62 \pm 62,69$ y $1531,8 \pm 451,05$ respectivamente. Los datos procesados hasta el presente sugieren que no existirían diferencias en la susceptibilidad a la infección de las hembras gestantes infectadas con *T. patagoniensis* en los días 15 y 18 post-concepción. El presente trabajo fue financiado por los proyectos PICT 2013 – 0965 y 20020130100336BA.

¹Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, FCV. UBA.

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

³Departamento de Parasitología, INEI, ANLIS, “Dr. Carlos Malbrán”.

El rol del ácido hialurónico en el metabolismo oxidativo y en los sistemas de señales intracelulares en la capacitación del espermatozoide criopreservado bovino

Fernández, S.; Córdoba, M.

El ácido hialurónico (AH) y la heparina (HP) son glicosaminoglicanos presentes en el tracto genital de la hembra bovina. Durante la capacitación han sido identificadas vías de señalización mediadas por proteína quinasa C (PKC), proteína quinasa A y tirosina quinasa (TK). Malato deshidrogenasa dependiente de NAD⁺ (MDH-NAD⁺), enzima del ciclo de Krebs, y dependiente de NADP⁺ (MDH-NADP⁺) son indicadores de la actividad oxidativa mitocondrial. El objetivo de estas experiencias fue determinar la actividad de MDH-NAD⁺ y MDH-NADP⁺ durante la capacitación de espermatozoides bovinos criopreservados, incubados con heparina o ácido hialurónico e inhibidores de PKC y TK. GF-109203X y genisteína fueron utilizados como inhibidores de PKC y TK, respectivamente. La actividad de MDH fue determinada espectrofotométricamente a 340 nm, la capacitación fue evaluada por la técnica epifluorescente de clorotetraciclina y la viabilidad e integridad acrosomal por la tinción de azul tripán/DIC. Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey

($P < 0,05$). La actividad de MDH-NAD⁺ en muestras incubadas con HP ($5,42 \pm 1,32$ U/108esp $\times 10^{-2}$) fue significativamente superior al control. Cuando se agregaron inhibidores de PKC y TK, la actividad de esta enzima fue menor a la obtenida en muestras capacitadas con HP. No se registraron diferencias significativas con respecto a la actividad de MDH-NADP⁺ para HP. En muestras capacitadas con AH se produjo un aumento significativo de la actividad de MDH-NADP⁺ ($2,15 \pm 1,29$ U/108esp $\times 10^{-2}$) comparado al control ($P < 0,05$), mientras que la actividad de la enzima disminuyó al agregar inhibidores de PKC y TK. No se registraron diferencias significativas con respecto a la actividad de MDH-NAD⁺ para AH. Proteína quinasa C y tirosina quinasa participan en el mecanismo de señales intracelulares desencadenado tanto por heparina como ácido hialurónico. Estas quinasas modulan diferencialmente la actividad de malato deshidrogenasa dependiente de NAD⁺ y NADP⁺ en la capacitación con heparina o ácido hialurónico, respectivamente, del espermatozoide criopreservado bovino.

Effecto de la L-carnitina y piruvato sobre la movilidad, viabilidad e integridad del acrosoma de espermatozoides equinos congelados/descongelados.

Resultados preliminares

Caldevilla, M.; Ferrante, A.; Miragaya, M.

La L-carnitina modula la oxidación de ácidos grasos, la relación acetil-CoA/CoA libre y la utilización de piruvato y lactato como sustratos energéticos en el espermatozoide. Además tiene un poderoso efecto antioxidante debido a que reduce la disponibilidad de lípidos para la peroxidación y aumenta la actividad de las enzimas antioxidantes. El objetivo de este estudio fue determinar si el agregado de L-carnitina y piruvato a los medios de congelamiento mejora la movilidad y viabilidad espermática del semen equino congelado/descongelado. Se analizaron seis eyaculados de tres padrillos fértiles recolectados mediante vagina artificial. Las muestras se dividieron en cuatro alícuotas: 1) semen diluido en medio de congelamiento con Kenney (Leche), 2) semen diluido en medio de congelamiento con Kenney adicionado con L-carnitina (50 mM) y piruvato (10 mM) (Leche carnitina), 3) semen diluido en medio de congelamiento con EDTA-Glucosa (EDTA) y 4) semen diluido en medio de congelamiento con EDTA-Glucosa adicionado con L-carnitina (50

mM) y piruvato (10 mM) (EDTA carnitina). Las alícuotas fueron envasadas en pajuelas de 0,5 ml y criopreservadas. Las muestras se descongelaron a 37 °C durante 1 minuto y se evaluó: A) el porcentaje de movilidad espermática progresiva utilizando un sistema computarizado (CASA: Computer Assisted Semen Analysis), B) el estado del acrosoma y la viabilidad espermática mediante la tinción FITC-PNA/PI. La movilidad progresiva, el estado del acrosoma y la viabilidad en el semen congelado/descongelado fueron analizados utilizando un diseño factorial de 4 factores (leche, leche-carnitina, EDTA y EDTA-carnitina), tomando al macho como bloque. Se observó un aumento significativo ($p < 0,05$) en el porcentaje de espermatozoides vivos con acrosoma intacto en las muestras diluidas en el medio de Leche-carnitina respecto de su control (Leche). Sería interesante comprobar si los cambios observados en las muestras adicionadas con L-carnitina y piruvato tienen un impacto en los índices de preñez utilizando semen congelado.

Evaluación de la vía intranasal para la administración de opioides en equinos

Ferreira, V.¹; Teme Centurión, O.²; Landoni, M.F.¹

La vía intranasal (IN) en equinos posee un gran potencial para la administración sistémica de fármacos. Aún cuando no hay estudios completos y profundos sobre las características anatómicas y fisiológicas de la cavidad nasal, su gran superficie de absorción permite inferir su potencialidad para la administración de fármacos. Los objetivos fueron evaluar la aceptación y tolerancia de la administración IN de pequeños volúmenes de soluciones y realizar una validación piloto de esta vía para administración de opioides. Seis equinos, recibieron con un intervalo de 5 segundos, aplicaciones de SF por vía IN utilizando una bomba spray monodosis (200 µl/disparo). El grado de aceptación y tolerancia de los animales se cuantificó, teniendo en cuenta

el grado de resistencia a la administración IN y presencia de efectos adversos, según una escala ad-hoc (score máximo 7). En la segunda etapa, 4 equinos recibieron butorfanol IV e IN (0,05 mg/kg). Curvas de disposición plasmáticas fueron analizadas cinéticamente a través de WinNonlin y la biodisponibilidad estimada. Ninguno de los animales mostró signos de discomfort o irritación tras la administración IN de SF o solución de butorfanol. No se observó descarga nasal del líquido administrado en forma de spray. Los equinos toleraron un máximo de 3 disparos. Un número mayor de disparos produjo respuestas de retirada de la cabeza. Se presentan los score del grado de aceptación de acuerdo al número de aplicaciones en seis equinos:

	NUMERO DE APLICACIONES (disparos)				
	1	2	3	4	5
MEDIA	0,25	0,75	1,25	1,5	2,5
ES	0,3	0,5	0,5	0,3	0,6

La prueba piloto para evaluación de la biodisponibilidad de butorfanol tras su administración intranasal arrojó resultados promisorios, con una biodisponibilidad promedio superior al 30%. Aún cuando el tamaño de muestra es bajo, los resultados piloto sugieren la que la vía IN sería una alternativa

a la administración IV. La vía intranasal para la administración de opioides en equinos es muy promisoriosa. Los equinos aceptan la administración con una tolerancia de 3 disparos, observándose para butorfanol una biodisponibilidad aceptable, muy superior a la reportada para la administración IM.

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. ²Laboratorio de Control de Doping. Secretaría de Deporte. Ministerio de Desarrollo Social.

Cambios en la motilidad y stress oxidativo durante capacitación *in vitro* del espermatozoide criopreservado

Filosa, A.; Córdoba, M.

La capacitación incluye la activación de mecanismos bioquímicos influenciados por heparina (HP) y ácido hialurónico (AH) presentes en el tracto genital femenino. El objetivo es determinar cambios en la generación de especies reactivas del oxígeno con hialurónico y la variación de la motilidad e inducción de la capacitación con AH o HP en espermatozoides criopreservados de bovino. Se evaluó viabilidad e integridad acrosomal por la coloración de azul tripán y microscopía óptica de Contraste Diferencial Interferencial y la capacitación y reacción acrosomal por la coloración epifluorescente de Clorotetraciclina (CTC). Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey ($p < 0,05$). Tanto el AH ($22,40 \pm 5,17\%$) como la heparina ($26,50 \pm 7,42\%$) indujeron un incremento de la capacitación respecto al control ($p < 0,05$). Las especies reactivas del oxígeno (ROS) se cuantificaron mediante el uso de un citómetro de flujo BD FACS Canto II, utilizando 2,7 diclorodihidrodiacetato de fluoresceína (DCHF-DA). Se midió la fluorescencia generada debido

a la presencia de H_2O_2 , en unidades arbitrarias, y se determinó la viabilidad mediante el uso de yoduro de propidio (PI). Muestras tratadas con AH presentaron una menor producción de ROS ($459,88 \pm 122,65$) que su respectivo control ($909,77 \pm 150,21$) ($p < 0,05$). No se evidenciaron diferencias significativas en el porcentaje de vivos entre el tratamiento y el control ($p > 0,05$). Con respecto a la motilidad progresiva, evaluada a través de Computer Assisted Sperm Analysis (CASA), la misma fue de un $78,20 \pm 5,73\%$ con HP y de un $77,40 \pm 10,70\%$ con AH, por lo que no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0,05$). Del mismo modo, se estudiaron parámetros relacionados con el vigor y la progresividad, dentro de los cuales VCL (velocidad curvilínea) y VAP (velocidad promedio en su trayectoria) presentan una tendencia hacia la variación entre tratamientos aplicados. Se propone al ácido hialurónico como un glicosaminoglicano capaz de provocar cambios intracelulares que producen la capacitación *in vitro* del espermatozoide criopreservado bovino.

Proteína S100 en el sistema tegumentario de ballena franca austral (*Eubalaena australis*)

Fiorito, C.^{1,2}; Bertellotti, M.¹; Lombardo, D.²

Las proteínas S100 conforman una gran familia de proteínas ligadoras de calcio altamente conservadas, que juegan un papel crítico en las células sensoriales de los vertebrados superiores. La expresión de S100 se ha utilizado para poner en evidencia estructuras sensitivas en diversas especies de vertebrados, sin embargo poco se sabe sobre la expresión de esta proteína en los cetáceos. El objetivo de este trabajo fue detectar la expresión de la proteína S100 en el tegumento de *Eubalaena australis*, y relacionar dicha expresión con estructuras sensitivas diagnosticadas por tinción de hematoxilina-eosina. Para ello se realizó un análisis inmunohistoquímico en cortes de tegumento obtenidas de diversas zonas corporales de ballenas varadas muertas en las costas de Península Valdés, durante los años 2012 y 2013. Se utilizó un anticuerpo policlonal anti S100 (Dako Polyclonal Rabbit Anti-S100, Ready to use), incubado por 60

min. a 37°C y revelado según el protocolo indirecto de “L-streptoavidina biotina”. Como resultado se observó marca positiva en pelos sensitivos de la región rostral (vibrisas) y en estructuras similares a papilas en la mucosa oral. Asimismo se marcaron positivamente células de Schwann, melanocitos y células de Langerhans. Algunas células epidérmicas del estrato espinoso de algunas de las regiones topográficas analizadas también presentaron marca positiva. La identificación de estructuras sensitivas mediante la utilización de técnicas inmunohistoquímicas complementa al diagnóstico de rutina y permite dar un paso importante en la comprensión de la función de dichas estructuras, sobre todo en especies como la ballena franca donde aún es poca la información disponible. Este es el primer trabajo que identifica a la proteína S100 en el sistema tegumentario de *Eubalaena australis*.

¹Centro Nacional Patagónico, CONICET, Puerto Madryn, Chubut, Argentina; ²Laboratorio de Histología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

Parasitosis en roedores urbanos: una problemática creciente

Fitte B.; Robles M. Del R.; Navone G.T.

Los barrios periféricos del Gran La Plata muestran diferentes grados de urbanización y condiciones propicias para la presencia de roedores con riesgos potenciales de enfermedades zoonóticas. Los objetivos del presente trabajo son: analizar la distribución de las especies parásitas presentes en roedores urbanos; evaluar variables ambientales que favorecen la presencia y transmisión de cada especie parásita; y establecer estrategias de monitoreo, control y prevención de enfermedades parasitarias. El fin último será contribuir a la resolución de los problemas de sanidad del área. Hasta el momento se realizaron 2 muestreos en 7 barrios: El Retiro, El Carmen, Malvinas, La Isla, La Latita, Plaza Moreno y el cordón Frutihortícola. Se colocaron trampas de captura viva y muerta en 52 domicilios

durante 3 noches consecutivas, con un total de noches-trampa igual a 1367. Se capturaron especímenes de 3 especies de roedores, *Mus musculus*, *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus*. El análisis parasitológico se realizó mediante técnicas convencionales. *Rattus rattus* resultó la especie más parasitada (7 spp. parásitas; Prevalencia =85%). El barrio con mayor número de hallazgos parasitológicos fue La Isla (6 spp. parásitas; P=55%). *Giardia lamblia* (P=5,7%), *Toxoplasma gondii* (P=2,2%), *Hymenolepis* sp. (P=12%) y *Trichuris* sp. (P=5,7%) se destacan por ser especies de riesgo sanitario. Esta propuesta sienta las bases de un modelo que integra aspectos socio-ambientales y parasitológicos, contribuyendo a formalizar planes de contingencia y prevención de enfermedades parasitarias.

Efecto del plasma seminal en espermatozoides de llama (*Lama glama*)

Fumuso, F.G.^{1,2}; Carretero, I.^{1,2}; Miragaya, M.^{1,2}; Giuliano, S.^{2,3}

En la actualidad la inseminación artificial en Camélidos Sudamericanos se lleva a cabo utilizando semen fresco, con tasas de preñez máximas del 77%. Sin embargo, los resultados han sido bastante desalentadores cuando se utilizó semen criopreservado. El congelamiento de semen es un proceso muy complejo que posee etapas críticas para la obtención de resultados satisfactorios. Uno de los tantos factores involucrados en el proceso, es el posible efecto de la ausencia del plasma seminal (PS) en la muestra. El objetivo fue determinar el efecto del plasma seminal en la movilidad, viabilidad y estado acrosomal en espermatozoides de semen fresco de llama con la finalidad de aplicar estos resultados en protocolos de criopreservación en la especie. Se obtuvieron un total de 15 eyaculados de 5 llamas ($n=5$, $r=3$), utilizando electroeyaculación. Cada eyaculado se diluyó 4:1 en una solución de colagenasa al 0,1% en medio HEPES-TALP (HT) y se incubó durante 4 minutos a 37 °C. Inmediatamente después de la incubación cada eyaculado fue dividido para realizar dos tratamientos diferentes y se centrifugaron durante 8 minutos a 800g. Los pellets fueron resuspendidos en HT (0%

PS) o PS (100% PS) y mantenidos a 37 °C hasta su evaluación (0; 1,5 y 3h). Se evaluó la motilidad, la viabilidad y el estado acrosomal. El análisis estadístico se realizó mediante un diseño de parcelas divididas en el tiempo con el tratamiento como factor de dos niveles y el tiempo como factor de 3 niveles, considerando a los machos como bloque. No se observó interacción entre los tratamientos (HT y PS) y tiempos (0; 1,5 y 3h) en cada una de las características seminales evaluadas. Se observó movilidad progresiva e hiperactiva en las muestras con HT mientras que en las muestras de PS principalmente movimientos oscilatorios. Se observó una disminución significativa ($p<0,05$) en la movilidad espermática total en las muestras incubadas con PS durante 3h respecto de las muestras con PS a tiempo 0h. No se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en el porcentaje de espermatozoides vivos ni estado acrosomal entre los tratamientos. El agregado de PS modifica el patrón de movilidad conservando la viabilidad espermática y no comprometiendo el estado acrosomal, esto podría indicar que un porcentaje de PS debería ser incluido en los protocolos de criopreservación.

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

Evaluación de implantes autólogos heterotópicos de tejido ovárico vitrificado en hembras porcinas

Gabriel, P.r.; Fischman, M.l.

La vitrificación de láminas de tejido ovárico permite conservar gran cantidad de ovocitos contenidos en folículos preantrales (FPA). Una herramienta para la evaluación del daño criogénico es el análisis morfológico de los FPA. No obstante, la presencia de morfología normal no asegura que dichos folículos puedan reasumir su desarrollo. Una alternativa es realizar implantes autólogos heterotópicos del tejido luego de criopreservado. Las mayores pérdidas de folículos en esta técnica son ocasionadas por isquemia y reperfusión, por lo que resulta imprescindible analizar el proceso de revascularización. El objetivo del presente plan de beca es determinar, a través del implante autólogo heterotópico, la viabilidad de los FPA porcinos contenidos en láminas de corteza ovárica sometidas a un protocolo de vitrificación utilizando etilenglicol al 30% y sacarosa 0,25M como agentes crioprotectores. En una primera etapa, se determinará el soporte de elección para la vitrificación (criotubos, cápsulas Beam o agujas de acupuntura) y el efecto de cultivar el tejido durante 24 hs post atemperado. Además, se utilizarán hembras prepúberes (35-40 kg)

cruza F1 para determinar el sitio óptimo para la implantación (subcutáneo de la oreja o retroperitoneo) de láminas de tejido ovárico autólogas sin criopreservar. En una segunda etapa, se realizará el implante de láminas previamente vitrificadas siguiendo el protocolo más eficiente determinado en la fase inicial. El análisis morfológico para determinar el porcentaje de FPA normales se realizará sobre cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-Eosina, utilizando microscopía de campo claro (400X). Se evaluará el proceso de revascularización a través de inmunohistoquímica para el factor VIII de von Willebrand, para marcar células endoteliales en microvasos. Se espera que los resultados permitan ampliar los conocimientos referidos la técnica de vitrificación de tejido ovárico porcino. Dado que la técnica de trasplante autólogo heterotópico de láminas de corteza ovárica no ha sido muy estudiada en la especie porcina, se espera que este trabajo permita el desarrollo de un protocolo que minimice las injurias provocadas a los FPA, permitiendo preservar la viabilidad de la mayor cantidad de ellos.

Análisis morfológico y funcional del eje hipotalamo-hipofisario-adrenal en el perro

Gallelli, M.F.; Castillo, V.

El dimorfismo sexual del eje hipotálamo-hipofisario adrenal ha sido descrito en distintas especies en condiciones fisiológicas, pero no en el perro. El objetivo del presente estudio fue evaluar si hay variación de ACTH, α -MSH y Cortisol plasmáticos a lo largo del ciclo estral de la perra. Asimismo se propuso evaluar si el género de los animales y el fotoperíodo influían en las concentraciones de las mencionadas hormonas. Además se buscó determinar si existe dimorfismo sexual en el área corticotropa y la corteza suprarrenal (zona fascicular) en esta especie. En 11 perras no castradas, 14 perros machos y 6 perras castradas se evaluó ACTH, α -MSH y Cortisol plasmáticos mediante ELISA; y estradiol y progesterona mediante quimioluminiscencia en cada una de las etapas del ciclo estral en fotoperíodo negativo y positivo (ANOVA repetitivo, y test de Tuckey; $p < 0,05$). La comparación entre machos, hembras castradas y hembras en anestro se hizo mediante ANOVA seguido por el test de Tuckey ($p < 0,05$). Se realizó inmunohistoquímica para ACTH en hipófisis y para el receptor de melanocortina-2 y Receptor de Estrógenos alfa en glándulas

adrenales de perros machos (14) y hembras (14) en ambos fotoperíodos. Las variables (células positivas/campo, tamaño celular, densidad óptica) fueron analizadas por medio ANOVA de doble vía y test de Bonferroni ($p < 0,05$). Se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de todas las hormonas evaluadas a lo largo del ciclo estral en ambos fotoperíodos pero no en las concentraciones hormonales entre hembras en anestro, hembras castradas y machos. El fotoperíodo afectó a todas las hormonas en las perras, mientras que solo afectó al cortisol en los machos y hembras castradas. En hipófisis, en ambos fotoperíodos, la cantidad de células positivas/campo, el tamaño celular y la densidad óptica fue mayor en hembras. En adrenal la densidad óptica del receptor de melanocortina-2 y la cantidad de células positivas/totales de Receptor de Estrógenos alfa fueron mayores en hembras en ambos fotoperíodos. Ambas variables fueron mayores en fotoperíodo negativo para ambos sexos. Existe dimorfismo sexual en hipófisis y glándula adrenal. El fotoperíodo es un factor que influiría sobre la regulación del eje adrenal.

