

VI Jornadas de Jóvenes Investigadores

**8, 9 y 10 de junio de 2016
Buenos Aires - Argentina**



Conferencias

ROL DE LOS ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES EN LA INFECCIÓN CAUSADA POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA Y LA ELIMINACIÓN DEL RESERVORIO VIRAL

JAWORSKI, JUAN PABLO

En los últimos años se han producido grandes avances en el tratamiento del SIDA. Hoy en día, es posible contener la enfermedad utilizando distintas combinaciones de drogas antirretrovirales (ARV). Si bien el tratamiento con ARV permite controlar eficazmente la replicación viral y restablecer la función inmunológica de los pacientes infectados, no es capaz de eliminar por completo al virus del organismo. El desenlace desfavorable del famoso caso del “bebe de Mississippi”, ha demostrado que aun iniciado dentro de las primeras horas post-infección, el tratamiento con ARV no impide el establecimiento del reservorio viral. Por otra parte, un solo caso de cura funcional de HIV ha sido reportado: el paciente de Berlín. El mismo, logró controlar la infección luego de recibir un trasplante de médula ósea proveniente de un donante con resistencia genética al HIV.

En el laboratorio de la Dra. Nancy L. Haigwood, hemos desarrollado un modelo de infección oral con el virus de la inmunodeficiencia de los simios portando la proteína de envoltura de HIV (SHIV) en monos Rhesus (*Macaca mulatta*) de un mes de vida. En este modelo, los animales no tratados e infectados con el virus SHIV presentan una elevada carga viral, una disrupción de la respuesta inmune (LB y LT CD4+) y una rápida progresión de la enfermedad hasta desencadenar su muerte. Una vez dentro del organismo, el virus se disemina rápidamente y diversos focos de replicación son detectados en múltiples tejidos a solo 24 horas post-desafío.

Utilizando este modelo, se evaluó el rol de los anticuerpos neutralizantes (NAb) en la

patogenia causada por el virus. En una primera experiencia, los animales recibieron una dosis de NAb por vía subcutánea y 24 horas después fueron desafiados oralmente con SHIV. A dosis elevadas, los NAb bloquearon la infección. Al recibir dosis más bajas de NAb, si bien los animales se infectaron, fueron capaces de montar una respuesta inmune rápida y potente. La misma, logró controlar parcialmente la infección y aumentar la supervivencia de los animales.

Los NAb podrían haber actuado de dos maneras diferentes:

- conteniendo la explosiva replicación viral inicial y protegiendo a los linfocitos B y T, a partir de la neutralización de partículas virales;
- incrementando la captación de antígenos por parte de células dendríticas y promoviendo la presentación antigénica, a través de la formación de complejos inmune.

En un segundo estudio, los animales fueron desafiados oralmente con SHIV y 24 horas más tarde recibieron un tratamiento con NAb monoclonales (mNAb) de última generación. El tiempo transcurrido entre la exposición y el tratamiento permitió que el virus se diseminara por todo el organismo, detectándose focos de replicación viral en diversos tejidos periféricos. El tratamiento temprano con mNAb logró eliminar estos focos en solo dos semanas, evitando así, la progresión de la infección. Una vez eliminado del organismo, no se detectó virus en sangre ni en tejidos periféricos en ninguno de los animales tratados. Tampoco se detectaron respuestas

inmunes específicas de tipo T o B contra SHIV, ni la reaparición del virus tras la depleción iatrogénica de linfocitos T CD8+.

Estos resultados demostraron que, administrados tempranamente, los mNAbs son capaces de prevenir el establecimiento y/o favorecer la eliminación del reservorio de un retrovirus estrechamente relacionado con HIV. Por otra parte, estos resultados apoyan

la utilización de mNAbs de última generación como suplemento de la IgG materna y las terapias profilácticas con ARV en la prevención de la transmisión de madre a hijo de HIV

(<http://impaactnetwork.org/studies/P1112.asp>). Asimismo, este modelo podría ser utilizado para el análisis de la eficacia de nuevos mNAbs en un corto periodo de tiempo, acelerando su transferencia desde el laboratorio a la clínica.

Referencias:

Passive neutralizing antibody controls SHIV viremia and enhances B cell responses in infant macaques.

CIENCIA CON COMPROMISO: CUANDO LA INVESTIGACIÓN ES UTILIZADA PARA MEJORAR LAS DEMANDAS DE LA SOCIEDAD.

DRA. MARIANA I. PASQUALETTI

La trichinellosis es una enfermedad transmitida por alimentos producida por un nematode perteneciente al género *Trichinella* que se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial, de carácter endémico en Argentina. La aparición de trichinellosis en el hombre se produce estrictamente por el consumo de carne parasitada, cruda o insuficientemente cocida, de diferentes animales. En Argentina, el cerdo es la especie que se encuentra principalmente implicada en los brotes de dicha enfermedad. La crianza, faena y elaboración de subproductos de cerdos de manera domiciliaria, sin medidas de manejo adecuadas que brinden carne porcina segura, es una costumbre muy arraigada en la población, que permite la perpetuación de la transmisión de esta parasitosis. En los últimos años se ha detectado una dispersión en la aparición de casos humanos a lo largo del país. Durante el año 2014 fueron notificados 1086 casos, y en el 2015 se han registrado 1338 notificaciones de trichinellosis humana. La persistencia de brotes, da lugar a que por temor la población disminuya el consumo de carne y subproductos del cerdo, hecho que impacta en la producción y comercialización porcina.

Al no producir signos clínicos que nos permita sospechar de la infección en la especie porcina, la utilización de una herramienta serológica resulta de utilidad para conocer el status de un establecimiento. La técnica de ELISA es el único test serológico respaldado por la ICT (Comisión Internacional de Trichinellosis) como una herramienta de vigilancia epidemiológica

para detectar anticuerpos anti-*Trichinella* en los cerdos. En nuestras experiencias la técnica demostró ser una herramienta valiosa en la detección de cerdos infectados con bajas densidades larvianas, siendo capaz de detectar animales positivos 2 a 3 semanas post-infección en infecciones con altas cargas parasitarias, pero si la dosis ingerida es baja se produce un retraso en la respuesta de anticuerpos. De esta manera, en etapas tempranas de infección, estas pruebas pueden arrojar resultados falsos-negativos en relación con los métodos directos de detección.

En Argentina el diagnóstico oficial en los porcinos se realiza post-mortem por medio de la técnica de digestión artificial, técnica ampliamente utilizada en el mundo, validada y recomendada como la prueba *gold estándar*. La necesidad de la uniformidad en la técnica diagnóstica y de minimizar los errores en los resultados, llevó a la implementación, en diversos países, de programas de calidad para lograr la acreditación de los laboratorios. Uno de los principales problemas se debe a errores del personal a cargo de realizar la técnica, que no se encuentra correctamente entrenado para tal fin. Asimismo el uso de equipamientos e insumos inadecuados en los laboratorios generan deficiencias en el diagnóstico. La posibilidad de evaluar la eficacia de la técnica diagnóstica mediante el análisis de muestras de carne individuales (pro-eficiencia), hasta el momento no disponible en nuestro país, permitirá corroborar que los procesos de evaluación funcionan adecuadamente y obtener resultados

confiables, otorgando un alto nivel de protección a los consumidores.

La incorporación de valores trascendentales como responsabilidad social, compromiso ciudadano y solidaridad, resultan esenciales para el control de la trichinellosis. Por medio de capacitaciones buscamos generar el compromiso del productor, en cuanto a la incorporación de buenas prácticas de producción porcina, minimizando los riesgos del ingreso del parásito en su establecimiento y la importancia de llevar a cabo un diagnóstico adecuado para evitar la presencia de brotes humanos que generan una pérdida económica a nivel regional y nacional. La transferencia de los conocimientos generados

en el ámbito universitario a estudiantes de escuelas agropecuarias de distintas regiones, les permiten actuar activamente en sus comunidades, convirtiéndose en multiplicadores en la prevención de la enfermedad.

Las acciones de nuestro grupo de trabajo buscan fortalecer el circuito productivo y comercial de la producción porcina, en detrimento del impacto negativo que genera esta enfermedad en el crecimiento de los mercados regionales, y a la vez promover la aplicación de medidas de control para brindar a la población seguridad y confiabilidad en la adquisición y consumo de productos y subproductos de origen porcino.

Resúmenes

CICLO REPRODUCTIVO MASCULINO DE LA CULEBRA VERDE DE PASTIZAL, *PHILODRYAS PATAGONIENSIS*

AGUIRRE, FERNANDO D.¹; ORTIZ, MARTÍN A.¹; BORETTO, JORGELINA M.², HERNANDO ALEJANDRA, B.¹ Y LOMBARDO, DANIEL M.³

En los reptiles, los estudios de biología reproductiva se realizan en base a análisis macroscópicos de los órganos reproductivos. En serpientes del Centro y Sur de América, sólo en el 15,5% de los estudios se han empleado métodos histológicos para examinar la condición testicular y determinar el estadio espermatogénico y su correspondiente ciclo. En los estudios de biología reproductiva de los reptiles escamados (lagartos, anfisbenas y serpientes) suele incluirse también la descripción del segmento sexual del riñón (SSR) presente en los machos. El SSR se cree que su secreción participa en el mantenimiento y activación de los espermatozoides. *Philodryas patagoniensis* es un colubroideo ovíparo de mediano tamaño que alcanza los 1,4 m de longitud. Si bien existen reportes sobre varios aspectos de su reproducción, no existen estudios precisos que describan el ciclo reproductivo de los machos. El objetivo de este trabajo fue describir el ciclo espermatogénico completo de *P. patagoniensis* utilizando análisis histológicos de

los testículos, conducto deferente y SSR a fin de determinar el ciclo reproductivo masculino de la especie. Se utilizó un protocolo histológico convencional con hematoxilina-eosina para estudiar el testículo y conducto deferente y SSR de 15 ejemplares adultos de *P. patagoniensis* colectados en la localidad de Empedrado (Corrientes) durante las cuatro estaciones. Los resultados muestran que los machos de *P. patagoniensis* presentan un ciclo reproductivo continuo, sin una regresión testicular completa, aunque algunos machos capturados en marzo, agosto, octubre y noviembre exhibieron disminución de la actividad espermatogénica. No obstante, todos los individuos presentaron espermatozoides en los conductos deferentes, indicando la existencia de almacenamiento de esperma en este órgano. El SSR se presentó hipertrofiado en todos los ejemplares, con signos de actividad secretoria, lo que podría estar en relación con el almacenamiento de esperma en el conducto deferente a lo largo de todo el año.

¹Laboratorio de Herpetología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura. Universidad Nacional del Nordeste. ²INIBIOMA (CONICET – Universidad Nacional del Comahue. ³Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA).

EVALUACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO FELINO MEDIANTE LA TINCIÓN DE AZUL DE TOLUIDINA

CECILIA ALLERA ¹; ELIDA COMERCIO ^{1,2}; JULIAN GONZALES VERA³; MARCELO MIRAGAYA ^{1,2};
MARÍA IGNACIA CARRETERO ^{1,2,4}

En los últimos años existe un creciente interés en incluir la valoración del ADN espermático dentro de la evaluación de las características seminales de rutina. El objetivo fue evaluar el ADN en espermatozoides de gato obtenidos por eyaculación farmacológica (EF) y por cortes de epidídimo (CE) mediante la tinción de Azul de toluidina (AT). Se utilizaron 13 gatos machos enteros entre 9 meses y 5 años de edad, clínica y reproductivamente sanos. Se realizó EF bajo sedación y cateterización uretral y la orquidectomía para la obtención de los espermatozoides de la cola del epidídimo. Se evaluaron las siguientes características seminales de rutina: movilidad progresiva (MP), morfología espermática y concentración (C). Para evaluar el grado de condensación de la cromatina se empleó la tinción con AT y se utilizó la incubación de las muestras con ditiotreitól (DTT) al 1% como inductor de descondensación de la misma. Se realizaron extendidos de las muestras (EF y CE) y de los espermatozoides incubados con DTT (EF y CE). Una vez secos se fijaron 2 minutos con etanol 96° y se tiñeron con una solución

de trabajo de AT al 0,25% durante 5 y 10 minutos. Se utilizó un diseño factorial para comparar las metodologías de obtención de espermatozoides y los dos tiempos de tinción con AT. Se realizó estadística descriptiva para evaluar las muestras incubadas con DTT. Los valores de las características seminales de rutina fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) en las muestras obtenidas por EF respecto a CE (MP: $84,2 \pm 7,0\%$; $70 \pm 7,3\%$; espermatozoides normales: $82,7 \pm 6,0\%$; $75,6 \pm 5,0\%$ y C: $150 \pm 26,7 \times 10^6$; $90 \pm 32,6 \times 10^6$ esp/ml; media \pm DS). No se observaron diferencias significativas entre las dos metodologías de obtención de espermatozoides ni entre los dos tiempos de tinción en ninguno de los patrones de AT ($p > 0,05$). En todas las muestras incubadas con DTT se observó un 100% de espermatozoides positivos. Estos resultados indicarían que a pesar de observar diferencias significativas en las características seminales de rutina entre las muestras obtenidas por EF y por CE, no hay diferencias en el grado de condensación de la cromatina en espermatozoides de gato obtenidos por dichas metodologías.

¹ Cátedra de Teriogenología, ² INITRA, ³ Cátedra de cirugía, FCV, UBA, ⁴ CONICET.

EFFECTO DE LA TRANSFERENCIA DE INMUNIDAD PASIVA SOBRE LA PREVALENCIA DE DIARREA NEONATAL EN TERNERAS HOLSTEIN EN CRIANZA ARTIFICIAL

ALVAREZ G.^{1,2}; MOSCUZZA CH.^{1,2}; AMBROS L.^{1,3}; FERNANDEZ CIRELLI A.¹

La falla en la transferencia de inmunidad pasiva a través del calostro, genera un estado de inmunosupresión que provoca mayor susceptibilidad a los terneros frente a diversas enfermedades. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la falla de transferencia de inmunidad pasiva (FTP) con respecto a la aparición del síndrome de diarrea neonatal en terneras Holstein en crianza artificial (CA). Se evaluaron 10 terneras durante los 45 días que permanecieron en CA. Seis de ellas contaban con una transferencia de inmunidad pasiva efectiva (TPE), mientras que las 4 restantes padecían de una falla de la misma, medida a través de refractometría sérica. Los días 1, 7, 21 y 45 se evaluaron clínicamente a través del examen físico, complementado con análisis de laboratorio

(hematología y bioquímica). Por medio de un análisis de sobrevivencia de Kaplan-Meier asociado a scores clínicos y estadística descriptiva (medía y error estándar) se obtuvieron los siguientes resultados y conclusiones. El 75% de las terneras con FTP tuvieron diarrea antes de la semana de vida con un riesgo del 40% de padecerla dentro de los 2 primeros días en crianza artificial, mientras que aquellas con TPE tuvieron el mismo riesgo dentro de los 9 días ($p < 0,05$). Al final de la CA la diarrea había remitido en todas ellas ya que el manejo sanitario y nutricional fue óptimo, alcanzando pesos homogéneos para ambos grupos ($64,3 \pm 2,2$) sin que existirá diferencia entre ellos ($p = 0,78$). Las terneras en CA con FTP manifestaron cuadros de diarrea más tempranamente que aquellas con TPE.

1 Instituto Nacional de Producción Animal. FCV-UBA.

2 Cátedra de Clínica Médica y Quirúrgica en Rumiantes. FCV-UBA.

3 Cátedra de Farmacología. FCV - UBA.

VARIACIÓN EN LA ACTIVIDAD DE ANTIOXIDANTES EN FORRAJES EXPUESTOS A ARSÉNICO

ALVAREZ GONCALVEZ C.V., FERNANDEZ CIRELLI A., PÉREZ CARRERA A.L.

El arsénico (As) es un elemento que se encuentra presente en concentraciones elevadas en el agua subterránea de Argentina, especialmente en áreas importantes para la producción ganadera. La presencia de elevados niveles de As en suelo o agua de irrigación se relaciona con un incremento en las concentraciones de este elemento en las partes aéreas y radiculares de varias especies de plantas, además de estar asociado a un incremento en el estrés oxidativo de las mismas. Los forrajes, como otras especies de plantas, poseen sistemas antioxidantes que incluyen enzimas involucradas en la disminución de las especies reactivas del oxígeno (EROs); entre ellas se encuentran las enzimas peroxidasa (POD) y catalasa (CAT). El objetivo de este trabajo es realizar una evaluación del efecto del As en la actividad de las enzimas POD y CAT en el desarrollo temprano de plántulas de dos de las especies forrajeras de mayor importancia: ryegrass (*Lolium perenne*) y alfalfa (*Medicago sativa*). Se colocaron semillas en placas sobre papel de filtro con y sin exposición a As (1 mg/L), durante 120hs en oscuridad. Previo congelamiento de

las plántulas, las enzimas se extrajeron por maceración de las mismas en buffer fosfato. Se determinaron parámetros de crecimiento, y la actividad de las enzimas POD y CAT mediante la reacción con guayacol y peróxido de hidrógeno respectivamente, registrándose la variación de absorbancia en función del tiempo. Todos los ensayos se realizaron por triplicado. El análisis estadístico se realizó utilizando InfoStat®. Los resultados del presente trabajo evidenciaron que en las plántulas tratadas con As, tanto alfalfa como ryegrass, se produjo un incremento estadísticamente significativo de la actividad de las enzimas POD y CAT. Respecto de los parámetros morfológicos se observó una disminución en la elongación de la porción radicular en las plantas expuestas a As, no observándose efectos significativos en la parte aérea. Esto podría indicar que la exposición a As tendría un impacto negativo en el desarrollo temprano de los forrajes, que impactaría sobre la elongación radicular de los mismos, al mismo tiempo que se produciría un aumento en la actividad de enzimas antioxidantes.

Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA, UBA-CONICET), Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA, UBA), Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

EFECTO DE ABONADO CON PURIN EN RAIGRAS (PLANTA ADULTA)

ANDRADE, N.; SARDI, G.M.I.; VOLPE, S.

La acumulación de purines producida por la concentración de animales en instalaciones (carne-leche), pueden convertirse en una oportunidad para ser utilizados como abono en forrajeras. La calidad del purín puede variar por el contenido salino del agua del lavado de las instalaciones y por la cantidad de agua utilizada generando dilución de los nutrientes. El objetivo fue evaluar el efecto de la aplicación de purín bovino en planta adulta de Raigras perenne (*Lolium perenne*). El crecimiento de 10 semillas se llevó a cabo en recipientes de 600cc con arena estéril, saturado con 100ml de agua destilada, aplicando 40ml de solución tratamiento, con luz natural a temperatura ambiente (24±3°C). Las soluciones de los tratamientos se prepararon con estiércol, homogeneizado y secado a 60°C, agua destilada y cloruro de sodio y se determinaron por métodos estándar: %MS, pH, CE. Se aplicó solución tratamiento a la siembra con 3 niveles de materia seca (%MS) en % (0; 5 y 15) y 4 valores

de conductividad eléctrica (CE) en mS*cm⁻¹ (5; 10; 15 y 20), con 4 repeticiones y un control. A los 115 días se extrajeron las plantas determinándose peso de raíz y tallo (mg) con balanza de precisión y longitud de raíz y tallo (mm) con calibre digital. En la tabla se muestran los resultados. Purines con >%MS y <CE favorecería el desarrollo en planta adulta. Se observó que la proporción de largo y peso seco de raíz con respecto al control para los tratamientos 5MS% y CE 10 redujo la longitud en un 62% aumentando el peso en un 90% y en CE20 redujo la longitud en un 64% aumentando el peso en un 98%. Los resultados indicarían posible efectos fitotóxicos a nivel radicular, también hallados por otros autores. A > CE se han observado la >longitud de tallos, y no así en longitud de raíces, pudiendo afectar la permanencia de la especie perenne. Cuando se abona Raigras con purín se debería conocer la calidad del agua de la región pues CE > a 15 mS*cm⁻¹ podría afectar el crecimiento.

Tabla: Longitud (mm) y peso seco (g) de raíz y tallo de Raigras adulto abonado con soluciones de materia seca de purín (MS) en % (0; 5 y 15) y conductividad eléctrica (CE) en mS*cm⁻¹ (5; 10; 15 y 20), expresados en medias.

CE	Largo de raíz			Largo de tallo			Peso seco de raíz		
	MS 0	5	15	0	5	15	0	5	15
0	29,4±15,1	29,0±5,7	17,4±5,9	73,8±15,0	102,5±19,7	101,3±7,1	2,3±0,7	1,8±1,1	1,5±1,0
5	20,2±1,8	26,8±4,4	23,7±10,6	80,6±8,3	105,2±19,1	96,1±9,5	1,4±0,6	1,4±0,4	2,0±0,8
10	18,1±2,1	21,2±5,4	20,6±2,8	76,8±6,7	83,4±9,0	82,3±9,0	1,2±0,3	0,9±0,3	1,1±0,8
15	23,6±2,2	18,6±4,7	17,6±2,7	77,7±9,7	84,1±3,2	77,6±3,1	1,2±0,8	1,3±0,7	1,3±0,5
20	29,9±8,7	18,8±3,0	16,3±3,1	82,8±6,4	74,5±9,7	97,0±20,6	1,4±0,5	1,3±0,7	2,0±0,7

Bases Agrícolas. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires

HISTOLOGÍA DEL OVIDUCTO DE ALPACA (*Vicugna Pacos*), DIFERENCIAS ENTRE HEMBRAS EN DESARROLLO Y ADULTAS

ANGIONO GM¹, BOVIEZ JD¹, GAZANEO P², REATEGUI ORDOÑEZ JE³, FERNANDEZ
FERNANDEZ F³, APICHELA SA⁴, LOMBARDO DM¹.

La actividad folicular en alpacas comienza entre los 5-6 meses de edad, siendo sexualmente receptivas aproximadamente a los 12 meses de edad, cuando alcanzan dos tercios del peso adulto. Dado que en el oviducto se llevan a cabo importantes eventos reproductivos, el objetivo de este trabajo fue estudiar características histológicas y morfométricas del oviducto de alpaca de hembras en desarrollo, y sus variaciones respecto a hembras adultas. Se trabajó con muestras de oviducto de alpaca (*Vicugna pacos*) en desarrollo (hembras menores a 2 años) (n=6) y adultas (n=6). Las muestras fueron fijadas en formol al 10% y procesadas para realizar las técnicas de hematoxilina y eosina, tricrómico de Mallory y Picrosirius red. Se realizó observación con microscopio de campo claro y fluorescencia (Leica DM4000B), con cámara de captura digital (Leica DC380). En las hembras en desarrollo se observaron las mismas características que en alpacas adultas, siendo bien diferenciables cada segmento y sus regiones de

transición. Respecto a la mucosa, los pliegues presentaron mayor desarrollo, y las cavéolas son más numerosas en las hembras adultas. El epitelio de los distintos segmentos oviductales varió de cúbico a cilíndrico pseudoestratificado, tanto en hembras adultas como en desarrollo, siendo de aspecto vacuolado en las cavéolas oviductales de alpacas adultas. Ésta característica fue variable en alpacas en desarrollo, observando incluso animales sin vacuolización caveolar. Se observaron diferencias significativas en el diámetro, espesor de la muscular, área de luz libre y espesor de la mucosa entre los segmentos estudiados en alpacas en desarrollo ($p<0,1$), no observándose diferencias significativas en dichas variables al comparar oviducto izquierdo y derecho. También se observaron diferencias al comparar cada segmentos oviductal entre alpacas en desarrollo y adultas ($p<0,1$). Los hallazgos sugieren variaciones histológicas que podrían estar relacionadas a la fisiología del órgano.

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

²Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú.

³Instituto Superior de Investigaciones. Biológicas (CONICET-UNT). Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Argentina

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD OXIDATIVA Y MITOCONDRIAL EN LA VITRIFICACIÓN DE MÍNIMO VOLUMEN DE OVOCITOS PORCINOS

APARICIO A¹, PINCHETTI D¹, CETICA P^{1,2}, DALVIT G¹, MORADO S¹

La vitrificación de ovocitos porcinos presenta aún resultados sub-óptimos, que podrían deberse a cambios en la actividad oxidativa y/o mitocondrial de los ovocitos que alteren su competencia futura. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad oxidativa y mitocondrial de ovocitos porcinos madurados *in vitro* y sometidos al proceso de vitrificación-atemperado. Los complejos ovocito-cumulus se obtuvieron por aspiración de folículos ováricos antrales y fueron madurados en medio 199 con sulfato de gentamicina, fluido folicular porcino, FSH y LH bajo aceite mineral a 39°C y 5% CO₂ en estufa de aire humidificado durante 48 hs. Luego los ovocitos (n=30) fueron denudados y vitrificados por el método de mínimo volumen Cryotech[®]. La actividad oxidativa de los ovocitos se determinó por la coloración

fluorescente dual de RedoxSensor Red CC-1 y MitoTracker Green FM, cuantificando su fluorescencia por microfotografía digital. Con ambas tinciones se obtuvieron valores significativamente mayores ($p < 0,05$) en los ovocitos vitrificados-atemperados (Mitotracker Green FM $2,008 \times 10^7 \pm 2,43 \times 10^6$ unidades arbitrarias/ovocito; RedoxSensor Red CC-1 $7,37 \times 10^6 \pm 1,55 \times 10^6$ unidades arbitrarias/ovocito) con respecto a los maduros sin vitrificar (Mitotracker Green FM $1,45 \times 10^7 \pm 4,57 \times 10^6$ unidades arbitrarias/ovocito; RedoxSensor Red CC-1 $1,71 \times 10^6 \pm 9,51 \times 10^5$ unidades arbitrarias/ovocito). Las diferencias observadas llevarían a concluir que la actividad oxidativa y mitocondrial de los ovocitos porcinos aumentaría al ser estos sometidos al proceso de vitrificación-atemperado.

¹Cátedra de Química Biológica, INITRA (UBA), ²INPA (UBA-CONICET), Facultad Cs. Veterinarias, UBA. Buenos Aires, Argentina.

INFLUENCIA DEL ALIMENTO EN LA ABSORCIÓN ORAL DE CEFUROXIMA EN CANINOS

ARAMAYONA, S.; LORENZINI, P.; PASSINI, S.; LUPI, M.; MONTOYA, L.; ALBARELLOS, G.

Introducción: La cefuroxima (CFU) es una cefalosporina de segunda generación, activa contra las bacterias Gram (+) (estreptococos y estafilococos); Gram(-) (enterobacterias), aerobios y anaerobios. La CFU se puede administrar por vía oral como axetil y por vía parenteral como sal sódica. La bibliografía encontrada describe que en humanos la administración postprandial mejora la absorción de la CFU axetil. La CFU es un antibiótico cuya eficacia terapéutica es tiempo dependiente por lo que se utiliza el T>CIM para evaluarla. **Objetivo:** Comparar la absorción de CFU en dos formas farmacéuticas diferentes (suspensión y comprimidos) en condiciones de ayuno y postprandial. **Materiales y métodos:** Se trabajó con 6 caninos adultos raza Beagle, 4 machos y 2 hembras, clínicamente sanos, con un peso (media±DE) de 14,08±1,43 kg. Se utilizó CFU (20 mg/kg) en forma sódica (Cefuroxima Richet 1.5g) para la aplicación intravenosa, CFU axetil suspensión y comprimidos (Cefurox GlaxoSmithKline, Inglaterra) para la administración oral. 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 computarizado WinNonlin y Graph Pad. Los resultados se analizaron mediante un ANOVA y un post test de Tukey. **Resultados:** Los principales parámetros farmacocinéticos de Cefuroxima axetil suspensión y en comprimidos a perros ayunados y postprandial fueron respectivamente: C_{max}: 5,80±1,01µg/ml; 7,56±1,78µg/ml; 2,86±0,64µg/ml; 0,87±0,50µg/ml; T_{max}: 1,70±0,30h; 1,21±0,22h; 0,68±0,51h; 0,87±0,50h; F (biodisponibilidad): 54,62±6,89%; 49,80±12,37%; 14,80±0,00%; 34,43±6,62%. Se observaron diferencias significativas (P<0,05) entre los valores de C_{max}, T_{max} y F entre CFU administrada como comprimido en ayunas y CFU administrada como comprimidos posprandial y CFU suspensión. **Conclusiones:** Según los resultados obtenidos, la ingestión de alimentos mejora la absorción de CFU en caninos cuando es administrada como comprimidos, mientras que la alimentación no modifica la absorción de CFU suspensión.

ANÁLISIS DEL CONTENIDO Y ESTIMACIÓN DE LA INGESTA DIARIA DE MICRONUTRIENTES Y MICROCONTAMINANTES EN LECHE

ARELLANO, FLAVIA E.^{1,3}; PEREZ CARRERA, ALEJO L.^{1,3}, CALZETTA RESIO, ANDREA N.^{1,2}

Las tendencias actuales en el consumo de productos lácteos muestran una demanda creciente en la necesidad de información de calidad de los mismos. En este sentido, mi proyecto de tesis doctoral tiene como principal objetivo el estudio de la calidad de leche de origen ovino, bovino y caprino y la presencia de elementos traza inorgánicos (ej. As, Cu, Cr, Fe, Mn, Pb, U, V y Zn). En este trabajo se presentan los principales resultados obtenidos hasta el momento, vinculados con el análisis de elementos traza en leche en polvo bovino y caprino y leche cruda ovina. Además, se calcularon los valores de ingesta diaria (DI) de dichos elementos. Para la determinación de los elementos traza en estudio, se digirieron las muestras (5 ml de HNO₃ al 65%) en un digestor microondas (GmbH, Germany). Luego se diluyeron y acidificaron con HNO₃ al 10%. La determinación de elementos traza se realizó mediante espectrometría de masas por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS). Para calcular la DI de elementos tóxicos se utilizó la fórmula USEPA (1992,2004) $ADDI = C * IR * EF * ED * CF / BW * AT$. Los resultados obtenidos mostraron que las leches comerciales de origen

bovino y caprino presentan As en un amplio rango, entre <7 y 167,2 ppb, en leche ovina los valores fueron menor al LOD (<7 ppb). La DI calculada de As fue menor a lo establecido por la WHO de 2.1 µg/kg/d. En cuanto al Cr, a pesar de que el 15% de las muestras superan el LMR de 0,1 ppm (Mercosur, Res. 12/2011), la DI se encuentra dentro de los niveles de ingesta sugeridos (RDA), por la Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies (DRIs,2015), en infantes y niños, y en adultos está por debajo de los RDA. En el caso de Pb y U no hay establecidos previamente RDA ni límites de ingesta máxima tolerable (UL). Aun así los valores encontrados en leche bovina y caprina no superan los descriptos por otros autores. En la leche ovina, se registraron niveles de Pb superiores al de 20 ppb sugeridos por la UE. En cuanto a los micronutrientes estudiados (Cu, Fe, Mn, Zn), los DI calculados no superan los límites de RDA ni UL en ninguna de los tres tipos de leches. Los resultados preliminares descriptos muestran la necesidad de profundizar los estudios sobre esta temática a modo 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

ESTUDIO MACROSCÓPICO E HISTOLÓGICOS DE LA GLÁNDULA GULAR EN ESPECIES DE LA FAMILIA MOLOSSIDAE (MAMMALIA: CHIROPTERA) DE CORRIENTES ARGENTINA

ARGOITIA, MA¹; RODRIGUEZ, FE¹; CUZZIOL BOCCIONI AP¹; BALDI, ME¹; OLEA, GB²; CESPEDEZ, JA¹; LOMBARDO DM³

Existen pocos estudios acerca de las secreciones de la piel producidas por quirópteros y de la relación de las mismas con su comportamiento social, tanto para la comunicación como para la reproducción. Recientemente se han identificado los compuestos de la glándula gular presente en los machos de la familia Molossidae. A nivel morfológico e histológico los reportes de glándulas gulares son insuficientes y los existentes solo describen la glándula sin tener en cuenta el grado de desarrollo en referencia a sus hábitos comportamentales. El objetivo del presente trabajo es analizar la estructura macrsocópica e histológica de la glándula gular de tres especies de la familia Molossidae *Eumops patagonicus*, *Molossus molossus* y *Molossus rufus* con distinto grado de desarrollo. Para ello se colectaron en horario crepuscular con redes de niebla machos adultos de las especies en estudio en el Campus Universitario de la Facultad de Ciencias Exactas

y Naturales y Agrimensura de la Universidad Nacional del Nordeste. El grado de desarrollo de la glándula gular se discriminó teniendo en cuenta la presencia o ausencia de testículos escrotales. La glándula gular, es una estructura aplanada, de forma ovalada, ventral al cuello, con un poro queratinizado rodeado por una zona libre de pelaje. La característica más llamativa a nivel histológico es la presencia de unidades glandulares tubuloacinosas inmersas en el tejido adiposo, dispuestas en lóbulos y separadas por tejido conectivo. Los productos de secreción se descargan en una cámara común, que sirve como un depósito. La hipertrofia e hiperplasia de la glándula durante la temporada de reproducción sugiere que su secreción juega algún papel en las actividades reproductivas. Futuros análisis estarán enfocados en el estudio de la composición química de la secreción de la glándula gular y la relación con su funcionalidad ecofisiológica.

¹Laboratorio de Herpetología. Universidad Nacional del Nordeste. Av. Libertad 5470. 3400. Corrientes (Argentina).

²Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas Facultad de Medicina (LIBIM). CONICET. Universidad Nacional del Nordeste. Moreno 1240. Corrientes (Argentina).

³Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). Chorroarin 280. Buenos Aires. (CABA). C1427CWO.

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS DE LA FAMILIA *bcl-2* EN TESTÍCULO DE *LIOLAEMUS AZARAI* (SQUAMATA: LIOLAEMIDAE)

ARRIETA, M.B.¹; OLEA, G.B.²; ÁLVAREZ, B.B.¹& LOMBARDO, D.M.²

En este trabajo, se analizó la expresión de proteínas de la familia *bcl-2* en el testículo de *Liolaemus azarai* durante la etapa juvenil y la etapa de máxima actividad reproductiva. El objetivo fue evaluar el papel de la apoptosis, en la gametogénesis durante dos etapas del ciclo reproductivo, utilizando a las proteínas bax y *bcl-2* como marcador anti y pro apoptóticos respectivamente y en cortes histológicos de testículos juveniles y adultos de *L. azarai*. Se evaluó mediante inmunohistoquímica, la actividad de *bcl-2*, utilizándose como anticuerpo primario, el policlonal anti *bcl-2* de origen conejo anti ratón, a una dilución 1:200; y para bax, el anticuerpo primario monoclonal anti bax de origen ratón anti humano, rata y ratón, a una dilución 1:400. Ambos fueron incubados durante una hora a 37°C y revelados según el protocolo indirecto de “L-streptoavidina

biotina”. Los resultados preliminares permitieron visualizar en testículos juveniles de *L. azarai*, la positividad de *bcl-2* en espermatogonias. A su vez se evidenció apoptosis a partir de la detección de células bax positivas en un número reducido en este tipo celular. Durante la máxima actividad del ciclo reproductivo se observó una disminución en la positividad de *bcl-2* en espermatogonias y aumento de *bcl-2* positivas en la línea de espermatidas. Con respecto a las células bax positivas, no se evidenció un aumento considerable en la marcación. Cabe destacar que estos resultados preliminares servirán de base para futuros estudios vinculados a la cuantificación a partir de índices apoptóticos en cada etapa del ciclo reproductivo de dicha especie y que son los primeros aportes que evidencian la expresión de estas proteínas en reptiles durante el ciclo reproductivo.

¹Laboratorio de Herpetología. CONICET, FaCENA-UNNE. Av. Libertad 5470. Corrientes (Argentina).

²Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas Facultad de Medicina (LIBIM). CONICET. Universidad Nacional del Nordeste. Av. Libertad 3400. Corrientes (Argentina).

³Cátedra 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). CC1427CWO.