Evaluación de parámetros clínicos y bioquímicos de cabritos, con diferentes tipos de alimentación, en un sistema de crianza artificial

Galotta, M.L.¹; Moscuza, C.H.^{1,2}; Fernández Cirelli, A.¹

La crianza artificial durante las primeras etapas de vida post-natal se realiza con las crías sin sus madres empleando sustitutos lácteos. Para prevenir las enfermedades digestivas y respiratorias se pueden adicionar en los alimentos antibióticos de amplio espectro. Con el objetivo de evaluar las posibles diferencias entre cabritos en un sistema de crianza artificial se estudió, durante los primeros 60 días de vida, el desarrollo de cabritos de la raza anglo nubian. El grupo 1 (n=2) fue alimentado con leche cruda de cabra, recién ordeñada; el grupo 2 (n=3) con leche entera en polvo de vaca, reconstituida en agua (150 gr/l); y el grupo 3 (n=3) con leche entera en polvo de vaca, reconstituida en agua (150 gr/l) a la que se adicionó el antibiótico de la familia de las fluoroquinolonas: enrofloxacin (12 mg/l leche reconstituida). En la 1era, 6ta y 9na semanas de vida se determinaron las frecuencias cardíaca y respiratoria, temperatura rectal, examen de linfonódulos, sensorio, color de las mucosas y ganancia de peso. Además, se tomaron muestras de sangre de la vena yugular externa para determinar hematocrito, hemoglobina, recuento de leucocitos, proteínas

totales, albúminas, urea, creatinina, colesterol, glucemia y la enzima aspartato aminotransferasa. El análisis estadístico se realizó con el software Infostat, calculando la media, desvío estándar, mínimos y máximos. ANOVA y Tukey fueron usados para comparar los diferentes parámetros, con un $p < 0,05$. No se observaron diferencias significativas en los parámetros estudiados al comparar los tres grupos de animales en las primeras cuatro semanas de vida. Estos valores se encontraron dentro de los rangos normales según la bibliografía consultada, utilizando como referencia valores de animales adultos. Sin embargo, el grupo 3 presentó una disminución en el consumo de alimento y dificultad en la deambulacion por lo que se suspendió la administración de enrofloxacin vía oral. Este grupo continuó con una dieta similar a la del grupo 2, finalizando su crianza en forma normal. Con estos datos preliminares se puede concluir que la leche entera de vaca en polvo reconstituida es una alternativa para la crianza artificial de cabritos quedando pendiente seguir probando con distintas dosis de antibiótico en los próximos trabajos.

¹Instituto de Investigaciones en Producción Animal, INPA-UBA-CONICET ²Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica de Rumiantes, FVET-UBA

Comparación de dolor en dos técnicas anestésicas para cirugías de implantes dentales, y su implicancia en lesiones nerviosas

García Blanco, M.; Gualtieri, A.F.; Puia, S.A.

La reposición de piezas dentarias de manera fija requiere la colocación de implantes dentales, para brindar anclaje óseo para reponer las piezas dentarias perdidas. Una de las complicaciones cuando se prepara con fresas el tejido óseo mandibular, es la lesión del nervio dentario inferior, que brinda inervación sensitiva a las piezas dentarias y al labio inferior. Ha sido sugerido y publicado que utilizando una técnica infiltrativa local (alternativamente a la aplicación regional troncal del nervio), el nervio no estaría totalmente anestesiado, y consecuentemente el paciente podría alertar al cirujano que las maniobras quirúrgicas están próximas al nervio, y evitar su lesión. El objetivo

del estudio fue evaluar en las maniobras quirúrgico implantológicas la relación entre la presencia o ausencia de dolor y la distancia al nervio dentario inferior, comparando las técnicas anestésicas troncular e infiltrativa. Se realizaron las cirugías implantológicas de 90 pacientes, concluyendo que la anestesia troncular brinda una analgesia más profunda que la anestesia infiltrativa; y cuando se trabajó a 2mm o menos de distancia al nervio dentario inferior bajo anestesia infiltrativa los casos sin dolor fueron significativamente mayores a los casos con dolor. La posibilidad de que el paciente advierta al profesional antes de producir una injuria en el mismo es considerada improbable, desaconsejándose este recurso preventivo.

Estructura poblacional del delfín franciscana, *pontoporia blainvillei*, en el área sur de su distribución

Gariboldi, M.C.^{1,2}; Túnez, J.I.^{2,3}; Failla, M.⁴; Vitullo, A.D.^{1,2}; Cappozzo, H.L.^{2,5,6}.

El delfín franciscana es endémico de la costa Atlántica de América del Sur. Se distribuye desde Espíritu Santo (Brasil) hasta Río Negro (Argentina). Esta especie está clasificada como “Vulnerable” por la IUCN. En base a distintas características de la especie, incluyendo análisis genéticos, su área de distribución se dividió en cuatro unidades de manejo (FMAs): I-II (Brasil), III (Brasil y Uruguay) y IV (Argentina). Argentina aún no cuenta con información suficiente de toda el área FMA IV. Nuestro objetivo fue caracterizar genéticamente las poblaciones de franciscanas del sur de la FMA IV. Se recolectaron 44 individuos enmallados en redes de pesca de las localidades de Necochea (NC), Monte Hermoso (MH) y Río Negro (RN). Para cada uno, se amplificó un fragmento de aproximadamente 500 pb la región control del ADN mitocondrial y 10 loci de microsatélites (MK5, MK6, MK8,

EV5Pm, EV14Pm, EV94Mn, D22, DlrFB2, DlrFB5 y DlrFB17). Los fragmentos fueron secuenciados y genotipados, respectivamente. Para la comparación genética, se llevó a cabo un AMOVA y una posterior comparación de a pares de los índices de fijación (FST). Tanto para el ADN mitocondrial como los microsatélites, el AMOVA mostró diferencias significativas entre las localidades analizadas ($p < 0.05$). Más aún, MH se diferenció de NC y RN ($p < 0.05$), y éstas no se diferenciaron entre sí ($p > 0.05$). Nuestros resultados confirmarían la existencia de al menos dos poblaciones genéticamente diferenciadas en Argentina (NC-RN y MH). La existencia de poblaciones diferenciadas en el área sur de la distribución de la especie debería ser considerada para la elaboración de planes de conservación que contribuyan en la supervivencia a largo plazo de la especie.

¹CEBBAD, Universidad Maimónides, CABA, Argentina. ²CONICET, Argentina. ³GEMA, DCB, Universidad Nacional de Luján, Bs. As., Argentina. ⁴Fundación Cethus, Bs. As., Argentina. ⁵LECyMM, División Mastozoología, MACN Bernardino Rivadavia, CABA, Argentina. ⁶FHN Félix de Azara, Universidad Maimónides, CABA, Argentina. gariboldi.constanza@maimonides.edu

Crioconservación de semen de conejo utilizando diferentes diluyentes

Inga Peralta, G; Malcervelli, D¹; Suhevic, J¹;
Mareco, G²; Fischman, L¹; Cisale, H.¹

Existen diversos protocolos para congelar semen de conejo con diferentes combinaciones de crioprotectores. Sin embargo ninguno ha demostrado ser óptimo para esta especie. El objetivo de este trabajo fue evaluar 4 diluyentes que en su composición presentan diferentes crioprotectores. Se analizaron 21 eyaculados de 7 conejos Neozelandeses. Cada muestra se diluyó en cuatro partes. Se los diluyó 1:1, con: Andromed[®] (A), Triladyl[®] (T), Ferrian (F) y Triladyl[®]+Ferrian (TF). Se estabilizó a

37°C, 15 min. Se enfrió a 20°C, 20 min. Se envasó en pajuelas de 0,25 ml. Se refrigeró hasta 5°C (1°C/3 min). Se estabilizó a 5°C, 1 h. Se congeló en vapores de nitrógeno líquido (NL) a 9 y 4 cm por 5 min. Se sumergieron en NL y se almacenaron durante 1 mes. Se evaluó: movilidad progresiva (MP), integridad acrosómica (IA), viabilidad (V) y funcionalidad de membrana plasmática (HOS) antes del congelado y al descongelado. Los resultados (medias±DE) fueron los siguientes:

	Fresco	A	T	F	TF
MP %	83,81±8,50	4,90±2,81	8,57±4,25	12,95±5,00	36,67±5,99
IA %	85,18±6,64	10,58±5,83	13,18±6,20	18,03±8,58	37,55±8,30
V %	83,72±7,10	8,43±3,22	13,26±5,62	19,45±7,06	40,27±7,96
HOS %	73,58±6,69	7,20±4,48	11,63±5,68	13,73±5,28	32,15±4,28

Para determinar la existencia de diferencias entre los distintos diluyentes se realizó el test de Kruskal Wallis (InfoStat[®] versión 2011). Se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) para todos los parámetros evaluados en las muestras congeladas con el diluyente Triladyl[®]+Ferrian con respecto a las congeladas con los otros diluyentes. La combinación Triladyl[®]+Ferrian fue el que mejor conservó la

calidad espermática de semen de conejo, para el protocolo utilizado de congelado-descongelado. Esto podría deberse a que este diluyente contiene yema de huevo, que estabilizaría las membranas. A su vez, en el diluyente Triladyl[®]+Ferrian se reducen las concentraciones de los crioprotectores: DMSO de 3,5 M a 1,75 M y Glicerol de 4% a 2%, lo que disminuiría la exposición de los espermatozoides a la toxicidad de los mismos.

¹Cátedras de: Física Biológica, ²Carrera de Bioterio
Facultad de Ciencias Veterinarias-UBA

“Pústulas” en la membrana extraembrionaria de las vizcachas: una característica inusual

Giacchino, M.^{1,2}; Inserra, P.I.F.^{1,2}; Lange, F.D.³; Ferraris, S.R.³; Vitullo, A.D.^{1,2}

Lagostomus maximus es un roedor caviomorfo autóctono de la región pampeana Argentina con características reproductivas únicas: período gestacional prolongado (153-157 días) con reabsorción embrionaria selectiva de todos los embriones, exceptuando los dos más cercano al cérvix. Su placenta comparte características con otros hystricomorfos: discoidal, barrera hemo-monocorial, subplacenta y saco vitelino invertido. El objetivo de este trabajo fue analizar las “pústulas” encontradas en la membrana extraembrionaria con la finalidad de detectar su posible participación en el proceso de reabsorción. Se utilizaron 12 hembras de *Lagostomus maximus*. Se realizó ecografía transabdominal para clasificarlas en los siguientes grupos: no preñadas (n=3); preñadas tempranas (20-70 días, n=3); preñadas intermedias (70-120 días, n=3) y preñadas a término (120-154 días, n=3). Se realizó videoendoscopia vía vaginal con insuflación del aparato reproductivo con CO₂, para visualización de “pústulas” in situ. Se analizó morfología, histología y momento de aparición. Se fijaron en formol 10% para

microscopía óptica y electrónica de barrido y en glutaldehído al 3% para microscopía electrónica de transmisión. Se realizaron tinciones de H-E, PAS y Tricrómico de Masson. Las “pústulas” se observaron únicamente en preñadas, a partir de los 90 días de gestación, sobre saco vitelino. El amnios se mantuvo avascular y libre de “pústulas” durante toda la gestación. En las endoscopías se visualizaron como perlas blanquecinas de 1mm en el espacio extracelómico siguiendo el recorrido vascular. El análisis histológico mostró sobre el saco vitelino visceral estructuras macizas rodeadas por epitelio cilíndrico, tejido conectivo laxo, fibroblastos y colágeno en capas en espiral. Se observaron 2 o 3 pedículos por estructura esférica, que los une al saco vitelino. En vizcacha sería un parámetro útil para determinar la edad gestacional: su presencia indica gestación mayor a 90 días. Si bien no se conoce la función de esta estructura inusual, presente en pocas especies (rata de caña, elefantes, rinocerontes y el cerdo hormiguero), su histología permitiría asociarlo con excrecencias mesodérmicas.

¹Centro de Estudios Biomédicos, Biotecnológicos, Ambientales y Diagnóstico (CEBBAD), Universidad Maimónides, Buenos Aires, Argentina. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ³Centro de Investigación y Desarrollo en Medicina Experimental (CIDME), Universidad Maimónides, Buenos Aires, Argentina.

Nuevos biomarcadores en la enfermedad de chagas: un enfoque proteómico. Resultados preliminares en modelo murino de infección aguda con *T. Cruzi*.

Gulin, J.e.n.¹; Brossas, J.y.^{2,3,4}; García-Bournissen, F.¹; Mazier, D.^{2,3,4}; Altcheh, J.¹.

La Enfermedad de Chagas, causada por *Trypanosoma cruzi*, constituye un grave problema de salud pública. El criterio de cura actual se basa en la negativización de anticuerpos anti *T. cruzi*. La seroconversión ocurre varios años después, requiriendo largos tiempos de seguimiento. La obtención de marcadores de éxito terapéutico es esencial para el seguimiento de pacientes y la evaluación de nuevas drogas para tratamiento. Se empleó un modelo de infección aguda en ratones infectados con cepa VD de *T. cruzi*, tratados con Benznidazol, Nifurtimox o placebo (NT). Se obtuvieron sueros a los 0, 5, 20, 40 y 50 días post infección que fueron analizados por espectrometría de masa MALDI-

TOF, para establecer una lista de péptidos de bajo peso molecular y determinar presencia, ausencia e intensidad entre los grupos. Luego, las muestras fueron sometidas a electroforesis en gel de acrilamida y digestión trípica para analizarlas por cromatografía líquida (LC-MS/MS). Se obtuvieron 4 eluciones y se identificaron 100 picos, con diferencias en la expresión entre animales tratados y no tratados. Se observó un péptido de 5978 Da de alta intensidad en NT y en animales tratados no curados. El análisis del perfil de proteínas séricas reveló péptidos candidatos como marcadores diagnósticos. Se procederá a identificar estas proteínas y a validarlas en muestras clínicas de pacientes.

¹Servicio de Parasitología y Chagas – Hospital de Niños “Dr. Ricardo Gutiérrez”, Bs. As., Argentina. ²Inserm U1135. ³Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UMRS1135. ⁴APHP, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Service de Parasitologie-Mycologie, París, Francia.

Producción de anticuerpos y su aplicación en técnicas de ELISA para el diagnóstico de paratuberculosis

Hermida, H.¹; Colavecchia, S.¹; Fortuny, M.L.¹; Suhevic J.²; Mereb, G.³; Mundo, S.¹

La paratuberculosis es una enfermedad crónica causada por *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis. Para evaluar esta infección en ciervos es necesario el uso de reactivos específicos importados, para ello se plantea el desarrollo de un ELISA-PPA utilizando los anticuerpos específicos producidos en nuestro laboratorio. Una mezcla de sueros de ciervo se semipurificaron con sulfato de amonio (Ig-c). A fin de producir el anti-Ig de ciervo (a-Ig-c) se inocularon 2 conejos con 3 dosis de 1 mg de Ig-c emulsionado en adyuvante de Freund incompleto cada 15 días. El suero de conejo obtenido se semipurificó con la misma metodología. El a-Ig-c se caracterizó por ELISA utilizando un anticuerpo anti-IgG de conejo marcado con peroxidasa (KPL) frente a sueros de ciervo y de otras especies. Los resultados obtenidos se compararon con un reactivo

comercial (anti-IgG de ciervo conjugado, KPL). 48 sueros de ciervos provenientes de campos de cría y un control positivo (cultivo de materia fecal positiva) preadsorbidos con *M. phlei* (1/100) se analizaron en un ELISA-PPA. El título del a-Ig-c producido fue 256000, mientras que para el anti-IgG de ciervo comercial fue de 400. Las reacciones cruzadas fueron: >64000 para ovino, cabra, bovino, llama y muflón, 32000 para porcinos, 8000 para murinos y equinos, 4000 para caninos, <2000 para ñandúes. El suero control positivo evaluado por ELISA-PPA mostró un valor de 1,8 DO, además esta técnica permitió detectar diferencias entre los 48 sueros. A partir de estos resultados se proyecta la aplicación de nuestro anticuerpo en muestras evaluadas y caracterizadas por SENASA a fin de considerar la disminución de importaciones en reactivos diagnósticos.

¹Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. ²Escuela agropecuaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos. ³Práctica profesional privada.

Infeción experimental de terneros con *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis: carga bacteriana y lesiones

Ingratta, G.¹; Fernández, B.¹; Jolly, A.¹; Colavecchia, S.¹; Minatel, L.²; Mundo S.¹

La paratuberculosis es una patología crónica intestinal de rumiantes causada por *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (Map). Las pruebas diagnósticas actuales poseen baja sensibilidad y aún existen interrogantes acerca de la diseminación de Map en los tejidos en el estadio subclínico. El empleo de modelos de infección *in vivo* podría aportar conocimientos que permitan predecir la evolución de la patología y mejorar las estrategias diagnósticas. El objetivo fue describir la infección de terneros desafiados experimentalmente con 2 aislamientos locales de Map, mediante la cuantificación de la carga bacteriana (UFC/g) y la evaluación de la existencia, distribución, número y tipo de lesión en distintos tejidos. Se desafiaron terneros Holando-Argentino de 2 meses, vía oral (leche) con una dosis semejante de: I- Aislamiento de Map patrón RFLP-A (n=3), II- Aislamiento de Map patrón RFLP-C (n=2), III- control sin desafiar (n=2). A los 180 días post-desafío, se obtuvieron muestras de: íleon distal (Id), válvula ileocecal (Vi), linfonódulo ileocecal (LNi) y mesentérico (LNM) e hígado (H). Se realizó Ziehl-Neelsen directo (ZNd) a partir de

los inóculos a cultivar, cultivo bacteriológico, análisis histopatológico (Hematoxilina-Eosina, HE y ZN). El 50% de los ZNd dieron resultados positivos en los infectados, mientras que el cultivo de los tejidos permitió confirmar la infección del: 100%, a partir de LNM; 80%, de Vi; 60%, de LNi y 40%, de H. Los LNM y LNi fueron los que presentaron mayor carga bacteriana. Se detectaron diferencias en el número de lesiones en los LN entre los aislamientos: más de 10 granulomas/corte en el grupo II respecto del grupo III (< 5 granulomas, p = 0,06, prueba t-Student, muestras independientes). El modelo de infección fue efectivo dado que de todos los animales infectados se pudo aislar Map de tejidos mientras que los animales controles fueron negativos en todos los casos. Los LN, especialmente el LNM, podrían ser una muestra relevante en el diagnóstico precoz de esta patología. Se pudo demostrar la presencia de Map en hígado en este modelo de infección temprana. Los aislamientos estudiados mostraron comportamientos similares excepto en el número de granulomas, lo que podría indicar diferencias en la patogenicidad. Más estudios deberían realizarse para confirmar esta hipótesis.

¹Cátedra de Inmunología. ²Cátedra de Patología. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Buenos Aires.

Paratuberculosis bovina: función de los anticuerpos anti-lipoarabinomanano en la infección

Jolly, A.^{1,4}; Stempler, A.¹; Fortuny, M.L.¹; Ingratta, G¹; Lomparúa, S.^{3,4}; Boviez, J.²; Lombardo, D.²; Hajos, S.^{3,4}; Mundo, S.I.¹

La paratuberculosis es una enteritis crónica de rumiantes. Si bien *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis (Map) es una bacteria intracelular, la presencia de anticuerpos (Acs) específicos al momento de la infección podría modular la respuesta del huésped. El objetivo fue evaluar el efecto de la opsonización de Map con Acs anti-lipoarabinomanano (LAM, antígeno inmunodominante de Map) sobre la respuesta a la infección en dos modelos: macrófagos bovinos y loops intestinales en terneros. Se emplearon Acs séricos de bovinos inmunizados con LAM (AcI, n=3) o sanos (AcNoI, n=2) para pretratar Map. Luego, se infectaron macrófagos bovinos *in vitro* y se estudiaron los niveles de apoptosis (a las 24 h) por tinción con Naranja de Acridina/Bromuro de Etidio (NA/BE) y microscopía, y por citometría de flujo con Anexina V/7-AAD); y los niveles de TNF α secretados (a las 2 h), por ELISA. Para el modelo *in vivo*, se realizó la infección quirúrgica de loops intestinales (por 3,5 hs) de 3 terneros con: Map en PBS (M_PBS), o preincubada con Acs (M_AcI o M_AcNoI). Se

tomaron muestras para análisis histopatológico, identificación bacteriana y evaluación de los niveles tisulares de TNF α e IL-10. *In vitro*, la presencia de Acs anti-LAM incrementó significativamente los % de apoptosis: por NA/BE M_AcI: 15,8 \pm 1,0; M_AcNoI: 9,9 \pm 5,4; M_PBS:10,8 \pm 3,7 y por citometría de flujo M_AcI: 24,3 \pm 4,1; M_AcNoI:16,8 \pm 3,0; M_PBS: 12,5 \pm 1,1; p<0,05, ANOVA y Test de Dunnett. Hubo una tendencia al aumento de TNF α , en presencia de AcI. *In vivo*, no se encontraron diferencias significativas en los resultados del PCR-IS900 tiempo real. Sin embargo, las UFC recuperadas de los loops M_AcI fueron significativamente menores que para M_AcNoI (3,6 \pm 1,7 x 10⁴ vs. 8,3 \pm 1,3 x 10⁴ UFC/g tejido, p<0,05, ANOVA para dbca y Test de Dunnett). Nuevamente encontramos una tendencia al aumento en la expresión de TNF α en M_AcI (RT-PCR tiempo real). Estos resultados indican la capacidad de los Acs anti-LAM de modular la respuesta a la infección por Map, tanto *in vitro* como *in vivo*.

¹Cátedra de Inmunología, ²Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. ³Cátedra de Inmunología-Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA-CONICET. ⁴CONICET.

Observación de los cartílagos de crecimiento en conejos neozelandeses con ultrasonografía musculoesquelética

Jurado, A.; Fort, S.; Scherbuk, C.; Mercado, M.; Pallares, C.

Es frecuente el uso de la ultrasonografía (US) musculoesquelética en Medicina Humana, es un estudio dinámico, no invasivo y de bajo costo. Hay poca evidencia científica en cuanto a técnicas e imágenes en medicina veterinaria de pequeños animales. El objetivo de este trabajo fue observar mediante ultrasonografía los cartílagos de crecimiento de miembro anterior y posterior en conejos neozelandeses durante la fase de crecimiento. Se observaron 10 conejos neozelandeses de 2 meses de edad hasta completar su crecimiento. Se utilizó un ecógrafo, SonoScape A6V/A5V con traductor lineal de 7,5-12 MHz. Se realizaron radiografías (RX) y resonancia magnética (RMN) como métodos complementarios de control. A medida que se produce la maduración ósea

las imágenes ecográficas varían de tejido hipoeoico a tener sombra acústica. En este trabajo pudimos observar que la US musculoesquelética resultaría una herramienta útil ya que el cartílago de crecimiento de los animales en desarrollo, tiene un elevado contenido en agua (tejido hipoeoico), constituyendo por esto un tejido viable para la observación mediante esta técnica y además nos permite obtener imágenes bien localizadas del cartílago de crecimiento. Para este estudio es un método complementario intermedio entre la radiografía y Resonancia Magnética. Si bien esta última, da imágenes más detalladas, actualmente resulta muy costosa y requiere sedación del paciente. La US podría utilizarse como complemento de la RX.

Estudio epidemiológico de caninos seropositivos a *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* ingresados al Hospital Escuela FCV-UBA

Loiza, Y.; Daprato, B.; Suraniti, A; López, C.; Sommerfelt, I.E.

Introducción: *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* son protozoarios del filum Apicomplexa, distribuidos mundialmente. En caninos domésticos, ambos pueden provocar signología neurológica, además puede llegar a encontrarse una co-infección debiendo considerarse en el diagnóstico diferencial. Los perros pueden actuar como hospedadores intermediarios de *T. gondii*, quien es considerado como patógeno oportunista en esta especie. Los caninos son hospedadores definitivos de *N. caninum*. Éste es similar a *T. gondii* pero con comportamiento biológico y capacidad antigénica diferente. La técnica de IFI es de elección para la detección de anticuerpos contra *T. gondii* y *N. caninum* ya que ha demostrado ser la que menor reactividad cruzada presenta. Objetivo: conocer la seroprevalencia de co-infección entre *T. gondii* y *N. caninum* y analizar los posibles factores de riesgo asociados en caninos que demandaron atención médica al Hospital Escuela FCV-UBA. Materiales y métodos: Se realizaron encuestas epidemiológicas a tenedores responsables de caninos que demandaron atención médica al Hospital Escuela FCV-UBA. Se relevaron datos demográficos (edad,

sexo, origen) y sobre hábitos (predación de aves o roedores y salida a espacios públicos). Además se recolectaron los datos serológicos de estos caninos, obtenidos anteriormente en el laboratorio de la cátedra de Veterinaria en Salud Pública mediante la técnica de IFI. La base de datos y el análisis estadístico-epidemiológico se realizó en el programa EPIINFO 3.5 (2009). Resultados: Se analizaron un total de 350 muestras encontrándose una seroprevalencia de co-infección del 14,6%. Se encontró asociación estadística significativa en las variables origen calle/refugio (X^2 $p=0,0076$; OR=2,32 IC= 1,18-4,57), presencia de signología neurológica compatible (X^2 $p=0,0380$; OR=1,32 IC= 1,04-3,97) y hábito de caza (X^2 $p=0,0012$ OR=3,19 IC=1,45-7,02). Conclusiones: Se describen como posibles factores de riesgo para co-infección ser originario de calle/refugio y el hábito de caza. Esto sumado a la seroprevalencia hallada podría señalar que ambos parásitos compartirían fuentes de infección. La asociación con la presencia de signología nerviosa indicaría una mayor probabilidad de presentar estos signos cuando hay co-infección que en infecciones simples.

Postnatal exposure to a progestin does not prevent uterine adenogenesis in domestic cats

Lopez Merlo, M.; Faya, M.; De La Sota, P.; Carranza, A.; Barbeito, C.; Gobello, C.

Neonatal progestin treatment in sheep and mice inhibited the development of uterine glands leading to a permanent aglandular uterine phenotype and producing infertility. An approach of this kind may provide a permanent contraceptive strategy with application in companion animal species for addressing overpopulation problems. The aim of the present study was to evaluate the effect of postnatal administration of a progestin on uterine glands and fertility in domestic cats. Secondly, the clinical safety of the treatment was also assessed. Ten postnatal female kittens were assigned to one of these pharmacological protocols: Medroxyprogesterone acetate 10 mg SC (MPA; n=6) or Placebo: 0.2 cc corn oil SC (PLC; n = 4). All the animals were followed up until puberty (body weight, sexual behavior, clinical side effects) and then exposed to a fertile tomcat. Blood samples were taken for ovulation assessment, gestation was diagnosed by ultrasound and then the females underwent ovariohysterectomy. The uteri were examined macro and microscopically (H&E; ImagePro

Plus). Differences between groups were carried out by Fisher Exact and Student's t tests. Data were expressed as mean \pm SEM and values $P < 0.05$ were considered significant. Ovulation occurred in 7 (4/6 MPA and 3/4 PLC; $P > 0.1$) of the 10 queens after the matings. The 7 ovulated queens also demonstrated to be fertile without differences between treatment groups ($P > 0.1$). No clinical side effects were observed ($P > 0.1$) except one pregnant MPA queen that presented an open cervix pyometra. Microscopic assessment of the uteri revealed the presence of uterine glands in all the cases. In the MPA treated queens the area occupied by uterine glands per μm^2 of endometrium (0.55 ± 0.02 vs. 0.49 ± 0.04 ; $P > 0.1$) and the height of the uterine epithelium (μm ; 24.5 ± 0.7 vs. 24.4 ± 1.0 ; $P > 0.1$) did not differ from the PCB group. It is concluded that a single postnatal supraphysiological dose of medroxyprogesterone acetate did not ablate uterine adenogenesis in domestic cats. Furthermore, this treatment seemed to predispose to uterine disease without prevention of fertility.

Farmacocinética plasmática de cefuroxima luego de su administración intravenosa, subcutánea e intramuscular a gatos

Lorenzini, P.; Passini, S.; Aramoyana, S.; Lupi, M.; Montoya, L.; Albarellos, G.

La cefuroxima (CFU) es una cefalosporina de segunda generación activa sobre gram-positivos (estafilococos y estreptococos), gram-negativos (enterobacterias), aerobios y anaerobios. Tiene una actividad antibacteriana tiempo-dependiente, por lo que el T>CIM (tiempo en que las concentraciones plasmáticas permanecen por encima de la concentración inhibitoria mínima) es el parámetro que mejor correlaciona con la eficacia clínica. Tiene una distribución amplia en el líquido extracelular y se elimina en forma activa por vía renal. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar y comparar el perfil farmacocinético plasmático de cefuroxima administrada a gatos por vía intravenosa, subcutánea e intramuscular bajo condiciones quirúrgicas. Las muestras de plasma se obtuvieron de gatos (EV: n=7; SC: n=5; IM: n=5) en condiciones quirúrgicas y bajo anestesia general. Se utilizó cefuroxima sódica (Cefuroxima Richet 1,5 g[®], Richet, Argentina) en una dosis de 20 mg/kg por las distintas vías. Se obtuvieron muestras plasmáticas seriadas, entre 5 y 360 minutos luego de su administración. Las concentraciones de cefuroxima se determinaron por el método microbiológico y los parámetros

farmacocinéticos se calcularon mediante el programa PcNonlin 4.0 y GraphPad Prism 5.0. Luego se estimaron los predictores de eficacia clínica (T>CIM) a partir de las curvas de disposición plasmáticas, utilizando valores bibliográficos de CIM (4µg/mL). Los parámetros farmacocinéticos (media±ds) para la vía IV fueron: AUC (µg.h/mL): 110.03 ±31.84; T_{1/2} (h): 1.25±0.15; V_{ss} (L/kg): 0,31±0,08; CB (L.h/kg): 0.2±0.06; C_{p0} (µg/mL): 109.76±38.85. Para la vía IM : AUC(µg.h/mL): 81.98 ±11.29; T_{1/2}(h): 1.02±0.14; C_{max}(µg/mL):54.51±7.89; T_{max} (h): 0.21 ± 0.11; Para la vía SC: AUC(µg.h/mL): 93.09 ±26.84; T_{1/2}(h): 1.67±0.09; C_{max}(µg/mL): 28.90±5.73; T_{max} (h): 1 ± 0.59. No se observaron diferencias significativas entre los parámetros estudiados. La actividad antimicrobiana de CFU se mantuvo por sobre la CIM: 4 µg/ml durante 4.5 h para la vía IV, 5 h para la vía IM y 5.5 h para la vía SC. Según estos resultados, si se utiliza CFU en gatos bajo condiciones quirúrgicas y anestesia general, CFU debería administrarse cada 9 h (IV), 10 h (IM) y 11 h (SC) a una dosis de 20 mg/kg para el tratamiento de infecciones producidas por microorganismos susceptibles.

Agregado de antioxidantes durante la aspiración folicular: efecto sobre el desarrollo *in vitro* de Ovocitos porcinos

Lorenzo, M.S.; Lombardo, D.M.

Un ambiente redox balanceado es importante para la calidad ovocitaria. La acumulación de especies reactivas derivadas del oxígeno (ERO) y la disminución de los niveles de antioxidantes están involucrados en la inducción de apoptosis. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del agregado de un antioxidante, dimetiltiourea (DMTU) durante la aspiración folicular sobre los niveles ovocitarios de ERO, la maduración nuclear y citoplasmática y la apoptosis en ovocitos porcinos. El medio de aspiración y lavado en el control fue TCM 199 suplementado y en los tratamientos se agregó DMTU a 2mM y 20mM respectivamente. En ovocitos inmaduros, los niveles de ERO se determinaron por la intensidad de fluorescencia del 2',7'-diclorodihidrodiacetato de fluoresceína valorada por análisis digital de la transmitancia. Luego de 44 h de maduración *in vitro* (MIV) se evaluó el porcentaje de maduración nuclear

por la tinción con Hoechst 33342, apoptosis temprana por Anexina V y tardía por TUNEL. Se realizó la fecundación *in vitro* (FIV) con semen fresco a una concentración de 1×10^6 espermatozoides/mL durante 6 h. Los presuntos cigotos se lavaron y cultivaron hasta el día 2 de desarrollo embrionario y se determinó el porcentaje de clivaje por observación bajo lupa estereoscópica. Los niveles ovocitarios de ERO disminuyeron en los dos grupos tratados con respecto al control ($p \approx 0$), sin encontrar diferencias estadísticamente significativas para el porcentaje de maduración nuclear. Respecto a la apoptosis, la tendencia indica que los tratamientos con DMTU la disminuyen con respecto al control quedando pendiente analizar estadísticamente los resultados de apoptosis y aumentar el tamaño muestral de la FIV para así poder verificar el efecto de DMTU sobre la maduración citoplasmática ovocitaria.

Evaluación de la cinética de anticuerpos aglutinantes en caninos, posterior a la vacunación contra *Leptospira interrogans*. Resultados preliminares

Luciani, M.E.¹; Gorordo, M.L.¹; Adrien Rüegger, M.J.¹; Nicolino, E.H.¹; Liguori, E.A.¹; Pidone, C.L.¹; Francois, S.E.²

La leptospirosis induce una rápida respuesta inmune humoral en los animales que la padecen y la prueba de referencia para su diagnóstico es el Test de Aglutinación Microscópica (MAT), que detecta anticuerpos aglutinantes de los tipos IgM e IgG. El objetivo de este estudio fue determinar mediante el MAT si los títulos de aglutininas IgM e IgG igualan o superan el punto de corte del test, en un período de 30 días posterior a la vacunación con dos dosis contra *Leptospira interrogans* en perros. Se muestrearon 12 perros de diferentes razas, sexo y edades, provenientes de refugios y casas particulares. Se tomaron 3 muestras de suero sanguíneo por cada animal, la 1era. fue extraída en forma previa a la vacunación para descartar a los animales con títulos de anticuerpos preexistentes; la 2da. y la 3era. fueron obtenidas posteriormente a la aplicación de la última dosis de vacuna, una a los 15 y la otra a los 30 días respectivamente. Los sueros se procesaron mediante MAT, empleando los serovares indicados para la especie canina. Para la vacunación se utilizó una bacteria

comercial tetravalente inactivada contra *L. interrogans* serovares: Pomona, Canicola, Icterohaemorrhagiae y Grippotyphosa. El análisis de las muestras de suero obtenidas en forma previa a la vacunación permitió observar que 3 sueros presentaron títulos de IgM e IgG, por lo que se continuó el estudio solamente con los 9 que se hallaron negativos. En el análisis serológico realizado a los 15 días posteriores a la vacunación se observó que 5 (5/9) animales fueron negativos al MAT, hallándose 4 (4/9) seropositivos con títulos de 1:100 a 1:200 a Icterohaemorrhagiae, Pomona, y Canicola indistintamente. En el análisis a los 30 días después de la vacunación, se observó que sólo 2 (2/9) perros permanecieron seropositivos manteniendo un título de 1:100 a Icterohaemorrhagiae. Como se pudo observar, algunos perros permanecen seropositivos, por lo cual concluimos que la vacunación reciente contra leptospirosis es un dato importante a tener en cuenta a la hora de realizar el diagnóstico serológico.

¹Catedra de Enfermedades Infecciosas y ²Laboratorio de Diagnóstico de leptospirosis de la Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias. UNR. Casilda. mel1756@hotmail.com

Ecografía doppler transcraneal en pacientes craneotomizados. Presentación de protocolo de investigación

Mamani, C.M.¹; Raffa, P.²

La aplicación de la ecografía doppler en el sistema nervioso central permite la medición de las características hemodinámicas de los principales vasos sanguíneos. En los pacientes sometidos a resección quirúrgica del cráneo por diversas patologías, es posible el desarrollo de alteraciones clínicas y circulatorias, resultantes del cambio de los gradientes de presión intracraneanos. La realización de una reconstrucción diferida (plástica craneal) está propuesta como terapéutica tendiente a restablecer la simetría craneal, tratar los síntomas secundarios a la ectomía y restablecer los parámetros hemodinámicos. El objetivo del presente trabajo fue presentar los resultados parciales sobre un protocolo de investigación hospitalario, consistente en la medición de las características perioperatorias del flujo encefálico en pacientes sometidos a plástica craneal, así como las características clínicas neurológicas y cognitivas relacionadas. Se seleccionaron pacientes adultos con diagnóstico de trauma grave de

cráneo y sometidos a craneotomías de urgencia. Se efectuaron las mediciones hemodinámicas, a través de la ecografía doppler transcraneal, así como las evaluaciones clínica y neurológica-cognitiva en forma anterior y posterior a la reconstrucción craneal. El presente protocolo se encuentra en desarrollo actualmente. En el seguimiento a mediano plazo (menor a 6 meses) de los pacientes incorporados es posible la modificación de los parámetros hemodinámicos (aumento del flujo cerebral) luego de la reconstrucción craneal, no así en la variación de los parámetros cognitivos (sin variación perioperatoria en Test del Reloj, Mini Mental State Exam y Test de Inteligencia de Wechsler). La realización de una investigación que combine la medición de los parámetros hemodinámicos junto a la evolución clínica neurológica de los pacientes sometidos a plástica craneal persigue evaluar la utilidad de este procedimiento quirúrgico como terapéutica.

¹Hospital General de Agudos Mariano y Luciano de la Vega (Moreno); ²Hospital General de Agudos Prof. Dr. Ramón Carrilo (Ciudadela)

Aislamiento de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 productor de toxina shiga en la CABA

Marey, E.; Cundon, C.; Bisso, C.; Broglio, A.; Roldan, F.; Calzetta Resio, A.; Bentancor, A.