EFECTO DE LA L-CARNITINA Y EL PIRUVATO EN EL SEMEN EQUINO CONSERVADO A 15 °C DURANTE 24 HORAS: RESULTADOS PRELIMINARES

AVILA, G; FERRANTE, A; MIRAGAYA, M; NEILD, D.

En epidídimo, la carnitina modula muchas funciones metabólicas espermáticas como la β -oxidación de ácidos grasos y el incremento del uso de piruvato como sustrato energético. Se evaluó si la adición de L-carnitina y piruvato a dos diluyentes de transporte de semen mantienen los parámetros seminales de espermatozoides conservados a 15 °C durante 24 h. Se obtuvo semen de 3 padrillos (n=3; r=2) y luego de la evaluación macro y microscópica, cada eyaculado se dividió en 4 alícuotas con los siguientes diluyentes: 1) diluyente Kenney (K); 2) diluyente K y 6 mM L-carnitina y 6 mM

piruvato (K+); 3) diluyente Kenney modificado con Tyrode (KMT-); 4) diluyente KMT y 6 mM L-carnitina y 6 mM piruvato (KMT+). Se evaluaron la movilidad progresiva (MP) con analizador espermático computarizado, viabilidad y acrosoma con tinción FITC-PNA/PI, funcionalidad de membrana con la prueba HOSy cromatina con la tinción Azul de Toluidina y la Técnica del halo. Se realizó el análisis utilizando un diseño factorial con 3 factores y 2 niveles cada uno. En la tabla se observan los resultados de MP y fragmentación del ADN.

Trat.	MP		ADN fragmentado	
	0 h	24 h	0 h	24h
K+	48,1±11,0 ^a	10,4±4,0 ^{abc}	13,4±5,8 ^a	42,5±11,7 ^{cd}
K-	41,3±23,0 ^{ab}	3,1±3,1 ^c	14,6±4,0 ^a	51,0±20,0 ^d
KMT+	19,6±15,0 ^{abc}	6,1±5,6 ^{bc}	15,2±5,8 ^a	31,2±15,3 ^{bc}
KMT-	24,5±12,0 ^{abc}	5,1±6,1 ^c	20,2±6,3 ^{ab}	52,0±18,6 ^d

^{abc}letras diferentes indican diferencias entre tiempos y tratamientos para cada parámetro seminal por separado (p<0,05)

A las 24 hs, la movilidad progresiva se preservó mejor en el diluyente de Kenney con carnitina y piruvato y la fragmentación de ADN

fue menor en los dos diluyentes con carnitina y piruvato (p<0,05). Hasta el momento se observó un mejor desempeño del diluyente Kenney con el agregado de carnitina y piruvato para preservar la mayoría de los parámetros evaluados en espermatozoides conservados 24 h a 15 °C.

USO DE BIOFILMS PARA LA CRIA SUSTENTABLE DEL PEZ NATIVO *Cnesterodon decemmaculatus*

LUCILA BABIO¹, FLORENCIA VEIRA², PABLO FRACAS¹, LAURA LÓPEZ GRECO¹,
VERÓNICA E VIAU¹

La acuicultura promueve el desarrollo de métodos alternativos que reduzcan el uso de agua y el consumo de dietas formuladas a fin de garantizar una actividad sustentable y amigable con el medio ambiente. El objetivo del trabajo fue evaluar la contribución del biofilm (comunidad de microorganismos asociada a un sustrato inmerso) sobre el crecimiento del pez nativo de agua dulce *Cnesterodon decemmaculatus* y sobre la calidad del agua. Se realizó un experimento en acuarios sin renovación de agua comparando dos fuentes de alimentación: biofilm vs. alimento balanceado. Se utilizaron 10 adultos de *C. decemmaculatus* por acuario (65 ± 25 mg). Como sustrato para el desarrollo del biofilm se confeccionaron redes de 25x17 cm, elaboradas a partir de botellas de plástico de desecho. Se evaluaron parámetros físico-químicos del agua y se determinó el rendimiento del cultivo (en términos de ganancia en peso y contenido

energético). Los resultados demostraron que el biofilm contribuyó al mantenimiento de la calidad del agua mediante la remoción de los compuestos nitrogenados y la producción de oxígeno. La ganancia en peso, el factor de condición K (estimador del bienestar de los animales) y el contenido de reservas energéticas de los peces alimentados con biofilm fue similar a los alimentados con alimento balanceado, demostrando que el biofilm es una fuente rica en nutrientes contribuyendo con el crecimiento de los peces de manera similar a la dieta balanceada. Por lo tanto, *C. decemmaculatus* puede criarse en un sistema de cultivo con biofilm y sin renovación del agua, optimizando el uso de agua y alimento comercial. Esta información constituye un avance en el mejoramiento de las técnicas actuales de cultivo, fomentando el uso de buenas prácticas de producción acuícola sin generar perjuicios sobre el medio ambiente.

¹FCEyN, IBBEA, CONICET-UBA, ²DEGE, FCEyN-UBA.

HABILIDADES SOCIALES EN MEDICINA VETERINARIA

BAÉZ, LUDMILA; WEIDMANN, CAROLINA; CADOCHÉ, LILIAN

En la Facultad de Veterinaria un grupo de investigadores, estamos trabajando en el diseño de planificaciones que prioricen el desarrollo de competencias sociales en los alumnos. Este interés motorizó primero la necesidad de conceptualizar a las competencias sociales. Para nuestra tarea coincidimos con Caballo (2002), quien afirma que se trata de “conductas emitidas por un individuo en un contexto interpersonal que expresa sus sentimientos, deseos, opiniones de un modo adecuado a la situación, respetando esas conductas en los demás”. Para este trabajo establecimos como meta valorar las competencias sociales como objetivo educativo. La experiencia, en el año 2015 se realizó en los trabajos prácticos de Matemática en 1er. año de la carrera. Se trabajó con 9 grupos de 5 alumnos con la esperanza de que generen lazos fuertes y alcancen a trabajar como un “equipo”. Las herramientas empleadas para medir estas habilidades, fueron una adaptación de la escala de autopercepción de Matson et al (1983), de 39 ítems, en la cual los alumnos se califican con el fin de conocer, sus propias opiniones sobre sus competencias sociales. En las clases siguientes, utilizamos una ficha en la que valoramos las

habilidades de comunicación, coordinación, cooperación, y asertividad del grupo. La ficha consta de reactivos del tipo: empleo un lenguaje claro; me siento cómodo dialogando con mis profesores; participo activamente en el equipo que integro; intento que cada integrante del equipo entienda su tarea; ayudo cuando me lo solicitan; comparto mis ideas y acepto que tengamos diferencias; busco mediar cuando se genera un conflicto; entre otros reactivos con respuestas del tipo: nunca, ocasionalmente, a menudo, siempre. En el transcurso de los encuentros observamos que algunos de los grupos llegaron a conformarse como equipos de trabajo, pues se desarrollaron de forma exitosa manejando con aciertos conflictos y presiones y mejorando progresivamente la comunicación entre todos. Si bien algunos alumnos no mostraron diferencias sobresalientes entre sus habilidades al comienzo y al final de la experiencia, evidenciamos un avance respecto de las capacidades valoradas en la mayoría de los integrantes de los grupos estudiados. El resultado obtenido superó ampliamente nuestras expectativas con una evolución favorable en los miembros de los grupos.

SU EFECTO DEL *Cestrum parqui* L'HERIT (SOLANACEAE, "DURAZNILLO NEGRO") SOBRE LA OXIDACIÓN *IN VITRO* DE MICROSOMAS HEPÁTICOS

BARBERON, J.; LEADEN, P.; PALACIOS, A.; ZEINSTEGER, P.

En Argentina existen especies vegetales que contienen principios activos capaces de producir diversos efectos al ser consumidas por los animales domésticos. *Cestrum parqui* L'Herit es una maleza comúnmente conocida como "duraznillo negro" con efectos hepatotóxicos cuando es ingerida accidentalmente por los animales domésticos. El objetivo fue caracterizar la composición química de *Cestrum parqui* L'Herit y su efecto en la lipoperoxidación en membranas microsomales hepáticas. Para ello se utilizaron microsomas hepáticos obtenidos de ratas Wistar AH/HOK, los que fueron expuestos al extracto metanólico del vegetal en un sistema no enzimático *in vitro*, dependiente de ácido ascórbico-Fe²⁺. Los microsomas hepáticos fueron expuestos al extracto metanólico entero en cantidades crecientes (0,1, 0,05, 0,025, 0,0125 mg) para evaluar el efecto sobre la lipoperoxidación de membranas, cuyo daño se cuantificó en cuentas por minuto (cpm). Los resultados obtenidos en las pruebas fitoquímicas demostraron la presencia de compuestos fenólicos y que, a concentraciones crecientes, el extracto de *Cestrum parqui* L'Herit

disminuye paradójicamente la lipoperoxidación de las membranas microsomales en sistemas no enzimáticos *in vitro* dependientes de ácido ascórbico-Fe²⁺. El extracto metanólico de *Cestrum parqui* L'Herit contiene por lo tanto sustancias capaces de impedir procesos oxidativos, situación que ha sido descrita anteriormente por algunos autores. Para el caso de *Cestrum parqui*, cuando los bovinos la consumen en gran cantidad y en forma única el daño hepático es ejercido por la presencia de atracilósidos en la planta, capaces de inhibir el sistema carrier ADP-ATP mitocondrial; sin embargo, y como sucede con la mayoría de las plantas, también posee sustancias capaces de ejercer el efecto opuesto, tal es el caso de los compuestos fenólicos. El "duraznillo negro" es una planta considerada como medicinal para algunos pueblos originarios de Sudamérica, propiedad que probablemente pueda atribuirse al uso asociado a los conocimientos chamánicos de algunos pueblos del continente, quienes conocen desde la antigüedad las proporciones exactas para que sus preparaciones en base a plantas no produzcan efectos adversos.

PRESENCIA DE ALCALOIDES PIRROLIZIDÍNICOS EN LA PLANTA HEPATOTÓXICA *Senecio grisebachii* BAKER

BECERRA, V.¹; LEGGIERI, M.²; BARBERON, J.²; PALACIOS, A.²; ZEINSTEGER, P.²

Numerosos xenobióticos pueden provocar intoxicaciones en los animales domésticos, y la toxicidad estaría relacionada con la dosis y la vía de ingreso al organismo. Algunas especies del género *Senecio* afectan con cierta frecuencia a los animales debido a la presencia de compuestos hepatotóxicos del grupo de los alcaloides pirrolizidínicos. El objetivo fue caracterizar la composición química de *Senecio grisebachii* Baker y la investigación particular de la presencia de alcaloides pirrolizidínicos en una de las fracciones obtenidas a partir del extracto metanólico de las hojas de la planta. El extracto se separó en 3 fracciones (A: flavonoides, taninos, lípidos, hidratos de carbono; B: esteroides, triterpenos, antraquinonas; C: alcaloides, cardenólidos, esteroides, leucoantocianinas). Luego de la determinación positiva de alcaloides en la fracción C mediante reactivo general para alcaloides (Dragendorff) se recurrió a un reactivo específico para pirrolizidínicos (reactivo de Ehrlich) el cual ratificó su presencia. A partir de estos hallazgos, la fracción C fue sometida a cromatografía en capa delgada (TLC) para la

separación e identificación de los compuestos presentes. A partir de la comparación de los tiempos de retención (Rf) de las manchas con valores de referencia consultados en la bibliografía disponible se determinó la identidad de dos alcaloides pirrolizidínicos, retrorcina y senecionina. Los alcaloides pirrolizidínicos inhiben la mitosis de células, especialmente hepáticas, pulmonares y renales. Esta condición provoca que la célula afectada no se divida pero continúe con la síntesis de ADN aumentando por lo tanto su tamaño, alteración celular conocida como megalocitosis. El metabolismo de estos hepatocitos alterados se torna subnormal, para sufrir necrosis y ser reemplazados por tejido conectivo; con hiperplasia de las células de los ductos y canalículos biliares. Estas lesiones provocan un deterioro progresivo en la salud del animal. El desenlace final es la muerte ya que no existe tratamiento para la afección. La única maniobra disponible es la prevención de la intoxicación es impidiendo que los animales puedan acceder a las plantas, maniobra que no siempre es sencilla de implementar en sistemas de cría extensivos.

Cátedra Toxicología. Facultad de Medicina. Universidad Católica de Cuyo Sede San Luis. San Luis. Cátedra Bioquímica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. 60 y 118 S/N (1900) La Plata, Buenos Aires. E-mail: jbarberon@fcv.unlp.edu.ar

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN CULTIVO DE EXPLANTOS ESFEROIDALES DE CÉLULAS OVIDUCTALES PORCINAS

BERTONAZZI, A.; TEPLITZ, G.; LORENZO, MS.; LOMBARDO, DM.

Los bajos rendimientos en la producción *in vivo* de embriones han llevado a la necesidad de desarrollar nuevas biotecnologías para su mejoramiento. El oviducto de los mamíferos provee un microambiente esencial y óptimo para el desarrollo apropiado del embrión. Para estudiar interacciones entre el embrión y el oviducto, se desarrollaron diferentes sistemas de cultivos primarios de células epiteliales oviductales cultivadas en monocapas o en suspensión (vesículas esféricas). Los cultivos de explantos de estas células ayudarían a comprender los mecanismos mediante los cuales el oviducto y los factores producidos por el mismo podrían ejercer efectos, de manera autócrina, sobre las mismas células epiteliales que las producen y/o de manera parácrina sobre los embriones durante su tránsito por el oviducto. El objetivo de este trabajo es obtener y caracterizar cultivos de explantos como vesículas esféricas de láminas de células oviductales porcinas. Para la realización del cultivo se recolectaron oviductos de ovarios con cuerpo lúteo y se les realizó presión externa suave con porta objetos. La suspensión celular obtenida se pasó por

vortex y se dejó decantar en estufa. Las células oviductales y los explantos se sembraron en placas de cultivo con medio DMEM F12, SFB 20%, gentamicina 1000 U/mL y fungizona 1000 U/mL. Como resultado se obtuvo un cultivo mixto de monocapa y de vesículas esféricas. La monocapa de células oviductales, mostró una organización y orientación definida en forma radial, observándose vacuolas lipídicas negativas con Hematoxilina en su citoplasma. Las vesículas esféricas (VE) se observaron en suspensión. Asimismo se pudo visualizar que las VE tenían movilidad propia mediante cilias, las cuales se perdieron entre las 48h y 72h post siembra para adherirse y asociarse en algunos casos a la monocapa. Estos resultados se complementarán con técnicas de inmunohistoquímica, a los fines de caracterizar el cultivo de VE. Podemos concluir en relación a la caracterización de las células oviductales que el modelo de VE es potencial de ser utilizado en experimentos que intenten probar la interacción y el beneficio de las células del oviducto con un embrión temprano, extrapolando condiciones similares a las fisiológicas.

MORFOMETRÍA Y DIETA DE LA BRÓTOLA *Urophycis brasiliensis* DE LAS LOCALIDADES DE VILLA GESELL Y LA LUCILA DEL MAR

BIOLÉ F.G., VOLPEDO A., THOMPSON G.

La brótola, *Urophycis brasiliensis* es una especie comercial que habita la costa bonaerense y representa un recurso transfronterizo que compartimos con Uruguay y Brasil. El objetivo del presente trabajo fue determinar la morfometría y la dieta de *U. brasiliensis* de las localidades costeras de Villa Gesell y La Lucila del Mar, Provincia de Buenos Aires. Los ejemplares muestreados (n: 47) fueron medidos (Longitud total: LT) pesados (Peso Total: PT) y sexados. Además se extrajeron los estómagos y se preservaron en alcohol 80% para su posterior análisis en laboratorio. Se realizaron gráficos de dispersión para determinar la relación existente entre las variables morfométricas analizadas. Se estimó el valor del parámetro de crecimiento "b" a través de la relación entre el log LT y el log PT. A partir de la observación de los contenidos estomacales se calculó la frecuencia de ocurrencia

(F) de cada ítem alimenticio. Se determinaron valores de LT entre 31 y 50 cm y PT entre 282 y 1216 g, estableciéndose una relación lineal entre ambas variables, con un parámetro de crecimiento levemente alométrico y positivo (b: 3.07). De las brótolas de La Lucila cerca del 86% de estómagos tenían alimento mientras que las de Villa Gesell solo el 33% estaban llenos de alimento. El camarón (*Artemesia longinaris*) apareció en la totalidad de los contenidos estomacales de las brótolas de La Lucila de Mar, mientras que en los contenidos de Villa Gesell se halló una mayor diversidad de alimentos con valores de F variables: camarón (31%); peces (23%), cangrejo, langostino y anfípodos (8% en cada uno de ellos). A partir del análisis de la dieta se podría sugerir la existencia de variabilidad en la alimentación de *U. brasiliensis* en áreas poco distantes.

¹Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (CETA-FVET-UBA), Buenos Aires, Argentina.

IDENTIFICACIÓN DE VIRUS DE INFLUENZA A EN MUESTRAS DE FLUIDO ORAL - RESULTADOS PRELIMINARES

BISCIA, M.^{1,2}; TORREMORELL, M.³; PEREZ, A.³; YANG, M.³; SARADELL, J.¹.

La obtención de muestras de fluido oral (FO) ha sido empleada en cerdos para la detección de anticuerpos y agentes infecciosos, entre los cuales se encuentra el virus de influenza A (VIA). El objetivo del presente trabajo es reportar la identificación de VIA H1N1 a partir de muestras de fluido oral de cerdos. El estudio se llevó a cabo en una granja intensiva, confinada, que presentaba clínica compatible con infección por VIA en porcinos de 40-45 días de vida (ddv) y 100-120 ddv. Se tomaron muestras de FO mediante sogas de algodón suspendidas en un corral de cada edad clínicamente afectada (44 ddv, 100 ddv y 120 ddv). Las muestras fueron procesadas mediante Real Time RT-PCR (qRT-PCR)

para detección del gen matriz del VIA y subtipificación. A partir de la muestra de FO recolectada en el corral de los cerdos de 44 ddv pudo identificarse VIA subtipo H1N1. Hasta nuestro conocimiento este es el primer reporte de identificación de agentes infecciosos a partir de muestras de fluido oral en porcinos de Argentina. La recolección de las muestras fue simple, rápida y no estresante para animales, investigadores ni personal. Se ha reportado que la probabilidad de detectar VIA por qRT-PCR en FO es equivalente, e incluso superior a la de hisopos nasales. Estudios previos han demostrado una sensibilidad general para detección de VIA por qRT-PCR de muestras de FO de corrales del 80%.

¹ Cátedras de Patología General y Especial Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario.

² CONICET. ³ Department of Veterinary Population Medicine. College of Veterinary Medicine. University of Minnesota.

IMPLEMENTACIÓN DEL MUESTREO DE AIRE EN GRANJAS PORCINAS INTENSIVAS PARA DETECCIÓN DE VIRUS DE INFLUENZA A. RESULTADOS PRELIMINARES

BISCIA, M.^{1,2}; TORREMORELL, M.³; PEREZ, A.³; YANG, M.³; SARADELL, J.¹.

Los virus de influenza A (VIA) en cerdos pueden transmitirse mediante contacto directo y aerosoles. Existen dispositivos para la recolección de partículas suspendidas en el aire. El objetivo del presente trabajo es reportar la implementación de un muestreo de aire en un criadero de cerdos intensivo, para identificación de VIA. El estudio se llevó a cabo en una granja intensiva, confinada, con clínica e identificación de VIA en muestras de secreción nasal, fluido oral y pulmón de cerdos. Se utilizó un colector tipo cyclonic (Mid-west Micro Tek, Brookings, SD, USA). Se recolectaron 3 muestras de aire en el interior de salas de cría y 4 de corrales de galpones de desarrollo. La técnica empleada fue similar a la descrita

por Corzo y col. (2014). Las muestras fueron procesadas mediante qRT-PCR para detección del gen matriz del VIA. En las muestras analizadas no logró identificarse virus de influenza A. El límite de detección fue estimado por Corzo y col. (2011) en 10 TCID₅₀/ml (Corzo et al., 2011b). Los resultados negativos pueden estar asociados a ausencia o escasa cantidad de virus en el aire y/o fallas en la técnica de muestreo, procesamiento o transporte de las muestras. Hasta el presente, no hay información acerca de la identificación de VIA en el aire en las condiciones de producción nacional. Este grupo de investigación prevé la realización de nuevos estudios que intentarán corregir las variables anteriormente mencionadas.

¹ Cátedras de Patología General y Especial Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario.

² CONICET. ³ Department of Veterinary Population Medicine. College of Veterinary Medicine. University of Minnesota.

CARACTERIZACIÓN DE *BACILLUS SUBTILIS* Y *BACILLUS PUMILUS* CON ACTIVIDAD ANTAGÓNICA EN CEPAS SHIGATOXIGÉNICAS DE *ESCHERICHIA COLI*. UTILIDAD PARA EL CONTROL DE LA CONTAMINACIÓN DE RESERVORIOS (COMUNICACIÓN PRELIMINAR)

BLANCO CRIVELLI, X.; BENTANCOR, A.

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) produce cuadros clínicos severos como el síndrome urémico hemolítico (SUH), endémico en Argentina. Los bovinos son señalados como los principales reservorios del patógeno.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar *in vitro* la utilidad de aislamientos nativos del género *Bacillus* como antagonistas de STEC. Se realizó PCR convencional (cebadores fD2 y rP2) a fin de establecer la identidad taxonómica de los aislamientos. La identificación se complementó con: crecimiento a pH 8, crecimiento en anaerobiosis, producción de ácido a partir de la L-rhamnosa, producción de ácido a partir de la D-arabinosa. Se evaluó la presencia de cápsula mediante tinción con tinta china, motilidad y presencia de hemolisinas en agar sangre (AS). Se realizó el desafío *in vitro* de cultivos puros de cepas STEC (serogrupos O157, O145, O121, O26, O174, O111, O103 y control negativo *E. coli* ATCC 25922) con los aislamientos de *Bacillus* spp. en estudio por co-cultivo en agar tripteína soja (ATS) a 37 °C durante 24 h. A fin de establecer el mecanismo

de inhibición de *Bacillus* spp. se evaluó la presencia de bacteriófagos y/o bacteriocinas. Se determinó que las cepas S12, S32, S41, S44 y S45 pertenecen a la especie *Bacillus subtilis*. Las cepas S32, S41 y S44 presentaron cápsula. Asimismo S32 y S41 produjeron α -hemólisis. La cepa S178 fue la única cuya secuencia no fue compatible con los datos del GenBank (NCBI). S178 presentó capsula y produjo α -hemólisis. Todas las cepas en estudio fueron móviles. Los resultados preliminares de la evaluación de la capacidad inhibitoria *in vitro* señalaron que en cultivos a 37 °C las cepas S44 y S45 poseen buena capacidad antagónica frente a STEC y baja inhibición en *E. coli* ATCC. El estudio del mecanismo de inhibición indicó ausencia de bacteriófagos para todas las cepas en estudio. Resultados similares se obtuvieron al evaluar la presencia de bacteriocinas o alguna sustancia inhibitoria de STEC en filtrados de 1 y 7 días con o sin concentración (37 °C durante 10 días). Los resultados preliminares señalan que las cepas S44 y S45, correspondientes a la especie *Bacillus subtilis*, serían las posibles cepas candidatas a ser evaluadas como antagonistas en estudios *in vivo*.

PERCEPCIÓN DE CONSECUENCIAS MEDIOAMBIENTALES EN ALUMNOS UNIVERSITARIOS

BONAFINA C., L. GIUFFRÉ.

La percepción ambiental permite establecer el grado de sensibilidad de los individuos frente al ambiente que los rodea, y detectar situaciones de riesgo como la contaminación o pérdida de calidad de los recursos naturales, o hasta el origen de enfermedades humanas. Estos efectos son percibidos diferencialmente por las personas y son útiles para conocer la percepción de los sujetos sobre las consecuencias ambientales. Estas consecuencias constituyen indicadores del desempeño medioambiental de las actividades humanas, y son importantes para identificar los efectos predominantes. De esta manera se obtiene un componente adicional en la formación de la percepción del riesgo ambiental. El objetivo del presente trabajo es identificar las principales consecuencias percibidas por los alumnos universitarios. Para ello se administraron cuestionarios a un total de 875 alumnos cursando el 2º y 4º año de la carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad

de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires durante los años: 2002, 2004, 2008, 2009 y 2015 donde se les solicitó determinar dentro de cuatro opciones (jurídicas, económico-financieras, salud humana y salud del ecosistema) aquella/s que consideraban principal/es. En el análisis de las consecuencias ambientales los alumnos de 2º y 4º año respondieron que tanto la salud del ecosistema, (90,36% y 88,24%) como la salud humana (88,65% y 87,25%) son principales. En una menor proporción las consecuencias económico financieras (26,55%, 8,33%) y jurídicas (7,71% y 7,84%). Los impactos ambientales suelen advertirse a través de consecuencias medibles o cuantificables, que modifican la forma de vida de los individuos. La contaminación de los recursos naturales y/o alteraciones de la salud del hombre, poseen para los alumnos de nivel universitario, una mayor percepción frente a consecuencias económicas, jurídicas y financieras.

DETECCIÓN DE PATOTIPOS ATTACHING AND EFFACING DE *ESCHERICHIA COLI* EN BOVINOS DE FEEDLOT

M.P. BONINO¹, A. BENTANCOR¹, X. BLANCO CRIVELLI¹

Escherichia coli es un microorganismo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, cuyo hábitat es el intestino de diferentes especies animales y del hombre. Algunos patovares tienen impacto en la niñez dentro de los que se destacan *Escherichia coli* shigatoxigénico (STEC) y *Escherichia coli* enteropatógeno (EPEC). La patogenia de STEC incluye desde cuadros asintomáticos a cuadros de diarrea leve, severa y síndrome urémico hemolítico (SUH), pudiendo ocasionar la muerte del paciente. Las cepas EPEC han sido señaladas como productoras de diarreas de la infancia y se informó que las mismas generan inmunidad cruzada respecto a STEC. El bovino es el principal reservorio de cepas STEC, la carne se contamina con el patógeno durante la faena. Se desconoce en nuestro país la relación entre los patovares STEC/EPEC en el bovino. El objetivo de trabajo fue analizarla portación de STEC y EPEC en bovinos de feedlot. Se realizó un rastillaje

en 100 precultivos (frezados) de hisopados rectales de bovinos de feedlot. La detección de cepas STEC y EPEC se realizó mediante PCR múltiple para la búsqueda de *stx1*, *stx2* y *eae* (Leotta, 2005; Blanco, 2004). Al rastillaje por PCR se detectaron 5/100 muestras sospechosas de EPEC (*eae+*) y 9/100 STEC (*stx+*) (perfil 4/9 *stx1*, 3/9 *stx2*, 2/9 *stx1* y *stx2*). En 3/100 muestras se detectaron ambos genes, *eae+* y *stx+* (1/3 *stx1*, 1/3 *stx2*, 1/3 *stx1* y *stx2*). La correcta categorización de las 3 muestras con genotipo *eae+* y *stx+*, permitirá establecer si los bovinos muestreados presentaban cepas STEC *eae+* o cepas STEC y EPEC. Dicha categorización requiere el aislamiento de los patógenos. Los resultados obtenidos constituyen un primer acercamiento en la evaluación de la relación que hay entre la prevalencia local de STEC y EPEC en bovinos de feedlot, principales reservorios de STEC, a fin de considerar su impacto en la epidemiología de SUH.

¹Microbiología; Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

EVALUACIÓN DE LA Respuesta inmune con GAMMA INTERFERÓN EN BOVINOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON MICOBACTERIAS AMBIENTALES

BRESKY, F.¹; FIORENTINO, M.A.²; MORSELLA, C.²; MENDEZ, L.²; VASINI ROSELL, B.³; EIRIN, M.E.³; ALONSO, B.⁴; RODRIGO, I.⁴; SANCHEZ, M.⁴; PAOLICCHI, F.A.²

La tuberculosis bovina (TBC) es una enfermedad infectocontagiosa crónica ocasionada por *Mycobacterium bovis* (complex *M. tuberculosis*). Las micobacterias no pertenecientes al complex se denominan micobacterias ambientales (MA), las cuales son halladas en suelos, aguas, animales y alimentos. Se presume que las MA provocarían una sensibilización paraespecífica en el diagnóstico de la TBC por intradermorreacción y por el ensayo de gamma interferón (γ IFN). El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta inmune (RI) en bovinos infectados de manera experimental con MA frente a sensitinas homólogas y heterólogas. Se seleccionaron 21 terneros Aberdeen Angus, de 4 a 6 meses de edad, negativos a TBC y paratuberculosis. Los terneros fueron divididos en 3 grupos: G1 (n=7) infectado con *M. phlei*, el G2 (n=7) infectado con *M. porcinum* y el G3 (n=7) control no infectado. Los G1 y G2 se infectaron vía intratonsilar con una concentración de inóculo de 2×10^8 UFC por mL, en dos oportunidades con un intervalo de 7 días. Para la realización de la prueba de γ IFN se utilizó un kit comercial (IDVet,

Francia) y se tomaron muestras de sangre por punción yugular en tubos con heparina de todos los animales el día de la inoculación y posteriormente cada 7 días hasta el día 28 pos inoculación (PI). Los antígenos (Ag) utilizados fueron PPD bovina y aviar (1 mg/mL), PPD *phlei* y PPD *porcinum* (1,5 mg/mL), las dos últimas fueron elaboradas por SENASA con las MA utilizadas en la infección experimental. Los datos obtenidos durante los ensayos de γ IFN, fueron analizados por el SAS/STAT® 9.2. Si bien las diferencias no fueron significativas ($p < 0,05$) entre los grupos, los resultados mostraron un pico de título a los 14 días PI en respuesta a los diferentes antígenos utilizados, el cual decrece hasta el final del ensayo. La distribución de la curva de la RI en los animales infectados coincide con lo reportado por otros autores. La débil respuesta a la infección podría deberse a la insuficiente concentración de los inóculos utilizados y/o a la rápida eliminación de las MA que origina una respuesta transitoria. Son escasos los trabajos realizados en bovinos con MA, por lo cual resulta relevante realizar estos estudios para el diagnóstico de TBC.

¹CIC-UNMDP ²INTA EEA Balcarce ³CONICET ⁴SENASA Martínez.

PRODUCCIÓN DE UN ANTÍGENO CARACTERÍSTICO DE IgG2 BOVINA POR MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS

CLAUDIA BUENDIA, VERÓNICA RIGO, ANA JAR, SILVIA MUNDO

Se ha observado que en la respuesta inmune temprana en el bovino frente a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) hay un predominio de IgG2 que es característica de un perfil TH1. El objetivo de este trabajo es producir un anticuerpo específico para la IgG2 bovina, lo que constituye un producto local que se aplicará para desarrollar o mejorar técnicas serológicas rápidas y a la vez fiables para el diagnóstico temprano de la paratuberculosis. Se realiza un abordaje biotecnológico para la obtención del inmunógeno, basado en la producción *in vitro* de un fragmento de la Ig2b bovina que es característico y particular de este isotipo, compuesto por 22 aác del dominio CH1, los 15 aác de la región bisagra y 6 aác del dominio CH2 de la cadena pesada Gamma-2. Para esto, se extrajo un trozo de bazo en forma aséptica a partir de la necropsia de una vaca sin enfermedad aparente, se obtuvieron las células por perfusión del tejido con medio de cultivo, y se purificaron las células mononucleares sobre un colchón de Histopaque® 1077. La secuencia se amplificó por RT-PCR a partir del ARN total obtenido con TRIzol®. Se diseñaron tres cebadores, uno para la amplificación del ADN copia y dos

para la reacción de PCR: en sentido directo, que inserta un sitio de restricción para BamHI en el extremo 5' de la secuencia, y en sentido inverso, que inserta el codón de terminación y un sitio para HindIII en el extremo 3' de la secuencia. El fragmento de ADN (amplicón) obtenido se clonó por ligación con T4-ligasa en el vector pGEM®-T Easy, y los productos se utilizaron para transformar bacterias competentes *E. coli* DH5α y obtener el ADN plasmídico. Los insertos de Gamma-2 se separaron del vector T-Easy por digestión doble con BamHI y HindIII, y se transfirieron al vector de expresión pRSET-A entre estos dos sitios de restricción. En los dos casos, las muestras se enviaron a secuenciar por electroforesis capilar y se comprobó que el fragmento amplificado tiene 99% de identidad con la secuencia de nucleótidos presente en el GenBank (# S82407.1) para Gamma-2 bovina, pero se corresponde con la secuencia informada por Knight y Becker en 1987. Se han iniciado los ensayos de expresión en bacterias *E. coli* BL21 (DE3). Se espera que se exprese como una proteína de fusión, con una cola de poli-histidinas en su extremo amino-terminal que permitirá su purificación por columnas de níquel.

ADHERENCIA DE *STREPTOCOCCUS EQUI* SUBSP. *EQUI* A POLIESTIRENO EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE PENICILINA

BUSTOS CARLA, MARFIL JIMENA, LANZA NATALIA, ETCHECOPAZ ALEJANDRO, MUÑOZ
ALEJANDRA, MORAS EDUARDO, GUIDA NORA

El primer paso de la patogénesis bacteriana para establecer una infección es la adherencia celular. Para que una bacteria patógena llegue a piel y/o mucosas y pueda adherirse debe poseer mecanismos de adherencia para posteriormente poder colonizarlas. *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S equi*) es un patógeno primario que produce la Adenitis equina, para lo que debe adherirse a las tonsilas y mucosa respiratoria de los equinos susceptibles y además, puede permanecer en bolsas guturales y nasofaringe de animales portadores de la enfermedad. El objetivo fue estudiar la adherencia de *S equi* en presencia y ausencia de penicilina G (PEN). Se trabajó con el método de raspado con modificaciones en 29 aislamientos. Se cultivaron las cepas en Todd Hewitt broth (THB) enriquecido con extracto de levadura y suero equino, incubándose en atmósfera enriquecida con CO₂ durante 24 h. Luego, se realizó una dilución 1/10 y se colocaron 200 µL en cada pocillo de una microplaca de fondo plano (Nunc MaxiSorp) y se incubaron durante 2 h en atmósfera enriquecida con CO₂. Posteriormente, se volcó el contenido y los pocillos se lavaron con solución

salina estéril. Se agregaron 200 µL de THB y se procedió al raspado de los pocillos para obtener una suspensión de las bacterias adheridas. Se determinaron los recuentos de células viables inicial y final para establecer el número de UFC adheridas/millón de bacterias respecto al inóculo inicial. Se trabajó también incubando los aislamientos con una concentración final de PEN de 0,12 µg/mL. Se realizó la prueba de Wilcoxon para el análisis estadístico. Se observó adherencia en presencia (promedio=263,24 UFC adheridas/millón de bacterias) y ausencia de PEN (promedio= 371,21 UFC adheridas/millón de bacterias). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (p valor 0.0558). Se determinó la capacidad adherente de *S equi* al poliestireno, sin evidenciarse influencia de la PEN en la adherencia inicial, en las condiciones testeadas. Es importante tener en cuenta, que la adherencia primaria de un microorganismo depende de la interacción entre la superficie bacteriana y el soporte, por lo que se propone testear otros soportes y diferentes concentraciones de antibiótico.

ANALISIS DE LA INMUNOREACTIVIDAD DE PROTEINAS PRESENTE EN EL ESOFAGO de *Dioctophyma renale*

BUTTI, M.J ¹; RICOY, G², SOSA, S², GAMBOA, MI¹, RADMAN, NE¹.