Argentina es el país que cuenta con la mayor incidencia mundial de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). *Escherichia coli* O157:H7 productor de toxina Shiga (STEC) causa el 60% de casos en nuestro país. Se considera que la carne molida es la principal fuente de infección y que los bovinos son los principales reservorios. Nuestros estudios se enfocó en CABA considerando dos áreas definidas previamente, una de riesgo epidemiológico (RE) identificada por la alta presencia de casos de SUH y un área control (C). Se censaron las bocas de expendio público de carne en ambas áreas y se obtuvieron muestras de carne molida por compra, seleccionados en forma aleatoria. Se identificaron 137 carnicerías en el área RE y 39 en el área C, analizándose 170 y 101 muestras respectivamente, con hasta 7 muestreos independientes a lo largo del estudio por boca de expendio. Para aislamiento de STEC O157 se suspendió 65 g de muestra en 585 ml CTSm+n, se homogeneizó 2 minutos y se incubó a 42°C/20 horas. Se realizó separación

inmunomagnética y se sembró en SMAC-CT el cual se incubó a 36°C/24 horas. De la zona de confluencia se realizó tamizaje por PCR para los genes *stx1* y *stx2*. De las muestras positivas al rastrillaje de estos genes se aislaron cepas que fueron categorizadas por sus marcadores *eae/ehxA/saa* y posteriormente se serotipificaron. La prevalencia global de contaminación fue 11,07%, correspondiendo 12,35% (21/170) en el área RE y 8,91% (9/101) para el área C. Se aislaron 5 cepas STEC O157 en RE cuyos perfiles fueron *stx2/eae/ehxA* (40%) y *stx2/ehxA* (60%); y en C se aisló una cepa O157 *stx2/ehxA*. Al análisis estadístico con el test de diferencia de proporciones no se observaron diferencias en el grado de contaminación, ni en los factores de virulencia prevalentes por área. Debido a que las áreas seleccionadas mantienen diferencia en la incidencia de casos de SUH, esta podía deberse a causas externas al grado de contaminación de la carne picada, o la combinación de un conjunto de variables.

Tipificación molecular de aislamientos de mycobacterium bovis obtenidos de bovinos de la producción lactea y cárnica

Marfil, M.J.¹; Martinez Vivot, M.²; Falzoni, E.²; Zumarraga, M.¹; Barandiaran, S.²

La Tuberculosis bovina es una enfermedad producida por *Mycobacterium bovis*. Produce enfermedad en bovinos, pero puede afectar otras especies y tiene potencial zoonótico. En la Argentina hay un Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis (SENASA, 2012), que es de cumplimiento obligatorio en el ganado lechero y cabañas, no siendo así para la producción cárnica. Sin embargo en el Programa Regional de la provincia de Santa Fe, ya es obligatorio iniciar el saneamiento en la zona de control avanzado inclusive en los bovinos destinados al consumo de carne. Los objetivos fueron: Caracterizar genéticamente mediante la técnica del Spoligotyping aislamientos obtenidos a partir de muestras decomisadas de faena de bovinos de carne y de leche. Analizar los spoligotipos de las micobacterias aisladas para poder establecer una relación entre tipo de producción, localización de la lesión involucrada, vía de ingreso y patrón genético del aislamiento. Materiales y métodos: Se estudiaron mediante la técnica de Spoligotyping, 38 aislamientos de *M. bovis* provenientes de muestras de órganos bovinos decomisados por

presentar lesiones compatibles con tuberculosis. Las muestras se obtuvieron de dos frigoríficos en Casilda, provincia de Santa Fe. Se clasificaron los datos según finalidad productiva, sitio donde se observó principalmente la lesión (aparato respiratorio, aparato digestivo) y spoligotipo obtenido. Resultados: De los 38 aislamientos, 22 pertenecían a la producción cárnica y 16 a la lechera. Se observaron 12 spoligotipos diferentes de los cuales 7 compartían las dos producciones, siendo el mayoritario el mismo en las dos (spol 34). Se observó que en la producción lechera estaba mayormente involucrado el ingreso por vía digestiva (11) y en los bovinos de carne la respiratoria (22). Conclusiones: Las dos producciones comparten los mismos patrones genéticos de micobacterias y el spoligotipo mayoritario es el mismo, sin embargo se observó mayor variabilidad genómica en la producción cárnica que en la lechera. Por otro lado la mayor asociación entre la vía de ingreso digestiva y los bovinos de leche podría explicarse debido a la alimentación de los terneros en las guacheras con leche sin pasteurizar de bovinos infectados con TBC.

¹Instituto de Biotecnología, INTA; ²Cátedra de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.

Cocultivo con células de granulosa bovina (pasaje 1): efectos sobre los niveles de ero y la maduración citoplasmática de ovocitos bovinos

Maruri, A.; Lombardo, D.M.

La producción *in vitro* de embriones (PIV) es un proceso caracterizado por la recuperación y la maduración de los ovocitos (MIV), la fecundación (FIV) y el cultivo *in vitro* (CIV) de embriones producidos. Varios estudios indican que la calidad de los ovocitos es el principal factor que afecta los rendimientos. Marcadores intrínsecos como la apoptosis y los niveles de especies reactivas del oxígeno (ERO) han sido reportados como indicadores de la competencia de los ovocitos. Varios sistemas de cocultivo con células somáticas se utilizaron para optimizar la PIV. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del cocultivo con células de granulosa bovina del pasaje 1 (CGB-P1) sobre los niveles de ERO de ovocitos bovinos y la maduración citoplasmática a través del porcentaje de clivaje post FIV. Células de granulosa fueron obtenidas por punción folicular de ovarios de faena en fase luteal, cultivadas hasta confluencia en medio DMEM-F12 suplementado y criopreservadas. Complejos cumulus ovocito clase A, se aislaron y maduraron *in vitro* durante 22 h en dos grupos: control (C) en TCM 199+10% SFB y cocultivo con CGB-P1 (G). Los niveles de ERO fueron determinados por la intensidad de la

fluorescencia del 2',7'-diclorodihidrodiacetato de fluoresceína determinado por valoración de la transmitancia (T) en ambos grupos. Asimismo, se realizó la FIV con 1×10^6 espermatozoides/mL durante 5 h de coincubación, en medio BO, utilizando en este caso gonadotrofinas durante la MIV en el grupo control. Luego, los presuntos cigotos fueron cultivados en medio SOF modificado en atmósfera con 5% de CO₂ saturada de humedad a 39 °C. En el día 2 post FIV se determinó bajo lupa estereoscópica el porcentaje de embriones clivados. El cocultivo con CGB-P1 incrementó significativamente los niveles de ERO respecto del control (TC=26, n=72; TG=39, n=65) ($p \approx 0$). Los resultados preliminares indicarían porcentajes de clivaje similares (cercaos al 80%) (n=254) utilizando CGB-P1 o gonadotrofinas durante la MIV. Las CGB-P1 incrementan los niveles de ERO sin evidenciar efectos nocivos, contrariamente incrementan los porcentajes de maduración nuclear respecto del control. De esta forma, planteamos a las CGB-P1 como una alternativa al uso de hormonas, debiéndose evaluar su efecto sobre la calidad y cantidad de blastocistos.

An alternative method for isolating high-purity bovine luteal cells: centrifugation in percoll discontinuous density gradient (PDDG)

Maruri, A.; Bezenzette, G.M.; Teplitz, G.M.; Lombardo, D.M.

Corpus luteum (CL) is a transient endocrine gland, established by residual follicular wall cells (granulosa and theca cells) following ovulation. The main function of CL is the production of progesterone, a hormone which regulates various reproductive functions. There are at least four distinct morphological cell types: large luteal cells, small luteal cells, capillary endothelial cells, and fibroblast cells. The aim of this study was to evaluate the efficacy of a PDDG, to purify luteal cells. The bovine CL from early luteal phase were treated by mechanical and enzymatic digestion to obtain a

primary culture. Once the cells were confluent, were trypsinized and centrifuged in a PDDG (10%, 20%, 30%, 35%, 37.5% and 40%). The purified cells, called passage 1 (P1), were identified by immunocytochemistry for 3β -hydroxysteroid dehydrogenase. We found 100% purity in Percoll density layers 5 and 6 clearly higher than standard technique without selection with Percoll that only reached 80.6 ± 7.02 purity. This method offers a cost effective alternative to isolate luteal cells in high-purity to be able to use as *in vitro* model in various assays.

Análisis de la eficacia antimicrobiana de la amikacina administrada por vía subcutánea a caninos

Monfrinotti, A.; Prados, A.P.; Kreil, V.; Paes Rodriguez, J.; Porta, N.; Rebuelto, M.

La amikacina es un antibiótico aminoglucósido, de destacada actividad contra algunos bacilos gram negativos como *Pseudomonas aeruginosa*. La eficacia antibacteriana de los aminoglucósidos se clasifica como concentración dependiente, siendo los parámetros farmacocinéticos /farmacodinámicos (pK/pD) predictores de eficacia clínica la relación de la concentración máxima en plasma (C_{max}) o el área bajo la curva (AUC) y la concentración inhibitoria mínima (CIM) del patógeno. El objetivo del presente trabajo fue calcular el índice pK/pD C_{max}/CIM de la amikacina luego de su administración por vía subcutánea a caninos sanos. El protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Experimentación (CICUAL) de la FCV, UBA. Se utilizaron 5 caninos adultos (edad promedio 5 años), mestizos, sanos, de ambos sexos, obtenidos de los Caniles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Los animales contaban con un chequeo clínico, bioquímica

sanguínea y análisis de orina dentro de parámetros normales previo al estudio. Cada animal recibió una dosis única por vía subcutánea de 10 mg/kg de amikacina sulfato (Amikacina Richet®) y se calcularon las concentraciones plasmáticas a distintos tiempos postadministración. El índice C_{max}/CIM se calculó tomando la C_{max} observada en la curva de disposición plasmática de cada animal y la CIM reportada en la bibliografía para *Pseudomonas aeruginosa* (2-8 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Los índices C_{max}/CIM (media \pm DS) fueron $14 \pm 1,2$; $7 \pm 0,6$ y $3,5 \pm 0,3$ para valores de CIM de 2, 4 y 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ respectivamente; el coeficiente de variación fue 8,9%. Teniendo en cuenta que C_{max}/CIM es el indicador que mejor predice la eficacia clínica de la amikacina, y que el mismo debería ser mayor o igual a 8 para obtener un buen resultado clínico, nuestros resultados indican que el tratamiento utilizado sería efectivo para bacterias de alta y media susceptibilidad ($CIM \leq 4 \mu\text{g}/\text{ml}$), pero no sería tan efectivo para bacterias de baja sensibilidad (8 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Evaluación del impacto del cáncer en el vínculo humano-animal y su relación con el bienestar animal en caninos

Montagna, D.R.; Tellado, M.; Ferrari, H.R.

El análisis del discurso de los propietarios de mascotas permite abordar su impacto emocional que, junto con la enfermedad y el tratamiento oncológico, modificarían el bienestar animal (BA) de los pacientes. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un modelo de encuesta y analizar el discurso del propietario para evaluar el impacto del cáncer en el vínculo humano-animal y el BA de los caninos. Se realizó una encuesta oral de respuesta abierta a los propietarios de 13 caninos con diagnóstico de cáncer oral/nasal o localmente avanzado, acerca de indicadores de BA preestablecidos, el impacto del cáncer y el tratamiento. Los datos se analizaron en forma cualitativa. 11 de 13 propietarios verbalizaron la angustia. En la mayoría de los casos hicieron referencia a la preocupación que

la enfermedad genera (aumento de atención y cuidados). 9 de 13 observaron cambios en su mascota atribuidos a modificaciones de la rutina establecidas por el propietario (en la alimentación, paseos, hábitos) y en parte como consecuencia de la enfermedad y/o el tratamiento. La encuesta permitió establecer el perfil de BA de los pacientes y la angustia que la enfermedad genera en la familia. Algunas preguntas deberían ser reformuladas para minimizar la distancia entre el sentido común y el académico. Se recomienda plantear una estructura de contención familiar e indicar no modificar la rutina del animal sólo por el motivo de la aparición de la enfermedad en sí misma, sino realizar cambios fundamentados en la mejora de su bienestar.

Adherencia y producción de biofilm *in vitro* de *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus*

Muñoz, A.; Etchecopaz, A.; Bustos C.; Perez A.; Moras, E.; Guida, N.

El género *Streptococcus* posee múltiples adhesinas que se expresan según las condiciones del ambiente y esto determina la especificidad de los tejidos. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S zooepidemicus*) no es específico de una especie, sino que tiene la capacidad de adherirse a diferentes tejidos de distintas especies animales. La producción de biofilm le confiere mayor propiedad de adherirse a las superficies y le brinda protección contra el sistema inmune, agentes antimicrobianos y desinfectantes. El objetivo del trabajo fue determinar la adherencia de *S zooepidemicus*, mediante la utilización de una línea celular y la producción de biofilm. Se utilizaron aislamientos de *S zooepidemicus* provenientes de mucosas vaginales y de nasofaringe de equinos clínicamente sanos. Se evaluó la adherencia

celular, utilizando una monocapa de células MDBK (línea celular de riñón bovino Mardin Darby). La producción de biofilm se evaluó por medio de la técnica en portaobjetos con la tinción de Alcian Blue. Se demostró la adherencia a las células MDBK y a portaobjetos con la producción de biofilm. Todos los aislamientos presentaron adherencia, siendo alta en un 50%. Observamos un alto porcentaje de adhesión en la mayoría de los aislamientos. Debemos tener en cuenta que utilizamos una línea celular bovina, indicando que puede adherirse a células de otra especie. *S zooepidemicus* necesita tener gran capacidad de adherirse a las células del huésped, porque garantiza su permanencia en las mucosas. La adhesión a las células favorecería la agregación de bacterias, que es una condición previa para la formación de biofilm.

Fagocitosis *in vitro* de *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* con células mononucleares de equinos

Muñoz, A.¹; Bustos, C.¹; Etchecopaz, A.¹; Puigdevall, T.²; Testorelli, F.²; Moras, E.¹; Guida, N.¹

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* (*S zooepidemicus*) actúa como patógeno oportunista en equinos en el tracto respiratorio y reproductivo. Está asociado a numerosas patologías como endometritis, placentitis, neumonías, linfadenitis, entre otras. La resistencia a la fagocitosis está determinada en primera instancia por la presencia de cápsula de ácido hialurónico. Los objetivos fueron: aislar monocitos de sangre equina y realizar un ensayo de fagocitosis *in vitro* con aislamientos de *S zooepidemicus* de mucosas equinas de animales sanos, con y sin capsula. Se realizó una monocapa de monocitos extraídos de sangre equina con HISTOPAQUE-1077

(Sigma®). A las 24 horas se inoculó una concentración conocida de *S zooepidemicus*. Luego de la incubación y del lavado de la monocapa, se utilizó la tinción de Giemsa para realizar el conteo de 100 células fagocíticas y se determinó el porcentaje de fagocitosis. Se aislaron monocitos de sangre yugular equina y se realizó el ensayo observándose una resistencia a la fagocitosis entre un 60% y 100%. No se encontró correlación al comparar el porcentaje de fagocitosis con la presencia de cápsula. La fagocitosis es un mecanismo en el cual pueden influir otros factores además de la cápsula. La extracción de monocitos de sangre equina podría utilizarse para diferentes ensayos *in vitro*.

¹Cátedra de Enfermedades Infecciosas, ²Cátedra de Microbiología. FCV. UBA.

Expresión diferencial de las moléculas de unión E y N-cadherina en el sistema gonadal de columba livia (aves: columbiformes)

Olea, G.b.¹; Aguirre, M.v.¹; Lombardo D.m.²

La organización espacial de las células en diferenciación es un proceso clave en la morfogénesis de los vertebrados. Este proceso implica el movimiento, la separación, y conexión de las células entre sí. Es importante dilucidar los mecanismos moleculares implicados en estos procesos para la comprensión de la morfogénesis animal. Las moléculas de adhesión célula-célula, denominadas cadherinas, están involucradas en la adhesión selectiva. Para el caso de las aves, en *Gallus gallus domesticus* se ha reportado la expresión de dichas moléculas en diversos sistemas de órganos durante el desarrollo embrionario. En este trabajo, se presenta el análisis inmunohistoquímico de la expresión diferencial de las moléculas de unión E y N-cadherina en embriones de *Columba livia* en las diversas etapas de la morfogénesis gonadal. Para ello, en preparados histológicos de testículo y ovario se reveló la expresión de E

y N-cadherina en embriones correspondiente a los estadios 41,43 y en neonatos de 2, 5, 7 y 75 días post-eclosión, utilizando un anticuerpo anti E-cadherina y N-cadherina (1 mg/ml) en una dilución de trabajo 1:100 incubado por 60 min. a 37°C; y revelado según el protocolo indirecto de "L-streptoavidina biotina". A partir de los resultados obtenidos se pudo observar la presencia de marcación específica en ovarios y testículos de N-cadherina en la membrana plasmática y en la zona peri nuclear de las células de la línea germinal. Diferencialmente la expresión de E-cadherina fue observada en las células que constituyen los nidos germinales, foliculares y células de Sertoli. Futuros estudios se focalizaran en determinar la expresión de las moléculas E y N-cadherina durante la migración de las células germinales primordiales y la colonización de la cresta genital.

¹Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. Av. Libertad 3400. Corrientes (Argentina).²Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Chorroarín 280. Buenos Aires. (CABA). C.P. 1428.

Efectos de la deficiencia de cobre inducida por altos niveles de molibdeno y azufre en la dieta sobre el corazón de bovinos

Olivares, R.W.I.; Minatel, L.

La deficiencia de cobre (Cu) cursa con múltiples lesiones debidas a la alteración de enzimas Cu dependientes. El objetivo es comprobar que los bovinos deficientes en Cu tienen alteraciones cardíacas por la menor actividad de estas enzimas. Se realizaron 2 ensayos usando 18 novillos Holando Argentino de 60 días, que se dividieron en 2 grupos. Uno recibió en la dieta Cu adicional (grupo Cu), mientras que el otro grupo recibió Mo y S (grupo Mo). Cada 28 días los animales se pesaron, midiéndose Cu hepático y plasmático. Luego de inducir la deficiencia se practicó la eutanasia. Se pesó el corazón y se midió el espesor de las paredes cardíacas. Se midió Cu tisular, estrés oxidativo por TBARS, actividad de SOD y COX y detectar alteraciones. Al finalizar ambos ensayos, se observó en el grupo deficiente valores de Cu hepático y plasmático compatibles con hipocuprosis no observándose valores deficitarios en los controles (diferencias significativas). No se observaron diferencias en la evaluación macroscópica del corazón. Los valores de Cu cardíaco fueron de $20 \pm 2,4$ ppm para el grupo Cu y $15,5 \pm 1,7$ ppm para el grupo Mo (diferencia significativa). Se observó una tendencia similar en el segundo ensayo ($15,5 \pm 2,0$ ppm para el grupo Mo y $18,6 \pm 1,4$ ppm para el grupo Cu).

En ambos ensayos se observaron diferencias significativas en los valores de TBARS cardíacos ($57,4 \pm 16,2$ nMol de TBARS/g para el grupo Cu y $136,8 \pm 42,8$ nMol de TBARS/g para el grupo Mo en el primer ensayo; $101,2 \pm 13,2$ nMol de TBARS/g para el grupo Cu y $176,3 \pm 11,5$ nMol de TBARS/g para el grupo Mo en el segundo ensayo). Para el primer ensayo, la actividad de COX fue de $8,05 \pm 1,46$ min⁻¹/mg proteína para el grupo Mo y $10,4 \pm 1,5$ min⁻¹/mg proteína para el grupo Cu mientras que la actividad de la SOD fue de $26,6 \pm 8,5$ UI/mg proteína para el grupo Cu y $15,3 \pm 6,6$ UI/mg proteína para el grupo Mo (diferencias significativas). El análisis de imágenes de ambos ensayos de microscopía electrónica reveló diferencias significativas en la superficie ocupada por mitocondrias, en la relación área de mitocondrias/área de sarcómeros, así como en alteraciones cualitativas como pérdida de crestas y tumefacción mitocondrial. Se concluye, en forma preliminar, que los animales deficientes presentan una menor concentración de Cu cardíaco, un mayor estrés oxidativo y una menor actividad de las enzimas COX y SOD cardíacas, así como numerosas alteraciones morfológicas en las mitocondrias.

Participación de la enzima lactato deshidrogenasa en la capacitación de espermatozoides porcinos criopreservados

Paris Duprat, M.L.; Breininger, E.; Rodriguez, P.C.

En la especie porcina existen relativamente pocos estudios que demuestren a un nivel bioquímico la relación existente entre la actividad enzimática y los procesos que conducen a la adquisición de la capacidad fecundante. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH; 1.1.1.27) y estudiar su participación en el proceso de capacitación en espermatozoides porcinos criopreservados. Esta enzima está involucrada en la generación de la energía necesaria para los procesos metabólicos del espermatozoide y su actividad fue previamente determinada en espermatozoides porcinos frescos. La actividad de la enzima lactato deshidrogenasa se determinó espectrofotométricamente a 340 nm durante 2 minutos, a 37 °C. La unidad enzimática (UE) se definió como la cantidad de enzima lactato deshidrogenasa que cataliza la oxidación de 1 μmol de NADH/minuto. Los porcentajes de capacitación espermática se determinaron, en presencia y ausencia de diferentes concentraciones de oxamato de

sodio (inhibidor competitivo de LDH; 0,5, 1 y 5 mM) en el medio de incubación, por la técnica de clorotetraciclina (CTC). También se evaluaron la vitalidad por la técnica de eosina/nigrosina y la movilidad por microscopía óptica en platina termostaticada. Los resultados se expresaron como promedio \pm desvío estándar y fueron evaluados estadísticamente por análisis de varianzas (ANOVA) con el test de Bonferroni como post-ANOVA. La actividad de LDH fue $0,92 \pm 0,67$ UE/1010 espermatozoides. El agregado del inhibidor competitivo de la enzima disminuyó significativamente los niveles de capacitación a partir de 1 mM de oxamato de sodio. La movilidad disminuyó en forma dosis dependiente con el agregado de las diferentes concentraciones del inhibidor, que sólo afectó la viabilidad a una concentración de 5 mM. Los resultados obtenidos hasta el momento indican que existe actividad de la enzima LDH en el espermatozoide porcino criopreservado y que esta enzima participa en la capacitación espermática, siendo indicativa de la importancia de la vía fermentativa en esta célula.

Farmacocinética plasmática de clindamicina en gatos, administrada por vía endovenosa, oral en ayunas y con alimento

Passini, S.; Montoya, L.; Lorenzini, P.; Lupi, M.; Albarelllos, G.

La clindamicina es un antibiótico que interfiere con la síntesis proteica de bacterias gram-positivas y anaerobios. Incluye también en su espectro protozoarios como *Toxoplasma gondii*. El predictor que evalúa su eficacia antimicrobiana es $T > CIM = 40-60\%$, estableciéndose la CIM50 de los principales patógenos en $0,5 \mu\text{g/ml}$. El objetivo fue caracterizar el perfil plasmático de clindamicina (y sus metabolitos activos) luego de su administración por vía endovenosa (ev), oral en ayunas (poay) y con alimento (poal) a felinos domésticos. Se utilizaron 6 felinos común europeo a los que se les administró clindamicina por vía ev (10 mg/kg) y po (15 mg/kg) en condiciones de ayuno y luego de ser alimentados. Como esquema de trabajo se empleó un diseño cruzado. El muestreo sanguíneo se realizó durante 24h a través de un catéter Vialon® colocado en vena yugular. Los principales parámetros farmacocinéticos se estimaron mediante el programa Phoenix® WinNonlin® 6.3, 2005-2012, Certara, L.P. El análisis estadístico se realizó con un test de Friedman y post test de Dunns para los parámetros pertenecientes a las 3 vías ($T_{1/2}$) y un test de Wilcoxon para los pertenecientes a las

administraciones orales ($C_{p\text{max}}$; T_{max} ; AUC; F) mediante el programa GraphPad Prism® 5.00, 2007, y con un nivel de significación del 5%. El modelo farmacocinético que mejor ajustó para los 3 análisis fue el monocompartimental. Los parámetros farmacocinéticos (media \pm de) para la vía ev fueron: C_{p0} ($\mu\text{g/ml}$): $8,35 \pm 2,33$; AUC ($\mu\text{g.h/ml}$): $24,87 \pm 9,61$; $T_{1/2}$ (h): $2,03 \pm 0,45$; V_{ss} (l/kg): $1,28 \pm 0,37$; CB (l.h/kg): $0,47 \pm 0,23$. Para la vía poay: $C_{p\text{max}}$ ($\mu\text{g/ml}$): $6,04 \pm 1,74$; T_{max} : $0,75 \pm 0,28$; AUC ($\mu\text{g.h/ml}$): $30,42 \pm 11,75$; $T_{1/2}$ (h): $2,95 \pm 1,22$; F%: $86,27 \pm 28,02$. Para la vía poal: $C_{p\text{max}}$ ($\mu\text{g/ml}$): $5,67 \pm 0,88$; T_{max} : $1,03 \pm 0,40$; AUC ($\mu\text{g.h/ml}$): $32,48 \pm 11,83$; $T_{1/2}$ (h): $3,18 \pm 1,50$; F%: $79,99 \pm 26,24$. No se observaron diferencias significativas entre los parámetros estudiados. La actividad antimicrobiana de clindamicina se mantuvo por sobre la CIM50 durante 6 h para la vía ev y 8 h para las vías extravasculares. Estableciendo para estas dosis (10 mg/kg ev o 15 mg/kg po) un intervalo posológico óptimo de 12h. La eficacia antibacteriana no se vería influenciada por la vía de administración ni por la presencia de alimento en el tubo digestivo quedando, la elección de la misma, sujeta al caso clínico.

Estudio serológico de leptospirosis en porcinos de las provincias de Córdoba, Santa Fe y Santiago del Estero

Perez Collado, M.E.¹; B Brihuega¹, Martinez, M.¹, Grune, S.¹, Romero, G¹, Martinez Vivot, M²

La leptospirosis es una zoonosis enzoótica en la Argentina. Los porcinos eliminan durante períodos prolongados leptospiras por orina. El objetivo fue estudiar la presencia de anticuerpos antileptospira (período 2014-2015). Se analizaron

261 sueros porcinos de las provincias de Córdoba, Santa Fé y Santiago del Estero. Se diagnosticó mediante la técnica de microaglutinación (MAT), con las 9 serovariedades referenciales (ver tabla). Títulos positivos: $\geq 1:100$. Resultados.

		Córdoba	Santa Fe	Santiago del Estero
Cantidad de sueros		70	60	131
Seroreactividad		35,7%	30%	16%
Serovariedades	Copenhageni	24.0%	22.2%	14.3%
	Canicola			
	Pomona	96.0%	100.0%	81.0%
	Hardjo			
	Wolfi			
	Castellonis	20.0%	33.3%	4.7%
	Tarassovi	28.0%		4.7%
	Gryppotyphosa	24.0%	5.5%	
	Pyrogenes			47.6%
Títulos serológicos	$\leq 1/200$	96.0%	83.3%	114.3%
	$\geq 1/400$ y $\leq 1/800$	56.0%	61.1%	23.8%
	$\geq 1/1600$	4.0%	11,1%	4.76%

La presencia de anticuerpos en los porcinos indica contacto con la bacteria. El conocimiento del serovar que afecta a los porcinos es necesario

para programar las campañas de control. En nuestro estudio, el serovar más frecuente fue Pomona.

¹ Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología, CICVyA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, ²Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA

Estudio comparativo de dos métodos de congelamiento para espermatozoides porcinos

Pérez Colman, M.; Breininger, E.; Petrinelli, A.; Rodriguez, P.

La producción porcina cumple un rol destacado en el desarrollo de las economías regionales y por ende en la nacional, siendo la tercera especie en cuanto a nivel productivo. Las biotecnologías de la reproducción en esta especie tienen escaso desarrollo debido principalmente a la limitación que existe en el proceso de congelamiento del semen. El objetivo de este trabajo fue comparar dos métodos diferentes de congelamiento para semen porcino, evaluando los parámetros de calidad seminal al momento del descongelado. Las muestras de semen fueron congeladas en pajuelas según el protocolo de uso habitual en vapores de nitrógeno. Luego de la curva de descenso de temperatura hasta llegar a los -5°C , las pajuelas se dividieron en dos grupos para realizar el congelamiento diferencial. Las pajuelas del grupo control estuvieron en contacto con vapores de nitrógeno por 5 minutos (método tradicional, grupo control), mientras que las pajuelas del grupo tratamiento se colocaron entre dos barras de hielo seco por 10 minutos (método propuesto). Luego, las pajuelas de ambos grupos fueron almacenadas en nitrógeno líquido hasta el momento de su evaluación. Se realizaron tres evaluaciones de cada uno de los tres

eyaculados congelados. En cada evaluación se determinaron los parámetros de movilidad (por microscopía óptica) y vitalidad (por la técnica de eosina/nigrosina) y también se evaluaron los porcentajes de espermatozoides criocapitados por la técnica de clorotetraciclina (CTC). Los resultados se expresaron como promedio \pm desvío estándar y fueron evaluados estadísticamente por análisis de varianzas (ANOVA) con el test de Bonferroni como post-ANOVA. La movilidad mostró una tendencia a aumentar en las pajuelas del grupo tratamiento, pero no se observaron diferencias significativas respecto del grupo control. Los porcentajes de vitalidad mostraron una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre el grupo tratamiento (34 ± 13) y el grupo control (17 ± 5). El porcentaje de espermatozoides criocapitados al momento del descongelado, no mostró diferencias significativas entre el grupo tratamiento (12 ± 5) y el grupo control (9 ± 6). Los resultados obtenidos hasta el momento indican que el método propuesto de congelamiento mejora el porcentaje de vitalidad del semen porcino criopreservado, respecto al método tradicional de congelamiento.

Efecto del glifosato sobre parámetros microbiológicos en argiudoles típicos de Pergamino con y sin historial de aplicaciones previas de glifosato

Pérez, M.G; Ríos, R.P; Giuffré, L.; Pagano, E.

El uso de pesticidas se viene cuestionando cada vez más en los últimos años. Entre los efectos que se les atribuyen, se hallan aquellos que afectan al pool microbiano del suelo, con consecuencias adversas en la fertilidad del mismo a largo plazo. El objetivo del presente trabajo es analizar la aplicación de glifosato en Argiudoles de Pergamino con y sin historial previo de aplicación del herbicida, midiendo el efecto del mismo sobre parámetros microbiológicos. A tal fin, se realizó un ensayo de incubación con los suelos antes mencionados, contaminándolos con distintas dosis de glifosato. Las mediciones se realizaron 1(T0) y 45 días (T45) post-contaminación. Se determinaron perfiles de respuesta catabólica con una metodología basada en diferencias de respiración inducida por sustratos, y a partir de los resultados, se obtuvieron valores

de uniformidad catabólica (UC), parámetro que indica diversidad funcional. Se realizaron un análisis de varianza y test de Duncan de comparaciones múltiples. En T0, los suelos con historial de glifosato, mostraron incrementos significativos en UC con respecto al control, lo que sugiere, que la previa aplicación de glifosato actuó seleccionando las comunidades microbianas capaces de usar al mismo como sustrato. Entre dosis no se hallaron diferencias significativas. Suelos sin historial de glifosato, solo mostraron un incremento significativo de la actividad biológica a dosis bajas, lo que podría indicar un efecto perjudicial del herbicida a dosis mayores. En T45 se obtuvieron diferencias significativas de UC entre las dosis y los controles que sugieren que las contaminaciones con glifosato promovieron la actividad biológica.

Flujo de gases desde el suelo: herramientas de medición

Pierini, V.^{1*}; Ferrero Holtz, E.¹; Ratto, S.¹

El flujo de emisión de gases desde el suelo es de interés para la geología, la agronomía, las ciencias ambientales y veterinarias. Una forma de medirlo es por sistema de cámaras cerradas estáticas. Las cámaras encierran una cierta superficie y acumulan el gas emitido en un tiempo determinado. El objetivo fue seleccionar un método sencillo y económico para medir las emisiones de un relleno sanitario de la CEAMSE. Construimos cámaras cilíndricas que constan de una tapa y una base de PVC (volumen total: 7239cm³) con un tubo de venteo y un puerto para tomar las muestras. Las bases se enterraron 7cm en el suelo. Se adaptó una bomba de vacío manual, de las usadas para extraer aceite de automóviles, como herramienta para obtener las muestras. Cuenta con una llave de tres vías que conecta, a través de tubos plásticos, la bomba con un vial y al vial con la cámara. Se contrastó su funcionamiento con las bombas manuales

de otros equipos de trabajo. Para ajustar el método evaluamos 3 modelos de cámaras: con tubo de venteo y sellado en la base; con tubo de venteo sin sellar y con ambos sellados para verificar si existían pérdidas. Se ajustó el tiempo, aumentándolo desde 30 a 60, 120 y 180 minutos hasta alcanzar la saturación del gas en la cámara. Se midió CH₄, CO₂ y N₂O y se analizaron los datos por regresión lineal. Sólo aquella cámara que tenía todo sellado acumuló CH₄ (de 2 a 300ppm). El CO₂ satura a los 60 minutos y ese fue el período seleccionado para muestreos posteriores. Decidimos sellar las tapas con una goma flexible para evitar posibles pérdidas. La precisión de las cámaras para medir los incrementos de concentración de los gases durante 60 minutos permitió calcular el flujo de los gases en distintas épocas de año. En definitiva, las cámaras han resultado fáciles de construir, económicas y confiables.

¹Cátedra de Edafología, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Av. San Martín 4453, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. PC 1417. Tel. 54 011 4524-8059.* e-mail: pierini@agro.uba.ar

Elisa indirecto con antígeno proteico recombinante para brucelosis porcina y su comparación con técnicas tradicionales

Pietronave, J.; Cairo, F.; Martinez Vivot, M.; Moras, E.V.

La Brucelosis porcina es una enfermedad de alto impacto económico y muchas son las técnicas que permiten su detección, teniendo las mismas diferentes grados de sensibilidad. El glyco-iELISA (desarrollado por la USAM) es un ELISA indirecto para anticuerpos, el cual utiliza pegado a la placa, un antígeno glicoproteico recombinante (Oag-AcrA) que está en proceso de evaluación para su comercialización. Los objetivos fueron comparar los resultados de

la técnica del glyco-iELISA contra los de las técnicas BPA, RB y FPA en un mismo panel de sueros porcinos. Se analizaron 40 sueros clasificados como "positivos" ("P") (mediante técnicas de Wright y 2-Mercaptoetanol) y 36 sueros "negativos" ("N"). A los "P" se les realizó BPA, RB y FPA (punto de corte: 85%) y a los "N", FPA. Además a todos los sueros se les realizó el glyco-iELISA (punto de corte determinado: 0,56).

Cant. de sueros	BPA	RB	FPA	iELISA
15 "P"	+	+	+	+
1 "P"	+	+	-	+
1 "P"	-	+	+	+
3 "P"	+	-	-	+
2 "P"	+	-	-	-
3 "P"	-	-	-	+
9 "P"	-	-	-	-
36 "N"	No realizado	No realizado	-	-
6 "P"	No considerados porque alguna de las técnicas no fue realizada o por contaminación de la muestra.			

Todos los sueros "N" procesados por FPA resultaron negativos para el glyco-iELISA. Algunos falsos negativos por otras técnicas resultaron positivos al glyco-iELISA. Sólo 2 sueros

negativos al glyco-iELISA fueron positivos por BPA. El glyco-iELISA promete ser una técnica para la mejora en la detección serológica de la enfermedad que merece ser estudiada.

Detección de especies del complejo mycobacterium tuberculosis (MTBC) a partir de decomisos de frigoríficos porcinos, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Pietronave, J.¹; Campos, L.¹; Campos, M.¹; Barandiaran, S.¹; Falzoni, E.¹; Zumárraga, M.²; M. Vivot, M.¹

La tuberculosis porcina es una enfermedad infecto-contagiosa, crónica, producida por bacilos ácido alcohol resistentes del género *Mycobacterium*. En relación a las crecientes exigencias sanitarias de los mercados, es importante el desarrollo de técnicas de diagnóstico altamente sensibles y específicas. OBJETIVO. Confirmar por métodos moleculares (PCR – IS6110) los decomisos por tuberculosis en frigoríficos porcinos. Se analizaron 40 muestras con lesiones compatibles con tuberculosis (LCT) por PCR, utilizando como secuencia blanco a la secuencia de inserción IS6110. La extracción de ADN fue realizada directamente de tejidos, utilizando el kit comercial “Purelink[®]” (Invitrogen). A su vez, fueron procesadas por métodos bacteriológicos, utilizando el método

de decontaminación de Petroff y cultivadas en medios Stonebrink y Löwenstein-Jensen. Aquellas muestras que dieron positivas a PCR, pero negativas a cultivo, fueron procesadas nuevamente, hasta obtener crecimiento. Se detectaron 20 cultivos positivos en un primer procesamiento. Por PCR – IS6110, 25 muestras resultaron positivas en un primer y único procesamiento. Se reprocesaron aquellas muestras negativas a cultivo y positivas a PCR hasta obtener resultado positivo. Analizando las muestras por bacteriología y PCR, esta última permitió detectar falsos negativos al cultivo. La PCR es un método rápido, eficaz y simple que permitiría la confirmación del diagnóstico en frigorífico, a partir de LCT, en forma rápida con altos niveles de sensibilidad y especificidad.

¹Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. ²Instituto de Biotecnología, CICVyA – INTA, Castelar.

Estudio serológico de leptospirosis en vacas y cabras de la región sureste de La Rioja. Resultados preliminares

Poli, G.L.¹; Noste, J.J.²; Pidone, C.L.³; Merlo, C.C.³; López, M.A.⁴; Anthony, L.M.¹; François, S.E.¹

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa endémica en Argentina, causada principalmente por la especie patógena *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*). Afecta vacas y cabras, produciendo pérdidas económicas. Este estudio abarca la región de los llanos de la La Rioja que se caracteriza por una acentuada escasez hídrica. En ella no existen registros serológicos de leptospirosis en bovinos y caprinos. El objetivo fue: Determinar las tasas de seropositividad tanto a *L. interrogans* como para distintos serovares de esta especie en una población de ganado bovino y otra de ganado caprino de la región de los llanos riojanos. Se analizaron 166 muestras de suero sanguíneo de bovinos y 49 de caprinos, de animales de diferentes categorías. Las muestras de sangre se extrajeron de las venas coccígea media y yugular. Se obtuvo el suero sanguíneo límpido, el cual fue procesado por el Test de Aglutinación Microscópica (MAT). Se ensayaron los siguientes serovares de *L. interrogans*: Pomona, Icterohaemorrhagiae,

Tarassovi, Grippotyphosa, Bratislava, Canicola, Pyrogenes, Castellonis, Wolffi y Hardjo. De los sueros bovinos analizados, se hallaron 9 (5,42%) seropositivos al MAT. Dentro de éstos, se observó que 4 presentaron coaglutinaciones, las mismas predominaron entre los serovares Hardjo y Pyrogenes, en uno de estos casos el título más alto (1:1600) fue registrado para el serovar Pyrogenes. Además, 2 sueros aglutinaron únicamente con Pyrogenes, 2 con Pomona y 1 con Hardjo, con un título de 1:100. Del total de sueros caprinos analizados solo se observó 1 (2%) animal serorreactivo al serovar Pomona, con un título de 1:400. En nuestro país, las mayores tasas de seropositividad a *L. interrogans* para las especies analizadas, se han observado en la Pampa Húmeda. Sin embargo, en la región del estudio, con un clima extremadamente seco, los resultados permitieron observar animales seropositivos a leptospirosis, pero todavía resultan escasos para estimar una tasa de seropositividad a nivel de cada serovar.