Dioctofimosis es una helmintiasis causada por *Dioctophyma renale*, nematodo conocido como "gusano gigante del riñón" que afecta a diversos mamíferos domésticos, silvestres y al hombre. Su diagnóstico resulta del análisis de orina, ecografías, maniobras quirúrgicas o necropsias. Localizaciones ectópicas (extrarrenales) del parásito y presencia de formas inmaduras, dificultan el diagnóstico debido a la falta de sintomatología específica, lo que obliga a diseñar métodos indirectos. Los objetivos de este trabajo fueron: Obtener y analizar las proteínas presentes en el esófago de vermes adultos. Identificar aquellas proteínas con mayor poder inmunogénico presentes en el esófago. Se extrajeron los esófagos de ejemplares adultos de *D. renale* de ambos sexos. Los vermes se obtuvieron a partir de nefrectomías realizadas a caninos naturalmente infectados. Los individuos fueron disecados bajo microscopio estereoscópico, con instrumental estéril. Los esófagos fueron lavados con PBS pH 7,2 con inhibidor de proteasa, y macerados en placas de Petri con varilla de vidrio. El material resultante fue sometido a 8 ciclos de congelamiento a -70 °C por 15 minutos y descongelamiento

a baño María a 37°C durante 5 minutos y posterior sonicado. El material resultante se ultracentrifugó por 30 minutos a 12.000 G a 4 °C, se recuperó el sobrenadante. El antígeno soluble así obtenido se aplicó en un ensayo de ELISA, para determinar la reactividad de sueros provenientes de perros diagnosticados positivamente para esta infección por otras técnicas. Para ello se sensibilizaron placas de ELISA con alícuotas del antígeno solubilizado de *D. renale* y posteriormente se incubaron con los sueros caninos. Luego de extensivos lavados se reveló la interacción antígeno-anticuerpo utilizando un anticuerpo secundario anti-IgG de perro conjugado con la enzima peroxidasa. Se realizó western blot utilizando los sueros caninos descriptos anteriormente. Mediante la técnica SDS-PAGE se detectó gran cantidad de al menos tres proteínas de aproximadamente 19,25 y 32 KDa, las cuales manifiestan una importante inmunoreactividad frente a sueros caninos infectados con *D. renale*. Sería necesario realizar más estudios tendientes a la caracterización y purificación de las proteínas de mayor poder inmunogénico de *D. renale*.

¹ Laboratorio de Parasitosis Humanas y Zoonosis Parasitarias, Cátedra de Parasitología Comparada, Fac. De Veterinaria, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. ² Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) "Dr. Carlos Malbrán". mbutti@fcv.unlp.edu.ar

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS METALOPROTEASAS 2 Y 9 Y CASEÍNA EN LECHE DE VACAS SANAS Y CON MASTITIS

CAGGIANO N, BERNAUDO T, LORENZO SMIRNOFF A, BOTTINI J, PAREJA R, ALONSO G, DE SIMONE E, CHIAPPE BARBARÁ MA.

La mastitis es la patología con mayor morbilidad y mortalidad dentro de los rodeos lecheros, afectando seriamente a la producción láctea y la calidad de la leche. Es de destacar que si enfermedad es grave o perdura en el tiempo genera daños muchas veces irreversibles en la glándula mamaria. El objetivo fue evaluar la relación de la actividad de las Metaloproteasas (MMPs) 2 y 9 con la concentración de caseína y sus distintas fracciones y la concentración de glóbulos blancos en leche de animales sanos y con mastitis clínica. Se tomó muestras de leche de vacas y vaquillonas de distintos tambos de la Provincia de Buenos Aires, los animales fueron divididos en los siguientes grupos: 1. sanas y animales con mastitis clínica infectadas con 2. E. coli, 3. S. aureus y 4. Streptococcus spp. Se realizó cultivo bacteriológico, recuento de células somáticas en cámara de Neubauer y determinación de la actividad de las MMP-2 y 9 mediante el método zimográfico. Para la evaluación de las proteínas en leche se realizó un

SDS-PAGE en un gel con 12% de acrilamida. La concentración de proteínas totales de la leche se determinó mediante la utilización del kit Proti 2 de Wiener lab., Argentina. Se realizó ANOVA One Way y test de Dunnett como análisis estadístico. La MMP-2 y la MMP-9 si bien resultaron más elevadas en los animales infectados por E. coli y Streptococcus spp., no mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$) posiblemente como consecuencia del gran desvío estándar. Respecto a la caseína total y sus distintas fracciones se observó una disminución en la concentración de caseína total entre el grupo de animales infectados por Streptococcus spp respecto de los sanos. ($P < 0,0001$). A su vez en las muestras de animales infectados por dicha bacteria se encontraron los valores más elevados de MMP-2 y 9. Los resultados obtenidos muestran el posible rol de las MMP-2 y 9 en el daño tisular mamario y la disminución de la calidad de la leche, principalmente en los animales infectados por Streptococcus spp.

ONTOGENIA DE MUGÍLIDOS REFLEJADA EN VARIACIONES MORFOMÉTRICAS DEL OTOLITO *SAGITTA*

CALLICÓ FORTUNATO, ROBERTA¹ Y VOLPEDO, ALEJANDRA¹.

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 analizaron los cambios morfológicos del otolito *sagitta* en relación al crecimiento del pez con el fin de estudiar si existen diferencias entre las etapas de la vida de los peces (juveniles-adultos) en mugílidos de Argentina y España. En Argentina se analizó a *Mugil liza* (n = 238), mientras que en España se trabajó con *Mugil cephalus* (n = 166) y *Liza ramada* (n = 147). La primera especie se muestreó en la costa bonaerense, mientras que las dos últimas se obtuvieron de la costa del Mediterráneo. Se registró de cada espécimen el largo estándar (LS) en mm y se extrajeron los otolitos *sagitta*, que luego fueron fotografiados. En las imágenes digitalizadas se analizaron las

características morfológicas de acuerdo a lo descrito por Tuset et al. (2008) y se midieron variables morfológicas de los otolitos a fin de calcular índices (circularidad, rectangularidad, aspecto de radio, área del sulcus/área del otolito, elipticidad y factor de forma) para ser comparados entre las diferentes etapas de la vida de los peces. Los resultados de este estudio mostraron cambios morfológicos de los otolitos en las 3 especies a lo largo de su desarrollo. En *M. liza* y *M. cephalus* se identificaron 2 grupos morfológicos, en función a las diferencias de forma del otolito observadas a lo largo de la ontogenia de los peces, que además difirieron en al menos 2 variables morfológicas, mientras que en *L. ramada* se identificaron 3 grupos morfológicos que no pudieron diferenciarse morfométricamente. Los resultados obtenidos sirven para la identificación de especies y estadios de crecimiento en dieta de ictiófagos que consumen las especies estudiadas.

¹Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), CONICET, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (CETA-FVET-UBA), Buenos Aires, Argentina.

Herramienta útil para la búsqueda de una fuente alternativa del pigmento requerido en la dieta de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

NATALIA S CALVO¹, NUNO SIMOES², KORYNTHIA LOPEZ-AGUIAR³, SANTIAGO CAPELLA³

El color rosa de la carne de trucha depende de la concentración de carotenos del alimento. La astaxantina, el caroteno principal, es uno de los insumos que más influye en los costos del alimento. Entre los crustáceos nativos se podría hallar una fuente alternativa de este pigmento más económica. El objetivo de este trabajo fue poner a punto una técnica de extracción y cuantificación de astaxantina para utilizarla como herramienta de comparación. Se compararon 6 protocolos de extracción de submuestras extraídas de un homogenato de 3 camarones *Penaeus brasiliensis* liofilizados. Los protocolos incluyeron 2 métodos, baño (10min) ultrasónico o sonda ultrasónica (2min), con tres solventes diferentes (etanol, acetona o hexano-isopropanol 1:1v/v). Al finalizar se comparó

espectrofotométricamente la concentración de pigmentos extraídos con cada método. Por último, se confirmó que el pico máximo de absorbancia observada en todos los métodos coincidía con el caroteno astaxantina utilizando un estándar sintético. Los resultados mostraron que el baño ultrasónico por 10min con acetona fue el más efectivo. Posteriormente se verificó la repetitividad de este método y se determinó que su eficiencia es del 94%. Concluimos que el método de extracción es rápido y efectivo para ser utilizado como herramienta de comparación. Ésta es útil en la búsqueda de fuentes alternativas a la astaxantina sintética utilizada en el alimento de salmónidos así como para verificar la concentración efectiva de este pigmento presente en los alimentos balanceados de venta comercial.

¹Instituto Nacional de Limnología (INALI - CONICET); ²Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México;

³Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

CAPACITACIÓN DE ESPERMATOZOIDES DE CIERVO *DAMA DAMA* CRIOPRESERVADOS

CAMPORINO A., FILOSA A., SESTELO A.¹, CEBALLOS B.¹, CÓRDOBA M.

El objetivo del presente estudio es evaluar muestras de semen criopreservado de ciervo *Dama dama* con la finalidad de establecer parámetros funcionales y analizar la calidad de las muestras. Ésta especie es un modelo biológico para considerar los cambios espermáticos debidos al proceso de criopreservación y optimizar las condiciones de almacenamiento y transferirlas a especies en peligro para la conservación de la biodiversidad. La capacitación incluye la activación de mecanismos bioquímicos provocados por sustancias inductoras presentes en el tracto genital femenino donde glicosaminoglicanos como la heparina (HP) y el ácido hialurónico (AH) adquieren un rol potencial. Se evaluó viabilidad e integridad acrosomal por la coloración de azul tripán y microscopía óptica de Contraste Diferencial Interferencial, la capacitación por la coloración epifluorescente de Clorotetraciclina (CTC) y la integridad funcional de la membrana plasmática a través del Test Hipoosmótico (HosTest). La motilidad

progresiva fue evaluada por microscopía directa y a través de Computer Assisted Sperm Analysis (CASA). Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey ($p < 0,05$). La viabilidad no presentó diferencias significativas entre los tratamientos con HP ($28,33 \pm 10,69\%$) o HA ($19,67 \pm 11,67\%$) y sus respectivos controles ($p > 0,05$). A pesar de la baja viabilidad y el elevado porcentaje de alteración de la integridad de membrana ($70,5 \pm 21,38\%$ HosTest para muestras sin tratar) ambos tratamientos indujeron un incremento en la capacitación de las muestras con respecto a su control ($n=6$), siendo el porcentaje de espermatozoides capacitados con HP $16,0 \pm 2,0\%$ y con HA $16,5 \pm 3,11\%$ ($p < 0,05$). La motilidad progresiva de las muestras fue $22,0 \pm 3,0\%$ y $22,6 \pm 2,0\%$ con el agregado de HP o HA respectivamente (CASA). En los espermatozoides que permanecieron con sus membranas intactas, la heparina o el ácido hialurónico lograron inducir la capacitación con cambios diferenciales de la motilidad progresiva.

Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal
Unidad ejecutora de Investigaciones en Producción Animal UBA-CONICET
Cátedra de Química Biológica, Facultad Ciencias Veterinarias-UBA.

¹Laboratorio de Biotecnología Reproductiva para la Conservación de la Fauna Silvestre. Jardín Zoológico de la Ciudad de Buenos Aires.

DETECCIÓN DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP *HOMINISSUIS* EN UN VENADO DE LAS PAMPAS (*OZOTOCEROS BEZOARTICUS*)

CAMPOS, B¹; MARTÍNEZ VIVOT, M¹; FALZONI, E¹; MARFIL, MJ²; PEÑA MARTÍNEZ, J³; BARANDIARAN, S¹

La Reserva Natural Iberá sirve como refugio para varias especies de fauna que se encuentran amenazadas de extinción en el ámbito regional. Aunque todavía quedan algunos venados de las pampas (*Ozotoceros bezoarticus*) en el margen noreste del Iberá, este animal ha desaparecido del resto del Iberá. Con el fin de asegurar la permanencia de esta especie se desarrolló el “Programa de Recuperación de Fauna Amenazada”. La tuberculosis es una enfermedad que comparten distintas mamíferos, tanto animales domésticos como fauna silvestre y es considerada una importante zoonosis. El objetivo de este trabajo fue realizar un chequeo sanitario de la presencia de micobacterias en venados de las pampas previo a la reintroducción de los mismos a la reserva. Las muestras de 12 lavajes traqueales de venados de las pampas clínicamente sanos, fueron procesadas por decontaminación por el método de Petroff, cultivadas en medios de Stonebrink y Löwenstein-Jensen. La identificación de especie y subespecie se realizó por PCR. Se observó desarrollo bacteriológico en 1 muestra.

Al realizar la tinción de Ziehl-Neelsen se observaron bacilos ácido alcohol resistentes. Mediante el análisis molecular se identificó *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (MAH) (PCR: IS6110 -, IS1245 +, IS901 -). Evaluar la sanidad de los animales que se van a reincorporar a un hábitat nuevo en convivencia con otras especies es un procedimiento indispensable. Existen numerosas micobacterias que afectan a los ciervos, pero no todas provocan enfermedad. Las micobacterias pertenecientes al Complejo *Mycobacterium avium*, dentro de las que se encuentra MAH, no son típicamente productoras de tuberculosis. Sin embargo ante ciertas situaciones de estrés para el animal, pueden desarrollar enfermedad produciendo lesiones de tipo tuberculosas que no se diferencian a las provocadas por las micobacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis*. Por lo expuesto se desprende que si bien este hallazgo en un animal sano no determina la presencia de tuberculosis, este venado de las pampas debería ser monitoreado dentro de la reserva como medida precautoria.

¹Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. CABA. Argentina. ²Instituto de Biotecnología, CICVyA – INTA, Hurlingham, Buenos Aires. Argentina. ³The Conservation Land Trust Argentina, Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina. (Sbaran@fvet.uba.ar).

CONDUCTAS AFILIATIVAS POSCONFLICTO ENTRE PERROS DOMÉSTICOS Y SUS DUEÑOS

CAVALLI, C¹; DZIK, V^{1,2}; CARBALLO, F^{1,3}; BENTOSELA, M^{1,2}

Las especies sociales cuentan con mecanismos de resolución de conflictos para mantener cohesión grupal y disminuir agresiones. La reconciliación (contacto afiliativo entre oponentes) y el consuelo (contacto afiliativo de la víctima con un tercero) cumplen esta función en diversas especies. Se indagaron conductas afiliativas posconflicto de 17 perros domésticos hacia sus dueños, quienes fueron contactados mediante una convocatoria online y evaluados en sus hogares. Se creó una situación de conflicto en dónde el animal fue retado por un dueño por “robar” comida humana. Se registraron las conductas en los 30

segundos antes y después del momento del reto. Los resultados muestran que los perros emiten conductas afiliativas (incremento significativo de la cercanía, mirada y agitación de la cola) así como de apaciguamiento (evitación de la mirada, cola baja, orejas bajas, lameteo de labios y agazapamiento) dirigidas al dueño que los retó (reconciliación). Se observó también un incremento significativo del contacto con otro dueño presente (consuelo). En conclusión, este es el primer trabajo que muestra reconciliación y consuelo en perros en una situación de conflicto con las personas.

¹Grupo de Investigación del Comportamiento en Cánidos. (ICOC).

²Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM-CONICET).

³Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR; CONICET-UNS).

DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE PRESIÓN POSITIVA AL FINAL DE LA ESPIRACIÓN EN CANINOS SANOS ANESTESIADOS

¹CEBALLOS, M.; ²SANTIAGO, V.; ¹ZACCAGNINI, A.; ¹ROVATI, O. ¹TARRAGONA, L.; ¹OTERO, P.

Durante la anestesia general el parénquima pulmonar experimenta diferentes grados de colapso¹. Para revertirlo, se propone implementar maniobras de reclutamiento alveolar, que producen la re-apertura pulmonar. Para evitar el re-colapso pulmonar, se selecciona un óptimo nivel de presión positiva al final de la espiración (PEEP)³. El objetivo fue determinar el nivel de PEEP óptimo mediante el análisis de la capnografía volumétrica, el análisis de la mecánica respiratoria y la evolución del patrón ecográfico pulmonar luego del reclutamiento alveolar en caninos sanos anestesiados. Seis caninos (Proyecto CICUAL 2012/4) del Bioterio de la FCV-UBA fueron anestesiados en dos oportunidades (período de lavado, 3 meses) con remifentanilo

(15 mcg/kg/hora), propofol (15 ± 5 mg/kg/hora) y vecuronio (50 mcg/kg y una IC de 100 mcg/kg/hora). La ventilación se realizó en modo volumen control (FiO₂= 0.4) con el animal en decúbito dorsal. Luego de ejecutar la maniobra de reclutamiento pulmonar se realizó una titulación decremental de la PEEP. Cada escalón del proceso de titulación fue evaluado mediante el volumen del dióxido de carbono eliminado por respiración (VTCO_{2/br}), la complacencia dinámica (Cdyn) y la ecografía pleuro-pulmonar (número de líneas B). Los resultados se expresan como la media ± DE. El número de líneas B que se expresa como el modo, (rango). Para el análisis estadístico se aplicó el test de Friedman, seguido post test de Dunns (p < 0,05).

	PEEP 15	PEEP 12	PEEP 10	PEEP 8	PEEP 6	PEEP 4	PEEP 2	PEEP 0
Maniobra 1								
VTCO _{2/br}	2,66 ± 0,95	3,79 ± 0,93	4,73 ± 0,72	5,32 ± 0,83	5,68 ± 1,01*	5,78 ± 0,73*∅	6,14 ± 0,90*∅	4,97 ± 0,76
Cdyn	20,1 ± 3	24,6 ± 2,7	27,4 ± 3,5	29,6 ± 3,8	31,4 ± 4*	32,2 ± 4,1*∅	32,6 ± 3,9*∅	31,1 ± 4,2*
Líneas B	0	0	0	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-3)	1 (0-3)	1 (0-3)
Maniobra 2								
VTCO _{2/br}	4,01 ± 1,7	4,18 ± 1,62	4,96 ± 1,94	5,68 ± 1,51	6,03 ± 1,40	6,49 ± 1,45*∅	6,52 ± 1,5*∅	5,48 ± 1,63
Cdyn	20,9 ± 3,6	23,1 ± 2,7	25,4 ± 3,1	27,1 ± 3,3	29,1 ± 3,7*	30 ± 4,4*∅	30,4 ± 4,6*∅	29,4 ± 4,7*
Líneas B	0 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-1)	1 (0-2)	1 (0-2)	0 (0-2)	2 (0-2)	2 (0-3)
	* p < 0,05 con respecto a PEEP 15, ∅ p < 0,05 con respecto a PEEP 12, ∅ p < 0,05 con respecto a PEEP 10							

El valor medio de PEEP óptimo fue de 4 (2 a 6) cm de H₂O.

El análisis conjunto de la Cdyn y el VTCO_{2/br} permitió establecer el valor de PEEP óptimo para cada titulación. El número de líneas B aumentó entorno al nivel de PEEP óptimo.

¹Cátedra Anestesiología y Algología FCV-UBA ²Servicio Anestesiología Hospital Escuela FCV-UBA

“EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN UN ENSAYO DE VACUNACIÓN CONTRA LA PARATUBERCULOSIS EN EL MODELO MURINO”

COLOMBATTI OLIVIERI, M.A.¹; MOYANO, R.D.¹; M.¹; SANTANGELO, MP.¹ Y ROMANO, M.I.¹

La Paratuberculosis (PTB) es una enfermedad crónica causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map). Considerando las pérdidas económicas que produce es necesario controlar la enfermedad y desarrollar una vacuna. Los ratones BALB/c son el modelo experimental de elección para un análisis preliminar de candidatos a vacunas. El objetivo fue evaluar la respuesta inmune de los animales vacunados con una cepa local virulenta (6611) e inactivada y con la vacuna comercial Silirum[®]. Se preparó el inóculo vacunal con la cepa virulenta para el ratón (6611) que se evaluó como vacuna inactivada por calor, la cual fue administrada con adyuvante incompleto de Freund, llevado a la misma concentración que la vacuna comercial Silirum[®] (2,5mg pellet seco/ml). Se inocularon 0,2ml de la vacuna con una concentración de 0,5 mg/ratón, o solo PBS con adyuvante incompleto, por vía subcutánea a 15 ratones hembra BALB/c de 5-6 semanas de edad (5 animales por vacuna y 5 controles inoculados con PBS1x con adyuvante) y se les dio un refuerzo con la misma vacuna a los 17 días. Al mes de la última dosis vacunal se sacrificaron y se procedió a la extracción suero,

para medición de IgG e isotipos IgG2a e IgG1, y del bazo para medición de citoquinas (IL-2, IL-4, IL-6, IFN γ , TNF, IL-17A e IL-10) de sobrenadante del cultivo de esplenocitos (5x10⁵ células/well) los cuales fueron estimulados 16 y 72hs con 10 μ g de PPD aviar o lisado de Map. Todos los animales vacunados con la cepa local presentaron granuloma post-vacunal a diferencia de los vacunados con Silirum[®] que solo en el 35% de los animales se observó granuloma. Los niveles de IgG en ambos grupos vacunados fueron similares con predominio de IgG1 (Th2). Los tipos de citoquinas producidos de manera significativa fueron los mismos para ambos grupos vacunados, a excepción de la IL-2 que solo se observó en animales vacunados con 6611. Las otras citoquinas fueron IL-4 e IL10, características de Th2 (antiinflamatoria), y las citoquinas proinflamatorias IL6 e IFN γ que son características de un perfil Th1. Los resultados indican que, en el modelo murino, la cepa 6611 aplicada inactivada junto con un adyuvante oleoso sería capaz de conferir el mismo tipo de respuesta inmunológica que la vacuna comercial Silirum[®] la cual tiene un perfil Th1 y Th2 con predominio de respuesta humoral.

RESULTADOS PRELIMINARES DEL USO DE ANTIOXIDANTES NATURALES PARA LA CONGELACION DE SEMEN PORCINO

COMPAGNONI, M., TITTARELLI C. WILLIAMS S.

La congelación de las células espermáticas es el método de elección para prolongar indefinidamente su tiempo de conservación. Para semen porcino, varios estudios se han centrado en mejoras de las técnicas de congelación, fundamentalmente durante el proceso de enfriamiento, que es cuando se producen las mayores alteraciones en la integridad de la membrana plasmática, especialmente por una desestabilización en el sistema antioxidante del espermatozoide durante el enfriamiento y posterior congelación. Este sistema preserva a las células espermáticas del estrés oxidativo que genera daños estructurales y fisiológicos afectando la sobrevivencia y la capacidad fecundante del semen. El espermatozoide del verraco es susceptible al daño peroxidativo inducido por el proceso de congelación debido a la alta proporción de ácidos grasos polinsaturados presentes en sus membranas. Existen evidencias de que los carotenoides, como el licopeno, podrían actuar como antioxidantes. El objetivo del trabajo es evaluar la respuesta del uso de antioxidantes naturales en los medios de enfriamiento y congelación de semen porcino. Se utilizaron eyaculados (n=3) obtenidos de un padrillo alojado en un sistema confinado

dentro del predio de la Facultad (FCV-UNLP) y alimentado con balanceado de formulación comercial. El semen obtenido se evaluó para comprobar que reunía los parámetros mínimos requeridos para la congelación. Luego de la dilución post-centrifugación, el eyaculado fue dividido en 4 alícuotas, y se procedió al agregado del antioxidante (Ax) licopeno (500µg de Ax/mg de proteína), ya sea en el diluyente de enfriamiento (DE) y/o en el de congelación (DC) según el siguiente diseño experimental: (I) DE con Ax y DC sin Ax; (II) DE sin Ax y DC con Ax; (III) DE y DC con Ax, y (IV) control (DE y DC sin Ax). El antioxidante utilizado se obtuvo de manera sencilla y abundante a partir del tomate, utilizando solventes como hexano y etanol. El semen congelado se mantuvo en pajuelas de 0,5 ml (300x10⁶ esp) hasta la descongelación para la evaluación del grado de peroxidación en presencia de ascorbato, a través de quimioluminiscencia (cpm x 10⁻³). Según los resultados obtenidos el agregado del Ax en el DC resultó porcentualmente en un menor grado de peroxidación con respecto a la muestra control. Serán necesarios futuros estudios y una correlación con la integridad celular para corroborar el grado de protección con la inclusión del Ax.

EVALUACIÓN DE BIOMASA EN PLANTULA DE RAIGRAS PERENNE ABONADO CON PURIN BOVINO

CONDOLUCI, F; VOLPE, S.; SARDI, GMI.

La acumulación de purines producida por la concentración de animales (carne-leche) en instalaciones, 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 utilizada, generando diferente grado de dilución de los nutrientes. El objetivo en este trabajo fue evaluar el efecto del purín bovino como abono en las primeras etapas del crecimiento de raigrás perenne (*Lolium perenne*), con diferentes concentraciones de sales y contenido de materia seca. Los tratamientos fueron: 3 niveles de materia seca (%MS) en % (0; 5 y 15) y 4 niveles de conductividad eléctrica (CE) en $mS \cdot cm^{-1}$ (5; 10; 15 y 20), con 4 repeticiones y un control. Se prepararon con purín, homogeneizado y secado a 60°C, agua destilada y cloruro de sodio. La siembra de 10 semillas se llevó a cabo en recipientes de vidrio (350cc), sobre un sustrato estéril (arena, caolín, turba molida y $CaCO_3$), dispuestos sobre mesada con luz natural a temperatura ambiente ($24 \pm 3^\circ C$) regados a la siembra con 20ml de solución tratamiento. A los 22 días de la siembra, las plántulas se separaron del sustrato por lavado con agua corriente. Se determinó longitud de biomasa aérea (BA) y biomasa subterránea (BS) de cada plántula con calibre digital y

peso total de las plántulas (biomasa total: BT) con balanza de precisión. Los resultados hallados para BS muestran que al aumentar la CE las longitudes de las raíces disminuyen, observándose los siguientes rangos promedio y desvíos: BS0%MS(mm)= $27,3 \pm 4,2 - 15,8 \pm 3,0$ en BS5%MS(mm)= $30,7 \pm 9,7 - 13,9 \pm 6,7$ y en BS15%(mm)= $31,8 \pm 9,1 - 14,1 \pm 0$. Sin embargo en el tratamiento CE10 para 5 y 15%MS se vio favorecido el crecimiento de las raíces. En BA, CE ≥ 15 disminuyen la longitud de tallos+hojas: BA0%MS(mm)= $78,8 \pm 8,6 - 42,5 \pm 22,6$ en BA5%MS(mm)= $83,1 \pm 26,5 - 39,9 \pm 16,7$ y BA15%MS(mm)= $90,1 \pm 10,3 - 46,3 \pm 0$. Por otra parte, el aumento de %MS contribuye al mejor desarrollo de los tallos en CE < 15 . En cuanto a BT en BT0%MS (mg)= $32,9 \pm 1 - 16,4 \pm 4$, en BT5%MS(mg)= $43,1 \pm 22 - 11,8 \pm 5$ y en BT15%MS(mg)= $50,3 \pm 15 - 14,2 \pm 0$ mostrando la misma tendencia que en BS y BA. Purines con alto %MS y bajo CE favorecería la productividad de esta forrajera. El mejor desarrollo de las plántulas se observa en los tratamientos con mayor %MS y hasta una CE10. En la utilización de purín como abono en pasturas con raigrás perenne se tendría que tener en cuenta el contenido salino del agua de la región pues CE ≥ 15 podrían comprometer su desarrollo temprano.

LOS CANINOS COMO CENTINELAS DE ENFERMEDADES PARASITARIAS ZONÓTICAS

CORBALÁN V, GAMBOA MI, RADMAN N.

Los caninos y otros animales pueden utilizarse como centinelas de la presencia de agentes patógenos circulantes. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de parásitos intestinales y tisulares zoonóticos en los caninos de una población carenciada de Punta Lara, con el fin de identificar el riesgo de adquirir zoonosis parasitarias. Este informe describe las actividades desarrolladas en el marco del proyecto “Zoonosis parasitarias emergentes”, en el período comprendido entre 2014-2015. Fueron analizados 307 caninos. Se tomaron muestras de materia fecal para detectar vermes gastrointestinales (N= 151), orina para la búsqueda de *Dioctophyma renale* (N= 85), extracción de sangre para determinar la presencia de *Dirofilaria immitis* (N= 205), y raspados de piel para identificar ácaros de la sarna (N= 36). Las muestras de materia fecal se procesaron mediante la técnicas Telemann y Sheather; las de orina concentradas mediante centrifugación; las de sangre mediante

la técnica de Knott y las de piel se montaron en vaselina para su observación microscópica directa. Todas muestras procesadas se observaron al microscopio óptico a 10X y 40X. Sobre el total de muestras fecales caninas analizadas (151), en 114 se hallaron elementos parasitarios (75,5%), correspondiendo a enteroparasitosis zoonóticas *Ancylostoma caninum* (51,7%), *Toxocara canis* (17,2%), y *Giardia* sp. (4%). En 20 de las 205 muestras de sangre se identificaron microfilarias de *Dirofilaria immitis* (9,7%). En 20/85 muestras de orina se hallaron huevos de *Dioctophyma renale* (27%) y sobre los 36 raspados de piel realizados, se encontró el ácaro de la sarna *Sarcoptes scabiei* en 15 (41,6%). Mediante el análisis parasitológico de las muestras fecales caninas se logró determinar la alta prevalencia de formas de diseminación parasitaria de carácter zoonótico, de allí la relevancia del conocimiento sobre la prevención y el tratamiento de este tipo de patologías.

VALIDACIÓN DE UN ANTIGENO GLICOPROTEICO RECOMBINANTE PARA EL SERODIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS PORCINA

MARÍA E. CORTINA^A, RODRIGO E. BALZANO^B, CINTIA SÁNCHEZ^C, DIEGO A. REY SERANTES^A, ANA J. CAILLAVA^A, SEBASTIÁN ELENA^B, FABIÁN CAIRÓ^{C,D}, ANA M. NICOLA^B, JUAN E. UGALDE^{A,C}, DIEGO J. COMERCI^{A,C}, ANDRÉS E. CIOCCHINI^{A,C}.

La Brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico que afecta tanto al hombre como a los animales. *Brucella suis* es el agente etiológico que causa la brucelosis porcina y una de las principales especies de *Brucella* que produce la brucelosis en humanos. El diagnóstico de la brucelosis porcina se basa en la detección de anticuerpos anti polisacárido-O del LPS, siendo estos test serológicos los más sensibles. El objetivo del presente trabajo fue validar la glicoproteína recombinante OAg-AcrA, polisacárido-O de *Brucella* conjugado a la proteína *carrier* AcrA, como antígeno para mejorar el diagnóstico de la brucelosis porcina utilizando la plataforma de ELISA. Se analizaron 563 sueros obtenidos de cerdos experimentalmente infectados e inmunizados,

animales naturalmente infectados con *B. suis* biovar 1 ó 2 y animales serológicamente negativos. Con los datos obtenidos se realizó un análisis por curvas ROC (Receiver Operating Characteristic). De esta manera, se estableció un valor de corte de 0,56 para el cual la sensibilidad diagnóstica fue de 100%, mientras que la especificidad fue de 99,7%. Un valor de corte de 0,78 dió como resultado una sensibilidad de 98,4% y una especificidad de 100%. Nuestros resultados demostraron que el ELISA indirecto utilizando la glicoproteína recombinante OAg-AcrA como antígeno (VETLIS[®] Glyco-iELISA porcinos) presenta una excelente performance para el diagnóstico de la brucelosis porcina, mejorando el rendimiento diagnóstico comparado con las pruebas serológicas actuales.

^AInstituto de Investigaciones Biotecnológicas Dr. Rodolfo A. Ugalde (IIB-INTECH), Universidad Nacional de San Martín, CONICET, San Martín, Buenos Aires, Argentina. ^BLaboratorio de Referencia de la OIE para Brucelosis, Dirección General de Laboratorio y Control Técnico (DiLab), Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Martínez, Buenos Aires, Argentina. ^CChemtest S.A., San Martín, Buenos Aires, Argentina. ^DFacultad de Ciencias Vetrinarias, UBA.

EFFECTO DE LA L-CARNITINA SOBRE EL NIVEL INTRACELULAR DE ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y LA MADURACIÓN NUCLEAR *IN VITRO* DE OVOCITOS PORCINOS

CRUZANS P.R., LOMBARDO D.M.

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 β -oxidación. La disfunción mitocondrial puede generar una detoxificación incompleta de las especies reactivas de oxígeno (EROs) y conducir al daño oxidativo de macromoléculas tales como lípidos, proteínas y ADN. En este sentido, la LC también posee actividad antioxidante protegiendo a la célula del daño producido por EROs. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del agregado de distintas concentraciones de LC al medio de maduración *in vitro* sobre el nivel intracelular de EROs de los ovocitos y los porcentajes de maduración nuclear. Los complejos *cumulus*-ovocito (COCs) se obtuvieron por aspiración folicular de ovarios de cerdas de faena. Los COCs se maduraron *in vitro* sin LC (control) o con distintas concentraciones de LC (0,6; 1,25 o 2,5 mg/mL) en el medio de maduración (TCM-199 suplementado) por 44 h a 39°C y 5% de CO₂. Luego, los ovocitos fueron desnudados y se evaluó el nivel intracelular de EROs en unidades de transmitancia (T) de la emisión fluorescente (ensayo DCH-FDA)

y la maduración nuclear (Hoechst 33342). Se observó una diferencia significativa en el nivel intracelular de EROs entre el control (T=97,24, n=104) y las concentraciones de 0,6 y 1,25 mg/mL de LC (T=73,79, n=118; T=70,73, n=120 respectivamente). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre la concentración de 2,5 mg/mL de LC (T=78,51, n=94) y los grupos restantes (test de Kruskal-Wallis, $p=0,01$). En cuanto a la maduración nuclear, no se observaron diferencias significativas entre el control (66%, n=199) y las concentraciones de 0,6 y 1,25 mg/mL de LC (59%, n=185; 62%, n=190 respectivamente), aunque si se observó una disminución en el porcentaje de maduración nuclear entre el control y la concentración de 2,5 mg/mL de LC (53%, n=192) (test de proporciones, $p=0,007$). Concluimos que el agregado de bajas concentraciones de LC en el medio de maduración *in vitro* disminuye el nivel intracelular de EROs de los ovocitos respecto al control sin afectar el porcentaje de maduración nuclear. En cambio, la concentración de 2,5 mg/mL de LC no influye en el nivel intracelular de EROs entre los grupos pero disminuye la maduración nuclear al compararse con el control.

PERFIL DE VIRULENCIA DE *Escherichia Coli* PRODUCTOR DE TOXINA SHIGA PERTENECIENTES AL SEROGRUPO O174

CUNDON, CECILIA; BENTANCOR, ADRIANA

Escherichia coli shigatoxigénico (STEC) es un virotipo de *E.coli* de gran importancia en veterinaria. La toxina Shiga (Stx) es responsable de diarreas de distinta severidad que pueden evolucionar al Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). El SUH es una enfermedad multisistémica que afecta principalmente a niños menores de 5 años. El serogrupo O174 [H8,H21,H28, HNT, NM], es el quinto serogrupo no-O157 en prevalencia en Argentina y carece de intimina la cual permite la adhesión al enterocito. El objetivo de este trabajo es contribuir a la caracterización del perfil de virulencia de los patógenos de circulación regional con impacto en el sistema de salud. Se recolectaron 41 cepas STEC O174 pertenecientes a los serotipos H21 (30) y H28 (11) de distintas fuentes (bovinos: B, alimento: A, humanos:H y rata: R), origen (CABA, Buenos Aires y Uruguay) y años (1999-2012). La técnica de PCR permitió confirmar el tipo de toxina Shiga (stx_1 , stx_2) y sus subtipos (stx_2 , $stx_{2_{vh-a}}$, $stx_{2_{vh-b}}$), un sideróforo (*ihA*), dos adhesinas afimbriales (*afaC*, *eha*), cuatro adhesinas fimbriales (*eae*, *ecpA*, *hcp*, *lpfO₁₁₃*, *saa*

) y siete toxinas adicionales (*astA*, *cdtV*, *ehxA*, *espP*, *katP*, *subA*, *toxB*). Los subtipos de Stx de 30 cepas O174:H21 fueron: $stx_{2_{vh-a}}$ / $stx_{2_{vh-b}}$ (1), $stx_2/stx_{2_{vh-b}}$ (1), stx_2 (3), $stx_{2_{vh-b}}$ (20) y la frecuencia de sus factores de virulencia: *espP* (1), *subA* (1), *ehxA* y *saa* (3), *astA* (7), *ecp* (15), *ihA* (25), *lpfO₁₁₃* (29) y *afaC* (30). Los perfiles más prevalentes fueron: $stx_{2_{vh-b}}/afaC/ihA/lpfO_{113}$ (2 H, 5 A); $stx_{2_{vh-b}}/afaC/ecp/ihA/lpfO_{113}$ (12 B, 1 R). En 11 cepas O174:H28 se detectó: $stx_{2_{vh-b}}$ (2), stx_2 (8), con los factores: *cdtV* (1), *espP* (6), *ecp* (7), *lpfO₁₁₃* (10), *ehxA* y *saa* (10), *afaC*, *ihA* y *subA* (11). Los perfiles de virulencia prevalentes fueron:

$stx_2/afaC/ehxA/ihA/lpfO_{113}/saal/subA$ (2 H, 2 A);
 $stx_2/afaC/ehxA/espP/ihA/lpfO_{113}/saal/subA$ (4 B).