¹Servicio de Diagnóstico de Leptospirosis y ²Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica de Grandes Animales de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNR. Bv. Spangenberg y Bv. Colón, 2170 Casilda, Santa Fe. ³Cátedra de Enfermedades Infecciosas y ⁴Cátedra de Microbiología, Carrera de Veterinaria, UNLaR, Castro Barros 557 (5380) Chamental, La Rioja; georgilys@hotmail.com

Farmacocinética de la amikacina administrada por vía subcutánea a caninos mestizos

Prados, A.P.¹; Kreil, V.¹; Monfrinotti, A.¹; Doxandabarat, X.D.¹; Suárez Belzoni, F.¹; Rebuelto, M.¹

La Amikacina es un antimicrobiano aminoglucósido con buena actividad sobre bacilos Gram negativos aerobios y *Staphylococcus* spp. Los estudios farmacocinéticos permiten identificar parámetros necesarios para la determinación del régimen posológico correcto para cada droga en la especie de interés. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la farmacocinética de la amikacina en caninos mestizos, luego de la administración de una única dosis de 10 mg/kg por vía subcutánea. Se utilizaron 5 caninos adultos (edad promedio 5 años), mestizos, de ambos sexos, obtenidos de los Caniles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Los animales contaban de un chequeo clínico, bioquímica sanguínea y análisis de orina dentro de parámetros normales previo al estudio. Cada animal recibió una dosis única por vía subcutánea de 10 mg/kg de amikacina sulfato (Amikacina Richet®). Se extrajeron muestras de sangre mediante un catéter colocado en la vena cefálica antebraquial a tiempos predeterminados luego de la administración del antibiótico. El protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de

Experimentación (CICUAL) de la FCV, UBA. Las muestras de sangre fueron centrifugadas y el plasma se conservó congelado a -24°C hasta su procesamiento. Las concentraciones plasmáticas de la amikacina se midieron mediante el método microbiológico (Bennet y col., 1966), utilizando como microorganismo patrón *Bacillus subtilis* ATCC 6633. El método fue validado para el rango de concentraciones 0.78 – 100 mg/ml con un $r^2=0.995$. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon a partir de la curva de disposición de cada animal mediante un programa computarizado (PCNONLIN 4.0), utilizando el análisis compartimental. El comportamiento cinético ajustó mejor a un modelo monocompartimental. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos fueron (media \pm DS): C_{max} 27.3 \pm 2.5 μ g/ml, T_{max} 1.2 \pm 0.2 h, $T_{1/2el}$ 0.93 \pm 0.1 h, $V_d/f=$ 0.15 \pm 0.01 l/kg, ABC_{model} 87.7 \pm 8.1 μ g/ml·h. Los parámetros farmacocinéticos obtenidos son congruentes con la cinética de una droga hidrosoluble, con distribución principalmente en líquido extracelular y que es eliminada rápidamente como droga activa por orina.

¹Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Chorroarín 280 (1427) CABA. UBACyT 20020130100615

Medición de estradiol y progesterona en plasma y materia fecal durante el ciclo menstrual de la *macaca fascicularis*

Pulido, P.^{1,2}; Gette, G.¹; Farinati, Z.¹; Louzan, P.³; Nagle, C.¹

Durante el ciclo menstrual de la *Macaca fascicularis* se liberan hormonas esteroides tales como Estradiol (E_2) y Progesterona (P_4) cuyos valores son indicativos de sus diferentes etapas. El organismo produce dichas hormonas en cantidad suficiente como para responder con eficacia a requerimientos fisiológicos, eliminándose el resto por orina, sudor y materia fecal (MF). La cantidad de E_2 y P_4 eliminados en MF es adecuada para mediciones de laboratorio con bajo error; con la ventaja de tratarse de una metodología no invasiva para el animal y de fácil realización para el investigador. El objetivo del presente trabajo fue validar la técnica de medición de hormonas

esteroides en materia fecal como método no invasivo, en lugar de la medición plasmática obtenida por punción venosa. Se estudió el ciclo menstrual de una mona N° 002, de nombre Kenilla, de la especie *Macaca fascicularis*, de 19 años de edad (sexualmente madura) perteneciente a la colonia de nuestra institución, mantenida en cautividad controlada con nutrición y agua *ad libitum* bajo los lineamientos internacionales del NIH. Se midieron E_2 y P_4 en MF y en plasma. Si bien, se obtuvo el perfil hormonal durante los días 4° al 35° de un ciclo menstrual completo, a continuación sólo se muestran los valores significativos de cada etapa:

Período	Día del ciclo	E_2 plasma pg/ml	E_2 MF ng/gr	P_4 plasma ng/ml	P_4 MF ng/g
Folicular	7°	205,00	6,50	0,20	88,60
Periovulatorio	12°	394,00	9,14	0,33	61,00
Lúteo	22°	173,30	6,18	6,05	314,60
Premenstrual	32°	153,10	5,17	0,26	138,50

Los resultados obtenidos sugieren perfiles similares para las determinaciones hormonales en plasma y en materia fecal, que permiten suponer una correlación matemática entre ellos. Sin embargo

para confirmar esto se requiere de mayor número de ciclos menstruales estudiados. La punción venosa podrá así, reemplazarse por una técnica no invasiva con resultados igualmente confiables.

¹Centro de Investigación en Reproducción Humana y Experimental (CIRHE-CEMIC); ²Facultad de Ciencias Veterinarias (UBA); ³CEMIC-CONICET.

Efectos del arsénico y flúor en tejidos de peces comerciales del Lago Chasicó (Provincia de Buenos Aires)

Puntoriero, M.L.*; Volpedo, A.V.; Feijoo, G.; Fernández Cirelli, A.

La presencia de los elementos traza tóxicos como el arsénico (As) y flúor (F), tiene relevancia en la cadena trófica. En los peces, ambos elementos producen, cambios histológicos en branquias y en hígado, retraso en el crecimiento, cambios en el comportamiento, alteraciones enzimáticas y menor eficiencia en la conversión alimenticia. El F además produce deformaciones óseas. Estos elementos traza se han encontrado en diferentes cuerpos de agua del sudoeste bonaerense, siendo el Lago Chasicó el que presenta las mayores concentraciones. Este cuerpo de agua es de importancia para la pesca comercial y deportiva del pejerrey (*Odontesthes bonariensis*). El objetivo de este trabajo es analizar si la presencia de altas concentraciones de As y F encontradas en el Lago Chasicó se asocia con anomalías histológicas producidas en distintos tejidos del pejerrey. La concentración de As en este cuerpo de agua se determinó por ICP-OES, mientras que las concentraciones de F se determinaron por un electrodo selectivo.

Los tejidos se analizaron mediante técnicas histológicas de rutina. La concentración de As en el Lago Chasicó estuvo en el rango de 0,195-0,413 mg/l y la de F en el rango de 6,58-8,54 mg/l, siendo superiores a los niveles guía nacionales para protección de la biota acuática (As: 0,05 mg/l; F: 1,4 mg/l). Los resultados histopatológicos en hígado evidenciaron: degeneración y necrosis celular, hemosiderosis en hepatopáncreas, peliosis y dilatación y congestión sinusoidal, debido a la deficiencia de oxígeno resultado de la hemólisis intravascular producida por estos elementos traza. En branquias se encontró ondulación de laminillas secundarias, congestión y trombosis en vasos de los filamentos branquiales, edema en laminillas secundarias y proliferación de células mucosas, producto del stress oxidativo y cambios en la osmorregulación. Siendo el pejerrey una de las especies de peces bonaerenses de gran importancia comercial, resulta relevante profundizar los estudios histopatológicos para garantizar su calidad para consumo humano.

Uso de fertilizantes inorgánicos como fuente alternativa de cobre y zinc en forrajes.

Ramos, M.I.^{1,2}; Moscuza C. H.^{1,2}; Fernández Cirelli, A^{1,2}.

El uso de excretas provenientes de sistemas intensivos (SI) de producción bovina como fertilizante es una práctica agrícola ampliamente utilizada. El enriquecimiento de forrajes con micronutrientes a través de la fertilización con excretas de sistemas intensivos de engorde bovino podría surgir como alternativa a la suplementación mineral en bovinos de sistemas extensivos, a fin de compensar carencias minerales. El objetivo de este trabajo es evaluar la eficiencia de enriquecimiento en micronutrientes (Cu y Zn) a través de una fertilización inorgánica mediante ensayos en parcelas divididas. Se efectuó un ensayo en una parcela de 2,25 m² de superficie y 10 cm de profundidad, ocupada por un pastizal natural cuyas especies predominantes eran gramíneas (*Paspalum Dilatatum*, *Stenotaphrum secundatum*, *Lolium Perenne*). Luego de un primer corte al ras de dicho pastizal, la parcela fue subdividida en 4 áreas de 1,5*0,375 m, separadas por canaletas a fin de evitar la contaminación entre tratamientos

efectuados. Tres de las áreas fueron regadas a capacidad de campo (previamente calculada) con soluciones de sulfato de cobre y sulfato de zinc de 1g/l de concentración. Los resultados arrojaron mayores concentraciones de ambos metales en forrajes procedentes de las áreas fertilizadas (Cu= 93,9±8,7 µg/g; Zn= 219,22±30,1 µg/g) respecto a los implantados en el área testigo (Cu=15,4 µg/g, Zn= 61,8 µg/g). Los valores obtenidos para el testigo fueron coincidentes con los valores reportados en bibliografía de Cu (1-16 mg/kg) y Zn (25 - 150 mg/kg) en gramíneas. A partir de éstos resultados obtenidos que indican que estas especies forrajeras pueden enriquecerse en Cu y Zn, se está llevando a cabo un segundo ensayo de fertilización, utilizando una fuente orgánica (excretas provenientes de SI de producción bovina). Los resultados obtenidos a partir de la misma permitirán establecer la factibilidad del uso de excretas para enriquecer en micronutrientes a campos naturales implantandos en zonas de carencias minerales.

¹ INPA-CONICET-UBA, Facultad de Ciencias Veterinarias; ² Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA), Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Chorroarín 280, CABA.

Identificación de animales silvestres con serología positiva frente a *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*

Redondo, F.; Jar, A.M.; Mundo, S.

La paratuberculosis es una enteritis granulomatosa infectocontagiosa de los rumiantes causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map). Este agente se ha aislado de aves tanto en Europa como en América, por lo que resulta de interés determinar cuál es la situación en poblaciones de ñandúes y otras aves que se encuentran cercanas a establecimientos ganaderos. El primer objetivo es optimizar un ELISA indirecto para identificar la respuesta humoral de los ñandúes frente a Map. Para esto se adaptó un ELISA-PPA destinado a bovinos. Se estudiaron sueros de 55 ñandúes clínicamente sanos, provenientes de un criadero de la provincia de Bs. As. Los sueros se pre-adsorbieron con *Mycobacterium phlei*, con el fin de eliminar las reacciones contra micobacterias no patógenas, y se identificaron con un suero de cabra anti-IgY de ñandú elaborado en nuestro laboratorio y un suero comercial anti-Ig de cabra conjugado con peroxidasa. Como controles se utilizaron sueros de bovinos positivos y negativos a Map.

Pudimos observar que 13/55 sueros arrojaron valores de D.O. > 0,450 con los sueros sin pre-adsorber, mientras que 8 mostraron valores de D.O. elevados (0,412-0,833) con los sueros pre-adsorbidos. Las diferencias nos alientan a estudiar el rol del ñandú en la diseminación de Map. El segundo objetivo es desarrollar un ELISA competitivo, en el que la señal positiva de un suero bovino usado como patrón, disminuye por la reacción de un suero positivo de un animal de otra especie. En la puesta a punto de este ELISA, estamos utilizando los sueros que identificamos como positivos y negativos en el objetivo anterior, y hemos comprobado la falta de reactividad cruzada entre un anticuerpo comercial anti-IgG bovina y el suero de ñandú. En estos momentos estamos estableciendo las concentraciones óptimas de PPA, y las diluciones de uso de los sueros de ñandú y de bovino. La aplicación de este ELISA-PPA competitivo permitirá ampliar el estudio serológico de la paratuberculosis en especies silvestres.

Reporte de caso: detección de *Salmonella* sp a partir de la necropsia de tres equinos con enterocolitis

Retamar, G.¹; Gallardo, J.¹; Muñoz, A.¹; Walkoski, A.²; Moras, E.v.¹; Guida, N.¹; Mesplet, M.¹.

En equinos la enterocolitis es un cuadro agudo y severo frecuentemente asociado a una alta tasa de letalidad. Sin embargo, en la mayoría de los casos no es posible determinar la causa de la enfermedad. El objetivo de este trabajo es reportar la detección de *Salmonella* sp. en tres equinos que murieron luego de un cuadro entérico agudo. Durante los meses de agosto a septiembre de 2014, se presentaron a la consulta tres equinos entre 3 y 4 años de edad con cuadros entéricos de 1 a 10 días de curso, caracterizados por diarrea aguda, anorexia, pérdida de peso y deshidratación. A pesar del tratamiento instaurado, los animales murieron. A la necropsia, se observó colitis, tiflitis y/o tiflocolitis compatible con salmonelosis.

Se tomaron muestras de materia fecal que fueron procesadas en el Laboratorio Escuela de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA. El cultivo bacteriológico resultó positivo sólo en uno de los casos, pudiendo tipificar la bacteria como *Salmonella* Typhimurium (4,5,12:i:1,2). No obstante, en todos los casos se pudo determinar la presencia de *Salmonella* sp. mediante la técnica de PCR. Estos resultados concuerdan con la mayor sensibilidad descrita de la PCR para la detección de *Salmonella*. Este hecho sumado a la rapidez de la misma, propone a la técnica de PCR como un complemento del diagnóstico bacteriológico clásico, que permite acortar tiempos y aumentar la sensibilidad del diagnóstico sobre todo en casos de extrema gravedad.

¹Cátedra de Enfermedades Infecciosas. FCV. UBA. ²Veterinaria privada.

Enfermedad intestinal inflamatoria felina: resultados preliminares

Ricart, M.C.; Gómez, N.V.

La Enfermedad Intestinal Inflamatoria (EII) es una patología con signos gastrointestinales recurrentes o persistentes, de evolución crónica (3-4 semanas), evidencia de inflamación en la histopatología, imposibilidad de adjudicar a otras causas la inflamación gastrointestinal, inadecuada respuesta a dieta, antibióticos o terapias antihelmínticas instauradas y respuesta clínica a drogas anti-inflamatorias o inmunosupresoras. El objetivo fue desarrollar una metodología diagnóstica para la EII felina con los informes estandarizados internacionales y evaluar su correlación. A un grupo de felinos sospechosos con EII se le realizó: coproparasitológico, hemograma y bioquímica, ecografía abdominal, valoración por el FCEAI (Feline Chronic Enteropathy Activity Index) al día de la consulta gastroenterológica, endoscopia digestiva alta y baja con toma de muestra de biopsia e histopatología. Correlación de variables por medio del test de Spearman o Pearson según la distribución de la variable (guía de usuario Graphpad

5), considerando $\alpha=0,05$. Hay correlación significativa entre el FCEAI y el edema gástrico (p-valor = 0,02; Spearman $r = 0,63$), la friabilidad gástrica (p-valor = 0,03; Spearman $r = 0,57$), la hiperemia duodenal (p-valor = 0,02; Spearman $r = 0,43$) valorados en la gastroduodenoscopia. En el caso de la colonoscopia, hay correlación significativa entre el FCEAI y la hiperemia de la mucosa (p-valor = 0,04; Pearson $r = 0,55$) y las erosiones (p-valor = 0,04; Spearman $r = 0,56$) observadas. No se observó correlación significativa entre el FCEAI y las lesiones morfológicas o inflamatorias histopatológicas. Se trabajó con los informes estandarizados de valoración clínica, de endoscopia e histopatología para felinos con EII, a nuestro conocimiento el primer ensayo clínico prospectivo en el país que los utiliza. Según estos resultados preliminares, algunas valoraciones en la endoscopia podrían ser predictivas de la EII, no así la histopatología. Habríamos hallado una diferencia con nuestros resultados de la especie canina.

Estudio preliminar del impacto de los niveles de arsénico en agua de riego sobre la alfalfa

Rodriguez, M.; Alvarez Gonçalvez, C.v.; Fernandez Cirelli, A.; Pérez Carrera, A.

La llanura Chacopampeana es la principal región agroganadera de la Argentina. En esta región, la principal fuente de abastecimiento para usos agropecuarios la constituye el agua subterránea, la cual a su vez es la más afectada por la presencia de elementos traza inorgánicos, siendo el arsénico (As) uno de los más relevantes. Se ha encontrado que la presencia de elevadas cantidades de As en el suelo o en agua de riego se relaciona con un incremento en las concentraciones del mismo en los vegetales. Los niveles hallados dependen principalmente de la especie, el tipo de suelo, etc. Se han observado efectos deletéreos en diversas especies de plantas regadas con aguas arsenicales. Sin embargo, el impacto del As en especies forrajeras aún no ha sido estudiado en profundidad. Se evaluó el efecto del riego con aguas con As sobre el crecimiento y la producción de biomasa de alfalfa, una de las principales forrajeras del país. Para evaluar el crecimiento se expusieron semillas en placas sobre papel de filtro a 5 concentraciones

de arsénico (0, 50, 100, 500, 1000 y 5000 µg/L). Luego se determinó el crecimiento de la plántula. Por otro lado se sembraron semillas (densidad de siembra: 2 semillas/cm²) en macetas con tierra fértil comercial. Las mismas fueron regadas con agua destilada hasta la germinación para luego ser irrigadas con soluciones de 0, 100, 500 y 1000 µg/L de As. Se determinó la producción de biomasa, luego de un corte a la altura de un puño, simulando pastoreo. Todos los ensayos se realizan por triplicado. En el caso de las semillas se observó una tendencia a la disminución del crecimiento evidenciado por la disminución de la longitud del hipocótilo y la radícula. Sin embargo, en la experiencia en tierra las diferencias no fueron significativas entre los tratamientos. A partir de estas experiencias se espera poder evaluar el impacto del riego con agua con altos niveles de arsénico en la productividad y la calidad de los forrajes, generando información que contribuya al mejoramiento del manejo en nutrición animal.

Presencia de elementos traza en los primeros niveles tróficos de una laguna pampásica

Rodríguez Vida, J.M; Thompson, G.A.; Fernández Cirelli, A.

Se realizó el análisis de la presencia de diferentes elementos traza en agua, sedimentos y organismos correspondientes a los primeros niveles tróficos de la laguna de Lobos. Al presente se han realizado 7 campañas contándose con los resultados de 4 de ellas, efectuadas entre Mayo 2013 y Junio 2014. En cada campaña se colectaron muestras de agua, plancton e invertebrados (camarones- *Natantia* sp.). Se pudieron colectar peces solo en las dos últimas campañas (madrecitas de agua-*Cnesterodon decenmaculatus*, *Jenynsia lineata*). Para todas las muestras se determinó la concentración de As, Mo, V, Mn, Ni, Zn Cd, Cr y Pb mediante ICP-OES y F mediante electrodo selectivo. La medición en plancton se realizó digiriendo 1 gramo de muestra por campaña. La medición en camarones y madrecitas de agua se realizó digiriendo un pool de 15 individuos por

muestra por campaña. Se determinó el factor de bioacumulación de los elementos traza en los organismos, como la razón entre los valores de concentraciones en la biota y en el agua. Los resultados obtenidos fueron: a) Plancton (media±de): Fe (8643±987), Mn (1766±1638), Zn (3830±2079), Mo (104±29), V (393±38), Cr (52±11), F (143±53); b) *Natantia* sp. (media±de): Fe (318±224), Mn (620±458), Zn (3991±2088), Mo (79±6), V (49±8), Cr (26±7), F (97±7); c) *C. decenmaculatus*: Fe (230), Mn (266), Zn (4750), Mo (48), V (57), Cr (12), F (44); d) *J. lineata*: Fe (603), Mn (1725), Zn (6766), Mo (49), V (54), F (183). Las concentraciones de As, Cd y Pb estuvieron por debajo del límite de detección del equipo. Los resultados obtenidos sugerirían la existencia de transferencia y acumulación de todos estos elementos traza del agua a la biota acuática.