Los genes *eae*, *eha*, *hcp*, *katP* y *toxB* no fueron detectados. No se pudo determinar el subtipo de toxina de seis cepas. El serogrupo O174 se muestra como un serogrupo heterogéneo en cuanto a su composición genética. El serotipo O174:H28 podría ser más virulento que el O174:H21 debido a la presencia mayor cantidad de adhesinas y toxinas adicionales.

DESCRIPCIÓN DE PARÁMETROS SEMINALES Y DE DESARROLLO CORPORAL EN TORITOS ANGUS.

DE IRAOLA, J; BONAMY, M; PRANDO, A.

El período entre pubertad y madurez sexual de 90 a 120 días ha sido postulado como importante para el desempeño de toros jóvenes en el servicio. El objetivo del trabajo fue describir los parámetros de calidad seminal y desarrollo corporal de toritos Angus durante su recría. Se trabajó con 110 animales, en tres oportunidades se midió peso, alzada, circunferencia escrotal, y sobre muestras de semen colectadas mediante electroeyaculación se analizó motilidad individual, concentración, porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales y vivos como parámetros de calidad seminal. Al primer muestreo, día -93 inicio servicio, con una edad promedio de 335,1 ±27 días, se detectaron 59% púberes (P) y el 41% no alcanzó

los parámetros de calidad, clasificándolos como infantiles (I) según la definición de Wolf, 1965. En el segundo muestreo día -3 inicio de servicio, se encontraron: 10% I, 85% P y 5% maduros (M) acorde a la definición de Brito, 2012. Al evaluar los animales post servicio resultaron 7% I, 36% P, 57% M. En las condiciones de este estudio los toritos madurarían más tardíamente que lo informado por otros autores, en las condiciones de cría descritas en Canadá, no existiendo estudios que evalúen la madurez sexual de toros en nuestro país. Este hecho podría tener relevancia en la performance reproductiva durante el período de entore, pudiéndose modificar la distribución de las preñeces, con la consiguiente pérdida de kilogramos de ternero destetado.

ESMALTE Y UNIÓN CEMENTO-ESMALTE DE DIENTES PERMANENTES DE PERRO: ULTRAMORFOLOGÍA NORMAL.

GEORGINA DE PUCH, SABÁS Z. HERNÁNDEZ (DIRECTOR DE BECA), VIVIANA B. NEGRO
(DIRECTORA DE TESIS)

El esmalte dental del humano está constituido en un 90% por cristales de hidroxiapatita formando "prismas" y la sustancia interprismática que los rodea. Los prismas presentan forma de "cerradura", miden 4-5µm de espesor, y se organizan en algunas regiones en forma casi paralela (Bandas de Hunter-Scherger), y en otras de manera entrecruzada. Tanto en el humano como en el perro, existen cuatro tipos de unión cemento esmalte (UCE) denominados casos de Choquet: en el caso 1 el cemento termina cubriendo al esmalte, en el caso 2 el esmalte termina cubriendo al cemento, en el caso 3 el cemento y el esmalte terminan juntos y en el caso 4, el cemento y el esmalte no llegan a juntarse, quedando la dentina expuesta. El objetivo del trabajo fue describir la ultramorfofología del esmalte en el diente permanente del perro y caracterizar la presentación de los casos de Choquet según sitio de la UCE, mediante microscopía electrónica de barrido (MEB). Materiales y método: Para evaluar la ultramorfofología del esmalte se seleccionaron 35 dientes sanos, permanentes de perro. Se seccionaron en sentido vestíbulo-lingual con disco de diamante y se grabó la superficie seccionada con ácido fosfórico. Para el estudio

de la UCE, 40 dientes fueron seleccionados y seccionados en sentido mesio-distal. Todos los dientes fueron procesados y observados al MEB. Resultados: Los prismas del perro presentaron forma casi hexagonal, midiendo 3,73 +/- 0,63 µm de espesor, estando rodeados por sustancia interprismática. Se encontraron sectores con bandas de Hunter-Scherger, y sectores de prismas entrecruzados. Se observaron uniones cemento-esmalte homogéneas y otras heterogéneas con combinaciones de diferentes casos de Choquet. Las frecuencias de presentación de los distintos casos variaron según sitio de la UCE. En la cara lingual/palatina fueron: 36,11% de caso 3, 22,22% de caso 4, 11,11% de combinación de caso 1 y 3, 30,55% de combinación de caso 3 y 4. Las frecuencias relativas en la cara vestibular fueron: 50% de caso 3, 15,78% de caso 4, 5,26% de combinación de caso 1 y 3, 28,94% de combinación de caso 3 y 4. Conclusión: El esmalte del perro presenta una estructura prismática similar a la del hombre. La relación de los tejidos dentales varía a lo largo de la UCE, siendo en algunos casos más uniforme y en otros más heterogénea. El caso de Choquet más frecuente fue el 3, siendo más observado del lado vestibular.

RELEVAMIENTO DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS CONTRA LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA BOVINA

DIAZ A, MARTIRENA R², MANGHI M, CASTRO M.

La Enfermedad Respiratoria Bovina (ERB) es una enfermedad de etiología polimicrobiana que afecta a bovinos jóvenes generando grandes pérdidas económicas. Los agentes bacterianos causantes de neumonía son *Pasteurella multocida* (PM), *Mannheimia haemolytica* (MH) e *Histophilus somni* (HS). Si bien se dispone de vacunas comerciales, no siempre protegen frente a la forma neumónica de la enfermedad y es crucial comprender como es la respuesta inmune frente a la vacunación en bovinos. En este trabajo se realizó un screening en búsqueda de anticuerpos (Acs) específicos contra las bacterias responsables de ERB en diferentes rodeos vacunados de campos de cría y tambos de Bs.As. Mediante un ELISA desarrollado en nuestro laboratorio a partir de un modelo murino se evaluaron Acs específicos y se estudió el perfil de reconocimiento antigénico por WB. Se midieron en 140 sueros bovinos (con dilución 1/100) Acs contra PM, MH e HS de sotipo IgM, IgG1

e IgG2. Los valores de DO obtenidos en los sueros fueron altos para IgM (para PM $0,7940 \pm 0,09102$; MH $0,8880 \pm 0,2002$; HS $1,120 \pm 0,08202$). Mientras que fueron bajos para IgG1 (para PM $0,08280 \pm 0,03321$; MH $0,06771 \pm 0,01753$; HS $0,07025 \pm 0,0277$) y para IgG2 (para PM $0,09154 \pm 0,04473$; MH $0,08995 \pm 0,02148$; HS $0,05675 \pm 0,04632$). Estos resultados resaltan la importancia de IgM frente a estos microorganismos, mientras que IgG1 e IgG2 es notablemente más baja en la respuesta inmune bovina para las bacterias estudiadas; siendo disimilares con los resultados obtenidos previamente para el modelo murino. A pesar de ser resultados preliminares, nos acercan a la situación en la que se encuentran los bovinos de diferentes establecimientos de la Pcia. de Bs.As. Futuros trabajos en bovinos con planes de vacunación controlados nos permitirán evaluar la respuesta inmune y estudiar posibles modificaciones sobre dosis, inmunógenos y los adyuvantes.

¹IDEHU(CONICET-UBA), FFyB, UBA. ²Clínica de Grandes Animales, FCV, UNCPBA, Tandil, Bs As.

EVALUACIÓN DE LA INTERFERENCIA SEROLÓGICA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS OVINA

DIAZ, A.G.^{1,2}; SABBATINI, M.A.³; CLAUSSE, M.^{1,2}; ECHEVARRÍA, H.⁴; ESTEIN, S.M.^{1,2}

Brucella ovis es el agente causal de la epididimitis contagiosa de los carneros (ECC). En Argentina, el control de la ECC se basa en el diagnóstico serológico, aunque éste aún no se encuentra estandarizado. En este trabajo se evaluó la interferencia serológica que generan distintas especies bacterianas en el serodiagnóstico de la brucelosis por *B. ovis*. Materiales y métodos: ratones BALB/c fueron distribuidos en 9 grupos (n=6). Se prepararon suspensiones bacterianas inactivadas y emulsionadas en Marcol52+Arlacel+Tween80. Los grupos se inmunizaron con: *B. ovis*, *B. melitensis*, *Actinobacillus seminis*, *Campylobacter fetus fetus*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Histophilus somni*, *Mannheimia haemolytica*, *Ochrobactrum anthropi* y *Trueperella pyogenes*. Las vacunas se administraron los días 0, 21 y 42 y se extrajo sangre para suero periódicamente hasta el día 90. Los sueros se analizaron en

pruebas para detectar anticuerpos contra *B. ovis* (inmunodifusión en gel de agar contra un extracto obtenido a partir de *B. ovis* (IDGA), contra *B. canis* (M-) especie antigénicamente similar a *B. ovis* (RSAT con 2 mercaptoetanol) y en la prueba de aglutinación en placa para el diagnóstico de anticuerpos contra especies lisas de *Brucella* (BPA). Resultados y conclusiones: la prueba de BPA dio un 100% de reactores positivos en el grupo de *B. melitensis* y una proporción de animales positivos en otros grupos, tal como lo hemos publicado previamente. IDGA y RSAT-2ME fueron 100% específicas. Ambas pruebas detectaron diferentes porcentajes de animales positivos en los grupos inmunizados con *C. fetus fetus*, *C. pseudotuberculosis*, *H. somni*, *M. haemolytica* y *O. anthropi* lo cual indica que el contacto con estas bacterias genera interferencia en el serodiagnóstico.

¹ Laboratorio de Inmunología, FCV- UNCPBA., ² CIVETAN-CONICET-CIC ³ Becario de entrenamiento CIC, ⁴ Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, FCV- UNCPBA
adiaz@vet.unicen.edu.ar

PRODUCCIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DEL ÓXIGENO EN OVOCITOS BOVINOS VITRIFICADOS POR el método CRYOTECH®

DONATO, A¹; CETICA, P^{1,2}; DALVIT, G¹; MORADO, S¹

La vitrificación produce un estado amorfo vítreo sin cristales de hielo dentro y fuera de la célula mediante un enfriamiento ultrarápido en una serie de soluciones especiales. Si bien es conocido el rol deletéreo de las especies reactivas del oxígeno (ROS), las mismas han sido propuestas como parte de mecanismos de señalización durante la maduración del ovocito. El objetivo de este trabajo fue evaluar la producción de ROS en ovocitos bovinos madurados *in vitro* y sometidos al proceso de vitrificación-atemperado. Los complejos ovocito-cumulus (COCs) fueron obtenidos por aspiración de folículos ováricos antrales, seleccionados bajo lupa estereoscópica y madurados en medio 199 con sulfato de gentamicina, suero fetal bovino, FSH y LH, bajo aceite mineral a 39°C y 5% CO₂ en estufa de aire humidificado durante

22hs. Luego los ovocitos fueron denudados y vitrificados por el método Cryotech®. Los niveles de ROS se analizaron mediante la técnica de 2',7'-diclorodihidrodiacetato de fluoresceína en ovocitos maduros frescos (control) y en ovocitos maduros vitrificados-atemperados. Las determinaciones se realizaron a las 0, 3 y 21hs post-maduración (COCs controles) y post-atemperado (vitrificados). Se observó una significativa disminución en los niveles de ROS (expresados como media ± desvío estándar de unidades arbitrarias/ovocito) en los ovocitos vitrificados con respecto a los frescos a las 3 y a las 21hs (299,44±142,13 vs 360,81±137,40 y 255,2±65,0 vs 279,36±89,1, respectivamente, p<0,05). Por lo tanto, el método Cryotech® produciría una disminución de la producción de ROS en el ovocito bovino.

¹Cátedra de Química Biológica, INITRA (UBA), ²INPA (UBA-CONICET), Facultad Cs. Veterinarias, UBA. Buenos Aires, Argentina.

HABILIDADES SOCIO-COGNITIVAS EN PERROS DE INTERVENCIONES ASISTIDAS CON ANIMALES

DZIK, MARINA VICTORIA^{1,2}; CAVALLI, CAMILA MARIA¹; CHIESA, NORA³;
BENTOSELA, MARIANA^{1,2}

Las “Intervenciones Asistidas Con Animales” IACA se refieren a encuentros o visitas a pacientes hospitalizados con un perro, para interactuar de modo flexible y espontáneo. Su finalidad es que la interacción positiva con el animal produzca beneficios en los pacientes, mejorando su calidad de vida. El objetivo del presente trabajo fue evaluar las habilidades socio-cognitivas de los perros que participan en un programa de IACA que asisten al Servicio de Cuidados Paliativos del Hospital Tornú y al Hospital Moyano de la Ciudad de Buenos Aires, y compararlo con perros de familia que no participan en dichas actividades. Se evaluaron 14 perros, 7 perros de IACA previamente evaluados por un etólogo y 7 perros de familia, 7 hembras y 7 machos, 5.14 edad promedio (± 2.92), sin entrenamiento

específico para la tarea. Los mismos fueron evaluados en una prueba comunicativa que implicaba el aprendizaje de mirar a la cara humana cuando un refuerzo (comida) estaba inaccesible y en una tarea inhibitoria que consistía en resistir el impulso de ir a un lugar previamente reforzado. Los resultados mostraron que los perros de IACA miran significativamente más que los perros de familia y persisten en esta respuesta aun cuando no es exitosa (extinción) en comparación a los de familia. No hubo diferencias en su capacidad inhibitoria. Los perros de IACA se destacan en la habilidad socio-comunicativa de la mirada, la cual es de gran importancia para la interacción de perros y personas en una actividad que busca mejorar la calidad de vida de personas hospitalizadas.

¹Grupo de Investigación del Comportamiento en Cánidos (ICOC).

²Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM-CONICET).

³Docente de la Cátedra IACA, Facultad de Ciencias Veterinaria UBA

DISTRIBUCIÓN MUSCULAR DE LARVAS DE *TRICHINELLA PATAGONIENSIS* EN *CAVIA PORCELLUS*

ERCOLE, M¹.; FARIÑA, F.^{1,2}; RIBICICH, M.¹

Durante la última década, una nueva especie perteneciente al género *Trichinella* fue descubierta en Argentina: *T. patagoniensis*. A través de estudios experimentales previos, demostramos que el cobayo (*Cavia porcellus*) es susceptible a la infección por este parásito. Por ello, resulta necesario conocer los músculos de predilección de *T. patagoniensis* en estos animales para así determinar la muestra más adecuada para fines experimentales o de diagnóstico. El objetivo del trabajo fue establecer el patrón de distribución muscular de las larvas 1 (L1) de *T. patagoniensis* en *Cavia porcellus*. Se inocularon 16 cobayos hembra (*Cavia porcellus*), vía oral con 2000 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 analizó

la distribución de las larvas musculares a través de la digestión artificial, determinando la cantidad de larvas por gramo (lpg) de los diferentes grupos musculares en estudio. Los grupos examinados fueron la musculatura completa de los miembros anteriores y posteriores (analizados de forma separada), intercostal, abdominal, masetero, diafragma y lengua. La mayor carga de larvas musculares fue encontrada en miembro posterior (265,65 lpg ± 69,83 lpg), diafragma (181,21 lpg ± 34,09 lpg), miembro anterior (167,30 lpg ± 76,69 lpg), intercostales (159,48 lpg ± 45,03 lpg) y músculo masetero (127,16 lpg ± 31,92 lpg). La distribución de larvas en la musculatura de los cobayos, resultó uniforme en miembro posterior, anterior, diafragma e intercostales. Coincidiendo con un estudio anterior en felinos, la carga parasitaria más baja se encontró en la lengua.

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

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

El presente trabajo fue financiado por los subsidios UBACyT 20020130100336BA y PICT-2013-0965.

RESIDUOS EN LECHE DE ERITROMICINA ADMINISTRADA A OVEJAS AL INICIO, DURANTE EL PICO Y AL FINAL DE LA LACTANCIA

ESMORIS, S.; CARBONNET, G.; AMBROS, L.; KREIL, V.; TARRAGONA, L.; BRYNKIER, J.;
VEKSLER HESS, J.

El uso de antimicrobianos en animales en lactación, lleva implícita la necesidad de estudiar la llegada y persistencia de los mismos en leche, ya que, un nivel por encima del máximo permitido podría traer aparejados problemas en la salud pública por la aparición de reacciones adversas en los consumidores o en la industria por alteración de los distintos procesos. Ambos factores (llegada y persistencia) están influenciados por distintas variables como producción láctea, momento del tratamiento, características composicionales de la leche. El objetivo del presente trabajo fue determinar el número de ordeñes necesarios para que las concentraciones de eritromicina disminuyan por debajo del límite permitido luego de la administración de una dosis única por vía intramuscular a ovejas al inicio, durante el pico y al final de la lactancia. Se emplearon 6 de ovejas al inicio (6-8 días), durante el pico (26-28 días) y al final (155-157 días) de la lactación. Los animales recibieron por vía intramuscular y una vez finalizado el ordeño, una dosis de 15 mg/kg de eritromicina (Laboratorio Burnet).

Coincidente con cada ordeño (cada 12 horas) se tomaron muestras de leche (2 ml). La presencia de antimicrobiano se determinó mediante un test de inhibición microbiológica (Delvotest). Teniendo en cuenta el viraje de color se estableció una escala correspondiendo 1 (amarillo 100%) y 2 (amarillo 75%) a ausencia de antimicrobiano y 3, 4 y 5 (púrpura 50, 75 y 100%, respectivamente) a presencia de antimicrobiano. Los resultados de la validación de la metodología indicaron que el test es adecuado para la determinación de eritromicina en leche de ovejas. En cuanto al número de ordeñes se determinó que al inicio de la lactancia y durante el pico fueron necesarios entre 5 y 6 ordeñes (60 - 72 h post-administración); mientras que al final entre 5 y 8 (60 - 96 horas post-administración). Las diferencias en el volumen producido y características composicionales de la leche al final de la lactancia condujeron a que la droga sea detectada por más tiempo lo que implicaría la necesidad de un período de retirada más largo en esta etapa de la lactación.

APROXIMACIÓN AL METABOLISMO MINERAL EN CABRAS

LUCILA ESPERON¹, ISADORA LEMOS¹, LAURA GALOTTA², SANTIAGO ESMORIS³, EDUARDO ALVAREZ¹, ANGELINA CHIAPPE BARBARÁ¹, VERÓNICA DE LUCA SAROBE¹.

Son muchas las revistas científicas y libros de texto que notan la escasa información que hay sobre metabolismo mineral y de oligoelementos en cabras. La evaluación del manejo renal de los electrolitos junto con el conocimiento de sus concentraciones plasmáticas puede ser de gran utilidad en circunstancias experimentales, clínicas o productivas. Objetivo: Analizar parámetros fisiológicos en cabras en lactancia, con especial interés en la excreción fraccional de calcio, fósforo y magnesio estableciendo

valores de referencia. Fueron estudiadas 5 cabras Anglo Nubian alojadas en la FCV-UBA durante 2 meses posparto (días 5, 15, 30, 45 y 60) y a los 3 meses posteriores a la seca. Se tomaron muestras simultáneas de sangre y orina para la determinación plasmática y urinaria de calcio, fósforo y magnesio mediante espectrofotometría de absorción atómica y creatinina mediante método enzimático. Los animales fueron alimentados con una dieta a base de heno de alfalfa, pelets de alfalfa y maíz.

Excreción fraccional (EF) y concentración plasmática (mg/dl) de Ca, P y Mg

	EFCa	EFP	EFMg	Ca pl	P pl	Mg pl
Día 5	5,90±1,4	0,02±0,02	14,5±1,0	11,0±0,8	4,55±0,6	2,49±0,1
Día 15	5,18±1,5	0,03±0,01	13,6±2,7	10,2±0,4	4,51±0,5	2,72±0,1
Día 30	3,39±1,8	0,06±0,01	12,6±2,3	10,6±0,6	5,33±0,5	2,53±0,3
Día 45	3,07±0,3	0,06±0,01	10,1±1,8	11,6±0,4	5,94±0,4	2,85±0,1
Día 60	3,80±0,9	0,07±0,02	12,5±2,7	10,6±0,1	5,73±0,7	2,80±0,1
Seca	035±0,1 ^a	0,06±0,02	6,7±2,4 ^b	10,7±0,4	4,95±0,4	3,70±0,1 ^c

a p<0.05 vs días de lactancia, b p<0.05 vs día 5; c p<0.05 vs día 45, 60 y seca.

Si bien hay aproximaciones establecidas en cuanto a los requerimientos minerales para cabras en lactancia, su determinación es bastante difícil dada la compleja interacción entre los distintos minerales, a esto hay que sumarle la regulación existente que puede estar

accionando desde la absorción de los mismos hasta su posterior utilización y excreción. Por estas razones los resultados obtenidos en este trabajo son un aporte influyente en el estudio del metabolismo mineral en cabras en distintos momentos fisiológicos.

¹Fisiología Animal, ²CETA/INPA, ³Farmacología; Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS Y STREPTOCOCCUS EQUI SUBSP. ZOOEPIDEMICUS DE MUCOSA NASOFARÍNGEA DE EQUINOS CLÍNICAMENTE SANOS.

ETCHECOPAZ A¹, CRUZ P², BUSTOS C¹, MAZZOCCI A¹, IOVANNITTI C³, GUIDA N¹.

En todas las mucosas animales, conviven microorganismos formando parte de la biota residente y transitoria. Se considera que *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (*Sez*) es un habitante normal de las mucosas del equino pero bajo ciertas circunstancias puede comportarse como patógeno oportunista. Las interacciones entre microorganismos que comparten los mismos nichos ecológicos pueden ser una de las bases para el entendimiento de estas enfermedades infecciosas de carácter oportunistas. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar levaduras y *Sez* de hisopados nasofaríngeos de equinos sanos estabulados en box dentro de un club hípico. Para la toma de muestra, se introdujo un hisopo cubierto por el meato nasal ventral del equino unos 30 cm. Posteriormente se colocaron en medio de transporte Stuart y se mantuvieron refrigerados hasta el momento de su utilización. Se

sembraron en medio Agar Sangre para aislar *Sez* y en medio Saboreaud glucosado con antibiótico para el crecimiento de levaduras y se incubaron a 37°C y 28°C, respectivamente. En 11 de las 28 muestras procesadas se han aislado levaduras. Dichas levaduras pertenecían al género *Candida* (10) y al género *Rodhotorula* (1). En solo una muestra se ha aislado *Sez*, coincidiendo también la misma muestra con el aislamiento de *Candida*. *Sez* y levaduras cohabitan en las mucosas de los equinos. En estudios previos de nuestro grupo de trabajo, se observó que la micota residente de equinos estabulados en box es menos variable que la de los animales que habitan a campo, en los que el género levaduriforme predominante fue *Cryptococcus* sp. Las interacciones generadas por mayor diversidad de microorganismos podrían ser factores predisponentes de enfermedad o indicadores de salud en los equinos.

¹Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Cs Veterinarias, ²Cátedra de Semiología, Facultad de Cs Veterinarias, ³Centro de Micología, Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires.

ESTUDIO DE LA CINÉTICA Y DEL COMPORTAMIENTO DEL BIOFILM MIXTO ENTRE LEVADURAS Y STREPTOCOCCUS EQUI SUBSP. ZOOEPIDEMICUS, AISLADAS DE EQUINOS

ETCHECOPAZ A¹, IOVANNITTI C², GUIDA N¹.

Las infecciones del útero en yeguas no preñadas se han hecho más frecuentes con el empleo extendido de antibióticos y la manipulación de la reproducción intensiva. La bacteria aislada con mayor frecuencia de endometritis, *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* (Sez), puede ser habitante residente de la mucosa vaginal y nasofaríngea equina y se comporta como patógeno oportunista en el equino. La interacción con otros microorganismos dentro de la formación de biofilm podría ser un factor determinante en la patogenia de estas infecciones. El objetivo de este trabajo fue desarrollar biofilm in vitro de Sez, cuantificarlo y estudiar su cinética de desarrollo. Se trabajó con 28 aislamientos y la cepa de referencia ATCC 70400. En 4 microplacas de 96 pocillos de poliestireno de fondo plano estériles, se inocularon 200 µl de inóculo a una concentración equivalente al 1 de Mc Farland y se incubaron a 37° C en atmósfera enriquecida en CO₂. Se realizaron

mediciones a las 2, 24, 48 y 72 horas. En cada tiempo de medición, se lavaron los pocillos 3 veces con PBS y se agregó 200 µl de Cristal Violeta al 1%. Posteriormente se realizó la elución del colorante adherido a las células agregando 200 µl de etanol 96% a cada pocillo y la densidad óptica del sobrenadante se midió a 570 nm. Se obtuvo producción in vitro de biofilm en el 75% de los aislamientos y en la cepa patrón (ATCC 70400). La mayor producción de biofilm se obtuvo entre las 40 y las 60 horas en 10 de los aislamientos, solo 3 tuvieron una producción temprana a las 24 hs y 6 aislamientos demostraron producción tardía de biofilm, desarrollándolo a las 72 hs. Se han demostrado diferentes comportamientos en el desarrollo de biofilm y esto estaría relacionado con la capacidad de adherirse y persistir en la mucosa del hospedador. Estudios posteriores profundizarán más en el comportamiento del biofilm de Sez y en su interacción con levaduras que cohabitan las mucosas del equino.

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

CONSIDERACIÓN DEL PROFESIONAL VETERINARIO COMO ACTOR DE TRANSFORMACIÓN SOCIAL

D'AMICO EVANGELISTA, F¹; GONZALEZ, M.²; COLABIANCHI, B².

Es indudable el rol trascendental del profesional veterinario en el desarrollo de la sociedad. Sin embargo esta importancia no es siempre bien ponderada y en muchos casos, desestimada.¹ El presente trabajo, propone relevar la consideración social sobre el rol desempeñado por el profesional veterinario. El mismo fue realizado en dos etapas, a saber: En una primera instancia se realizó un relevamiento bibliográfico de los antecedentes que dan cuenta que el médico veterinario no es reconocido en nuestro país y en la mayoría de los países de América Latina, como un actor de transformación social. En una segunda instancia se llevó a cabo un trabajo de campo, mediante 93 encuestas innominadas de respuesta cerrada, para obtener así un sondeo muestral sobre la opinión de la sociedad acerca del rol que cumplen los médicos veterinarios en la misma y de esta manera poder contrastarla

con nuestra hipótesis y lo planteado por los trabajos consultados en el sondeo bibliográfico previo. El sondeo se realizó en el área de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario, sito en la ciudad de Casilda. El 70% de los encuestados considera que el médico Veterinario debiera desarrollar mayor actividad social, tales como formulación y ejecución de programas de desarrollo local y comunitario tendientes a fortalecer producciones locales, valorizando la problemática en salud pública en áreas rurales, entre otros. En conclusión, podemos considerar que existe una valoración sobre la figura del médico veterinario en relación al campo de acción social. Debido a que los encuestados vinculan la acción del profesional veterinario con el bienestar humano, se demanda un rol más activo como verdadero actor de transformación social².

¹ Serrano Nova, C; Arcila Quiceno, V. "La importancia social del profesional en Medicina Veterinaria" en REDVET: Revista electrónica de Veterinaria. ISSN 1695-7504. Junio 2008. Vol IX

² Málaga, H. "Contribuciones del Médico veterinario al desarrollo local" en Revista MVZ. ISSN 1909-0544. Enero 2000 vol 5. Universidad Nacional de Córdoba. Montería. Colombia

¹ Cátedra de Sociología rural, agroecología y extensión; ² Cátedra de Nutrición animal. Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional de Rosario.

METABOLISMO OXIDATIVO Y MOTILIDAD EN LA CAPACITACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE CRIOPRESERVADO BOVINO CON ÁCIDO HIALURÓNICO Y HEPARINA

FERNÁNDEZ S, FILOSA A, CÓRDOBA M.

La capacitación espermática puede ser inducida *in vitro* por glicosaminoglicanos como el ácido hialurónico y la heparina. Isocitrato deshidrogenasa dependiente de NAD⁺ (IDH-NAD⁺), enzima del ciclo de Krebs, y dependiente de NADP⁺ (IDH-NADP⁺), son indicadoras de la actividad oxidativa mitocondrial. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad de IDH-NAD⁺ e IDH-NADP⁺ y la motilidad espermática durante la capacitación de espermatozoides bovinos criopreservados. Ácido hialurónico y heparina fueron utilizados como inductores de la capacitación. La actividad de IDH fue determinada por espectrofotometría 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/contraste diferencial interferencial. La motilidad espermática fue evaluada por ISAS V. 1.2 Prosier. Los datos fueron analizados por ANOVA y test de

Tukey (P<0,05). La actividad de IDH-NAD⁺ en muestras incubadas con heparina (0,12 ± 0,02 U/10⁸esp x 10⁻²) evidenció un aumento significativo respecto al ácido hialurónico (0,07 ± 0,01 U/10⁸esp x 10⁻²) y el control. El ácido hialurónico produjo un aumento significativo de la actividad de IDH-NADP⁺ (0,60 ± 0,10 U/10⁸esp x 10⁻²) respecto a la heparina (0,18 ± 0,09 U/10⁸esp x 10⁻²) y el control. Los porcentajes de espermatozoides móviles y con motilidad progresiva evidenciaron un aumento significativo con heparina respecto al ácido hialurónico y al control. La velocidad promedio fue mayor en las muestras capacitadas con heparina (54,08 ± 11,45 µm/s) en comparación al ácido hialurónico (41,32 ± 6,27 µm/s) y al control. El ácido hialurónico y la heparina modulan diferencialmente la actividad de IDH dependiente de NAD⁺ y NADP⁺ y la motilidad en la capacitación del espermatozoide criopreservado bovino.

Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal,
Unidad Ejecutora de Investigaciones en Producción Animal UBA-CONICET,
Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Veterinarias - UBA

ESTUDIO DE TRATAMIENTO CON ANTI-TNF α DE LLAMA Y DE CONEJO EN UN GRUPO DE EQUINOS DEPORTIVOS CON OSTEOARTRITIS

FERRETTO, A.; PERRONE, G.; BERNAUDO, T.; ALONSO, G.; LASTRA, Y.; RUBATINO, F.; DE SIMONE, E.; CHIAPPE BARBARÁ, M.A.

La osteoartritis (OA) se caracteriza por ser una enfermedad en la cual el sistema inmune juega un rol preponderante en la patogenia de la misma. El TNF α es considerado una citoquina clave en el desarrollo de la OA, sin embargo solo es posible encontrarlo elevado en sangre en la fase más activa de la OA y en el líquido sinovial de equinos gerontes en los cuales se observan niveles significativamente más altos que en los equinos de edad media. Objetivo: Evaluar la respuesta al uso de anti-TNF α de conejo y de llama en el score clínico

y perfil de biomarcadores en el líquido sinovial de equinos gerontes, a los 30 y 45 días post tratamiento. Se utilizaron 9 equinos gerontes, mayores de 16 años con signos manifiestos de envejecimiento en su score clínico articular. Cinco equinos recibieron anti-TNF α de conejo y cuatro anti-TNF α de llama. Se adjudicó un score clínico y se analizó el líquido sinovial pre y post tratamiento. Los biomarcadores evaluados fueron IL-4, IL-6, TNF α , MCP-1 mediante la técnica de ELISA, y MMP- 2 y MMP- 9 mediante zimografía.

Se observó variaciones significativas en los niveles de TNF- α , IL-4, MCP-1 y MMP2 a los 45 días post tratamiento.

	Anti TNF conejo			Anti TNF llama	
	Basal	30 días	45 días	Basal	45 días
TNF- α	111.58 \pm 20.58	78.18 \pm 34.06*	48.86 \pm 18.99	88.47 \pm 28.80	30.711 \pm 6.91°
IL-4	13.10 \pm 1.09	13.28 \pm 4.16	7.92 \pm 3.12**	12.80 \pm 1.82	6.71 \pm 2.19°
IL-6	124.35 \pm 33.64	148.77 \pm 122.39	155.1 \pm 130.71	141.18 \pm 45.6	146.88 \pm 132.8
MCP-1	177.5 \pm 23.47***	104.87 \pm 52.889	86.361 \pm 28.56	177.70 \pm 48.2	27.93 \pm 3.12
MMP-2	48.45 \pm 22.4***	133.63 \pm 30.84	109.54 \pm 24.90	55.48 \pm 29.24	97.51 \pm 22.3°°
Sc clini	6.96 \pm 1.51	5.945 \pm 2.721	7.21 \pm 2.11	8.18 \pm 1.58	8.68 \pm 1.93

*p<0.05vs Basal y 45 días; **p<0.01 vs basal y 30 días; ***p<0.001vs 30 y 45 días °p<0.0001; °°p<0.0061

Si bien no se observó diferencia en el score clínico por el corto tiempo post tratamiento, el anti-

TNF α podría ser considerado como una alternativa novedosa en animales con OA recurrente.

EFECTO DEL ÁCIDO HIALURÓNICO SOBRE LA MOTILIDAD Y LA CAPACITACIÓN IN VITRO DEL ESPERMATOZOIDE CRIOPRESERVADO BOVINO Y DE CÉRVIDO

FILOSA A, SESTELO A¹ Y 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 capacitación y la variación de la motilidad con AH o HP en espermatozoides criopreservados de bovino (n=6) y cérvido *Dama dama* (n=4). Se evaluó viabilidad e integridad acrosomal por la coloración de azul tripán y microscopia óptica de Contraste Diferencial Interferencial y la capacitación por la coloración epifluorescente de Clorotetraciclina (CTC). Los datos fueron analizados por ANOVA y test de Tukey (p<0,05). Tanto en bovino como en cérvido, ambos tratamientos indujeron un incremento de la capacitación respecto al control (p<0,05); siendo 26,50±7,42% y 20,67±3,72% para la HP y 22,40±5,17% y 16,25±3,22 % para el AH, respectivamente. No se evidenciaron diferencias significativas en el porcentaje de vivos entre el tratamiento y el control en ambas especies (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±5,73% con HP y de un 77,40±10,70% con AH (p>0,05) para los espermatozoides bovinos y en cérvidos fue 21,80±2,70 % con HP y 23,00±1,90 % con AH. Se encontró que los tratamientos con HP y AH, en ambas especies, presentan diferencias significativas en los parámetros de motilidad ALH (amplitud lateral de la cabeza), BCF (frecuencia de batido del flagelo) y VCL (velocidad curvilínea). En bovinos, existe una correlación positiva entre BCF y el tratamiento con HP (r=0,63) y ALH con AH (r=1,00) (p< 0,05). En cérvidos, la HP produce un incremento en ALH (3,20±2,60 μm) y VCL (52,23±2,50 μm /s), mientras que el AH aumenta BCF (9,80±0,70 Hz, versus 6,50±0,70 Hz de su respectivo control) (p<0,05). El AH es un glicosaminoglicano capaz de producir capacitación *in vitro* en semen criopreservado de ambas especies, induciendo cambios diferenciales en la motilidad y en el porcentaje de espermatozoides capacitados con respecto a la heparina.

Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal
Unidad Ejecutora de Investigaciones en Producción Animal UBA-CONICET
Cátedra de Química Biológica, Facultad Ciencias Veterinarias-UBA.

¹Laboratorio de Biotecnología Reproductiva para la Conservación de la Fauna Silvestre. Jardín Zoológico de la Ciudad de Buenos Aires.

REPORTE DE TUBERCULOSIS EN UN LOBO MARINO DE UN PELO (*Otaria Flavescens*) DE PUERTO MADRYN, CHUBUT

FIORITO, C.^{1,2}; MARFIL J.^{3,4}; FALZONI, E.⁴; ZUMARRAGA, M.³ MARTINEZ VIVOT, M.⁴

El primer hallazgo de tuberculosis (TB) en pinnípedos surge en Australia en el año 1986. Actualmente existen varios reportes de TB tanto en pinnípedos silvestres como en cautiverio, con transmisión de la enfermedad a otras especies de animales y a los humanos. La enfermedad es producida por *Mycobacterium pinnipedii*, que forma parte del complejo *M. tuberculosis* (CMT) debido a las características fenotípicas y genotípicas que comparte. El objetivo fue reportar un caso de tuberculosis en un lobo marino de un pelo varado en cercanías de Puerto Madryn. Se realizó la necropsia parcial del ejemplar, se colectaron muestras de diversos órganos y se fijaron en formol bufferado al 10% por 24 horas. Posteriormente se procesaron mediante técnica histológica de rutina para la obtención de cortes histológicos, los cuales fueron teñidos con hematoxilina-eosina y Ziehl-Neelsen. Se realizó la extracción y purificación del ADN por tratamiento enzimático y solventes orgánicos. Se realizó la técnica de PCR utilizando como blanco a la secuencia de inserción IS6110 característica de las micobacterias del CMT. Para la identificación de la especie de micobacteria se utilizó la técnica

de spoligotyping. En la necropsia se observó un trauma severo en la región torácica derecha, con presencia de un gran hematoma subcutáneo, compromiso muscular e importante afección pulmonar, lo que pudo haber sido la causa de muerte del ejemplar. Adicionalmente se observó un aumento de tamaño de los nódulos linfáticos mediastínicos (NLM), los cuales presentaban áreas multifocales de calcificación y necrosis. La histopatología de los NLM reveló la presencia de linfadenitis granulomatosa con áreas de calcificación distrófica. Se detectaron bacilos ácido alcohol resistentes dentro de los macrófagos, mientras que por PCR se detectó IS6110. Sin embargo, no se pudo identificar la especie de micobacteria por spoligotyping. Las técnicas utilizadas permitieron confirmar la etiología del caso estudiado. Si bien no fue posible determinar la especie de micobacteria detectada, se concluyó que pertenece al complejo *M. tuberculosis*. Es importante destacar que todas las micobacterias del CMT son zoonóticas y que si bien tienen un hospedador primario principal pueden afectar a distintos mamíferos. Este es el primer caso reportado de TB en pinnípedos en la región de Puerto Madryn, Chubut, Argentina.

¹Centro Nacional Patagónico, CONICET, Puerto Madryn, Chubut, Argentina. ²Laboratorio de Histología, FCV, UBA. ³Instituto de Biotecnología, CICVyA-INTA, Castelar. ⁴Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA.

ECOGRAFÍA MUSCULOESQUELÉTICA Y TERAPIA FÍSICA EN LUXACIÓN TRAUMÁTICA DE CODO CANINO

*FORT, S.; *MERCADO M.; *PALLARES, C.; CORTI, L.;**CHAN, D.

La Terapia Física utiliza distintos agentes físicos y mecánicos para tratar diferentes enfermedades del aparato locomotor. La luxación traumática de codo en caninos es una lesión poco frecuente comparada con las de otras articulaciones. Además, la articulación del codo tiene una alta complejidad.

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 codo en caninos. Se trataron 10 pacientes caninos, de ambos sexos y adultos, 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 codo. Se establecieron aleatoriamente dos grupos de 5 caninos cada uno. Al inicio todos los pacientes tenían dolor grado 3. Al Grupo A se le aplicó un protocolo sólo con LASER (marca VIP). Al Grupo B, un protocolo con LASER y Ultrasonido (US, marca

VIP, de 1 Mhz pulsátil). La aplicación de LASER fue de 20 minutos en cada sesión, en el miembro afectado. El US se aplicó durante 10 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. La estructura y funcionalidad de la articulación se evaluó con ecografía musculoesquelética. En todos los casos se usó test de la mediana, p valor=0.004. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la reducción del dolor entre la primera sesión y la décima para el grupo B de pacientes. Se pudo observar que, en los caninos del Grupo B, tratados con el protocolo LASER + US, la mejoría clínica se alcanzó en un menor número de sesiones que en los del Grupo A, tratado sólo con LASER. La combinación de ambas técnicas fisioterápicas tuvo un efecto sinérgico, facilitando el proceso de recuperación funcional en un período más corto.

*Enfermedades Quirúrgicas. Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. U.B.A. **Área Bioestadística Facultad de Ciencias Veterinarias, U.B.A.

EVALUACIÓN DE LA CICATRIZACIÓN ÓSEA EN CANINOS CON ECOGRAFÍA MUSCULOESQUELÉTICA

FORT, S¹.; MERCADO, M².; BRUZZONE, C³.; CORRAL, J⁴.; PALLARES, C⁵.

La evaluación clínica de la cicatrización de una fractura se ha basado, en el examen clínico y radiográfico. La ecografía surge como una nueva herramienta para la detección temprana de complicaciones. Es un estudio que logra visualizar en forma temprana la formación de callo óseo en el primer mes, porque no tiene suficiente densidad cálcica para ser captada por radiografía. Durante este período la ecografía es más sensible en la detección del callo óseo. Además, la misma, no es invasiva, es de bajo costo y no requiere la sedación del paciente. El objetivo de este trabajo fue observar si la ecografía es de utilidad para el control evolutivo y detección temprana de complicaciones de fracturas. Se seleccionaron 10 pacientes caninos, ambos sexos y adultos, que asistieron a la Unidad de Fisioterapia del Hospital Escuela de la Facultad de Cs. Veterinarias de la U.B.A., con diagnóstico de fractura, algunos en miembro anterior y otros en miembro posterior. Para realizar ultrasonografía 1 vez por semana, 4 ecografías totales, de 10 pacientes caninos fué utilizado un ecógrafo, SonoScape A6V/A5V con traductor

lineal de 7,5-12 MHz. Se realizaron dos placas radiográficas digitales la primera para realizar diagnóstico y la segunda como control a los 30 días. Valoración de signos clínicos con Escala de Dolor Descriptiva Simple. Al inicio del estudio todos los pacientes presentaban dolor grado 3 y a los 30 días el 60% dolor grado 0, el 40% restante dolor grado 3. Se observó en el segundo control ecográfico el 60 % de los casos inicio de la formación del callo temprano óseo, 30% comienzos de indicios de no unión y el 10% restante migración de elementos de osteosíntesis. En las imágenes ecográficas posteriores, semanas 3 y 4, se visualizan con mayor nitidez los hallazgos encontrados en ecografía de semana 2. La segunda placa radiográfica, a los 30 días, se observó signos de inicio de formación de callo óseo; signos de inicio de no unión y migración de elementos osteosíntesis. En este trabajo se pudo observar en este grupo de pacientes, que la ecografía permitió evaluar con mayor detalle, precisión y detectar alteraciones en un periodo temprano de cicatrización ósea, resultando una herramienta útil de aplicación clínica.

^{1,2}y⁵ Enfermedades Quirúrgicas. Unidad de Fisioterapia y Rehabilitación en Pequeños Animales. ³y ⁴ Cirugía. Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. U.B.A

EFECTO DEL PLASMA SEMINAL SOBRE LOS ESPERMATOZOIDES DE LLAMA (*Lama glama*)

FUMUSO F.G.^{1,2}, CARRETERO M.I.^{1,2}, MIRAGAYA M.^{1,2}, GIULIANO S.^{2,3}.

Se ha observado que la ausencia o presencia de plasma seminal (PS) induce cambios en el patrón de movilidad en espermatozoides de llama. Por lo tanto la dilución del PS puede ser un factor importante en la criopreservación de semen de llama. Objetivo: determinar el efecto de diferentes concentraciones de plasma seminal sobre la movilidad, viabilidad, funcionalidad de membrana y estado acrosomal de los espermatozoides de semen fresco de llama. Se evaluaron un total de 18 eyaculados de 6 machos (n=6, r=3). 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. Luego cada eyaculado fue dividido en 4 alícuotas, que fueron centrifugadas durante 8 minutos a 800g. A los pellets obtenidos se les agregó; a) 0% PS (100% HT), b) 10% PS (90% HT), c) 50% PS (50% HT) y d) 100% PS (0% HT). Las muestras fueron mantenidas a 37 °C durante 0; 1,5 y 3 h, evaluando en cada tiempo: movilidad espermática, integridad y funcionalidad de membrana espermática y estado acrosomal. Se observaron mayores porcentajes de movilidad oscilatoria (MO) en las muestras tratadas con 50% y 100% de PS.

Al comparar la movilidad oscilatoria (MO), las muestras incubadas con 100% de PS mostraron porcentajes similares a lo observado en el semen fresco, mientras que en las muestras con 50% de PS la MO fue la mitad a la observada en el semen fresco. Las muestras incubadas con 0, 10 y 50% de PS conservaron la MO y la MP, mientras que en las muestras con 100% de PS se observó una disminución significativa ($p \leq 0,05$) de las mismas a las 3 horas de incubación respecto de la hora 0. Todos los tratamientos preservaron la viabilidad y funcionalidad de membrana excepto las muestras incubadas con 100% PS en las que se observó un descenso significativo ($p \leq 0,05$) de estas variables a las 3 h de incubación. Se observó una disminución significativa ($p \leq 0,05$) en el porcentaje de espermatozoides con acrosoma intacto en las muestras con 0% de PS a tiempo 3 h con respecto al resto de las muestras (10%, 50% y 100% PS). Estos resultados indicarían que la inclusión de un 10% a 50% de plasma seminal a espermatozoides provenientes de semen fresco de llama preservarían un mayor porcentaje de espermatozoides viables, móviles, con funcionalidad de membrana y acrosoma intacto.

¹Cátedra de Teriogenología, ²Cátedra de Física Biológica, ³INITRA, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIFERENTES SOPORTES EN LA VITRIFICACIÓN DE FOLÍCULOS PREANTRALES PORCINOS: RESULTADOS PRELIMINARES

P. R. GABRIEL; M. C. FRATTO; M. L. FISCHMAN

La vitrificación de láminas de tejido ovárico permite conservar ovocitos contenidos en folículos preantrales (FPA). El soporte utilizado para vitrificar modificaría la eficacia del proceso. Una herramienta para determinar el daño criogénico es la evaluación mediante un análisis morfológico y morfométrico de los FPA. El objetivo del presente trabajo fue determinar el soporte más adecuado para realizar la vitrificación de láminas de tejido ovárico porcino. Se obtuvieron muestras de láminas de corteza ovárica de ovarios de faena ($n=5$; $r=57$). Dos muestras fueron utilizadas como control y las restantes fueron expuestas a una solución de vitrificación (SV: TCM-199, 25Mm HEPES; antibiótico; 30% etilenglicol; 20% Suero Fetal Bovino y 0,25M sacarosa) y luego divididas aleatoriamente entre los distintos soportes -criotubos con 200 μ l de SV (A), cápsulas BEEM[®] (B) y agujas de acupuntura (C)-. Se almacenaron en nitrógeno líquido durante una semana. La evaluación morfológica, se realizó sobre cortes histológicos teñidos con Hematoxilina-Eosina, evaluados con microscopía de campo claro ($\times 400$). El análisis

morfométrico se realizó sobre fotos digitales de FPA contenidos en láminas de corteza ovárica obtenidas con la cámara LEICA DC-180 y el programa de captura IM_50 LEICA Inc. Mediante el software Qwin PlusR se obtuvieron los valores de área citoplasmática (AC); área nuclear (AN), área total (AT), relación núcleo/citoplasma (AN/AC), redondez del ovocito (RO) y redondez nuclear (RN). Se observó un porcentaje de FPA con morfología normal significativamente mayor al utilizar criotubos y agujas de acupuntura tanto en folículos primordiales (Control: 84.9%, A: 69.2%, B: 18.3%, C: 49.9%) como en primarios (Control: 82.0%, A: 60.2%, B: 4.1%, C: 51.0%). En todos los casos, la vitrificación de las láminas de corteza ovárica produjo una disminución significativa en el AN, AC, AT y AN/AC con respecto al control. El uso de cápsulas BEEM[®] produjo una reducción significativa del AN y de la relación AN/AC en comparación con los otros tratamientos. Los criotubos y las agujas de acupuntura serían los soportes más adecuados para la criopreservación de láminas de corteza ovárica en nuestro sistema de vitrificación.

ESTATUS OXIDATIVO Y ACTIVIDAD MITOCONDRIAL DE OVOCITOS BOVINOS MADURADOS IN VITRO Y VITRIFICADOS

GADZE T.¹, CETICA P.^{1,2}, DALVIT G.¹, GUTNISKY C.^{1,2}

En la actualidad el congelamiento lento de embriones es el método más utilizado de criopreservación, con escaso éxito para ovocitos. Esto convierte a la vitrificación en una alternativa posible, aunque aún no sea usada de rutina en esta especie. El objetivo del trabajo fue estudiar el estatus oxidativo y la actividad mitocondrial de ovocitos bovinos madurados *in vitro* y luego vitrificados y atemperados. Los complejos ovocito-cumulus (COCs) se obtuvieron por punción aspiración de ovarios provenientes de vacas de faena y se seleccionaron bajo lupa estereoscópica aquellos COCs con cumulus denso y compacto. Los mismos fueron madurados *in vitro* en medio 199 suplementado con suero fetal bovino (SFB), FSH + LH y gentamicina bajo una atmosfera humidificada con 5 % CO₂ durante 22 horas. Finalizada la maduración se desnudaron mecánicamente y se dividieron en dos grupos: control (C) y vitrificados (V). El grupo V fue vitrificado a las 22 hs de maduración y luego atemperado utilizando el método de Cryotech®. A ambos grupos se le realizaron determinaciones de estatus oxidativo y actividad mitocondrial a las 0, 3 y 21 hs (H0, H3, H21), post-maduración. El status oxidativo y las mitocondrias activas

de los ovocitos se determinó por la coloración fluorescente dual de RedoxSensor Red CC-1 y MitoTracker Green FM. Fueron evaluados entre 22 y 32 COCs por tratamiento y tiempo. En el grupo C se observó un incremento significativo en el status oxidativo (H0:1,53x10⁶, H3:2,19x⁶ y H21: 2,34x10⁶ unidades arbitrarias/ovocito vs. V: H0:1,68x10⁶, H3:1,4x10⁶ y H21: 1,62x10⁶ unidades arbitrarias/ovocito) y las mitocondrias activas con el aumento del tiempo de evaluación (C: H0: 1.04x10⁷, H3: 1,19x10⁷ y H21: 1,46x10⁷ unidades arbitrarias/ovocito vs. V H0: 1,72x10⁷, H3: 1,4x10⁶ y H21: 1,62x10⁶ unidades arbitrarias/ovocito ($p < 0,05$), no observándose este patrón en el grupo V. Además, se encontraron diferencias significativas en el estatus oxidativo entre los dos grupos a las horas 3 y 21 y en la actividad mitocondrial a la hora 0 ($p < 0,05$). A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que la vitrificación de ovocitos bovinos madurados *in vitro* por el método de Cryotech® modifica el patrón de estatus oxidativo y actividad mitocondrial. Restaría realizar pruebas funcionales para verificar como repercuten los cambios observados en el status oxidativo y la actividad mitocondrial sobre el ovocito bovino vitrificado.

¹ Cátedra de Química Biológica, INITRA (UBA), ² INPA (UBA-CONICET), Facultad de Cs. Veterinarias, UBA. Buenos Aires, Argentina.

PUESTA A PUNTO Y EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA DE PCR COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA PARA LA DETECCIÓN DE EQUINOS PORTADORES DE *SALMONELLA* SP.

GALLARDO, MJ; RETAMAR, G; MUÑOZ, A; BUSTOS, C; PEREZ, A; CHACANA, P; GUIDA, N; MESPLET, M.

Las infecciones causadas por *Salmonella* sp. afectan la salud de los equinos provocando grandes pérdidas económicas. Los animales portadores de este agente juegan un rol importante en la diseminación y mantenimiento de la enfermedad en el medio ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de la técnica de PCR para detectar equinos portadores de *Salmonella* sp. Dado que la eliminación del agente al medio es intermitente se decidió tomar tres muestras sucesivas de materia fecal en días diferentes a todo equino (n = 8) que ingresó al Hospital Veterinario de Grandes Animales (FCV-UBA) sin signología compatible con *Salmonella*. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio en forma paralela para el aislamiento y la identificación mediante el cultivo bacteriológico y la reacción de PCR. La extracción del ADN se realiza mediante

dos técnicas diferentes, para comparar la sensibilidad de las mismas: extracción por hervido y mediante la resina CHELEX-100. Se considera como animal portador a todo aquel que presente resultados positivos a la reacción de PCR o al cultivo bacteriológico al menos en uno de los muestreos. Hasta el momento se han procesado 24 muestras correspondientes a 8 equinos, resultando todos ellos negativos a *Salmonella* sp. tanto en la reacción de PCR como en el cultivo bacteriológico. Se prevé continuar muestreando animales que lleguen a consulta en al Hospital e incluir animales que hayan sido diagnosticados con *Salmonella* sp. con anterioridad para evaluar la portación del este agente post-infección y poder elaborar una conclusión acerca de la utilidad de la técnica de PCR para la detección de portadores.

Cátedra de Enfermedades Infecciosas. FCV. UBA.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020130100299BA

MODULACIÓN DE LA RESPUESTA AL ESTRÉS AGUDO POR EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

SOFIA L. GALLINO¹, PABLO N. SURKIN², FERNANDO CORREA¹, JAVIER FERNANDEZ-SOLARI²,
ANDREA DE LAURENTIIS¹.

La activación del eje hipotálamo-hipofiso adrenal (HPA) es crítica para la supervivencia del individuo cuando se expone a un estímulo estresante. El sistema endocannabinoide (SEC) es regulador integral de la respuesta al estrés. La manipulación farmacológica del SEC está comenzando a utilizarse para el tratamiento de diversas patologías. Nuestro objetivo fue determinar la participación del SEC en un modelo de estrés agudo en rata macho adulta. Ratas Sprague-Dawley (n= 8-10 por grupo) fueron inmovilizadas por 30 min y recibieron vía intracerebroventricular o intraperitoneal distintas drogas: Anandamida (AEA), Meta-anandamida (Met-AEA), inhibidor de FAAH (URB597), antagonista de receptor CB1(AM251), CB2(AM630) o vehículo 15 min antes del estrés. Se determinó corticosterona por RIA. Removimos el hipotálamo y las glándulas adrenales para medir la actividad de NOS y el mRNA de los receptores CB1, CB2 y TRPV1 por RT-PCR. Se incubaron glándulas adrenales con buffer solo o con ACTH, AEA, URB597, AM251, capsazepina determinando corticosterona liberada al medio y actividad de NOS. Nuestros resultados mostraron que el incremento de corticosterona observado

en el estrés agudo es bloqueado por AEA tanto a nivel central como periférico. A nivel hipotalámico ambos receptores cannabinoides (CB1 y CB2) están involucrados mientras que en la glándula adrenal, AEA inhibe la liberación de corticosterona actuando a través de CB1 y TRPV1, siendo necesaria la acción de ambos. Observamos que el estrés aumentó significativamente el mRNA de CB1 en hipotálamo y TRPV1 en adrenal. El óxido nítrico participa como mediador de la acción de la AEA tanto a nivel hipotalámico como adrenal. Los resultados de este trabajo sugieren que un tono de cannabinoides endógenos mantiene al eje HPA en un estado fisiológico estable. Frente al estímulo de estrés, se produce la activación del HPA y en dicho caso el SEC actúa frenado la respuesta al estrés permitiendo la recuperación de la homeostasis. En conclusión, el SEC actúa como sistema regulatorio tanto en el cerebro como en la periferia generando protección de los efectos nocivos del estrés. Nuestros hallazgos sirven de base para el desarrollo de terapias farmacológicas que aumenten la señalización de endocannabinoides para el tratamiento de trastornos asociados al estrés como ansiedad, depresión, etc.

1-Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-CONICET), Facultad de Medicina 2-Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología (UBA)

CARACTERIZACIÓN ZOOMÉTRICA DE CABRITOS ANGLO NUBIAN BAJO UN SISTEMA DE CRIANZA ARTIFICIAL

GALOTTA, M. L.^{1,2,4}; ROSSI, A.C.⁴; MOSCUZZA, C. H.^{1,2,3,4}; FERNÁNDEZ-CIRELLI, A.^{1,2}

La zoometría permite estudiar la forma de los animales mediante mediciones corporales concretas para cuantificar la conformación corporal. Las medidas corporales tomadas en vivo muestran un alto grado de correlación en la constitución del canal de los cabritos. Sin embargo, son pocos los datos sobre las características fenotípicas de las distintas razas que se citan en nuestro país. El objetivo fue la caracterización morfológica y el análisis de cada variable en la diferenciación sexual de cabritos a lo largo del período de crianza artificial. Se estudió durante 40 días el desarrollo de 15 cabritos de la raza Anglo Nubian (7 hembras y

8 machos). Los animales fueron alimentados con leche en polvo de vaca entera reconstituida (150 gramos de leche en polvo en 1 litro de agua), y partir del día 10, además, se les ofreció un alimento concentrado. Se realizaron mediciones periódicas de peso vivo (PV); ancho de la cabeza (ACF), altura de la cruz (AC), longitud de la pierna (LP), longitud de la cruz a la cola (LCC), longitud de la cabeza a la cola (LCABC), longitud del animal (LANIM), perímetro máximo de la pierna del cabrito (PMPA) y longitud del tronco (LT). Para las mediciones corporales se utilizó una cinta métrica y para el peso corporal una balanza digital.

Tabla: Media (\pm DE) de medidas zoométricas diferenciadas por el sexo.

Edad (días)	AC		LCC		LP	
	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra
5	37,88 \pm 3,56	35,14 \pm 4,30	28,50 \pm 9,13	27,71 \pm 10,53	25,88 \pm 2,90	23,71 \pm 2,56
12	41,75 \pm 3,06	39,43 \pm 3,41	34,88 \pm 3,87	33,57 \pm 3,82	28,63 \pm 2,92	26,86 \pm 3,13
26	45,13 \pm 3,14	42,43 \pm 3,78	41,25 \pm 2,96	37,86 \pm 3,08	32,75 \pm 2,92	30,86 \pm 2,79
33	46,50 \pm 2,00	44,14 \pm 2,79	42,88 \pm 2,23	40,71 \pm 3,20	34,25 \pm 2,25	32,71 \pm 1,80
40	49,00 \pm 2,27	46,00 \pm 2,24	43,13 \pm 3,18	41,14 \pm 5,27	34,50 \pm 2,33	33,29 \pm 1,80

Los datos obtenidos podrían contribuir en el estudio de las correlaciones entre las distintas variables y en el cálculo de índices corporales. No sólo son necesarios para caracterizar fenotípica y productivamente

una raza, sino que además permiten evaluar el crecimiento de los animales. La información presentada puede aportar una base para estudios posteriores en la raza Anglo Nubian en nuestro país.

¹Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA-UBA-CONICET). ²Centro de estudios transdisciplinarios del agua (UBA). ³Clínica Médica y Quirúrgica de Rumiantes ⁴FVET-UBA.

SELECCIÓN DE *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* L. EN FUNCIÓN A SU CONTENIDO DE ACETATO DE LINALILO PARA POSIBLE USO COMO CONTROL DE ÁCAROS

GARCÍA DE LEO G.A.^{1*}; GIL A.²; DEL FUEYO P.A.³; CHLUDIL, H.D.¹

El aceite esencial de lavanda "*Lavandula angustifolia* L." se caracteriza por una rica composición de terpenos de bajo peso molecular entre los que se destaca el acetato de linalilo. Este monoterpenoide ha sido documentado como bioacaricida para el control de *Varroa destructor*, un parásito de abejas. *El objetivo fue* caracterizar la variabilidad inter e intraespecífica de 10 poblaciones de lavanda de distintas procedencias de Europa con el propósito de seleccionar genotipos con elevado contenido de acetato de linalilo. Se plantaron en un predio de la FAUBA y con un DCA, 10 poblaciones de lavanda con 3 repeticiones cada una. Se recolectaron las inflorescencias de cada parcela en tres momentos: primera floración (ocurrida en marzo del 2014), segunda floración (noviembre 2014) y tercera (diciembre 2015). Luego se extrajo el aceite esencial mediante hidrodestilación de cada unidad experimental y se analizó por CG y CG-EM. En la tercera floración el análisis del aceite esencial fue a nivel de individuo (variabilidad intrapoblacional). Las poblaciones mostraron variaciones interpoblacionales genotípicas y asociadas al momento de cosecha.

La concentración de acetato de linalilo en la primera floración resultó semejante entre las colecciones, siendo la media de $22,56 \pm 3,26\%$, observándose un máximo en la colección 10, con $28,8\%$. En la segunda floración se obtuvieron mayores diferencias entre colecciones con concentraciones medias de acetato de linalilo del $24,53 \pm 9,69\%$ y un máximo en la colección 10 de $41,51\%$. Durante la tercera floración se detectaron diferencias intrapoblacionales, siendo la población 10 la que presentó mayor estabilidad en los contenidos de acetato de linalilo. En esta población se hallaron individuos con elevados porcentajes (38%). Debido a que las poblaciones fueron cultivadas en un mismo ambiente, con el mismo manejo estas diferencias obtenidas podrían estar asociadas al genotipo o bien a la interacción genotipo-ambiente. Hoy en día la sustitución de pesticidas sintéticos por productos naturales está en expansión. Los porcentajes de Acetato de linalilo determinados en las esencias analizadas de la colección 10, la muestran como un promisorio material vegetal de partida para la obtención de un insecticida destinado al control de *Varroa destructor*, un endoparásito de *Apis mellifera* L.

¹Cátedra de Química de Biomoléculas.²Cátedra de Cultivos Industriales; ³Laboratorio de Semillas. (FAUBA). Av. San Martín 4453 (1417) CABA

RELACIONES DE PARENTESCO ENTRE INDIVIDUOS DEL DELFÍN FRANCISCANA, *PONTOPORIA BLAINVILLEI*.

GARIBOLDI, MC^{1,2}; TÚNEZ, JI^{2,3}; PANEBIANCO, MV⁴; VITULLO, AD^{1,2}; CAPPOZZO, HL^{2,4,5}.

El delfín franciscana, endémico de la costa sudoccidental del Océano Atlántico, posee una distribución geográfica que abarca desde Espíritu Santo (Brasil) hasta Río Negro (Argentina). Esta especie está clasificada como “Vulnerable” por la IUCN. Estudios previos sugieren que comúnmente se desplaza en grupos de 2-6 individuos emparentados. Nuestro objetivo fue analizar el parentesco en un grupo de individuos enmallados en la misma red de pesca artesanal. Se recolectaron 3 individuos enmallados en la localidad de Claromecó, Argentina. Para cada individuo, se amplificaron y genotipificaron 10 *loci* de microsatélites (MK5, MK6, MK8, EV5Pm, EV14Pm, EV94Mn, D22, DlrFB2, DlrFB5 y DlrFB17). Se estimaron los coeficientes de parentesco (r : LynchLi, Wang y Triadic ML) y las relaciones de parentesco (padre-cría, hermanos completos, medio hermanos y no

emparentados) entre los individuos, con los programas COANCESTRY y ML-Relate, respectivamente. Los resultados se analizaron junto con información del sexo y la edad de los individuos. El individuo 1 consistió en un macho de 3 años, los individuos 2 y 3 eran un macho y una hembra, respectivamente, de 1 año. Los coeficientes de parentesco variaron según la pareja de individuos analizada (pareja 1-2 $r > 0.5$; pareja 1-3 $r = 0.5$; pareja 2-3 $r = 0.3$). Los análisis de las relaciones de parentesco sugirieron una relación padre-cría entre los individuos 1-2 y 1-3 y una de medios hermanos entre los individuos 2-3. Nuestros resultados, en concordancia con lo hallado en estudios previos, aportarían evidencia de que la especie se desplazaría en grupos de individuos emparentados y que existiría una falta de dispersión de las crías del grupo natal, al menos hasta el primer año de vida.

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

PREVALENCIA DE ENTEROPATÓGENOS EN TERNEROS DE RODEOS LECHEROS

GARRO, C.¹, MORICI, G.², TOMAZIC, M.^{2,4}, VILTE, D.³, BOK⁵, M., VEGA, C.⁵, PARREÑO, V.⁵, SCHNITTGER, L.^{2,4}

El síndrome diarreico (SD) es una importante causa de morbilidad y mortalidad en terneros en rodeos lecheros. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de enteropatógenos (EPs) en terneros y evaluar su asociación con la edad y el SD. Un estudio transversal con un muestreo en dos etapas fue realizado. En total, 31 rodeos lecheros con un mínimo de 12 terneros por rodeo seleccionados al azar, fueron evaluados. La ocurrencia de diarrea fue el indicador de SD. Se estudió la prevalencia de 5 EPs: *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*), rotavirus grupo A (RVA), coronavirus (CoV), *E. coli* productora de toxina shiga (STEC) y *Salmonella* spp. Se comparó la prevalencia de EPs según la edad estratificando por la mediana. Se evaluó, a través del test chi-cuadrado, la asociación estadística entre los EPs, la edad y el SD. Se colectaron 672 muestras de heces de terneros de entre 1 y 90 días de edad. La prevalencia de excreción de *C. parvum*, RTA, CoV y STEC fue del 19%, 7%, 6% y 3%, respectivamente. No se detectó la presencia

de *Salmonella* spp. La mediana de edad fue de 20 días. Para todos los EPs, se observó una disminución de la prevalencia a mayor edad, con similar orden de relevancia (*C. parvum* > RVA > CoV > STEC). La disminución de la prevalencia a partir de los 20 días de edad fue significativa para *C. parvum* ($p < 0,0001$), RVA ($p = 0,0014$) y CoV ($p = 0,0001$) pero no para STEC ($p = 0,6231$). El SD estuvo significativamente asociado con la excreción de *C. parvum* ($p = 0,0001$) y RVA ($p = 0,0096$) pero no estuvo asociado a la excreción de CoV ($p = 0,3260$) y STEC ($p = 0,2214$). *C. parvum* es el EP más prevalente en terneros de rodeos lecheros. Por lo cual, debe atenderse su impacto como zoonosis y las medidas de manejo que limiten su frecuencia. *C. parvum* y RVA serían los EPs más importantes en el desarrollo de la patogenia del SD mientras que, CoV y STEC, tendrían un rol menor. Este trabajo revela la prevalencia de EPs y su asociación con el SD y la edad en terneros y puede orientar en el desarrollo de estrategias preventivas y terapéuticas que los contemplen.

1. Grupo de Epidemiología y Medicina Preventiva. INTA. 2. Área de Enfermedades Parasitarias. INTA. 3. Área de Bacteriología. INTA. 4. CONICET. 5. Laboratorios de virus diarreicos. INTA.

TUBERCULOSIS EN TERNEROS Y EN GATOS DOMÉSTICOS EN UN RODEO LECHERO

GARRO, C.¹, GONZÁLEZ, F.², ZUMÁRRAGA, M.³, MARFIL, M.³, MORRIS, W.¹, DELGADO, F.¹, GARBACCIO, S.¹.

La tuberculosis (TB) bovina es una enfermedad infecto-contagiosa producida por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*). El gato doméstico (*Felis silvestris catus*) es susceptible a la infección por *M. bovis*. En un rodeo lechero con TB endémica, una colonia natural de gatos cohabitaba en la zona de crianza artificial de los terneros. El objetivo de este estudio fue investigar la infección por *M. bovis* en gatos y en terneros. Se realizó la eutanasia y necropsia de 8 gatos adultos. Se registró la presencia de lesiones compatibles con TB (LCTB) y se colectaron muestras de pulmón e hígado para bacteriología (cultivo en medios Löwenstein-Jensen y Stonebrink) e histopatología (coloraciones de hematoxilina-eosina y Ziehl Neelsen). Por otro lado, se realizó la eutanasia y necropsia de dos terneros positivos a la prueba de la tuberculina (\approx 10 semanas de edad). Se registró la presencia de LCTB y se colectaron muestras de linfonodos y tejido pulmonar para bacteriología e histopatología. Los aislamientos se tipificaron por la técnica de hibridación reversa de “spoligotyping”. En dos de los ocho gatos

analizados se observaron LCTB limitadas a la cavidad torácica y la histopatología reveló granulomas no mineralizados con numerosos bacilos ácido alcohol resistente. En ambos gatos con LCTB se identificó la presencia de *M. bovis* espoligotipo SB0140. En los terneros investigados se observaron LCTB limitadas a la cavidad torácica. La histopatología reveló granulomas no mineralizados en coincidencia con los sitios de lesiones macroscópicas. En uno de los terneros, se pudo aislar e identificar *M. bovis* espoligotipo SB0140. La infección por un mismo espoligotipo de *M. bovis* en terneros y en gatos sugiere la exposición a una fuente de infección común. La distribución de las LCTB en gatos y en terneros sugieren que la transmisión de *M. bovis* ocurrió por vía aerógena (inhalación de aerosoles). El hallazgo de *M. bovis* en gatos domésticos alerta sobre su potencial riesgo zoonótico. Los veterinarios deberán considerar que la TB bovina, además de ser un importante problema para el ganado, puede afectar a los gatos domésticos.

1. Instituto de Patobiología. CICVyA - INTA. 2. Asesor privado. 3. Instituto de Biotecnología. CICVyA – INTA.

PREVALENCE AND ASSOCIATED FACTORS OF *CRYPTOSPORIDIUM* SPP. INFECTION IN DAIRY CALVES OF NORTHWEST BUENOS AIRES PROVINCE, ARGENTINA

GARRO, C.¹, MORICI, G.¹, TOMAZIC, M.^{1,2}, SCHNITTGER, L.^{1,2}

Cryptosporidium spp. is a coccidian intestinal parasite in dairy calves in many parts of the world. The northwest region of the province of Buenos Aires contains 30% of dairy herds throughout the province. A cross-sectional study was conducted to investigate the prevalence of cryptosporidiosis in northwest region and identify the potential association with grouping of calves (single calf vs. grouped), type of liquid diet (whole milk vs milk replacer), occurrence of diarrhea (yes or not) and age (≤ 20 vs. > 20 days-old). Stool samples were collected from 552 calves less than 70 days-old from 27 dairy farms to August 2013-December 2014 in northwest region from Buenos Aires province. Handling routines were recorded by means of a questionnaire. The oocysts of *Cryptosporidium* spp. were detected by light microscopy using Kinyoun staining. The odds ratio and chi-square test were used to assess the magnitude and significance of the association between *Cryptosporidium* infection and factors evaluated. Infected calves were found on 67%

(CI 95% 49% - 84%) of the farms. Within-herd prevalence of infection ranged from 0% to 60% with median of 8%. Median calves was examined by rodeo was 23 ($Q_1=16$; $Q_3=23$). The overall prevalence in dairy calves was 17% (CI 95% 13% - 19%). All calves have a system of individual artificial breeding. No evidence that milk replacer feeding was associated with the occurrence of cryptosporidiosis ($p = 0.3134$). Calves with diarrhea were between 1.5 and 3.3 times more likely to be infected calves without diarrhea ($p<0.0001$). Calves ≤ 20 days of age had between 2 and 8 times more likely to be infected than calves over 20 days old ($p<0.0001$). The minimum and maximum age that excretion of *Cryptosporidium* spp. was 3 and 55 days respectively. Since *Cryptosporidium* spp. appears to be a common infection on dairy farms in northwest regions, and is associated with diarrhea in young calves, attention needs to be paid to reducing the frequency of this infection in dairy calves from Buenos Aires province.