Reporte de un caso de *Mycobacterium avium* subespecie *hominissuis* en un Schnauzer miniatura

Rovatti, P.¹; Barandiaran, S.²; Martinez Vivot, M.²

En la Argentina, las micobacteriosis en caninos son una entidad clínico-patológica relativamente infrecuente en la práctica veterinaria. Cuando se infectan con el complejo *Mycobacterium tuberculosis* se lo considera una zoonosis relevante. Sin embargo, los perros pueden infectarse con *Mycobacterium avium*. Suele penetrar por vía digestiva cuando consumen aves tuberculosas, sus deyecciones o por estar en contacto con agua y suelos contaminados. Hay reportes de una predisposición a la infección en ciertas razas caninas, como Basset Hounds y Schnauzer miniatura. En los seres humanos puede producir linfadenitis en niños, enfermedad pulmonar tipo tuberculosis y diseminación sistémica en pacientes con SIDA. El objetivo fue notificar el aislamiento de *Mycobacterium avium* subespecie *hominissuis* a partir de la biopsia de un linfonódulo inguinal (LN) de un canino Schnauzer miniatura en la provincia de Bs. As. Se presenta a consulta un canino macho de 1 año con aumento de LN con diagnóstico presuntivo de linfoma. Se realiza un PAF y ante el resultado de “linfadenitis

granulomatosa séptica con bacterias AAR”, se realiza la biopsia de LN inguinal izquierdo para cultivo y comienza la antibióticoterapia. Esta muestra fue procesada por el método de Petroff, y cultivadas en los medios Löwenstein-Jensen y Stonebrink. Las colonias emergieron luego de dos semanas de incubación y fueron analizadas por PCR utilizando IS1245 y IS901. En la muestra, *M. avium* subsp. *hominissuis* fue identificado por las características del crecimiento, el tiempo de desarrollo y por la presencia de IS1245 y ausencia de IS901 del producto de PCR. Ante el desmejoramiento progresivo, 3 meses después del aislamiento, se realizó la eutanasia. La infección en perros producida por *M. avium* subsp. *hominissuis* puede considerarse una zoonosis potencial, particularmente en mascotas que están en estrecho contacto con sus dueños. Asimismo, el hecho que el perro infectado de este trabajo sea un Schnauzer miniatura, refuerza la hipótesis que esta raza presenta algún tipo de alteración en la respuesta inmunitaria que los hace más predispuestos a contraer la enfermedad por estas micobacterias.

¹Veterinaria particular, ²Cátedra de Enfermedades Infecciosas. FCV.UBA

Expresión del autoantígeno ZnT8 humano recombinante en *Escherichia coli*. Caracterización bioquímica e inmunoquímica

Rovitto, B.D; Faccinetti, N.I.; Guerra, L.L.; Trabucchi, A.; Poskus, E.; Iacono, R.F.; Valdez, S.N.

El transportador de zinc (ZnT8) ha sido identificado como un autoantígeno vinculado a Diabetes Mellitus (DM). Los autoanticuerpos anti-ZnT8 (ZnT8A) constituyen un marcador del proceso autoinmune que precede a la sintomatología clínica. El objetivo del trabajo fue expresar ZnT8 recombinante apto para la detección de ZnT8A en ensayos inmunoquímicos no radiométricos. La región codificante del C-terminal de ZnT8 fue clonada en el vector de expresión procariota pTrxFus. Bacterias *E. coli* GI698 se transformaron con el vector pTrx-ZnT8, se cultivaron a 30°C y la expresión de la proteína de fusión con tiorredoxina (Trx) se indujo con Triptofano durante 3 hs a 20°C. La quimera se purificó por cromatografía de afinidad a partir de la fracción intracelular soluble; las fracciones se analizaron por SDS-PAGE y Western Blot (WB), revelado con un suero policlonal de conejo anti-Trx o anti-ZnT8. La identificación bioquímica de Trx-ZnT8 se realizó por espectrometría de masa

(EM) y la capacidad de reconocer ZnT8A en sueros de pacientes se evaluó a través de ensayos de desplazamiento del trazador [35S]-ZnT8 generado en un lisado de reticulocito de conejo. El análisis por SDS-PAGE y WB reveló la presencia de una banda de ≈ 36 kDa, compatible con la presencia de Trx-ZnT8. La purificación permitió la obtención de ≈ 2 mg Trx-ZnT8/L cultivo con una pureza $\approx 90\%$. El análisis por EM permitió la identificación de la quimera recombinante con un porcentaje de cobertura del 73.61%. El ensayo de desplazamiento del trazador [35S]-ZnT8 mostró la inhibición de la respuesta de un valor medio de 44.8 a uno de 0.78, empleando 30 sueros de pacientes. Se logró expresar y purificar eficientemente ZnT8 como proteína de fusión con Trx en *E. coli*. Estos resultados avanzados permitirán la implementación de métodos no radiométricos (enzimoinmunoensayos) para la prospección sistemática del marcador ZnT8A en pacientes con DM autoinmune.

Evaluación del posible efecto analgésico del alendronato en ratones sujetos a la prueba de inducción de contracciones viscerales

Rubatino, F.¹; Lastra, Y.¹; Ferretto, A.¹; Álvarez, E.¹; Caggiano, N.¹; De Luca Sarobe, V.¹; Gullace, F.²; De Simone, E.¹; Chiappe Barbará, A.¹

Los bisfosfonatos son conocidos por su acción en el tratamiento de patologías óseas y se le han adjudicado propiedades analgésicas en el mieloma múltiple y Enfermedad de Paget. El alendronato (AL) es un compuesto muy seguro y efectivo en su potencia analgésica en dolores óseos pero su potencial aplicación en otro tipo de mecanismo del dolor no ha sido aún estudiada. El objetivo fue evaluar la acción del alendronato, en sus posibles efectos analgésicos viscerales y antiinflamatorios, en ratones sujetos a la prueba de contracciones musculares, inducidas por la inyección intraperitoneal de una solución de ácido acético. A los 30 min de haber administrado los tratamientos (ácido acetilsalicílico, alendronato y solución fisiológica) se inyectó ácido acético 0,85%. Se contó el número de contracciones durante 20' post inyección por animal y luego se promedió para el periodo de 5 minutos. A los 60 minutos de iniciada la experiencia se sacrificó a los

animales y se evaluó las citoquinas (IL 1,4,6 y TNF α) y MMP (2 y 9) en suero y líquido ascítico en los grupos. Se observó "tiempo (seg) para la aparición de la primera contorsión" más prolongado pero no significativo en los grupos tratados con AL (237,75 \pm 103,07) y con AAS (251,22 \pm 92,304) y los que recibieron solo ácido acético (163,25 \pm 86,594) y se observó diferencia en el número de contracciones de estos grupos a los "5-10 minutos" de iniciadas las contracciones (P<0,05). Se observó diferencia significativa en los niveles de MMP en los grupos basales vs AcAcet. vs AcAcet AL (P<0,05). En cuanto a IL1 y IL6 estos volvieron a los valores basales con el tratamiento con AL tanto en suero como en líquido ascítico presentando diferencia significativa respecto del grupo con AcAc (p<0,01); la IL4 y el TNF presentaron resultados variables. El AL podría ser estudiado en su potencial acción analgésica y antiinflamatoria en dolores viscerales profundos.

¹ Cátedra de Fisiología Animal y Bioquímica Fisiológica. ² Bioterio Central. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. mach@fvet.uba.ar

Evaluación de la efectividad de dos protocolos fisioterápicos en luxación traumática de rodilla en canino

Scherbuk, C.¹; Mercado M.¹; Pallares, C.¹; Chan, D².

La fisioterapia utiliza distintos agentes físicos y mecánicos para tratar diferentes enfermedades, previa evaluación de las restricciones y condición del paciente. El objetivo de este trabajo fue observar mediante instrumentos de valoración clínica, la efectividad de dos protocolos fisioterápicos para tratamiento post resolución quirúrgica de luxación traumática de rodilla en caninos. Se trataron 20 pacientes caninos en la Unidad de Fisioterapia del Hospital Escuela de la Facultad de Cs. Veterinarias de la U.B.A., post resolución quirúrgica de luxación traumática de rodilla. Se establecieron aleatoriamente dos grupos de 10 caninos cada uno. Todos los pacientes tenían dolor grado 3 en la sesión inicial. Grupo 1: protocolo solo con TENS y Grupo 2: protocolo con TENS y Ultrasonido. Equipo de TENS, marca SEAKIT. Aplicación por 20 minutos en

cada sesión, en el miembro afectado. Equipo de Ultrasonido marca VIP de 1 mHz pulsátil. Aplicación por 8 minutos en cada sesión, en el miembro afectado. Se utilizó como control el miembro contralateral en ambos grupos. Se confeccionó una tabla de valoración clínica con: Escala de Dolor Descriptiva Simple, Goniometría y Circunferencia Muscular. En todos los casos se usó la prueba t para comparación de medias apareadas, dado que todas las variables resultaron normales en el test de Shapiro Wilks. Se pudo observar que en los caninos del Grupo 2 tratados con el protocolo TENS + Ultrasonido, la mejoría clínica se alcanzó en un menor número de sesiones que en los del Grupo 1, tratado solo con TENS. La combinación de dos técnicas fisioterápicas, produce un efecto sinérgico, acelerando el proceso de recuperación funcional.

¹Enfermedades Quirúrgicas. Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. ²Área Bioestadística Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA

Recuperación y preparación del antígeno excretor secretor de larvas de *T. Cati*. Resultados preliminares

Sierra, M.F.¹; Kunic, J.M.¹; Ricoy, G.H.²; Santillán, G.I.²; Sommerfelt, I.E.¹

El parásito nematode, *Toxocara cati*, es considerado uno de los agentes causales de la Toxocariasis humana: enfermedad zoonótica de amplia distribución mundial. Las larvas secretan productos “excretor-secretor” (TES) que modulan la respuesta inmune del hospedero. La generación de anticuerpos específicos frente al mismo es la base de las técnicas diagnósticas como ELISA y Western Blot. El objetivo del presente trabajo es la obtención del antígeno TES a partir de muestras de materia fecal de felinos con *T. cati*. Materiales y métodos: Se recolectaron muestras de materia fecal de felinos naturalmente infestados con *T. cati*. Las mismas se procesaron por la técnica de flotación con solución azucarada concentrada de Benbrook modificada (Cardillo et.al., 2014). En esta experiencia se repitió nuevamente la técnica de Benbrook. Los huevos obtenidos se incubaron en tubos Eppendorf durante 1 mes con formol 5% a 25°C hasta obtener un porcentaje del 80% de huevos larvados. Las larvas de *T. cati* se obtuvieron por

ruptura mecánica de los huevos, de acuerdo al procedimiento descrito por Santillán (2000), basado en el método de De Savigny (1975), y se colocaron en frascos Falcon con medio de cultivo RPMI 1640 y el agregado de Penicilina 100 UI/ml, Estreptomycin 100 µg/ml y Nistatina 50 µg/ml. Se incubaron en estufa a 37°C y 5 % de CO₂. El sobrenadante del medio de cultivo fue recolectado semanalmente y conservado a -20°C. Se obtuvieron huevos en una alta concentración y con variadas impurezas. Con el fin de mejorar la limpieza del sedimento se incorporó un nuevo Benbrook logrando de ésta forma un medio limpio con menores impurezas. La concentración obtenida de huevos fue de 1518 huevos/gramo de materia fecal. Luego del cultivo de las larvas se obtuvieron 120 ml de sobrenadante que se conserva a -20°C. La realización en el presente trabajo de un segundo Benbrook, permitió lograr un sedimento con menores impurezas que lo observado previamente en otros trabajos.

¹Cátedra de Veterinaria en Salud Pública. Fac. de Cs. Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. ²Depto de Parasitología, Instituto Anlis Dr. C. Malbrán.

Mastitis bovina: estudios moleculares y fenotípicos de estafilococos coagulasa negativos (C. Preliminar)

Srednik, M.; Gentilini, E.

Los estafilococos coagulasa negativos (ECN) son un grupo heterogéneo de bacterias aisladas frecuentemente de mastitis bovina (MB). Los ECN están asociados a meticilino-resistencia (MR) y son reservorios de genes de resistencia (R), esto es importante pues los betalactámicos (BL) y el grupo macrólidos-lincosamidas-streptograminas son los antimicrobianos (ATM) de uso habitual en las MB. Los genes *blaZ* y *mecA* son responsables de la expresión de betalactamasas y MR respectivamente. Los genes *ermA*, *ermB*, *ermC* son responsables de la expresión de una metilasa que modifica el sitio blanco ribosomal para los macrólidos, los genes *mefA* y *mrsA* codifican una bomba de flujo para los macrólidos y lincosamidas respectivamente, los genes *mphC* y *lnuA* codifican enzimas inactivantes para los macrólidos y lincosamidas respectivamente. El conocimiento de la susceptibilidad a ATM de las diferentes especies ECN permite inferir sobre la participación del aislamiento en la mastitis. Objetivo: El objetivo de este estudio fue detectar genes de resistencia a BL, macrólidos y lincosamidas (ML). Se analizaron n=90 ECN, provenientes de leches mastíticas previamente identificados por RFLP-PCR. Extracción de ADN: se utilizó el Wizard

Genomic DNA Purification kit (Promega). PCR: se amplificó un fragmento de ~173 pb correspondiente al gen *blaZ*, uno de ~147 pb correspondiente al gen *mecA*, tres fragmentos de ~645, ~639 y ~642 pb correspondientes a los genes *ermA*, *ermB* y *ermC* respectivamente; un fragmento de ~253 y otro de ~940 pb correspondientes a los genes *mefA* y *mrsA* respectivamente; y dos fragmentos, uno de ~772 y otro de ~323 pb correspondientes a los genes *mphC* y *lnuA* respectivamente. Los fragmentos de ADN se analizaron por electroforesis en gel de agarosa 1,5%. Con respecto a la detección de R a BL, 12 (13,3%) fueron positivos al gen *blaZ* y 4 (4,4%) fueron positivos al gen *mecA*. De los 6 aislamientos (6,7%) resistentes a macrólidos/lincosamidas, encontramos aislamientos positivos a los genes *ermB*, *ermC*, *mefA* y *mphC* en 3, 4, 1 y 3 aislamientos respectivamente. Se detectaron aislamientos que expresaron diferentes genes de R a BL y ML. De los aislamientos, 4 *S. epidermidis* resultaron ser MR. La correcta identificación y la detección de genes de R nos permitiría inferir la participación de los ECN en las infecciones intramamarias, y tomar decisiones apropiadas para la terapéutica y el manejo de las vacas en ordeño.

De un proyecto de investigación a un proyecto de extensión. La vinculación de la Facultad de Agronomía (UBA) con la Asociación Civil Isleños Unidos II

Straccia, P.¹; Monkes, J.²

El objetivo es analizar cómo un proyecto UBACyT sobre el conflicto por la definición del territorio en el Delta Inferior del río Paraná sirvió de base para la conformación de un proyecto de extensión que busca fortalecer la participación de determinados agentes en dicha arena de disputa. Dos de los objetivos del proyecto de investigación son: caracterizar a los agentes sociales que participan en dicha disputa y describir las formas de vida y las prácticas productivas de los habitantes de la Zona Núcleo Forestal del Delta Inferior del río Paraná. A través de una metodología cualitativa de corte etnográfico, realizamos observación participante y mantuvimos entrevistas en profundidad con más de 60 productores forestales, vecinos, técnicos e investigadores utilizando una muestra de oportunidad inicialmente y un muestreo intencional en una segunda etapa, hemos podido caracterizar a los agentes sociales y conocer sus reivindicaciones. Uno de dichos agentes es la Asociación Civil Isleños Unidos II y tiene como objetivo contribuir al desarrollo de la familia isleña, tanto en lo referido a las condiciones productivas como a la vida diaria.

La investigación etnográfica nos permitió conocer sus procesos de conformación, disolución y reconstitución, así como sus luchas pasadas y actuales. También hemos podido conocer los relatos de los miembros sobre las formas de vida que los definen como “isleños” y como “nacidos y criados” en las islas. Además, hemos detectado que sus reivindicaciones son poco escuchadas y/o valoradas por los tomadores de decisión, debido a la posición subalterna que ocupan sus socios en el espacio local. Estos primeros resultados de la investigación, iniciada en el 2012, estimularon la generación de un proyecto de extensión que plantea un trabajo conjunto entre docentes-investigadores y alumnos de la FAUBA con los miembros de la Asociación en pos del fortalecimiento de su participación en la arena de disputa, a través de metodologías participativas de construcción de conocimiento. De esta manera, observamos cómo los resultados de un proyecto de investigación pueden ser insumos para la conformación de proyectos de extensión, combinándose ambos en un proceso de co-construcción del conocimiento científico junto a la sociedad civil y reconfigurando las arenas de disputa locales.

¹Cátedra de Extensión y Sociología Rurales, FAUBA – straccia@agro.uba.ar ²Cátedra de Extensión y Sociología Rurales, FAUBA

Composición de la dieta de *Eumops patagonicus* (Chiroptera – Mollosidae)

Tajan, K.M.

Eumops patagonicus Thomas, 1924 se distribuye en Salta, Jujuy, Tucumán, Santiago del Estero, Formosa, Chaco, Corrientes, Buenos Aires y Chubut (Barquez et al., 2006). Se desconocen hasta el momento estudios publicados respecto a la dieta específica de *E. patagonicus* en la provincia de Corrientes. El objetivo de este trabajo fue conocer el patrón de alimentación de *E. patagonicus*. Se observaron los contenidos gastro-intestinales de 40 ejemplares de *Eumops patagonicus* procedentes de Mercedes (n=20) y Corrientes (capital) (n=3) obtenidos durante los años 2009 – 2010. El análisis reveló que la dieta está constituida por coleópteros, hemípteros,

dípteros, lepidópteros, himenópteros, arañas y psocópteros. El orden Coleoptera fue consumido por la mayoría de los murciélagos analizados. Insectos de los órdenes Coleoptera y Hemiptera son los principales componentes de la dieta de *E. patagonicus* para las localidades de Mercedes y Capital. *E. patagonicus* demostró ser generalista. Para los restantes órdenes citados la mayoría se encontraron en la Capital con un porcentaje menor. Con los resultados de esta investigación se aporta al conocimiento sobre la alimentación de *E. patagonicus*, ampliando así los registros sobre perfiles alimentarios de estos importantes quirópteros controladores de insectos.

Establecimiento y caracterización del cultivo primario de células luteales porcinas como sustrato para la maduración *in vitro* de ovocitos porcinos

Teplitz, G.M.; Lombardo, D.M.; Claver, J.A.