1. Instituto de Patobiología. INTA Castelar. 2. CONICET

EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA EN UN GATO DOMESTICO CAUSADA POR *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS SENSU LATO*, EN SARMIENTO, PROVINCIA DEL CHUBUT

GERTISER ML¹, FERREYRA MP², FERRARI F³, FUSCH A⁴, AVILA G¹, CORREA A¹, JENSEN O¹.

La hidatidosis o equinococosis quística, constituye un serio problema socioeconómico que afecta la salud de sus habitantes y deteriora la producción ganadera. Es considerada la zoonosis parasitaria más importante en la Patagonia Sur. *Echinococcus granulosus sensu lato*, es la única especie del parásito detectada en la región, siendo la cepa G1, la encontrada en perros, ovinos y humanos. El gato doméstico no juega ningún papel como hospedero definitivo para *E. granulosus*. Se reportaron pocos casos de equinococosis quística en gatos domésticos, todos con descripción similar. En Argentina, se reportó un caso en provincia de Buenos Aires. Un gato adulto, mestizo, hembra, esterilizado, de unos 7 años, que vive afuera y comparte el patio con otros gatos y perros, es llevada a una clínica veterinaria, por observarla, su dueña, “panzona y quejosa”. A la revisión se evidencia un abdomen blando, fluctuante; se descarta ascitis. La ecografía abdominal evidencia múltiples vesículas, compatibles con quistes abdominales. Se realiza una laparotomía exploratoria, donde se

observan gran número de vesículas en cavidad abdominal. Se notifica a los propietarios y se procede a realizar eutanasia intraoperatoria. A la necropsia se extraen 900 ml de vesículas límpidas, blanquecinas, con líquido en su interior, de 0,5 a 5 cm de diámetro. El hígado fue el único órgano afectado con vesículas en la superficie e intraparenquimatosas. Se obtuvo líquido intravesicular (LV) para análisis histológicos y moleculares. Se conservaron muestras de vesículas enteras. Al microscopio óptico se observaron protoescólices evaginados e invaginados, con y sin ganchos rostelares, y con notables corpúsculos calcáreos, compatibles con *Equinococcus* sp. El 90 % no eran viables y se tiñeron con azul de metileno. Por métodos moleculares se estableció que el material extraído de las vesículas, se corresponde a *Echinococcus granulosus sensu stricto*, genotipo G1. A pesar de que el gato no es considerado un hospedero importante en el ciclo de hidatidosis, la equinococosis quística debería ser incluida en el diagnóstico diferencial en gatos con distensión abdominal.

1. Centro de Investigación en Zoonosis. 2. Médica veterinaria, actividad privada. 3. Médico generalista, actividad privada. Sarmiento. Chubut. 4. CAECIHS. Universidad Abierta Interamericana. Buenos Aires

HIDATIDOSIS, INMUNIDAD CALOSTRAL: TRANSFERENCIA PASIVA DE ANTICUERPOS A CORDEROS HIJOS DE MADRES INMUNIZADAS CON LA VACUNA RECOMBINANTE EG95 CONTRA *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* EN LA LOCALIDAD DE SARMIENTO, CHUBUT.

GERTISER, ML¹; RANDAZZO, V²; POGGIO, T³; JENSEN, O¹.

La Hidatidosis es una enfermedad zoonótica controlable y cosmopolita causada por cestodes del género *Echinococcus*. La incorporación de la vacunación en ovejas y cabras, abre nuevas perspectivas a los programas de control, al posibilitar atacar al ciclo de la enfermedad hidatídica en un nuevo frente, lo que va a permitir lograr un control sostenido de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia, en función de la edad, de los anticuerpos (Ac) anti-EG95 transferidos por el calostro, en los corderos nacidos de madres vacunadas con una y dos dosis de Providean Hidatil EG95® para prevenir la hidatidosis y determinar el momento ideal para la aplicación de la primera dosis de vacuna. Las experiencias se desarrollaron en Centro de Investigación en Zoonosis en Sarmiento, Chubut. Ovejas Merino destinadas a vientre fueron divididas en dos grupos: M1: una única dosis de vacuna 45 días antes de la fecha de parición; y M2: primera dosis 30 días antes de la fecha de servicio, y la segunda dosis 45 días antes de la fecha de parición. Después del parto, y durante 28 días, se extrajo suero y calostro/leche

en cada grupo. Se definieron dos poblaciones de corderos recién nacidos: C1 y C2 según fueran hijos de M1 o M2. Inmediatamente después del nacimiento, y durante 90 días, se extrajeron muestras de suero. Se determinaron los títulos de anticuerpos anti-EG95 para cada muestra de cada grupo de madres (suero/calostro) y corderos (suero) en diferentes tiempos. Se observó que, si bien su comportamiento fue similar, en todos los animales expuestos a dos dosis de vacunación los títulos séricos de Ac IgG anti EG95 fueron significativamente mayores a los expuestos a una única dosis. En el suero de los corderos el pico máximo de Acs se detectó a las 24 hs posteriores al parto, manteniéndose en niveles protectivos hasta los 28 días. Los resultados indican que los Acs IgG anti-EG95 se concentran significativamente en el calostro de las ovejas previo al parto originándose la transferencia efectiva de los anticuerpos al cordero. Teniendo en cuenta la persistencia en suero de los Ac vacunales adquiridos por los corderos en forma pasiva, sería ideal iniciar la vacunación durante la cuarta semana de vida de las crías de madres vacunadas.

1. Centro de Investigación en Zoonosis. Provincia del Chubut. 2. Universidad Nacional del Sur. 3. CEVAN-Centro de Virología Animal- ICT Milstein -CONICET

ESTUDIO DE PARÁMETROS MICROSCÓPICOS DE ESPERMATOZOIDES DE VIZCACHA (*L. maximus*).

GIACCHINO M^{1,2}, RODRIGUEZ PC³, INSERRA PIF^{1,2},
LANGE FD⁴, FERRARIS SR⁴, BREININGER E³ Y VITULLO AD^{1,2}

Lagostomus maximus es un roedor caviomorfo autóctono de la región pampeana Argentina. La capacidad de los espermatozoides de fecundar el oocito y posteriormente garantizar el desarrollo embrionario está vinculada con diversos parámetros. El objetivo de este trabajo fue evaluar si las técnicas de rutina utilizadas en otras especies para el análisis de algunos de esos parámetros (movilidad, vitalidad, concentración espermática e integridad acrosomal) pueden ser aplicadas a *L. maximus*. Se utilizaron machos adultos de vizcacha con pesos superiores a 4,5 Kg (N=7) a los que se les extrajeron testículos y epidídimos. Los órganos se mantuvieron en solución fisiológica a 38°C y luego muestras de testículo, cabeza, cuerpo y cola de epidídimo fueron disgregadas en 2 mL de PBS y mantenidas a 38°C. De cada grupo se evaluó movilidad por microscopía óptica en platina termostatzada, vitalidad por la técnica de eosina/nigrosina y concentración en cámara de Neubauer. A

los espermatozoides de cola de epidídimo también se les evaluó la integridad acrosomal por la técnica de azul tripán combinada con microscopía diferencial-interferencial (DIC). Luego de esta evaluación las muestras fueron centrifugadas, resuspendidas en 2 mL de PBS y reevaluadas. Los animales capturados en época reproductiva presentaron dos estadios: machos con alta concentración espermática ($\geq 4 \times 10^7$ espermatozoides) y alta vitalidad ($\geq 40\%$) en cola de epidídimo (N=3) y machos con alta concentración espermática y baja vitalidad ($< 40\%$) en cola de epidídimo (N=4). La vitalidad en espermatozoides de cola del epidídimo de machos del primer grupo varió entre 43% y 52% y la mayoría presentaron integridad acrosomal (se encontraban vivos y no reaccionados). Si bien es necesario aumentar las repeticiones, nuestros resultados indican que las técnicas de rutina utilizadas en otras especies pueden ser aplicadas a *Lagostomus maximus*.

1-CEBBAD, Universidad Maimónides. 2-CONICET. 3-Química Biológica, INITRA, INPA, FCV, UBA. 4-CIDME, Universidad Maimónides.

ANÁLISIS SEMINAL COMPUTARIZADO DE MOVILIDAD EN ESPERMATOZOIDES DE VIZCACHA (*L. maximus*).

GIACCHINO M^{1,2}, RODRIGUEZ PC³, MUSCARSEL ISLA ML^{1,2}, INSERRA PIF^{1,2}, LANGE FD⁴,
FERRARIS SR⁴, BREININGER E³ Y VITULLO AD^{1,2}

Lagostomus maximus es un roedor caviomorfo, autóctono de la región pampeana Argentina. La movilidad, la velocidad y el tipo de trayectoria de los espermatozoides se hallan fuertemente relacionadas con la tasa de fecundación. El objetivo de este trabajo fue poner a punto el uso de un sistema de análisis seminal computarizado (un modo sistemático y objetivo de evaluación de la movilidad) para espermatozoides de vizcacha. El análisis se realizó sobre cuatro muestras de espermatozoides obtenidos de cola de epidídimo de un macho adulto de 6Kg, pre y post centrifugación, ajustando la concentración espermática a 3×10^7 sp/mL. Para las muestras pre centrifugación, el atemperado sobre platina termostatzada durante 10 minutos mejoró sus parámetros de movilidad (45% de espermatozoides mótils progresivos). Por velocidad clasificada según la O.M.S se encontró un 46% de espermatozoides mótils progresivos

rápidos en muestras pre centrifugación, valor que descendió a 33,7% en las muestras post centrifugación. En los espermatozoides rápidos pre centrifugados, el valor medio de amplitud media de desplazamiento lateral de cabeza (ALH) fue de 2,1 μm , la frecuencia de batido (BCF) fue de 8,6 Hz, la velocidad curvilínea (VCL) de 76,9 $\mu\text{m/s}$, el índice de linealidad (LIN) del 69%, el índice de rectitud (STR) de 85,6% y la velocidad rectilínea (VSL) de 52,7 $\mu\text{m/s}$. En las muestras post centrifugación, la VCL descendió a 67 $\mu\text{m/s}$, el LIN a 53,6% y la VSL a 36,3 $\mu\text{m/s}$. Luego de la centrifugación los espermatozoides rápidos fueron los más afectados, disminuyen todos los parámetros de velocidad. Este reporte representa el primer análisis computarizado realizado en espermatozoides de *L. maximus*, permite correlacionar sus resultados con los observados de manera subjetiva y brinda la posibilidad de una mejor utilización en esta especie silvestre.

1-CEBBAD, Universidad Maimónides. 2-CONICET.

3-Química Biológica, INITRA, INPA, FCV, UBA.

4-CIDME, Universidad Maimónides.

CONTENIDO DE ATP DEL OVOCITO BOVINO DURANTE LA MADURACIÓN *IN VITRO*

GIL V.¹; BREININGER E.^{1,2}, CETICA P.^{1,2}, GUTNISKY, C.^{1,2}

El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de la vía glucolítica y de la vía de β -oxidación de ácidos grasos sobre el contenido de ATP del ovocito y su relación con el proceso de maduración en la especie bovina. Los complejos ovocito-cumulus (COCs) se obtuvieron por punción aspiración de ovarios provenientes de vacas de faena. Se seleccionaron aquellos COCs con cumulus denso y compacto. Los mismos fueron madurados en medio 199 con 50 $\mu\text{g/ml}$ de sulfato de gentamicina, 5 % de suero fetal bovino (SFB), en presencia (Control) y ausencia (Control -H) de FSH y LH, bajo aceite mineral a 39°C, 5 % CO_2 en aire y 100 % de humedad durante 22 hs. El medio fue suplementado con el inhibidor de la vía glucolítica, fluoruro de sodio (NaF), y con el inhibidor y estimulador de la β -oxidación de ácidos grasos, etomoxir y L-carnitina, respectivamente. Se determinó el contenido de ATP en ovocitos denudados inmaduros y madurados *in vitro* utilizando un kit comercial basado en la reacción de la luciferina-luciferasa (Bioluminescent Assay, Kit, Sigma). La maduración meiótica se evaluó por la aparición de la placa cromosómica en metafase II a través de la tinción de Hoechst Se utilizaron entre 30 y 40 COCs por tratamiento.

Se observó un descenso significativo de ATP al finalizar la maduración *in vitro* en el grupo Control -H, mientras que en el grupo Control no se observaron diferencias respecto del grupo de ovocitos inmaduros ($0,27 \pm 0,08$; $0,60 \pm 0,08$ y $0,70 \pm 0,09$ pmoles de ATP/ovocito, respectivamente). La suplementación del medio de maduración con los inhibidores NaF y etomoxir produjo una disminución significativa en el contenido de ATP ($0,18 \pm 0,04$ y $0,21 \pm 0,04$ pmoles de ATP/ovocito, respectivamente vs control, $0,49 \pm 0,07$ pmoles de ATP/ovocito) y en la maduración nuclear de los ovocitos respecto al control, mientras que la adición de L-carnitina no modificó el contenido de ATP ($0,39 \pm 0,05$ pmoles de ATP/ovocito) ni la maduración nuclear de los ovocitos. De estos resultados se desprende que las gonadotrofinas inducen un incremento en el contenido de ATP durante la maduración, probablemente por estimular vías metabólicas de producción de ATP, siendo el contenido de ATP del ovocito dependiente tanto de la vía glucolítica como de la β -oxidación de los ácidos grasos. También se observó que la maduración nuclear de los ovocitos es un proceso que se encuentra relacionado con el contenido de ATP de la célula en la especie bovina.

¹ Cátedra de Química Biológica, INITRA (UBA), ² INPA (UBA-CONICET), Facultad de Cs. Veterinarias, UBA. Buenos Aires, Argentina.

NIVELES DE EXPRESION DE POTENCIALES BIOMARCADORES DE CANCER DE MAMA

AGUSTÍN GONZALEZ*, ANGELA LARA*, EVA WERTHEIMER

Debido a la alta incidencia del cáncer de mama, es de vital importancia identificar nuevos biomarcadores para una mejor estimación de la prognosis del paciente. P-Rex1, un Rac-GEF esencial para la activación de Rac1 y para la migración inducida por ligandos de receptores ErbB, es sobreexpresado en cáncer de mama. Los resultados de un microarray de expresión realizado en células T47D (línea celular de cáncer de mama humano), con P-Rex1 silenciado revelaron que la activación de receptores ErbB modifican los niveles de expresión de un alto número de genes involucrados en la progresión del cáncer de mama, en particular en procesos migratorios e invasivos. Es más, una parte importante del efecto gatillado por receptores ErbB depende de P-Rex1. Por lo tanto, P-Rex1 funcionaria como un regulador de los factores responsables de las propiedades migratorias e invasivas de las células de cáncer de mama dependientes de la activación de Rac a través de receptores ErbB. Con el fin último de analizar la relevancia de los resultados obtenidos en el microarray, el objetivo del trabajo fue el diseño y puesta a punto de primers específicos de PCR

cuantitativa para distintos genes “housekeeping” (actina y 18S) y para aquellos cuya expresión depende de HRG y P-Rex1 (como ser TGF β 2 e IL6R). La puesta a punto se realizó con muestras de mRNA provenientes de células T47D control o estimuladas por 6 horas con 10 ng/ml de HRG. Luego de realizar la retrotranscripción del RNA, se realizaron PCR cuantitativas con distintas concentraciones de cDNA (diluciones de 1/10 a 1/1000). Con los valores obtenidos se determinó la eficiencia de los primers basada en la pendiente de la ecuación de ajuste lineal del gráfico de CT Vs concentración. Se obtuvieron primers con buena eficiencia (cercana al 100%) para TGF β 2, IL6R y los “housekeeping” actina y 18S. A su vez, se validaron los resultados del microarray de expresión para TGF β 2. Nuestros resultados sugieren que los datos del microarray podrían ser validados por la técnica de Q-PCR. Es más, el aumento de los niveles mRNA de TGF β 2 en T47D después del estímulo de HRG será utilizado como fundamento de futuros experimentos diseñados para determinar el rol de TGF β 2 en la migración dependiente de HRG y P-Rex1 en cáncer de mama.

Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO), CONICET

*ambos autores contribuyeron equitativamente.

VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA FELINA (VIF): SIGNOS CLÍNICOS E INFECCIONES OPORTUNISTAS EN LOS GATOS CON INFECCIÓN CRÓNICA.

GRAÑA ISAURRALDE, N; GISBERT, MA.

El virus de la inmunodeficiencia felina (VIF) es un Retrovirus con tropismo selectivo hacia los linfocitos T CD4, así como también T CD8, linfocitos B y macrófagos. La progresión de la enfermedad en el gato se caracteriza por el desarrollo de inmunosupresión, la disminución de la relación CD4/CD8, la aparición de signos clínicos y de infecciones oportunistas. Dichos parámetros pueden resultar indicadores útiles de la fase de la enfermedad. El objetivo del trabajo fué documentar la presencia de signos clínicos y de agentes oportunistas en un grupo de gatos con infección crónica. Se utilizaron 118 gatos VIF + diagnosticados por inmunocromatografía y PCR, atendidos en el Hospital Escuela (FCV-UBA). Todos fueron sometidos a examen físico y métodos complementarios. Sobre 65 pacientes se realizó la determinación de la Relación CD4/CD8 por medio de la Citometría de flujo. Los signos clínicos de los 118 gatos se distribuyeron de la siguiente manera: linfadenopatías 62%,

gingivitis 57%, anemia 70%, uveítis 10%, piodertrias 17%, afecciones respiratorias 37%, neoplasias 20%, sintomatología neurológica 19%. El 78% de gatos evaluados con citometría, presentó una relación CD4/CD8 menor a 0,6 (VN>0,7), documentándose la presencia de: *Mycoplasma haemofelis* (100%), *Toxoplasma gondii* con resultados serológicos positivos (53%), entre los cuales el 48 % presentaron signos clínicos de la enfermedad, *Microsporum canis* (17%), *Criptococcus neoformans* localizado (13%) y generalizado (6%), *Notoedres cati* (31%), *Otodectes cynotis* (53%) y pulgas (100%). Se ha observado mayor frecuencia de signos neurológicos y neoplasias con respecto a la reportada en la bibliografía. También en cuanto a algunos agentes oportunistas. El mayor conocimiento sobre el comportamiento clínico de ésta enfermedad, permitirá el diagnóstico precoz y el control eficiente de la misma así como de las enfermedades oportunistas concomitantes.

INCIDENCIA DE PATOLOGIAS BUCODENTALES EN CABALLOS DE DISTINTAS DISCIPLINAS DEPORTIVAS

GRECO, S.A.; KOSLOWSKI, J.A.; BREJOV, G.D.

En base a la anatomía y fisiología bucodental del equino se debe realizar un control odontológico, con una frecuencia de 6 a 12 meses según la edad y condición corporal. Los factores como la estabulación, cantidad de horas de masticación del alimento por día, frecuencia y calidad del racionamiento influyen sobre el desarrollo de diferentes grados de patologías buco-dentales. Además, existen otros factores inherentes al tipo de embocadura y exigencia de la actividad deportiva que afectan de diferente manera a cada animal. El objetivo del presente estudio es detectar en forma precoz las patologías bucodentales de grado variable en equinos deportivos. Se realizó la atención odontológica de 200 caballos ubicados en provincia de Buenos Aires que realizaban distintas disciplinas deportivas: salto, adiestramiento, turf y trote. Se utilizó para la sujeción química Xilacina al 10% con o sin Butorfanol al 1%, lográndose una aceptable sedación y relajación muscular que permitió trabajar con el paciente en estación. Para la inspección y exploración completa de la boca se utilizó un abrebocas de cremallera

de tipo Mc Pherson, un frontoluz, espejo odontológico de equinos y gancho dental de exploración. Las patologías encontradas fueron clasificadas como leves cuando se observaron odontofitos (puntas de esmalte), ganchos y rampas sin compromiso de la estática y dinámica bucodental; moderadas cuando alteraron la estática y dinámica bucodental; y graves cuando fueron limitantes para su vida deportiva (falta de piezas, fracturas dentales, neoplasias, traumas). Los resultados obtenidos fueron que de los 140 caballos de salto 60 presentaron patologías leves, 55 moderadas y 25 graves. De los 32 caballos de carrera (turf) 4 fueron leves, 10 moderadas y 18 graves. De los 16 caballos de adiestramiento 4 fueron leves, 10 moderadas y 2 graves y de los 12 caballos de trote 7 fueron leves y 5 moderadas. Este estudio pone de manifiesto la importancia del tratamiento odontológico habiéndose observado una mayor proporción de patologías leves/moderadas en los caballos de salto, mayor proporción de patologías moderadas en los de adiestramiento y mayor proporción de casos graves en los caballos de turf.

FRECUENCIA DE APARICION DE PRIMER PREMOLAR EN EQUINOS DEPORTIVOS SOMETIDOS A TRATAMIENTO ODONTOLÓGICO

GRECO, S.A.¹; GALOTTA, M.L.²; KREIL, V.³; KOSLOWSKI, J.A.¹; BREJOV, G.D.¹

La fórmula dentaria del equino incluye un total de 44 piezas en total cuando todas las piezas están presentes. Se encuentra diferenciada en 4 grupos dentales de los cuales hay 12 incisivos, 4 caninos, 16 premolares y 12 molares. Las hembras, generalmente carecen de dientes caninos. El primer premolar, que corresponde al número 05_s según nomenclatura Triadan, es una pieza inconstante, que erupciona entre los 6 y 12 meses de edad, su forma y tamaño son variables, carece de antecesor decíduo, presenta corona y raíz menos desarrolladas que los demás premolares permanentes. Su ubicación está en relación rostral al segundo premolar (06_s Triadan) tanto maxilares como mandibulares. En ocasiones puede no erupcionar y quedar bajo la encía, denominándose primer premolar "ciego". Su frecuencia de aparición en ambos sexos varía entre 13% y 31,9%. El objetivo de este trabajo es observar la frecuencia de aparición en equinos deportivos sometidos a tratamiento odontológico por primera vez (para descartar eventuales extracciones anteriores).

Se realizó la atención odontológica de 200 caballos (provincia de Buenos Aires) que realizaban distintas disciplinas deportivas: salto, adiestramiento, turf y trote. Se utilizó para la sujeción química Xilacina al 10% con o sin Butorfanol al 1%, se trabajó con el paciente en estación y se realizó la inspección y exploración completa de la boca. Los resultados obtenidos mostraron que, 45 ejemplares (22,5%) presentaron ambos primeros premolares maxilares (izquierdo y derecho) erupcionados, 22 ejemplares (11%) presentaron primer premolar maxilar unilateral, 3 ejemplares (1,5%) presentaron un primer premolar maxilar no erupcionado ("ciego") y 1 ejemplar (0,5%) presentó un primer premolar mandibular unilateral erupcionado. Estos resultados permiten inferir que la frecuencia de aparición del primer premolar como hallazgo de consulta odontológica en 200 equinos deportivos de la Provincia de Buenos Aires, comprende entre el 0,5% y 22,5% según la ubicación, erupción y cantidad de piezas presentes.

⁽¹⁾ Área de Semiología, Cátedra de Medicina I. ⁽²⁾ Instituto de Investigaciones en Producción Animal. ⁽³⁾ Cátedra de Farmacología y Bases de la Terapéutica Facultad de Ciencias Veterinarias-U.B.A.

CRIBADO FENOTÍPICO DE DROGAS REPOSICIONABLES CON ACTIVIDAD ANTI-*Trypanosoma cruzi*. RESULTADOS PRELIMINARES.

GULIN, JEN; ROCCO, D; BISIO, M; ALTCHEH, J; GARCÍA-BOURNISSEN, F.

Las opciones terapéuticas actuales para la enfermedad de Chagas se limitan a Benznidazol (BZ) y Nifurtimox (NFX). Existe la necesidad de estudiar otros compuestos eficaces y con mejor tolerancia. El reposicionamiento de fármacos es una estrategia rápida y de bajo costo para seleccionar compuestos con actividad anti-*T. cruzi* y transferirlos a estudios clínicos. Se evaluaron 23 compuestos por cribado fenotípico *in vitro* a concentración fija (10 μ M) sobre estadios amastigote y tripomastigote, estableciendo el porcentaje de actividad relativa (AR) con BZ y NFX. 14 compuestos tuvieron al menos un 50% de AR. Hasta el momento se evaluaron 5 principios activos, obteniéndose la concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) sobre amastigotes, y la citotoxicidad sobre células hospedadoras. Miltefosina (MLT) y Pirimetamina (PYR) exhibieron CI₅₀ de 1,044 y 0,536 μ M respectivamente, justificando

continuar su estudio en un modelo *in vivo* de infección aguda. Ratones hembras BALB/c de 5 semanas de edad fueron infectadas con la cepa VD y tratadas con MLT a 25, 50, 75 y 100 mg/kg, o PYR a 50 mg/kg durante 20 días. Se incluyeron grupos infectados no tratados y tratados con BZ o NFX (100 mg/kg). MLT produjo disminución dosis-dependiente de la parasitemia, con 100% de supervivencia en los grupos desde 50 mg/kg. Los ratones con parasitemia negativa se sometieron a un ciclo de inmunosupresión, registrándose una reagudización en el 100% de ratones tratados con MLT, así como en todos los ratones del grupo BZ, y en 57% del grupo NFX. La PYR no tuvo efecto sobre la parasitemia y la mortalidad fue del 100%. En este modelo, la MLT tendría un efecto parasitostático, similar a las drogas de referencia BZ y NFX. La PYR no demostró actividad *in vivo*.

Servicio de Parasitología y Enfermedad de Chagas – Hospital de Niños “Ricardo Gutiérrez”. Buenos Aires, Argentina.

BÚSQUEDA DE MARCADORES MOLECULARES ASOCIADOS CON LA AUSENCIA DE TUBERCULOSIS BOVINA

HASENAUER, F.C.^{1,3}; GARBACCIO, S.¹; CAFFARO, M.E.²; GARRO, C.¹; POLI, M.²; ROSSETTI, C.A.¹

Mycobacterium bovis es el agente causal de la tuberculosis bovina, una enfermedad zoonótica, presente en los rodeos bovinos de Argentina, que produce grandes pérdidas económicas en las explotaciones lecheras. Las medidas para controlar la enfermedad se basan en la detección y posterior eliminación de los animales infectados. El objetivo de este trabajo fue identificar marcadores moleculares de resistencia innata a la infección con *M. bovis* en bovinos lecheros. Se realizó un estudio de casos-controles en un rodeo lechero con animales de la raza Holando Argentino ($n= 54$) y Jersey ($n= 149$) ubicados en Lincoln, Buenos Aires. Se utilizó la prueba de la tuberculina aplicada en el pliegue ano-caudal para evaluar el estado sanitario y se colectaron muestras de pelo para la extracción de ADN a partir del bulbo piloso. Los polimorfismos de los dos microsatélites (Ms1 y Ms2) de la región 3' UTR del gen *SLC11A1* se determinaron por PCR multiplex seguida de electroforesis capilar. La asociación entre los polimorfismos encontrados con la

ausencia de reacción intradérmica se determinó a través del Test Exacto de Fisher, utilizando el programa InfoStat. Se observaron 90 animales positivos (16 Holando y 74 Jersey) y 113 negativos (38 Holando y 75 Jersey) a la prueba de la tuberculina. Los genotipos encontrados para el Ms1 fueron 157/157 (67 animales), 159/159 (63), 157/159 (72) y 159/161 (1), mientras que para el Ms2 175/175 (136), 177/177 (40) y 175/177 (27). El análisis no detectó asociación ($p >0,05$) entre los genotipos de ambos microsatélites de la región 3' UTR del gen *SLC11A1* y la ausencia de tuberculosis en ninguna de las 2 razas bovinas estudiadas. En este estudio no se encontró asociación entre las variantes de la región 3' UTR del gen *SLC11A1* con la ausencia de tuberculosis. Sería interesante profundizar esta línea de investigación evaluando otros genes codificantes de proteínas participes en la inmunidad innata, para contar con herramientas complementarias en el control integrado de las infecciones bacterianas.

¹Instituto de Patobiología, ²Instituto de Genética, CICVyA-CNIA, INTA Castelar; ³CONICET

DESARROLLO DE UN ELISA-PPA PARA DIAGNÓSTICO DE PARATUBERCULOSIS EN CIERVOS

HERMIDA, H¹; COLAVECCHIA, S¹; FORTUNY, ML¹; SUHEVIC J², MEREB, G³; ALONSO, B⁴; MARTINEZ VIVOT⁵, M; MUNDO, S¹

La paratuberculosis es una enfermedad crónica causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). El diagnóstico en ciervos requiere del uso de reactivos específicos importados de alto costo. Nuestro objetivo es el desarrollo de un ELISA-PPA utilizando anticuerpos específicos producidos en nuestro laboratorio. Se semipurificó suero de ciervo (Igc) para producir anti-Ig (a-Igc-c) en conejos (n=2) se inmunizaron con 2 dosis de 1mg Igc + adyuvante de Freund incompleto, cada 15 días). Se purificó con proteína-A el a-Igc-c y se caracterizó mediante SDS-PAGE, Inmunoblot y ELISA. Se comparó su título con un anti-IgG de ciervo conjugado con fosfatasa alcalina (KPL) comercial. La reactividad frente a suero de ciervo y otras especies se evaluaron por ELISA utilizando un anti-IgG de conejo marcado con

peroxidasa (KPL). El a-Igc-c se aplicó en ELISA-PPA utilizando un ciervo como control positivo (MAP en materia fecal), en 215 sueros de ciervo provenientes de un campo de cría sospechoso de PTB y en, 9 sueros de ciervos diagnosticados como positivos y negativos por Inmunodifusión por SENASA. El título del a-Igc-c producido fue mayor al obtenido para el reactivo comercial (256000 vs. 400). Se detectaron reacciones cruzadas (>64000) para ovino, cabra, bovino, llama y muflón. En el ELISA-PPA 11 de los 215 (5%) y 9 de los 9 sueros arrojaron valores considerados positivos. Resta analizar mayor cantidad de muestras de ciervos confirmados como infectados por identificación de MAP. Hemos obtenido un reactivo útil para el diagnóstico de enfermedades en ciervos que permite sustituir importaciones.

¹ Inmunología, FCV-UBA. ² Escuela agropecuaria, FV-UBA. ³ Práctica profesional privada. ⁴ Área de micobacterias de SENASA. ⁵ Enfermedades Infecciosas, FCV-UBA.

HISTOMORFOMETRÍA DE EPITELIO ENDOMETRIAL DE YEGUAS SUCEPTIBLES Y RESISTENTES A ENDOMETRITIS

HERRERA, J. M.; HERRERA, M. F.; CANTATORE, S.; FELIPE, A.; FUMUSO, E.

El endometrio cumple funciones en la nutrición temprana del embrión, en la implantación y en la formación de la placenta, por lo que cualquier alteración en su funcionamiento puede afectar el éxito reproductivo. En yeguas, la endometritis es una importante enfermedad causante de subfertilidad, con gran impacto económico en la industria hípica. Es posible clasificar a las yeguas como *susceptibles* o *resistentes* a endometritis según su habilidad para eliminar, dentro de las 48 horas de inoculación, una infección con *Streptococcus zooepidemicus* inducida experimentalmente. La histomorfometría es considerada como uno de los estudios de morfología endometrial más objetivos y de mayor precisión diagnóstica. Varios autores demostraron que la altura del epitelio endometrial (tanto de revestimiento como glandular) varía según la fase del ciclo estral en estudio. El objetivo del presente trabajo fue comparar la histomorfometría endometrial de yeguas susceptibles (YS) y yeguas resistentes (YR) a endometritis en la fase estro del

ciclo. Fueron tomadas 12 biopsias endometriales (6 YS y 6 YR) según la técnica descrita por Kenney (1978). Se realizaron cortes histológicos de 5 μm y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Se evaluó la altura celular del epitelio de revestimiento (ER) y del epitelio glandular (EG), midiendo la distancia entre la membrana basal y el borde apical, con una magnificación de 100x. En cada muestra se tomaron 30 valores para ER y 30 para EG. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante Test t. No se observaron diferencias significativas entre la altura de ER ($13,37 \pm 4,15 \mu\text{m}$) y EG ($13,06 \pm 2,68 \mu\text{m}$) de YR, ni entre la altura de ER ($15,90 \pm 6,93 \mu\text{m}$) y EG ($15,01 \pm 5,28 \mu\text{m}$) de YS. Sí se observaron diferencias significativas ($P < 0,0001$) entre las alturas de los ER y EG de YR con respecto al grupo de YS. Los resultados de este trabajo sugieren la existencia de una relación entre la resistencia a endometritis y la altura del ER y EG. Más estudios al respecto son necesarios para comprobar esta premisa.

RESPUESTAS HACIA UN PEZÓN ARTIFICIAL CON SACARINA O QUININA EN PRESENCIA DE UN OLOR PRE-EXPUESTO

CELESTE IFRÁN^{AB}, ANDREA SUÁREZ^{AB} Y GISELLE KAMENETZKY^{AB}.

Durante los primeros 10 días de vida de la rata tiene lugar un período sensible en el cual el aprendizaje de olores se ve facilitado. En este periodo las crías prefieren olores familiares (i.e., pre-expuestos), aun si estos fueron previamente asociados a estímulos aversivos moderados. Se desconoce cómo la estimulación con olores familiares afecta el consumo de soluciones dulces o amargas. Objetivos. Evaluar la interacción entre un olor previamente aprendido y el consumo de diferentes soluciones. Se utilizaron ratas neonatas Sprague Dawley machos y hembras de 3 horas de vida. Inmediatamente después del nacimiento, las crías se expusieron (grupo experimental) o no (grupo control) al olor de limón durante una hora. Dos horas después se evaluaron con un pezón artificial que contenía sacarina al 0.1% o 0.015% (p/v), o quinina al 0.1% o al 0.2% (p/v), en presencia del olor a limón durante 6 minutos. Las variables dependientes fueron el porcentaje de ganancia de peso, la latencia hacia la primera

respuesta de agarre al pezón artificial, el tiempo total de prensión al pezón, y la frecuencia y duración promedio de agarre. Los animales familiarizados con el olor a limón exhibieron, en relación al grupo control, un incremento significativo en el porcentaje de ganancia de peso, tiempo, frecuencia y duración promedio de agarre y una disminución en el tiempo de latencia. Esta diferencia entre los tratamientos se observó cuando los animales recibieron la solución de quinina al 0.1%, pero no cuando recibieron quinina al 0,2%, sacarina al 0.1% o sacarina al 0.015%. Estos resultados sugieren que el olor pre-expuesto produjo un cambio en el valor hedónico de una solución amarga de concentración moderada en una apetitiva. No existen investigaciones previas que consideren la interacción entre un olor y un sabor amargo en ratas neonatas, por lo cual estos estudios constituyen la base para elaborar un modelo animal que explore los mecanismos de dicha interacción.

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

COMPORTAMIENTO Y MANTENIMIENTO DE LA CEPA CEDIVE (*Haemonchus contortus*) EN CONDICIONES DE LABORATORIO

ILLANES F.¹; NIÑO URIBE A.²; PRUZZO C.¹; ZEBERIO J.¹; ROMERO J.¹.

El manejo parasitológico de ovinos, en un contexto de resistencia a los antihelmínticos, demanda enfoques originales, además de nuevas moléculas. Hace años nuestro grupo mantiene una cepa de *Haemonchus contortus* (H.c) susceptible entre otros principios, a los benzimidazoles (cepa CEDIVE), la que está siendo desafiada a adaptarse a potreros o establecimientos afectados por resistencia múltiple en distintos lugares del país. Los ensayos se enmarcan en (Pict-2012-1048) del que participan varias instituciones. La infección de los campos se hace con animales inoculados con la cepa CEDIVE, que se produce en corderos estabulados. Objetivos: Describir la dinámica de eliminación de huevos en materia fecal a partir de una inoculación experimental, para así optimizar la producción de huevos de H.c. Para este trabajo se utilizaron 2 capones de entre 1 y 2 años de edad, estabulados en jaula elevada con piso enrejado de madera para evitar reinfecciones y alimentados con pellet de alfalfa y maíz entero. Se analizan 3 ciclos de producción de cada cordero

luego de 3 inoculaciones, consecutivas y posteriores a la negativización por agotamiento. Al ingreso desde el campo cumplen un protocolo de desparasitación con varias drogas y se comprueba que sean negativos mediante estudios de hpg. Se inoculan con 6000 Larvas 3 de H.c de la cepa CEDIVE, haciendo un seguimiento del nivel de producción de huevos con muestreos a intervalos de 7 a 14 días. La máxima eliminación de huevos se alcanza cerca de los 60 días (entre 20 y 80 días) pos inoculación. La persistencia es variable pero tiende a reducirse definitivamente luego de los 90 días aunque pueda extenderse en bajos niveles de hpg, hasta 190 días. Consideramos estos datos relevantes en cuanto a la producción de larvas, ya que la máxima eliminación se produce en un período acotado de tiempo y es en ese momento en donde debiera concentrarse la recolección de materia fecal para su posterior cultivo. A su vez, esto nos permite programar la cantidad de animales a inocular para una disponibilidad permanente de larvas 3, según las exigencias del Pict antes mencionado.

¹ CEDIVE, Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP.

² CEDIVE, CONICET (Becario), Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP.

HALLAZGOS INMUNOPATOLOGICOS EN PARATUBERCULOSIS EXPERIMENTAL

INGRATTA G.¹, FERNÁNDEZ B.¹, JOLLY A.¹, COLAVECCHIA S.¹, FORTUNY ML.¹, MINATEL L.²,
PAOLICCHI F.³, MUNDO S.¹.

La paratuberculosis es una patología granulomatosa crónica intestinal causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) que afecta a los rumiantes. Los objetivos del trabajo fueron describir la infección experimental con 2 aislamientos locales de Map, mediante la cuantificación de la carga bacteriana (UFC/g), la evaluación del número y tipo de lesiones en los tejidos así como identificar la posible relación entre estas técnicas y la intradermorreacción (IDR). Se desafiaron terneros Holando-Argentino de 2 meses de edad, vía oral con: Map RFLP-A (grupo I, n=3), Map RFLP-C (II, n=2), control sin desafiar (III, n=2). A los 160 días post-desafío (dpd) se realizó la IDR con PPDa y PPDb de acuerdo con las normas del SENASA. A los 180 dpd, se obtuvieron muestras de íleon distal (Id), válvula ileocecal (Vi), linfonódulo ileocecal (LNi), linfonódulo mesentérico (L Nm) e hígado (H). Se realizó cultivo bacteriológico y análisis histopatológico (tinción de Hematoxilina-Eosina) de todas las muestras. Los terneros desafiados fueron positivos a la IDR con PPDa:

21.7±1.15 mm para I y 16.1±1.76 mm para II (p<0,05; T-test, muestras independientes). La infección se confirmó en el 100% de los desafiados a partir del cultivo de L Nm, mientras que en Vi fue del 80 %, L Ni 60% y de un 20% en Id e H. Los promedios de carga bacteriana más altos se hallaron para L Ni (430 UFC/g) y L Nm (155 UFC/g), comparado con el resto de los órganos (Vi 82 UFC/g; Id 69 UFC/g; H 4 UFC/g). Las lesiones consistieron en granulomas incipientes formados por unos pocos macrófagos en todos los tejidos. Hubo una mayor tendencia en el número de lesiones en los LNs: >10 granulomas/corte en I respecto de <5 granulomas en II (p=0,06, prueba t-Student, muestras independientes). Los resultados para la IDR y el número de lesiones en I respecto de II sugieren posibles diferencias de patogenicidad entre aislamientos. El L Nm parece ser una muestra relevante para el diagnóstico precoz. Este trabajo permitió detectar diferencias entre cepas bovinas locales y la posible asociación entre una prueba diagnóstica utilizada in vivo (IDR) y técnicas llevadas a cabo post-mortem.

¹Cátedra de Inmunología. ²Cátedra de Patología. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Buenos Aires. ³INTA

CAMBIOS EN LA PRODUCCIÓN DE DEFENSAS QUÍMICAS EN ALTAMISA (*Artemisia annua*) Y SOJA (*Glycine max*) COMO RESPUESTA A LA INTERACCIÓN MALEZA-CULTIVO-HERVÍVORO

VIOLETA JAKUBOWICZ¹, MARIANNE TORCAT², MARÍA BELÉN REGGE¹, HUGO D. CHLUDIL¹, ADRIANA E. LENARDIS², ELBA B. DE LA FUENTE²

La soja (*Glycine max* (L.) Merr.) es una especie que produce derivados de isoflavonoides como respuesta a estrés biótico. Estas defensas pueden verse moduladas por la presencia de malezas y herbívoros. Malezas como *Artemisia annua* producen volátiles que modifican su composición con el estado ontogénico, y la densidad de la maleza cuando crece en un cultivo. El objetivo fue cuantificar los cambios en la producción de compuestos químicos en el cultivo de soja como respuesta a la densidad de *A. annua* y a la herbivoría de *Anticarsia gemmatalis*. Como así también la producción de terpenos en *A. annua* cuando crece en un cultivo de soja. Se realizaron experimentos a campo con un diseño completamente aleatorizado en arreglo factorial con seis repeticiones para los factores: soja pura (SP), soja + 2 plantas de *A. annua*/m² (2AR) y soja + 4 plantas de *A. annua*/m² (4AR). Para generar la herbivoría, en R5 se introdujeron 100 larvas de *A. gemmatalis* (H+:con herbivoría, H-:sin herbivoría). Se cosechó una planta por parcela a lo largo del ciclo. A las muestras se le realizó una extracción metanólica, seguido de una partición con cloroformo. Se realizaron determinaciones de contenido de fenoles

totales (CFT), componentes antioxidantes (CA) y análisis por CLAR, para identificar compuestos específicos. Los volátiles de *A. annua* se analizaron mediante CG y CG-EM. El tratamiento de herbivoría, en soja pura, incrementó significativamente los componentes antioxidantes (60,2%) y en el contenido de fenoles totales (49,8%) en soja, así como la concentración de quercetina y rutina, con 200% y 250% de aumento, respectivamente. Por su parte, un derivado fenólico aún no caracterizado, respondió de manera diferencial frente a la herbivoría cuando el cultivo creció con la mayor densidad de la maleza, (4AR). La maleza produjo mayor contenido de alcanfor en sus últimos estadios ontogénicos y en presencia del cultivo soja. La producción de compuestos químicos de defensa por parte del cultivo soja es mayor en la mezcla con *A. annua*. La herbivoría de *A. gemmatalis*, sobre la soja produce incrementos en glicósidos de quercetina y de un derivado fenólico de mayor polaridad. Este último a su vez se incrementa de forma diferencial con el aumento de la densidad de la maleza. La maleza respondió a la presencia de soja modificando la composición química de su aceite esencial.

¹ Cátedra Química de Biomoléculas; ² Cátedra de Cultivos Industriales. FAUBA.

DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS SUBCLÍNICA POR ULTRASONOGRAFÍA

JAUREGUIBERRY M.^{1,2}, GIULIODORI M.J.³, MADDOZ L.V.^{1,2}, DE LA SOTA R.L.^{1,2}

Las vacas repetidoras (VR) son vacas clínicamente sanas que no conciben luego de ≥ 3 inseminaciones artificiales (IA). Es una enfermedad multifactorial en la que la endometritis subclínica (ES) podría estar involucrada. Por lo tanto, validar una técnica diagnóstica práctica, como la ultrasonografía (US), sería de gran valor. Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la prevalencia de ES en VR y validar el uso de la US para el diagnóstico de ES. A tal fin se utilizaron VR Holando Argentino a las que se les diagnosticó ES con cytobrush (CB, $n=437$) y con US ($n=358$). La ES se definió con $\geq 5\%$ de neutrófilos mediante CB y con $\geq 2\text{mm}$ de luz uterina mediante US. El grado de acuerdo entre ambas técnicas se analizó con el Coeficiente Kappa (CK), y el efecto de la ES sobre el riesgo de preñez a la 1^oIA se evaluó con modelos de

regresión logística. Las prevalencias detectadas de ES fueron del 24% (105/437) y del 20.4% (73/358) para CB y US, respectivamente. No hubo acuerdo diagnóstico de ES entre CB y US (CK= 0.03, 95%CI=-0.07-0.14, $P=0.54$). Las VR con ES diagnosticadas por CB tuvieron un porcentaje de preñez a la 1^oIA similar a las VR sin ES (22% y 27% respectivamente; OR=0.74, 95%CI=0.39-1.39, $P>0.05$). Por el contrario, las VR con ES diagnosticada por US tuvieron dos veces menos chances de quedar preñadas a la 1^oIA que las VR sin ES (15% y 28% respectivamente; OR=0.50, 95%CI=0.22-1.14, $P<0.05$). En conclusión, la ES no es una causa importante de VR y además, la detección de $\geq 2\text{mm}$ de luz uterina mediante US, indicativo de ES, se relaciona con un menor riesgo de preñez, mientras que la detección de ES por CB ($\geq 5\%$ de neutrófilos) no reduce la chance de preñez.

¹ Cátedra y Servicio de Reproducción Animal, FCV-UNLP.

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

³ Cátedra de Fisiología, FCV-UNLP

ESTUDIO SEROLÓGICO DE LEPTOSPIROSIS EN PORCINOS DE LA LLANURA PAMPEANA

P JOAQUIM¹, M MARTINEZ VIVOT², M MARTINEZ¹, S GRUNE¹, G ROMERO¹, B BRIHUEGA¹

Leptospirosis afecta la producción porcina y es una zoonosis de gran distribución. Los porcinos eliminan durante periodos prolongados leptospiras por orina diseminando la bacteria al medio. El objetivo fue estudiar la presencia de anticuerpos antileptospira (período 2015-2016). Se analizaron 645 sueros porcinos de establecimientos de Cañuelas,

Navarro, Rauch, Pergamino, provincia de Buenos Aires y Marcos Juarez, provincia de Córdoba. Se diagnosticó mediante la técnica de microaglutinación (MAT), con las 9 serovariedades referenciales (serovar: Pomona, Gryppotyphosa, Castellonis, Copenhageni, Tarassovi, Canicola, Wolfi, Hardjo, Pyrogenes). Titulos positivos \geq 1:100.

Resultados.		Región Pampeana
Cantidad de sueros		645
Seroreactividad		29%
Serovariedades reaccionantes	Copenhageni	7,2%
	Canicola	1,6%
	Pomona	81,1%
	Wolfi	0,5%
	Castellonis	12,1%
	Tarassovi	4,0%
	Gryppotyphosa	17,7%

El porcentaje reaccionante a leptospirosis fue alto. El serovar más frecuente fue Pomona. La producción porcina está en aumento y puede la leptospirosis producir

importantes pérdidas económicas. El conocimiento del serovar que afecta a los porcinos es necesario para programar las campañas de control.

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

POLIMIOSITIS EN CANINOS: su asociación con MIASTENIA GRAVIS ADQUIRIDA

KIM, ANGELICAA¹; MUNDO, SILVIA²; DUCHENE, ADRIANA³; MONTORO, ANDREA⁴;
SURANITI, ADRIANA⁵

Miastenia gravis Adquirida (MGA) es una enfermedad inmunomediada que se presenta con debilidad muscular. Existe una interferencia en la transmisión neuromuscular debida a una reducción en el número de colinorreceptores nicotínicos de la acetilcolina por anticuerpos bloqueantes (ACRA). En caninos, los valores de ACRA en suero superiores a los 0,6 nmol/l confirman esta enfermedad. Por otro lado, las miositis se pueden clasificar según su origen en infecciosas, traumáticas o inmunológicas, éstas últimas se suelen manifestar como polimiositis. El objetivo fue relacionar la presencia clínica de polimiositis y miastenia gravis en caninos. Se analizaron tres caninos, pacientes del Hospital Escuela durante 2013-2014. Se revisaron clínicamente y se solicitaron estudios complementarios: hemograma, bioquímica sanguínea, test serológicos de Toxoplasmosis (aglutinación directa e inmunofluorescencia indirecta) y Neosporosis (inmunofluorescencia indirecta), perfil tiroideo (T4 y TSH), radiografías simples de las articulaciones temporomandibulares, electromiografía de los músculos masticatorios, valores de ACRA, medición de anticuerpos serológicos anti2M

y biopsia muscular de maseteros y temporales. Los tres caninos mostraron un incremento significativo de la Creatínfosfoquinasa entre 477 y 8520 UI (valor de referencia hasta 200 UI). Los test serológicos para las infestaciones parasitarias fueron negativos. El perfil tiroideo en todos los casos se encontró dentro de los valores normales. Las radiografías de las articulaciones temporomandibulares no mostraron anormalidades. Los hallazgos electromiográficos señalaron potenciales de fibrilación en reposo y descargas miotónicas. Los tres caninos arrojaron valores ACRA positivos (0,92; 1,4 y 2,7nmol/l) y los anticuerpos anti2M fueron positivos en dos pacientes. Las biopsias en todos los casos revelaron miofibrillas de diámetro irregular, citoplasma acidófilo condensado, reemplazo fibroconjuntivo e infiltrado linfoplasmocítico difuso, por lo que se concluyo un diagnóstico de miositis En los tres casos evaluados se puede concluir que existe una clara asociación entre la miositis y la Miastenia Gravis Adquirida. Por dicho motivo y dado a la gravedad de los signos clínicos se recomienda implementar una terapia combinada de Bromuro de piridostigmina y prednisolona.

¹Cátedra de Patología, ² Cátedra de Inmunología, ³ Unidad de Histopatología, ⁴ Servicio de Cirugía, ⁵ Unidad de Neurología del Hospital Escuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. Chorroarín 280, Buenos Aires. Email: asuraniti@fvet.uba.ar Trabajo subsidiado por Proyecto UBACYT CV 0029

RESULTADO

PARCIAL: SEROPREVALENCIA A TOXOPLASMA GONDII EN PORCINOS. PROVINCIA DE BUENOS AIRES

KUNIC, J.¹; PARDINI, L.^{2,4}; DAPRATO, B.³; ACERBO, M.³; SIERRA, F.¹; SOMMERFELT, I.¹

Introducción: La Toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria distribuida mundialmente producida por *Toxoplasma gondii*. Tiene a los felinos como hospederos definitivos e intermediarios. El ser humano y los porcinos son hospederos intermediarios, estos últimos actúan como fuente de infección para los humanos. El diagnóstico de la infección se realiza principalmente por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), Western Blot y Elisa. Estudios previos en porcinos de Pcia de Bs. As informan una seroprevalencia a *T. gondii* de un 37,7%, con la técnica de IFI (Omata Y. y col. 1994) y una seroprevalencia de 62,8% con la prueba de aglutinación modificada (Venturini M. et al., 2004). **Objetivos:** Estimar la seroprevalencia a *T. gondii* en cerdos en producción extensiva. Reconocer factores causales en los criaderos porcinos estudiados. **Materiales y métodos:** Se seleccionaron criaderos porcinos con sistema de

producción extensivo de la zona centro oeste de la Pcia de Buenos Aires. El tamaño de la muestra de 91 animales se calculó con una prevalencia del 38%, nivel de confianza 95% y precisión del 10%. Se informa los resultados de 32 animales de 4 a 6 meses de edad, de 4 criaderos de la zona sangrados de la vena cava, cuyos sueros se analizaron por IFI. Se consideró positivo un título $\geq 1:50$. Las características ambientales de cada criadero se registraron en una ficha epidemiológica. **Resultados:** La seroprevalencia a *T. gondii* en los cerdos estudiados fue del 46,87 %, encontrándose animales positivos en todo los criaderos. Se observó presencia de roedores y felinos en cada criadero. **Conclusión:** El resultado parcial de la muestra a estudiar, se encuentra dentro de los valores informados en estudios previos, indicando falta de acciones preventivas para su control.

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Veterinaria en Salud Pública, Buenos Aires, Argentina.

²Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Parasitología, Laboratorio de Inmunoparasitología, La Plata, Argentina.

³ Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Producción de Porcinos, Buenos Aires, Argentina.

⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina.

DETECCION DE METALOPROTEASAS EN PLACENTAS EQUINAS DE YEGUAS SPC Y SU POSIBLE ROL EN 1 CASO DE LA PLACENTITIS, CON MUERTE PERINATAL

LASTRA Y, SOTO S, MARINO M, ALVAREZ E, DE SIMONE E, CHIAPPE BARBARÁ MA.

Introducción: La gelatinasas son un subtipo de metaloproteasas (MMPs), que intervienen en diversos procesos fisiológicos de degradación de la matriz extracelular (MMP-2), aunque sus niveles también pueden aumentar en patologías inflamatorias (MMP-2, MMP-9). El término placentitis generalmente hace referencia a la inflamación de la membrana corioalantoidea (MCA) aunque a menudo también afecta a la membrana amniótica y el cordón umbilical. Es una causa común de natimortos y muerte perinatal en SPC siendo la etiología infecciosa por vía ascendente. **Objetivos:** Determinar la actividad de MMP-2 y MMP-9 en MCA de placentas equinas normales y con placentitis, al término de la gestación y post muerte perinatal respectivamente. **Métodos:** Se tomaron muestras (n=10) de MCA de placentas en el post parto inmediato. Dos de estas muestras correspondían a una placenta macroscópicamente patológica (zona vellosa y avellosa anormales), asociada a

una muerte perinatal. En el laboratorio se evaluó la presencia y actividad potencial de MMPs, por densitometría de las bandas de degradación correspondientes, obtenidas por zimografía. **Resultados.** Todos los zimogramas mostraron presencia de MMP-2 y MMP-9, pero no se detectó un patrón definido en los niveles de las MMPs en las placentas normales. Sin embargo, en los resultados de las muestras patológicas la MMP-9 presentó los valores de mayor actividad.

Conclusión. Las gelatinasas están presentes en placentas normales de yeguas SPC, en gestaciones a término, y es posible detectar su actividad por zimografía. Nuestro objetivo a futuro es determinar valores fisiológicos de referencia de las MMPs, como base para estudios de patologías placentarias, asociadas con la desregulación de la remodelación de la matriz extracelular. Aparentemente, la MMP-9 podría tener un rol en la evolución de la placentitis equina.

ESTUDIO COMPARATIVO DE la fase temprana DE LA OSTEOARTRITIS EN MODELOS EXPERIMENTALES EN RATAS

LASTRA Y., CAGGIANO N., DÍAZ J., RUBATINO F., FERRETO A., DE LUCA SAROBE V., GULLACE F.², E. RITACCO³, DE SIMONE E., CHIAPPE BARBARÁ A.

Introducción: En el estudio de la osteoartritis (OA) se ha trabajado desde hace tiempo con diferentes modelos murinos. Sin embargo los mismos no han sido bien caracterizados desde el punto de vista de la respuesta temprana (7 días) en sus aspectos clínicos, histológicos, radiológicos, así como tampoco en cuanto a su perfil sérico inflamatorio (IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α y MMPs-2 y -9). Objetivo: Comparar y caracterizar modelos de OA inducida en ratas en una fase temprana (7 días luego de la inducción). Materiales y métodos: En un estudio retrospectivo, se han comparado los modelos de: a) corte del ligamento cruzado (CLX), y artritis inducida por adyuvante en sus dos variedades b) subplantar (ASP) e c) intraarticular (AIA). Se analizó estado clínico, histología, radiología,

y biomarcadores. Se utilizaron 10 ratas por grupo. Resultados: A los 7 días el modelo AIA presenta en todos los parámetros analizados (excepto la MMP-2) diferencias significativas al compararlo con el grupo control. Además, los niveles de IL-1 estaban elevados respecto al basal, en los tres modelos de OA, grupo CLX y el AIA ($p < 0.001$) y ASP ($p < 0.01$). Por otra parte, el valor más bajo de IL-4 fue observado en el grupo AIA ($p < 0.001$ frente al grupo basal). Además, los valores más elevados de MMP-2 fueron observados en el modelo ASP. Conclusiones: Si bien se usan de manera indistinta los modelos de artritis en ratas como si fueran similares los distintos modelos experimentales desencadenan respuestas inflamatorias diferenciales en la mayoría de las variables estudiadas.

OPTIMIZACIÓN DE PLANES DE INMUNIZACIÓN PARA EL DESARROLLO DE ANTIVENENOS BASADOS EN LA TECNOLOGÍA IGY (ANTICUERPOS DE YEMA DE HUEVO)

LEIVA CARLOS, FARACE MARIANO, CASANOVA NATALIA, FERNANDEZ MIYAKAWA MARIANO, CHACANA PABLO

El tratamiento de las mordeduras de serpientes en el hombre y los animales se trata con antiseros producidos principalmente en equinos. Una alternativa a los sueros policlonales mamíferos es el uso de anticuerpos obtenidos a partir de la yema de huevo de gallinas (Tecnología IgY) que presenta ventajas desde el punto de vista económico y del bienestar animal. Para la aplicación de esta tecnología es imprescindible conocer la respuesta inmune de las aves según distintos planes de inmunización para maximizar la producción de los anticuerpos. El objetivo fue evaluar diferentes dosis de inmunización con venenos de la serpiente yarará grande (*Bothrops alternatus*) en gallinas ponedoras. Se inmunizaron tres grupos de gallinas (*Gallus gallus*) línea Lohmann Brown con veneno de *B. alternatus* utilizando un plan de 4 inoculaciones separadas por un lapso de 15 días. Los distintos grupos recibieron distintos esquemas a dosis subletales: *i*) dosis constante de 400 µg; *ii*) dosis de incremento constante (400 µg, 800 µg, 1200 µg y 1600 µg); y *iii*) dosis de incremento exponencial (400 µg, 800 µg, 1600 µg y 3200 µg). En todos los casos, para la primera inmunización, las dosis de veneno fueron emulsificadas con adyuvante de Freund completo e inoculadas en un volumen final de

0,5 mL (0,25 mL por vía subcutánea y 0,25 mL por vía intramuscular), mientras que para las subsiguientes se utilizó adyuvante de Freund incompleto y se inocularon en un volumen final de 0,5 mL por vía i.m. únicamente. Se determinó el título de anticuerpos IgY séricos luego de cada inmunización mediante una prueba de ELISA, utilizando como antígeno el veneno completo. Independientemente de los distintos esquemas, los mayores títulos de IgY anti-veneno se observaron luego de la tercera inmunización. Asimismo se observó gran variación individual de la respuesta dentro de cada grupo experimental y los títulos de anticuerpos específicos disminuyeron luego de la cuarta inmunización. Los esquemas de inmunización *i* y *ii* permitieron obtener los mayores niveles de títulos específicos (1:102.400). Existen diferencias respecto a la respuesta inmune humoral de las gallinas según las dosis de venenos y la respuesta individual. La aplicación de la Tecnología IgY en la producción de sueros antiofídicos requiere del ajuste de distintos parámetros de los planes de inmunización de las aves. De esta manera se podrán generar sueros terapéuticos que superen a la producción convencional en equinos.

VARIACIONES EN LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE Cu Y DE Zn EN CABRAS EN LACTANCIA

ISADORA LEMOS¹, LUCILA ESPERON¹, LAURA GALOTTA², SANTIAGO ESMORIS³, EDUARDO ALVAREZ¹, ANGELINA CHIAPPE BARBARÁ¹, VERÓNICA DE LUCA SAROBE¹

Introducción: El estudio del metabolismo mineral presenta múltiples perspectivas. Se sabe de las complejas interacciones entre los elementos traza entre sí y respecto a macrominerales y vitaminas. En líneas generales tanto el Cu como el Zn son componentes esenciales de varios sistemas enzimáticos, su carencia lleva a la aparición de sintomatología clínica y está asociado a déficit productivo. No existe suficiente información sobre la concentración plasmática de estos minerales y los requerimientos dietarios en cabras que se encuentran en diferentes estados fisiológicos

con la implicancia que esto tiene a la hora de la formulación de suplementos minerales. El objetivo de este trabajo es investigar los efectos de la lactancia en los niveles plasmáticos de Cu y Zn. Fueron estudiadas 5 cabras en lactancia alojadas en la FCV-UBA durante 2 meses posparto (días 5, 15, 30, 45 y 60) y a los 3 meses posteriores a la seca. Los animales fueron alimentados con una dieta a base de heno de alfalfa, pelets de alfalfa y maíz. Se tomaron muestras de sangre para la determinación plasmática de Cu y Zn mediante espectrofotometría de absorción atómica.

Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla:

	Día 5 lactancia	Día 15 lactancia	Día 30 lactancia	Día 45 lactancia	Día 60 lactancia	3 meses Post seca
Cu pl (µg/dl)	191 ± 29.9	195.6 ± 9.7	175.8 ± 19.4	223 ± 32.6	237 ± 30.8	114.6 ± 9.72*
Zn pl (µg/dl)	288 ± 20.9	249.2 ± 7.5	283.6 ± 24.7	315.2 ± 22.4	310.2 ± 7.0	114.2 ± 17.3**

* p<0.05 vs días de lactancia, ** p<0.001 vs días de lactancia

Conclusión: A lo largo de la lactancia no hubo diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas de Cu y Zn observándose una disminución significativa de ambos minerales

a los 3 meses de finalizada la misma. Quedan establecidos valores de referencia de Cu y Zn en plasma para este grupo de cabras durante y post lactancia de interés para futuros estudios.

¹Fisiología Animal, ²CETA/INPA, ³Farmacología Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

ESTUDIO DE LOS ESTADIOS TEMPRANOS DE PECES MIGRATORIOS EN EL RÍO PARANÁ

LLAMAZARES VEGH, SABINA¹, CARLOS FUENTES², ALEJANDRA VOLPEDO¹.

A partir del año 2000 se observó un importante aumento en la explotación de los recursos pesqueros de la baja Cuenca del Plata particularmente sobre el sábalo y otros peces migratorios de interés comercial como el surubí (*Pseudoplatystoma* spp.), la boga (*Leporinus obtusidens*) y el dorado (*Salminus brasiliensis*). Los peces migratorios que habitan la Cuenca del Plata, presentan diferentes estrategias reproductivas las cuales favorecen la dispersión y supervivencia de la descendencia. Durante las fases más tempranas del ciclo de vida suceden las mayores abundancias de una población y también las más altas tasas de mortalidad natural. La sobrevivencia de estadios tempranos de desarrollo está determinada tanto por factores abióticos y bióticos. En este contexto se desarrolla el trabajo de tesis doctoral el cual propone evaluar la influencia de los factores

bióticos (depredación, alimentación, bioecología de las especies, etc.) en el reclutamiento de especies migradoras comerciales que utilizan la Cuenca del Plata. Para ello se realizarán muestreos durante los periodos reproductivos de las especies estudiadas (septiembre-marzo), con una amplia variedad de artes de pesca en lagunas del valle aluvial del río Paraná. Las muestras obtenidas serán procesadas en el laboratorio, a partir de los datos se elaborará un modelo de red trófica de los estadios tempranos de peces para los ambientes marginales del valle aluvial de un río con llanura, considerando variables ambientales (hidrología, química del agua, caudales) y las variables bióticas aquí estudiadas. Con los resultados hallados, se propondrán recomendaciones para las autoridades locales y nacionales que permitan un manejo sustentable del recurso.

¹ Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), CONICET, Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (CETA-FVET-UBA), Buenos Aires, Argentina. ² Laboratorios de la Dirección de Pesca Continental, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SSPyA), Ministerio de Agroindustria de la Nación, Buenos Aires, Argentina.

EFFECTO DE LA INCUBACIÓN A 37° C EN LA MORFOMETRÍA DE NÚCLEOS ESPERMÁTICOS DE CERDO. RESULTADOS PRELIMINARES

LÓPEZ, MS; GONZÁLEZ, LO*; GHIRARDOSI, MS*; FISCHEMAN, ML*; FERRARI, MR *; CISALE, HO *

La evaluación de la morfología del núcleo espermático es relevante debido a su relación con la fertilidad potencial de muestras de semen de diferentes especies. El CASMA (Computer-Assisted Sperm Morphometry Analysis) permite realizar un análisis morfométrico objetivo. Las investigaciones que evalúan la morfometría del núcleo espermático son escasas. Se ha descrito en distintas especies un incremento en la fragmentación nuclear de los espermatozoides tras la incubación por más de 3 hs, a 37°C. No obstante, no existen reportes de modificaciones de los parámetros morfométricos en espermatozoides porcinos sometidos a incubaciones prolongadas. El propósito de este trabajo fue comparar

objetivamente las variables morfométricas nucleares de espermatozoides de cerdo a tiempo 0 (T_0) y luego de 4 horas (T_4) de incubación a 37° C, con el objetivo de determinar posibles cambios en la estructura. Se trabajó con seis muestras de semen fresco diluido, pertenecientes a tres cerdos en rutina de extracción. Se realizaron extendidos de cada muestra que fueron procesados con Feulgen (coloración específica del ADN). Se evaluó la morfometría nuclear con el Sistema ISAS®PROISER, analizando 200 núcleos en cada muestra. Las medias correspondientes a los parámetros directos evaluados en cada eyaculado, para los tiempos T_0 y T_4 , muestran en la siguiente tabla:

Eyaculado	1		2		3		4		5		6	
	T0	T4	T0	T4	T0	T4	T0	T4	T0	T4	T0	T4
Longitud μm	7,09	7,03	7,25	7,48	7,29	7,16	6,9	6,32	7,21	7,03	7,28	5,72
Ancho μm	3,33	3,29	3,62	3,66	3,76	3,72	3,48	3,15	3,66	3,57	3,62	2,74
Área μm^2	20,42	19,9	23,06	27,33	23,61	22,98	21	17,48	23,17	21,04	22,91	14,16
Perímetro μm	21,72	21,6	24,24	24,63	25,27	22,22	21,17	18,11	25,66	37,24	25,28	16,88

Se observó una reducción en los parámetros morfométricos en cinco de los seis eyaculados. Existieron diferencias significativas en todos ellos entre los dos tiempos considerados (Test de Wilcoxon; $p < 0,05$). Los coeficientes de variación

(CV%) tuvieron valores entre 1,10 y 15,22. Este trabajo sugiere que la exposición por tiempos ≥ 4 hs a 37°C induciría cambios estructurales en el núcleo espermático porcino cuyos orígenes e implicancias deberán ser abordados en estudios posteriores.

CONCENTRACIÓN EN TEJIDOS DE CEFuroxima LUEGO DE SU ADMINISTRACIÓN POR VÍA INTRAVENOSA, INTRAMUSCULAR Y SUBCUTÁNEA A GATOS

LORENZINI, P., PASSINI, S., ARAMAYONA, S., LUPI, M., MONTOYA, L., ALBARELLOS, G.

Introducción: La cefuroxima (CFU) es una cefalosporina de segunda generación activa sobre gram-positivos, gram-negativos, aerobios y anaerobios. Tiene una actividad antibacteriana tiempo-dependiente, por lo que el T>CIM es el parámetro que mejor correlaciona con la eficacia clínica. La CIM de la CFU para la mayoría de los patógenos es <4 µg/ml. Tiene una distribución amplia en el líquido extracelular y se elimina en forma activa por vía renal. Objetivos: El objetivo del presente trabajo fue determinar la concentración de CFU en tejidos luego de su administración por vía EV, IM y SC y establecer la relación entre dichas concentraciones y las plasmáticas. Materiales y métodos: Las muestras de tejidos se obtuvieron de gatos (EV: n=7; SC: n=5; IM: n=5) en condiciones quirúrgicas. Se utilizó una dosis de 20 mg/kg por las distintas vías. Las muestras de los tejidos abordados (piel, subcutáneo, músculo, ovario, útero, testículo, epidídimo) se obtuvieron entre 30-45 minutos luego de la administración. Los tejidos muestreados se secaron con gasa estéril para minimizar su contaminación con sangre; se los pesó y guardó a -20 °C hasta su procesamiento. Las concentraciones tisulares de CFU se determinaron por el método microbiológico. Las concentraciones tisulares correspondientes a cada vía de administración y las relaciones

de concentración tejido/plasma se compararon estadísticamente mediante el test ANOVA y se realizó un post-test de Tukey. Resultados: Las concentraciones (µg/g) de CFU en los distintos tejidos, expresadas como media±DE, para la vía endovenosa se encontraron entre 16.6±8.21 (útero) y 3.35±0.65 (testículo); para la vía intramuscular, entre 23.02±8.77 (piel) y 5.5±2.2 (músculo); para la vía subcutánea, entre: 20.55 ±7.47 (piel) y 5.14±3.15 (músculo). La relación entre las concentraciones en tejido/plasma expresadas como media±DE para la vía endovenosa, se encontró entre 0.65±0.28 (piel) y 0.13±0.06 (subcutáneo); para la vía intramuscular, entre 0.76±0.33 (piel) y 0.2±0.14 (músculo); para la vía subcutánea entre 0.71 ±0.45 (piel) y 0.21±0.21 (músculo). Conclusiones: Las concentraciones de CFU en la mayoría de los tejidos muestreados se mantuvieron en valores ≥4 µg/g para todas las vías estudiadas. Se observó que en algunas muestras de tejido subcutáneo, independientemente de la vía de administración, las concentraciones de CFU fueron menores a 4 µg/g. No se encontraron diferencias significativas (P<0.05) entre las concentraciones de CFU en los tejidos para las vías EV, IM y SC. No hubo diferencias significativas entre ninguna de las relaciones de concentración tejido/plasma comparadas.

EFECTO DE LA DIMETILTIOUREA SOBRE LA CALIDAD DEL COMPLEJO *CUMULUS* OVOCITO PORCINO Y SU COMPETENCIA PARA EL DESARROLLO *IN VITRO*

LORENZO, MS; CRUZANS, P; LOMBARDO, DM

Los ovarios de faena constituyen la principal fuente de ovocitos utilizados en biotecnologías reproductivas. Las condiciones isquémicas a las que están expuestos, más la producción de especies reactivas derivadas del oxígeno (ERO) durante la reoxigenación al momento de la aspiración folicular inducirían apoptosis y podrían dañar su calidad. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la dimetiltiourea (DMTU) como suplemento en el medio de recolección y búsqueda de los complejos *cumulus* ovocito porcinos (COC). Se trabajó con dos concentraciones 2 mM y 20 mM analizando la producción de ERO, la apoptosis temprana y tardía en ovocitos y células del *cumulus* post maduración *in vitro* (MIV) y los porcentajes de maduración nuclear. Los COC se obtuvieron por aspiración folicular; el medio de aspiración y lavado en el control fue TCM 199 suplementado y en los tratamientos se agregó al medio DMTU 2mM y 20mM respectivamente. Las cantidades intracitoplasmáticas de ERO se determinaron en ovocitos inmaduros por tinción con DCHFDA. La maduración nuclear se determinó por tinción de los ovocitos desnudos con Hoechst 33442. Se consideraron maduros aquellos ovocitos que

presentaron su núcleo en estadio de metafase II. La apoptosis post MIV se evaluó en los ovocitos por la tinción con anexina V-IP (apoptosis temprana) y TUNEL (tardía). En las células del *cumulus*, se realizó citometría de flujo luego de la tinción con anexina V-IP. Se determinó diferencias estadísticamente significativas con $p < 0,05$. La cantidad intracelular de ERO disminuyó significativamente en los grupos tratados ($p \approx 0$; $n=607$). No se observaron efectos sobre los porcentajes de maduración nuclear, ($p=0,362$; $n=357$). Los bajos porcentajes de apoptosis ovocitaria obtenidos, no permitieron un análisis estadístico. La tendencia indicaría que la DMTU disminuye los porcentajes de apoptosis. En las células del *cumulus* de los grupos tratados, se observó un aumento significativo de la viabilidad ($p \approx 0$; $n=90000$) y una disminución de la apoptosis temprana ($p \approx 0$). La apoptosis tardía disminuyó en el grupo 20 mM ($p \approx 0$). Las células del *cumulus* constituyeron una población útil para predecir el efecto de la DMTU sobre los ovocitos. Los resultados obtenidos hasta el momento se complementarán con la evaluación de la maduración citoplasmática y el desarrollo embrionario post FIV.