La producción de embriones porcinos *in vitro* (PIV) es aún una biotecnología ineficiente, teniendo presente resultados obtenidos a partir de ovocitos madurados y fertilizados *in vivo*. Esto sustentado además en el hecho que, ni la maduración nuclear ni la citoplasmática han sido bien descritas en el cerdo, comparado con la amplitud de estudios hechos en otras especies animales y en humanos. El establecimiento y mantenimiento de un microambiente juega un rol fundamental en la maduración y posterior fertilización tanto *in vivo* como *in vitro*. Diversos trabajos han demostrado que el co-cultivo, a través de producción de compuestos con actividad mitogénica, sustancias que promueven la diferenciación celular, detoxificación de embriotoxinas, antioxidantes y la modificación de concentraciones de sustratos energéticos, favorece el desarrollo embrionario. El objetivo del proyecto es cocultivar a los ovocitos con monocapas de células luteales porcinas obtenidas de cultivos primarios a fin de disminuir los niveles de estrés oxidativo y la apoptosis inducida por especies reactivas del oxígeno (ERO),

favoreciendo tanto al nivel de la maduración nuclear como citoplasmática. La metodología incluye el establecimiento del cultivo primario de cuerpo lúteo porcino, el análisis y posterior caracterización del mismo. En este punto se ensayará la técnica de cultivo purificado de células luteales por gradiente de Percoll, ya realizado en nuestro laboratorio para células luteales de bovino. Paralelamente se realizará la recolección de ovocitos, su maduración *in vitro*, evaluación de la maduración nuclear, y citoplasmática, evaluación de apoptosis temprana (mediante la técnica de Anexina V), y evaluación de apoptosis tardía (mediante el ensayo de TUNEL), todo esto en cada situación experimental (ovocitos de co-cultivo y grupo control). Posteriormente se procederá a la fecundación *in vitro*, evaluando clivaje y formación de blastos. Hasta el momento se ha logrado la puesta a punto del cultivo primario de cuerpo lúteo porcino y se está en la fase de caracterización. Los resultados que se obtengan permitirían desde un punto de vista de la transferencia tecnológica, optimizar la producción *in vitro* de los embriones porcinos.

Evaluación morfológica del efecto de Morín (2', 3, 4', 5, 7-Pentahydroxyflavone) como protector de la apoptosis en células de granulosa bovina (línea BCG-1) estimuladas con análogos de GnRH

Carou, M.c.; Teplitz, G.m.; Lombardo, D.m.

Como sucede con otros tipos celulares del organismo, la ocurrencia de apoptosis en el folículo ovárico, ha sido considerada como un proceso fisiológico normal. Se detectó la presencia de receptores de GnRH (GnRHR) en células de granulosa y luteales. Estudios previos de nuestro laboratorio, identificaron un aumento significativo en la proporción de la apoptosis en células de granulosa bovina de línea (BGC-1) inducidas durante 24 h con 100 nM de acetato de leuprolide (LA), evaluada por técnicas morfológicas (DAPI y Hematoxilina), TUNEL y citometría de flujo para Anexina V. Estos resultados suponen una actividad citotóxica local de GnRH_a en el ovario. Morín (2, 3, 4, 5,7-Pentahydroxyflavone) es una flavona que exhibe efectos antiproliferativo, antitumoral y antiinflamatorio en células tumorales. Se puede aislar de plantas de la familia Moraceae como a partir del pigmento amarillo de almondhullyoldfustic (Chlorophoratorintoria.) Poco se sabe de su efecto en células somáticas

no tumorales, y en especial en células del ovario. El objetivo de este trabajo fue determinar la acción de este flavonoide en cultivos de células de línea establecida de granulosa de ovario bovino (BGC-1). Células de la línea BGC-1 tratadas por 24 h con 100 nM de LA y con Morín a concentraciones de 50, 25 y 12,5 μ M, fueron evaluadas para apoptosis morfológicamente mediante su tinción con hematoxilina. Estos resultados indican de forma preliminar una protección sobre la inducción de apoptosis causada por LA a una dosis de Morín menor a 25 μ M respecto de su control ($p=0,042$; $n=6$). Teniendo en cuenta que hasta el momento estos resultados sólo se apoyan en una evaluación morfológica, debiendo efectuar otras determinaciones como TUNEL, citometría para Anexina V, etc., podríamos inferir que el tratamiento con Morín actuaría posiblemente como protector de los efectos apoptóticos, provocados por el estímulo con un GnRH_a como el LA.

Mastitis bovina: estafilococos resistentes a antisépticos por el método de difusión en Agar

Testorelli M.F.; Gentilini, E.R.

Para la prevención de mastitis en tambos bovinos se utilizan antisépticos en el sellado pre y post ordeño. En la rutina de ordeño a medida que se realiza la práctica del sellado de pezones, existe la probabilidad de que los antisépticos se diluyan y/o contaminen predisponiendo al surgimiento de resistencia frente a estos agentes. El objetivo del trabajo fue detectar cepas de estafilococos resistentes utilizando una técnica de difusión en agar con una solución yodada (Y) y digluconato de clorhexidina (DC). Se estudiaron 70 cepas de estafilococos aislados de leche de vacas con mastitis, según la técnica *in vitro* de difusión en agar Müller Hinton (Britania[®]). Se utilizaron diluciones acuosas de (DC) y (Y). Se emplearon cepas de referencia como control y el inóculo se estandarizó como equivalente al tubo 0,5 de

Mac Farland siguiendo las recomendaciones del CLSI. El rango evaluado para DC por diluciones en base dos fue (20%-0,62%) y en base diez (2% y 0,2%); para Y (10%-0,31%) y 1% y 0,1% respectivamente. Se detectó un 4,3% (3/70) de cepas sin halo consideradas resistentes (R) a DC 0,2% y Y 1%; 1,43% (1/70) a Y 1,25%; 2,85% (2/70) a Y 0,62%; 80% (56/70) a Y 0,31% y 97,14% (68/70) a Y 0,1%. Se obtuvieron los halos promedio de las distintas diluciones para ambos agentes. El estudio cualitativo de susceptibilidad de los estafilococos frente a los antisépticos probados permitió detectar la emergencia de cepas resistentes, contribuyendo a mejorar el control de las mastitis en los establecimientos lecheros.

Morfometría espermática bovina mediante el sistema ISAS®.

Resultados preliminares

Torres, P.; Malcervelli, D.; Fratto, M.C.; Fischman, M.L, Cisale, H.

La morfología del espermatozoide está relacionada con sus características genéticas. Su medición objetiva se realiza por métodos computarizados. El objetivo del presente trabajo fue analizar la morfometría de espermatozoides bovinos teñidos con Tinción 15^o (T15) y determinar la posible presencia de subpoblaciones espermáticas. Los resultados se compararon con aquellos reportados en la bibliografía. Se analizaron 1168 espermatozoides bovinos criopreservados en pajuelas, provenientes de 12 animales mediante el sistema ISAS^o Proiser. Se determinaron las

subpoblaciones morfométricas en base a 4 parámetros: longitud (L), ancho (W), área (A) y elipticidad (E). Los resultados (media \pm DE) fueron: L (μm) $9,24 \pm 0,74$; W (μm) $4,63 \pm 0,31$; A (μm^2) $35,49 \pm 3,65$; E (largo/ancho) $2,01 \pm 0,16$. Éstos resultados fueron similares a los obtenidos por diferentes autores, utilizando otras coloraciones como Hematoxilina de Harris, Papanicolau o Azul de Toluidina. Para determinar la posible existencia de subpoblaciones morfométricas (Sp) se realizó un análisis multivariado de conglomerados (InfoStat versión 2011), ver tabla.

	Sp 1	Sp 2	Sp 3
L (μm)	$8,70 \pm 0,56$	$9,37 \pm 0,49$	$9,99 \pm 0,51$
W (μm)	$4,41 \pm 0,20$	$4,93 \pm 0,24$	$4,59 \pm 0,21$
A (μm^2)	$32,33 \pm 2,26$	$38,13 \pm 2,50$	$37,27 \pm 2,73$
E (L/W)	$1,98 \pm 0,13$	$1,90 \pm 0,10$	$2,18 \pm 0,12$

Los resultados permitieron evidenciar la presencia de tres Sp. La Sp 1 está formada por los espermatozoides más pequeños. La Sp 2 y la 3 si bien no difieren demasiado en los valores de área, sí lo hacen en su E, siendo ésta mayor en los Sp 3 que en los Sp 2. Los Sp 2 son más anchos que los Sp 3, pero de menor largo. La T15 demostró ser

útil para realizar mediciones morfométricas de espermatozoides bovinos en el Sistema ISAS v1.2 Proiser^o. De acuerdo al análisis estadístico utilizado se demostró la presencia de tres subpoblaciones morfométricas. Se requieren más estudios para determinar si dichas subpoblaciones espermáticas tienen relevancia en la fertilidad.

Aislamiento e identificación de la microbiota de panes

Valiente Dmitruk, M.C.

El presente trabajo, surgió a partir de la demanda de productores precarios del barrio Puente de Fierro, quienes buscaban mecanismos que permitan el desarrollo de sus potencialidades. Gracias al espacio dado por la Universidad, se encauzó la solicitud en esta investigación, y se logró una retroalimentación universidad-sociedad, que potenciará el desarrollo del saber científico, su divulgación y el acceso de nuevos sectores al mercado oficial. Los objetivos abordados fueron: determinar la calidad microbiológica de productos de panificación elaborados en dos emprendimientos de la ciudad de La Plata, aislar y caracterizar fenotípicamente la microbiota presente y realizar un intercambio con los productores para que mejoren su producción y repliquen sus saberes con otros productores del barrio. El proceso consta de dos etapas. Una social,

en la que se buscó la reducción de las disparidades y la consolidación de los lazos entre la Facultad y los productores barriales. A su final, se planteó el trabajo de investigación y se coordinó la toma de muestra. Se analizó pan blanco, pan con cebolla y pan con grasa, con base en las exigencias del CAA. Se hizo recuento de aerobios mesófilos en PCA™ y de hongos y levaduras en DRBC™. Luego, a los hongos filamentosos crecidos se los aisló en medio DRBC™ y se los clasificó morfológicamente. Para ello, se los cultivó durante 7 días en los medios MEA, G25N y CEA, a 5, 25 y 37 °C cada uno. Se midió los diámetros de cada colonia, además del color y la textura. Se realizaron observaciones macroscópicas y microscópicas. Se tomó una muestra de 25g de cada producto analizándola con los límites más exigentes, según la RM n°615-2003 del CAA.

Resultados Recuentos microbiológicos		
Muestras	Aerobios mesófilos	Hongos y levaduras
Pan con cebolla	$1 \times 10^6 \pm 0$ UFC/g	$3 \times 10^4 \pm 1,5$ UFC/g
Pan blanco	$1,5 \times 10^3 \pm 0,5$ UFC/g	$\leq 10^2$
Pan con grasa	$3,75 \times 10^2 \pm 2,2$ UFC/g	$< 10^2$

Hongos aislados: *Aspergillus niger*, *Rhizopus microsporus* y *Penicillium* sp, Los hongos aislados suelen estar en productos

fermentados y afectan su vida útil. Debe evaluarse la producción de micotoxinas para *A. niger*

Relevamiento de pequeños productores lecheros periurbanos de Venado Tuerto

Vallone, C.; Biolatto, R.; Vallone, R.

A partir de un trabajo interinstitucional, se detectaron pequeños productores lecheros periurbanos en la ciudad de Venado Tuerto, tambos familiares con menos de 15 vacas y cuya localización estratégica permite la venta directa de leche cruda a la población. El objetivo consistió en relevar este grupo de productores con el fin de caracterizarlos socio-económico-productivamente. El estudio se llevó a cabo durante el año 2014 a través de viajes semanales. La metodología empleada fue cuali-cuantitativa. Se identificaron diez productores familiares a través de entrevistas in situ, abarcando tres aspectos (1) social, (2) económico y (3) productivo. En el aspecto social se evaluó la composición y características del grupo familiar que participa en la producción y la sucesión. Encontrándose que el 70% están compuestos por el productor y su pareja, con una edad superior a los 50 años. El 30% restante se compone de la pareja y descendientes los cuales participan en las actividades productivas pero no están interesados en continuar con la misma (sucesión). En el aspecto productivo se evaluó tenencia de la tierra, superficie del establecimiento, número

de vacas totales, número de vacas en ordeño, litros diarios, sanidad y disponibilidad de alimento. Encontrándose que el 90% son propietarios de la tierra. El 70% presenta una superficie menor a una y media hectárea. La alimentación se basa en la utilización de pastos naturales. El número de vacas totales para el 60% de los productores no supera los 5 animales mientras que para el 40% restante no supera los 15 animales, siendo variable el número de vacas en ordeño y los litros diarios obtenidos según la disponibilidad de alimento. Sanitariamente se encontró que el 80% de los productores cuentan con la sanidad al día. El 20% restante no realiza ningún control sanitario. En el aspecto económico se analizó la comercialización de la leche. La misma se vende luego del ordeño directamente al consumidor. Concluimos que este grupo de productores al no tener sucesión y por su reducida superficie van a desaparecer con el tiempo. Es nuestra responsabilidad acompañarlos en sus actividades productivas, asegurando una sanidad adecuada, y asesorándolos en la alimentación, su principal problemática.

Investigación de la eficacia antibacteriana de fitoquímicos para combatir infecciones ocasionadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina

Vázquez, N.M.¹; Fiorilli, G.²; Cáceres Guido, P.A.²; Moreno, S.¹

Un problema complejo a nivel mundial es la dificultad para un tratamiento eficaz de la bacteria patógena *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM). En la última década el panorama se complicó aún más porque numerosas publicaciones refieren el posible papel de ciertos animales (cerdos, caballos, aves, gatos y perros) en el mantenimiento y transmisión de infecciones en el hombre causadas por *S. aureus* resistentes a β -lactámicos. Previamente, demostramos la actividad antibacteriana de diterpenos y monoterpenos de la hierba culinaria *Rosmarinus officinalis* (romero) contra cepas susceptibles de *S. aureus*. Dado que los tratamientos utilizados actualmente favorecen la selección de cepas resistentes (no sólo de aquellas que causan cuadros clínicos sino también de cepas asociadas a colonizaciones asintomáticas), el objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia antibiótica de fitoquímicos de romero contra cepas de SARM. Las etapas del trabajo fueron: I-obtener cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos; II: determinar el perfil de resistencias a antibióticos

in vitro; III: desafiar fitoquímicos contra cepas multirresistentes (en suspensión y/o biofilm) solos o en combinación mediante ensayos de dilución en medio líquido en microplacas y IV: posteriormente se evaluará la eficacia *in vivo* de los fitoquímicos. Hasta ahora aislamos 36 cepas de SARM de pacientes del Hospital Garrahan, de las cuales 13 cepas presentaron multirresistencias (máximo 10 resistencias), entre otros a: cefalosporinas, aminoglucósidos, macrólidos, ciprofloxacinas, lincosamidas y/o oxazolidinonas. Los datos obtenidos indican que fitoquímicos de *R. officinalis* son capaces de inhibir *in vitro* el crecimiento en suspensión de cepas que presentan al menos 5-7 resistencias a antibióticos de amplio uso en la clínica humana. La eficacia antibiótica de los fitoquímicos demostrada en este trabajo contra las cepas multirresistentes, es el paso inicial para continuar estudios más amplios para el desarrollo de una nueva alternativa terapéutica para el tratamiento/descolonización de infecciones estafilococales multirresistentes a antibióticos.

¹Lab Bioquímica Vegetal, Instituto de Investigaciones Bioquímicas, Buenos Aires (I.I.B.B.A.)-CONICET, Fundación Instituto Leloir; Universidad Maimónides. ²Grupo de Medicina Integradora, Hospital de Pediatría Juan H. Garrahan, CABA, Argentina.

Uso de la progesterona BioRelease® la en el control de la dinámica ovárica en la llama (*Lama Glama*)

Veiga, M.F.^{1,2}; Trasorras, V.L.¹; Moncalvo, E.¹; Chaves, M.G.¹; Miragaya, M.H.¹

La progesterona y los progestágenos son eficientes en el control de la sincronización folicular en diferentes especies. En la llama, la progesterona endógena inhibe el crecimiento folicular, reduce el tamaño del folículo dominante y acorta la duración de la onda folicular (Adams et al., 1990). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la progesterona BioRelease® LA sobre el control de la dinámica ovárica en la llama para poder ser utilizada en protocolos de inhibición folicular. Se utilizaron hembras adultas (n=8), se evaluaron dos dosis de progesterona BioRelease® LA: 150 mg (grupo A) y 300 mg (grupo B). Ambos grupos recibieron una única dosis intramuscular de progesterona (día 0) y se realizó el control ultrasonográfico diario previo a la aplicación y hasta el día 10. Se extrajo sangre en el momento previo a la aplicación (hora 0), a las 3, 6 y 12 horas pos inyección y diariamente hasta el día 10. La concentración plasmática de progesterona se

evaluó a través del método de radioinmuno ensayo (RIA). Con la dosis de 300 mg (1 ml), se pudo observar que los valores de progesterona se mantuvieron superiores a 2 ng/ml hasta el día 10 pos inyección. Con la dosis de 150 mg (0,5 ml) se observó que los niveles de progesterona se encontraban por debajo de 1 ng/ml a partir del día 7. En este experimento se trabajó con inyecciones de progesterona de 300 mg y se observando que los valores plasmáticos se mantuvieron elevados hasta el día 10. A través de la ultrasonografía los folículos mantuvieron un diámetro folicular menor a 8 mm debido al efecto inhibitorio de la progesterona. Cuando se inyectaron 150 mg se observó que al día 7 los niveles de progesterona disminuían y se observó a través de ultrasonografía el crecimiento folicular a partir del día 6. El uso de 150 mg la progesterona Biorelease® LA podría ser la más eficaz en la utilización de protocolos de sincronización de celo en llamas.

¹Cátedra de Teriogenología. INITRA. ²Cátedra de Fisiología animal y Bioquímica fisiológica. Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

Nefropatía asociada a la enfermedad de cushing en el perro: estudio de variables de valor predictivo de daño renal

Vidal, P.N.; Castillo, V.A.

El Síndrome de Cushing (SC) es una de las endocrinopatías con mayor frecuencia en los perros. La enfermedad suele cursar con hipertensión arterial sistólica y predispone al daño renal, siendo una causa de muerte en el SC. El objetivo de este trabajo fue evaluar la relación entre el desarrollo de hipertensión arterial y daño renal en perros con SC. Se estudiaron 20 perros con Enfermedad de Cushing (EC). Ninguno presentaba enfermedades concurrentes que comprometan la funcionalidad renal. Se midió tensión arterial (TA), tanto sistólica (TS) como diastólica (TD) definiéndose como hipertensión a $TS > 160$ mmHg y/o $TD > 90$ mmHg. Por ecodoppler de la arteria renal se evaluó el índice de resistencia de arteria renal (IRA, valor referencial $< 0,72$). Se midió en suero las concentraciones de cortisol, óxido nítrico (NO, valores de referencia en población sana para la relación de nitrato/nitrito $0,39$ nmol/l (rango, $0,12- 1,12$ nmol/l)). En orina se determinó la relación proteína/creatinina (UPC, valor normal $< 0,3$, inespecífico entre $0,31$ y $0,5$ y patológico $> 0,51$). Las variables fueron correlacionadas

entre sí por el test de Spearman, método no paramétrico. Los valores de TS fueron superiores al valor de referencia en $10/20$ (50%) perros. La TD fue elevada en $15/20$ (75%) perros. El IRA de $6/20$ (30%) perros presentó valores $> 0,72$. La mediana del cortisol fue de $6,25$ con rango ($2,80-10,60$). La mediana del NO fue de $4,025$ con rango ($1,85-12,40$). En $9/20$ (45%) perros se encontró $UPC > 0,52$. Se establecieron correlaciones: El cortisol correlacionó negativamente con el NO ($r = -0,5$; $p = 0,03$), y positivamente con la TD ($r = 0,35$; $p = 0,045$). Significación moderada. En cuanto al NO éste correlacionó negativamente con IRA ($r = -0,55$; $p = 0,001$). El aumento del cortisol en sangre de forma crónica provoca disminución en las concentraciones de NO, vasodilatador, llevando al desarrollo de hipertensión arterial, con predominio en el aumento en la PD; esto tiene repercusión a nivel renal, incrementando el IRA, aumentando el filtrado glomerular, generando proteinuria, que perpetua el daño renal, conduciendo al desarrollo de enfermedad renal.