ENSAYO DE ESTRÉS NUTRICIONAL PARA EVALUAR LA CALIDAD DE PROGENIE EN EL CAMARÓN ORNAMENTAL *Neocaridina davidi*

MARCIANO A, TROPEA C, LÓPEZ GRECO LS.

La acuicultura de crustáceos ornamentales, en especial de *Neocaridina davidi*, se ha incrementado en Argentina en los últimos años. Esta actividad se destaca por el elevado precio de los organismos y porque la escala en la que puede realizarse para que sea rentable es compatible con pequeñas unidades de producción y moderado grado de tecnificación. El objetivo de este trabajo fue evaluar la resistencia a la inanición de los juveniles de *N. davidi* obtenidos en sucesivas puestas. Se conformaron 19 grupos reproductores que fueron revisados para la detección de hembras ovígeras. Una vez que los juveniles eclosionaban, 10 eran destinados a la medición del largo inicial, mientras que 18 eran expuestos a 6 tratamientos de restricción alimentaria: AC (alimentación continua), IC (inanición continua), I4 (inanición durante los primeros 4 días), I8 (inanición durante los primeros 8 días), I12 (inanición durante los primeros 12 días) e I16 (inanición durante los primeros 16 días). Luego de la inanición los

juveniles fueron alimentados hasta el día 32 y fueron medidos para la determinación del largo final y el cálculo del incremento en largo. Se analizaron 6 puestas sucesivas. Los juveniles de la puesta 1 presentaron la menor resistencia mientras que los de la puesta 3 presentaron la mayor resistencia. El resto de las puestas tuvieron un desempeño intermedio. Los tratamientos de inanición más extremos (I12, I16 e IC) sólo pudieron evaluarse estadísticamente en las puestas 3 a 6 que presentaron un número apropiado de supervivientes, lo que podría ser un indicio de que las hembras de mayor edad producirían juveniles más resistentes. Además, es importante destacar que los juveniles crecieron igual que el control cuando no comieron ni 4 ni 8 días, lo cual además de ratificar que es una especie resistente, es un resultado que permite ahorrar al productor alimento durante los primeros días de vida y favorecer al mantenimiento de la calidad de los estanques haciendo un uso más racional del recurso hídrico.

DBBE, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires e IBBEA, CONICET-UBA.

Financiamiento: PICT 2012 (01333), UBACYT 2014-2017 (20020130100186BA) y PIP 2015-2017 (11220150100544).

RÁPIDA DETECCIÓN DE BOVINOS LECHEROS CON TUBERCULOSIS MEDIANTE PCR EN LECHE

MARFIL, MARÍA JIMENA^{1,2}; ROMANO, MARÍA ISABEL¹; ZUMÁRRAGA MARTÍN JOSÉ¹

La tuberculosis bovina es causada por *Mycobacterium bovis*, perteneciente al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT). Afecta a distintos mamíferos y por su carácter zoonótico, también al hombre. La transmisión entre bovinos ocurre principalmente por vía aerógena siendo la vía digestiva un factor de riesgo para los terneros de las guacheras que son habitualmente alimentados con leche sin tratamiento térmico proveniente de vacas con mastitis del mismo establecimiento. Asimismo, representa un riesgo para la salud humana cuando se ingiere leche o derivados sin pasteurizar. La leche bovina es ampliamente utilizada, tanto para consumo como para insumo de la producción de distintos derivados de la industria alimenticia. El objetivo del trabajo fue detectar bovinos lecheros con tuberculosis mediante PCR en leche. De un establecimiento de la localidad de Suardi, provincia de Santa Fe, se recolectaron y procesaron 67 muestras de leche, de las cuales 18 provinieron de vacas con mastitis clínica. Las muestras (50mL) se centrifugaron a 3.000 rpm por 20 minutos. Se tomó con una pipeta Pasteur

una porción del precipitado y otra de la capa de grasa, se resuspendió en buffer TE 1x con SDS 10% y proteinasa K y se incubó por 40 minutos a 65°C. Posteriormente fue sometido a 100°C por 10 minutos y se realizaron dos extracciones con fenol-cloroformo-isoamílico y otra con cloroformo-isoamílico. Para la detección por PCR del CMT se utilizó la secuencia de inserción IS6110, con el ADN extraído sin diluir y diluido 1/20 en agua. Todas las muestras de leche de las vacas sin mastitis fueron negativas por IS6110-PCR. En el caso de las vacas con mastitis, se obtuvieron 11 muestras positivas representando el 61% de las vacas con mastitis y el 16% del total de vacas evaluadas. En solo 2 casos se obtuvieron PCR-IS6110 positiva en el ADN sin diluir y en el diluido 1/20. Una vez que el método de PCR es estandarizado constituye un método rápido, específico, sensible, simple y eficiente para la detección de *M. bovis*. Este método y estrategia fue incorporado al Plan de control y Erradicación de tuberculosis bovina de la provincia de Santa Fe en forma complementaria a la tuberculina.

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

EMBRYOTROPHIC EFFECT OF BOVINE LUTEAL CELLS COCULTURE: AN ALTERNATIVE TO IMPROVE IVF EMBRYO PRODUCTION

MARURI A, CRUZANS P, TELLO F, LORENZO S, LOMBARDO DM.

Embryo-somatic cell coculture is an alternative to improve the development and viability of mammalian embryos. However, little is known about the mechanisms underlying their beneficial effects. Somatic cells could remove deleterious components, secrete growth factors and modulate medium conditions. The aim of this study was to evaluate the effect of bovine luteal cells on early embryonic development. Two embryo quality markers were employed, the TUNEL assay for detecting late apoptosis and immunofluorescence detection of antigen Ki-67, a protein that is associated with cellular proliferation. Early corpora lutea were retrieved from slaughter ovaries and the cells were isolated to obtain a primary culture. The bovine luteal cells were purified by Percoll density gradient centrifugation and then were cryopreserved and stored until its use. Purity was determined by anti-3 beta-HSD immunocytochemistry. *In vitro* embryo production (IVP) was carried out using cumulus-oocyte complexes (COC) recovered from antral ovarian follicles. After 22 h of *in vitro* maturation, COC were coincubated with sperm for 5 h. Then, presumptive zygotes were denuded and randomly allocated to one of two culture conditions: without cells (C: control group; n = 141) or with bovine luteal

cells (L: coculture group; n = 133) using in both cases SOF medium. On day 2, cleavage was recorded and the embryos were transferred to new droplets of SOF medium. Embryo development was evaluated on day 8 and the embryos were classified according to the IETS standards. Anti-Ki-67 immunofluorescence was performed in 2-Day embryos (n = 119) and late apoptosis was assessed by TUNEL assay in 7-Day blastocysts (n = 52) from each experimental group. Data were statistically analyzed using Proportion test and non parametric Kruskal Wallis test. Differences with $P < 0.05$ were considered statistically significant. It was found that there were no differences in cleavage rate (L: 83% vs. C: 83%), whereas proliferation index (Ki-67-positive cells/total blastomeres) in the coculture group was higher than the control (L: 0.45 vs. C: 0.13). On the other hand, the bovine luteal cells coculture increased the blastocysts rate (L: 50% vs. C: 30%) and blastocysts-stage 6 rate (L: 37% vs. C: 24%) and decreased late apoptosis rate (L: 4.10% vs. C: 10.90%). In conclusion, bovine luteal cells exert an important trophic effect on bovine early embryos. Therefore, this coculture system is able to be used successfully to optimize the IVP in cattle.

RESPUESTA DE TRES ESPECIES DE PECES NATIVOS A LA ADMINISTRACIÓN DE HONGOS AUTÓCTONOS CON PROPIEDADES BENÉFICAS

MENDOZA, J.A.^{1,2}; GUIDOLI, M.G.^{1,2}; BOEHRINGER, S.I.¹; SÁNCHEZ, S.²

El uso de probióticos para incrementar parámetros biométricos y el estado sanitario de animales se aplicó con éxito en numerosas producciones. En acuicultura presentó resultados variables debido al uso de productos comerciales conteniendo organismos aislados de otros nichos. Así, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de cepas fúngicas autóctonas con potencialidad benéfica en la larvicultura intensiva de Pacú (*Piaractus mesopotamicus*), Sábalo (*Prochilodus lineatus*) y Bagre (*Rhamdia quelen*). Las cepas *Candida tropicalis* (A y B), *C. lambrica* (C) y *Aureobasidium* sp (D) fueron administradas, durante 15 días, a grupos de 300 larvas en dosis 6×10^4 , 6×10^6 y 6×10^8 UFC/L para las levaduras y 6×10^2 , 6×10^4 y 6×10^6 UFC/L para el moho. Al finalizar se

obtuvieron los valores de sobrevivencia, peso medio y biomasa total producida. La respuesta a los tratamientos fue diferente en cada especie. En Sábalo se observaron incrementos del 21,8 y 8,5% de la biomasa total con las cepas A y B respectivamente y disminuciones del 50,7 y 33,3% con las cepas C y D. Las larvas de Bagre mostraron un comportamiento inverso, con incrementos del 9,62 y 8,4% en la biomasa total para las cepas C y D y disminuciones de 16,6 y 14,1% con las cepas A y B. No se observaron diferencias entre los tratamientos con las larvas de Pacú. Los resultados refuerzan la teoría de especificidad de especie que establece que la respuesta de los animales frente a estos tratamientos no sólo es género y especie sino también cepa dependiente.

¹Cátedra de Microbiología e ²Instituto de Ictiología del Nordeste – Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste – Sargento Cabral 2139, Corrientes, Argentina – tel: 03794425753 int165 y 171 – serviciomicro@vet.unne.edu.ar, inicne@vet.unne.edu.ar.

CONCURRENCIA DE SINDROME DE CUSHING Y DIABETES MELLITUS EN PERROS

D.D. MICELI^{a,b}, P.N. VIDAL^a, O.P. PIGNATARO^b, V.A. CASTILLO^a

El Síndrome de Cushing (SC) y la Diabetes Mellitus (DM) son dos enfermedades bien documentadas en perros. Se pueden presentar tanto en forma independiente como concurrente. Los perros con SC tienen tendencia a la hiperglucemia y dislipemias. El hipercortisolismo induce un estado de insulinoresistencia, ya que incrementa la gluconeogénesis hepática y disminuye la utilización de glucosa. Objetivos: Estudiar la concurrencia entre SC y DM y evaluar los factores de riesgo en los perros con SC que podrían predisponer el desarrollo de DM. Se estudiaron 235 perros con SC (2011-2015) y se distribuyeron en tres grupos de acuerdo a sus glucemias de ayuno: <100mg/dl, 100-180mg/dl y >180mg/dl (*perros con DM*), evaluando la edad, el sexo, la raza, la causa del SC, la condición corporal, la glucemia, el colesterol, los triglicéridos, la relación cortisol/creatinina urinaria (UCCR) y el tiempo de supervivencia. Se evaluó la concurrencia de ambas enfermedades y los factores de riesgo que predisponen a la DM. Se utilizó Mann-Whitney y Kurskall-Wallis seguido del Dunn-test. Para la asociación entre las variables y la DM: test de Fisher y se calculó el riesgo relativo (RR) y el valor predictivo positivo (PPV). $p < 0.05$ (como mediana y rangos). El 13,61% de

los perros con SC presentó DM. Los niveles de colesterol, triglicéridos y UCCR de los perros con SC y DM presentan diferencias significativas respecto a los demás grupos ($p < 0.001$, $p < 0.001$ y $p < 0.05$). Analizando el riesgo de desarrollar DM, observamos una asociación significativa en perros con glucemias >100mg/dl ($p < 0.001$, RR 1.16, PPV 0.98), colesterol >350mg/dl ($p < 0.01$, RR 1.13, PPV 0.98), triglicéridos >250mg/dl ($p < 0.05$, RR 1.17, PPV 0.95), UCCR >100x10⁻⁶ ($p < 0.05$, RR 1.13, PPV 0.95), corticotropinoma ($p < 0.05$, RR 0.85, PPV 0.08) y las perras no castradas ($p < 0.05$, RR 0.86, PPV 0.77). El tiempo de supervivencia de los perros con SC sin DM es mayor a los perros con SC y DM ($p < 0,01$) con un Hazard ratio de 0,36. La concurrencia de SC y DM es del 13,61%. Los perros con glucemias >100mg/dl, con colesterol >350mg/dl, con triglicéridos >250mg/dl, con UCCR >100x10⁻⁶ tienen mayor riesgo de desarrollar DM. Los perros con corticotropinoma y las hembras no castradas tienen una mayor predisposición a desarrollar DM. La aparición de DM en perros con SC reduce el tiempo de supervivencia. La pronta detección de los factores de riesgo permitirá implementar terapias para reducir la incidencia de DM en perros con SC.

^aHospital Escuela, Unidad de Endocrinología, FCV (UBA), Av. Chorroarín 280, Bs. As. CP 1427. ^b Endocrinología Molecular y Transducción de Señales, IBYME (CONICET), Vuelta de Obligado 2490, Bs. As. CP 1428

USO DE DROGAS COXIBS: Evaluación CARDIOLÓGICA EN CANINOS SANOS

MONFRINOTTI, A¹; PORTA, N¹; PASSINI, S¹; LUPI, M.¹; ALBARELLOS, G¹; MONTOYA, L¹.

Introducción: La inclusión de antiinflamatorios no esteroides COXIBs en medicina ha buscado minimizar los efectos colaterales principalmente en el sistema gastrointestinal. Trabajos anteriores han evidenciado en medicina humana ciertas alteraciones cardiológicas en el uso crónico de algunas de estas drogas. **Objetivo:** Evaluar el trazado electrocardiológico luego de la administración de monodosis de firocoxib (FXC) y tratamiento crónico con mavacoxib (MVX) en caninos sanos intentando detectar posibles modificaciones en la actividad eléctrica del corazón. **Materiales y métodos:** Se utilizaron 6 caninos Beagles (14.53+/-0.88 kg) pertenecientes al Área de Caniles de la Facultad de Cs. Veterinarias, UBA (CICUAL 2015/34). Fueron tratados con FXC (Previcox, Merial comprimidos) 5 mg/kg vía oral única dosis. Pasado un mes, se volvieron a dosificar con MVX (Trocoxil, Pfizer tabletas masticables) a 2 mg/kg junto a la comida. Dicha droga se repitió a los 15 y 45 días. Todas las administraciones para ambas drogas fueron hechas a las 8:00 AM. Se realizó un electrocardiograma (ECG) basal antes de iniciar el estudio, repitiéndose a las 24 para

el FXC, 48 h, 15 y 45 días de MVX. Los ECG fueron obtenidos en decúbito lateral derecho con un electrocardiógrafo Cardio Técnica RG501 plus digital de 3 canales. Se tomaron como variables la frecuencia cardíaca (FC, complejos/min), ritmo, las ondas P, T, el complejo QRS, los intervalos P-R y Q-T y el segmento S-T. Se evaluó la duración (seg) y/o amplitud (mV). Se analizaron los resultados mediante un test estadístico de medidas repetidas ANOVA y se realizó un post test para detectar las diferencias ($p < 0,05$). **Resultados:** La frecuencia cardíaca no mostró diferencias significativas manteniendo un ritmo irregular. De las variables estudiadas, no se hallaron valores fuera del rango de referencia para la duración ni la amplitud. Ninguna de ellas demostró diferencias significativas entre las distintas observaciones en los tiempos estudiados. **Conclusiones:** Sería necesario continuar con la evaluación de estas drogas por mayor tiempo ya que los efectos adversos cardiológicos fueron relacionados a tratamientos prolongados. Debido a que estos resultados son preliminares, determinaciones futuras podrían ayudar a comprender el papel que tienen estas drogas en la presentación de alteraciones cardíacas.

¹ Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA

RELACIÓN ENTRE DISTINTOS TIPOS GENÉTICOS Y EL PERFIL LIPÍDICO Y LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LA CARNE DE NOVILLOS ENGORDADOS A PASTO

MUTTI, F. E.¹ *; GRIGIONI, G.^{2,3}; PIGHÍN, D.^{2,3}; CUNZOLO, S. A.^{2,3} Y BALDO, A.¹

La calidad de la carne está asociada entre otras características, al contenido de grasa y el perfil de ácidos grasos y estos pueden variar con la raza del animal utilizado y con el sistema de engorde. Además el sistema ejerce efecto sobre algunas características físicas, como el color, el pH y las mermas por cocción. El objetivo de este trabajo fue determinar la relación entre distintos tipos genéticos y la calidad nutricional y física de la carne de novillos recriados y terminados en un sistema pastoril. Se invernaron 4 novillos Angus (AA), 5 novillos Holando Argentino (HA), 4 novillos cruza Wagyu x Angus (WxAA) y 5 novillos cruza Wagyu x Holando Argentino (WxHA). El momento de faena fue cuando los animales superaron los 8,5 mm de grasa determinados por ultrasonografía sobre P8. Con 24 horas de oreo en cámara a 4°C se extrajo el bloque de bifes entre la 8va y el 13er costilla, sobre el cual se realizaron las mediciones de color de músculo y grasa, pH, mermas por

cocción, determinación de extracto etéreo (EE) y perfil lipídico por cromatografía gaseosa. Los valores obtenidos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias según el procedimiento de diferencias mínimas significativas (LSD) de Fisher usando el paquete Statgraphics Centurion XVI. Solo se encontraron diferencias significativas en los valores de pH, siendo mayor para los novillos HA. Los resultados encontrados en relación al perfil lipídico se corresponde con lo esperado para sistemas pastoriles, no encontrando diferencias entre los distintos tipos genéticos utilizados. Las relaciones de omega 6 y omega 3 ($n6/n3$), monoinsaturados y saturados (MUFA/AGS) y poliinsaturados y saturados (PUFA/AGS) se encontraron dentro de valores considerados como saludables. Si bien existe una diferencia entre genotipos, el pH se considera dentro de los valores esperables para carne madura en todos los animales.

1. Departamento de Producción Animal, Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata. 2. INTA ITA Castelar, Buenos Aires, Argentina. 3. CONICET

GENERACIÓN DE UNA PROTEÍNA QUIMÉRICA RECOMBINANTE PARA SU UTILIZACIÓN EN UN PRUEBA DIAGNÓSTICA DE VIF

NUÑEZ, D.; DIAZ, L.; BRATANICH, A.; BUCAFUSCO, D.

El Virus de la Inmunodeficiencia Felina (VIF) se encuentra distribuido mundialmente con una prevalencia del 45% en la población de riesgo. Su diagnóstico se basa en técnicas serológicas que detectan anticuerpos contra proteínas virales. En el Área de Virología (FCV-UBA) se desarrolla un test de ELISA para detectar anticuerpos contra la proteína p24 de VIF. Para ello se generó una p24 recombinante producida en *E. Coli*. El objetivo del trabajo, es producir una proteína recombinante quimérica compuesta por p24 unida a un péptido antigénico de gp40 (gp40_{pept}) para incrementar el valor diagnóstico del test de ELISA. A partir de muestras de gatos infectados con VIF, se amplificó por PCR una secuencia de ADN codificante para p24 a la cual se le fusionó un péptido conector y gp40_{pept} utilizando primers modificadores. Los fragmentos obtenidos, se integraron al vector de expresión procariota pRSET-C mediante T4 ligasa. Partiendo de esta construcción, se transformaron bacterias *E. Coli* DH5 α . La correcta incorporación de plásmidos portadores

del gen heterólogo, se verificó por restricción enzimática del ADN obtenido a partir de colonias resistentes a ampicilina. Luego, la construcción fue incorporada a bacterias *E. Coli* BL21 (DE3) para expresar la proteína recombinante. La secuenciación de p24-gp40_{pept} obtenida, demostró una homología del 99% con secuencias de VIF del resto del mundo almacenadas en GenBank. Este resultado concuerda con lo esperado para el gen p24 de este virus. La correcta expresión de la proteína recombinante en la fracción insoluble de BL21, fue corroborada mediante SDS-PAGE y Western Blot utilizando anticuerpos contra histidina. La incorporación de p24-gp40_{pept} a los sistemas diagnósticos disponibles, permitirá mejorar la sensibilidad de estas pruebas de uso masivo. Estas técnicas de desarrollo nacional, reducirán drásticamente los costos del diagnóstico transformándolas en herramientas de suma utilidad en la prevención de la inmunodeficiencia felina, así como en el estudio de la de la epidemiología, la clínica y su tratamiento.

EXPRESIÓN DE LA MOLÉCULA DE UNIÓN CADERINA N Y LA PROTEÍNA DE PLURIPOTENCIALIDAD OCT-4 DURANTE LA MIGRACIÓN Y COLONIZACIÓN DE LAS CÉLULAS GERMINALES PRIMORDIALES A LA CRESTA GONADAL EN *COLUMBA LIVIA* (AVES: COLUMBIFORMES)

OLEA, GB¹, AGUIRRE, MV¹, LOMBARDO DM²

En aves las células germinales primordiales (CGPs) migran desde una ubicación anterior a la fosita primitiva y el nodo de Hensen, hacia la cresta genital. El método de tinción clásicamente utilizado para distinguir las CGPs de las células somáticas fue la reacción histoquímica de PAS. En las últimas décadas se utilizó el gen *Vasa* homólogo (*CVH*) y se ha demostrado su expresión específica en la línea germinal aviar. Actualmente, otros inmunomarcadores han sido propuestos para la identificación de células de la línea germinal, tal es el caso de Oct-4 y caderina N. En este trabajo, se presenta el análisis de la expresión diferencial de la molécula de unión caderina N y la proteína de pluripotencialidad Oct-4 en embriones de *Columba livia* durante la migración de las CGPs. Para ello se reveló por inmunohistoquímica en preparados histológicos de un total de 30 embriones (5 por cada estadio) de *C. livia* correspondientes a los estadios (E) 15 a E20 la expresión de

caderina N y Oct-4, utilizando un anticuerpo anti N-cadherina (1 mg/ml) en una dilución de trabajo 1:100 y un anticuerpo anti Oct-4 a una dilución de trabajo estándar, ambos incubados por 60 min a 37°C; y revelados según el protocolo indirecto de "L-streptoavidina biotina". La expresión de caderina N y Oct-4 en la línea germinal de *C. livia* nos permitió identificar claramente las CGPs en la membrana del saco vitelino a nivel del mesodermo esplácnico durante la migración hacia la cresta genital. La expresión de caderina N por las CGPs es necesaria para la interacción CGP-CGP y para su migración a través del sistema nervioso en desarrollo. Futuros estudios se focalizaran en el análisis de la expresión de otros marcadores de pluripotencialidad (Nanog) y genes de desarrollo temprano (BMP) con la finalidad de confirmar y ampliar los resultados obtenidos en el presente análisis, determinando la ruta migratoria, la colonización y el inicio de la diferenciación en la línea germinal, con el comienzo del desarrollo gonadal.

¹Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas Facultad de Medicina (LIBIM). CONICET. 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). C1427CWO.

EFFECTOS DE LA DEFICIENCIA DE COBRE INDUCIDA POR ALTOS NIVELES DE MOLIBDENO Y AZUFRE EN LA DIETA SOBRE EL CORAZÓN DE BOVINOS.

BECARIO: OLIVARES R.W.I.; DIRECTOR: MINATEL L.

La deficiencia de cobre (Cu) cursa con múltiples lesiones debidas a la alteración de enzimas Cu dependientes. La menor absorción de Cu dietario se puede producir mediante su interacción con molibdeno (Mo) y azufre (S). El objetivo del trabajo es comprobar que los bovinos deficientes en Cu tienen alteraciones cardíacas debidas a 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 los niveles de Cu hepáticos y plasmáticos. Luego de inducir la deficiencia se practicó la eutanasia. Se pesó el corazón y se midió el espesor de las paredes cardíacas. Se tomaron muestras de miocardio para medir Cu tisular, estimar el estrés oxidativo por TBARS, medir la actividad de las enzimas SOD y COX y detectar alteraciones morfológicas (por microscopía óptica y electrónica, e inmunohistoquímica). Al finalizar ambos ensayos, luego de 341 días, 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 (peso y espesor de las paredes cardíacas).

Los valores de Cu cardíaco fueron de $19,4 \pm 2,1$ ppm para el grupo Cu y $15,5 \pm 1,7$ ppm para el grupo Mo (diferencia significativa). Los valores de TBARS cardíacos fueron de $76,9 \pm 27,2$ nMol de TBARS/g para el grupo Cu y $154,3 \pm 37,4$ nMol de TBARS/g para el grupo Mo (diferencia significativa). La actividad de la enzima COX fue de $14,6 \pm 5,3$ $\text{min}^{-1}/\text{mg}$ proteína para el grupo Cu y $11,9 \pm 5,1$ $\text{min}^{-1}/\text{mg}$ proteína para el grupo Mo. La actividad de la SOD fue de $23,8 \pm 7,2$ UI/mg proteína para el grupo Cu y $16 \pm 5,4$ UI/mg proteína para el grupo Mo (diferencia significativa). La observación histológica reveló en el grupo Mo un incremento significativo en la cantidad de tejido conectivo miocárdico total y de ambos ventrículos, así como un severo engrosamiento en las láminas basales (endomio y perimio). El análisis de imágenes de los cortes 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 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 histológicas y ultraestructurales.

FOSFORILACIÓN EN TIROSINA EN ESPERMATOZOIDES DE CERDO SOMETIDOS AL DESCENSO DE TEMPERATURA: EFECTOS DE LAS LDL Y DE LA YEMA CLARIFICADA

ORREGO MT¹, MELIAN SI¹, PEDRAZA MM¹, CISALE H², PIEHL LL¹.

La crio-capacitación es un fenómeno que conduce a diversos cambios en los espermatozoides criopreservados, entre ellos eventos de señalización mediados por la fosforilación en tirosina de las proteínas (PTP). Los patrones de PTP suelen ser controvertidos y diferentes a los de la capacitación fisiológica, aunque algunos autores han reportado la presencia de la banda de 32 kD característica de la capacitación espermática en cerdo. En el presente trabajo nos propusimos evaluar los efectos de la fracción soluble o yema clarificada (YC) y de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) de la yema de huevo, como medios protectores al daño por frío, sobre las PTP de los espermatozoides. Muestras de semen fresco (n=3, r=4), diluidas en diluyente Androstar®plus (D), fueron estabilizadas 2 h a 17°C, centrifugadas y los espermatozoides resuspendidos a cc = 1,5 x10⁹ células/ml en: 1) D, 2) YC en D, 3) LDL en D. La temperatura fue disminuida de 17°C a 5°C (0,1°C/min). Antes y después de la incubación, se evaluó: 1) motilidad 2) perfil proteico (PP) por SDS-PAGE y 3) PTP por Western blot (2 y 3 en células separadas de los aditivos y lavadas). Los espermatozoides expuestos al descenso de temperatura mantuvieron su motilidad

tanto en presencia de LDL como de YC, a diferencia de los incubados en D. En muchas muestras se observó la presencia tenue de la banda de 32 kD aún antes de los tratamientos y el enfriamiento. Solo en algunos casos, dependiendo del animal y de la muestra, se observó un aumento o aparición de la banda de 32 kD luego del descenso de temperatura en D. En la mayoría de los casos, los tratamientos con YC y LDL, no modificaron la intensidad de la banda de 32 kD. En los espermatozoides tratados con la YC, a diferencia de los tratados con LDL, se observó la presencia de dos bandas correspondientes a las dos proteínas fosforiladas principales de la YC, una de ellas coincidente con la fosfovitina (34 kD) claramente diferente de la banda de 32 kD. La transferencia de proteínas también fue observada en el PP y confirmada mediante controles. Nuestros resultados indican que el efecto crioprotector no estaría directamente relacionado con cambios en las PTP durante el descenso a 5°C y que PTP de la yema interaccionan con los espermatozoides. Futuros estudios determinarán cuál es la relevancia de esta interacción y si la misma conduce a efectos diferentes de las LDL y la YC sobre los espermatozoides post-congelamiento.

¹Cátedra de Física, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. ²Cátedra de Física Biológica e INITRA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.

COMPOSICION MICROBIANA Y CARACTERISTICAS FERMENTATIVAS DEL RUMEN DE OVEJAS Y LLAMAS ALIMENTADAS CON FORRAJES DE BAJA CALIDAD

ORTIZ, A.^{1*}; WAWRZKIEWICZ, M.²; CERÓN CUCCHI, M.E.¹; FERNÁNDEZ PEPI, M.G.²; JAURENA, G.²

Frecuentemente se señala que los camélidos sudamericanos tienen una mayor capacidad digestiva para aprovechar recursos forrajeros de baja calidad. Sin embargo se dispone de escasa información tendiente a explicar estos mecanismos. Objetivo: Evaluar la composición microbiana y las características bioquímicas del licor ruminal (LR) comparando ovejas y llamas alimentadas con forrajes de baja calidad. Fueron utilizados dos llamas (*Lama glama*) y tres ovejas (*Ovis aries*) provistas de cánula de rumen permanente. Los animales fueron alimentados a voluntad con una dieta de heno de festuca (*Festuca arundinacea*) de baja calidad nutricional (MS910 g kg⁻¹ material original; g kg⁻¹ materia seca, proteína bruta 63, cenizas 87, FDN 773, FDA 432 y LDA 40). Los tratamientos consistieron en tres LR de llama (dos individuales + un *pool* de licor) y cuatro LR de oveja (tres individuales + un *pool* de licor). Los animales fueron adaptados a las instalaciones y al forraje durante 21 días, y el proceso se repitió en dos periodos experimentales separados por 7 días (bloques). Las muestras del contenido ruminal fueron extraídas antes de la alimentación diaria, y mezcladas de modo de asegurar c.a.

50:50 líquido:sólido. Se utilizó un diseño en bloques (períodos) completos aleatorizados, y los resultados se analizaron por ANOVA, considerándose significativos los efectos si $P \leq 0,05$. La densidad total de protozoos ciliados en rumen fue mayor para las llamas en comparación a las ovejas (4.69 vs 4.55, expresados en log₁₀, $P \leq 0.05$). La densidad total de bacterias del rumen (8.50 vs 8.36) no fueron diferentes entre las llamas y ovejas ($P = 0.587$). Sin embargo la densidad de bacterias celulolíticas (9.32 vs 8.68) fue mayor para las llamas en comparación con las ovejas ($P \leq 0.05$). El pH ruminal en ambas especies se encontró dentro del rango esperado, cercano a la neutralidad. En todos los parámetros bioquímicos analizados (N-NH₃, y ácidos grasos volátiles), el LR de las llamas mostró indicadores de mayor grado de actividad (mayor concentración de N-NH₃ y ácidos; $P < 0,05$). Se puede concluir que las llamas presentaron mayor densidad de protozoos, bacterias celulolíticas, y mayor concentración de N-NH₃ y AGVs en comparación a las ovejas. Esta situación podría explicar en forma parcial las ventajas comparativas en la capacidad de adaptación a forrajes de baja calidad.

¹Instituto de Patobiología, INTA Castelar. ²Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires Av. San Martín 4453. Buenos Aires - Argentina.

ESTABILIDAD DE LA AMPICILINA SÓDICA UNA VEZ RECONSTITUÍDA

PAES RODRÍGUEZ, J.D.; KREIL, V.

La ampicilina es un antibiótico betalactámico de espectro ampliado utilizado en la clínica para tratar diversas enfermedades producidas por agentes bacterianos. Varios autores informaron que la ampicilina presenta mayor estabilidad cuando menor es la concentración final de la solución (20-30µg/ml). Sin embargo, las presentaciones comerciales de ampicilina alcanzan concentraciones finales mayores (100 y 200mg/ml), que pueden influir en la estabilidad de la misma. El objetivo de este trabajo fue evaluar si la ampicilina sódica pierde efectividad (parcial o totalmente) a lo largo del tiempo una vez reconstituída en concentraciones de 100 y 200 mg/ml. Se utilizó una preparación de ampicilina sódica comercial (Trifacilina 1000[®], Laboratorio Bagó) que fue reconstituída en dos concentraciones finales, de 100 mg/ml y 200 mg/ml, y mantenida en heladera a 4 °C durante toda la experiencia. De cada solución se tomó una alícuota, a tiempos prefijados (tiempo 0, 6 horas, 24 horas, 48 horas y 7^o día post-reconstitución) que fue diluida hasta obtener cuatro concentraciones (25, 12,5, 6,25 y 3,125µg/ml). La actividad antimicrobiana del

antibiótico se determinó mediante el método microbiológico utilizando medio de cultivo agar Mueller Hinton y microorganismo patrón *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Cada día se realizó una curva estándar patrón, y se sembraron 50 µl de cada concentración en placas de Petri que fueron incubadas por 18 horas a 36°C. Los diámetros de los halos de inhibición se midieron con calibre digital. Las curvas de calibración fueron analizadas mediante el programa Graph Pad Prism en exactitud, precisión, linealidad (r^2) y paralelismo. Todas las curvas de calibración fueron paralelas para cada día y cada concentración ($P < 0.33$). La exactitud medida como bias fue menor a 15%, la variación interdía fue menor al 10% y el coeficiente de correlación de la regresión lineal (r^2) fue mayor a 0,995. Sin embargo, a las 48 hs después de la reconstitución se produjo una diferencia significativa de la ordenada al origen para la concentración 200 mg/ml, y a los 7 días hubo diferencias para las concentraciones 100 y 200 mg/ml con la curva testigo. Estos resultados estarían indicando que la ampicilina pierde efectividad para ambas concentraciones con el transcurso de los días.

ESTUDIO DE LA FERTILIDAD Y VIABILIDAD DE QUISTES HIDATÍDICOS DE BOVINOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES

PALADINI, A¹; LASTA, GE²; GAMBOA, MI¹; RADMAN, NE.¹

La hidatidosis es una zoonosis causada por el metacestode de *Echinococcus granulosus*. Los cánidos, hospedadores definitivos albergan el estadio adulto y los ovinos, bovinos y cerdos entre otros animales, actúan como hospedadores intermediarios y alojan el hidátide. Los quistes hidatídicos fértiles son aquellos que tienen protoescólices en su interior. El objetivo del trabajo fue determinar la fertilidad y viabilidad de quistes hidatídicos provenientes de bovinos de la provincia de Buenos Aires. Se realizaron 4 muestreos en un frigorífico de la localidad de Gorina, La Plata, donde se faenan bovinos provenientes de diez partidos diferentes de la provincia de Buenos Aires. Se recolectaron en la playa de faena quistes visibles y/o palpables de distintos órganos, en su mayoría pulmón e hígado. En el laboratorio, cada quiste se trató de manera individual; agitándose por inversión 3 veces, a fin de distribuir homogéneamente los protoescólices. Se realizó la punción/aspiración del líquido en forma aséptica, el líquido obtenido se centrifugó (10 minutos a 3500

rpm) y se observó el sedimento en microscopio óptico (10 X y 40 X). En el caso de encontrar protoescólices (quistes fértiles) se realizó la prueba de azul de etileno para determinar viabilidad. Se muestrearon 49 animales: 48 vacas adultas y 1 toro. Se halló un máximo de 7 quistes por órgano. Se obtuvieron 82 muestras, 74 de pulmón (90,24%) y 8 de hígado (9,76%). De las 74 muestras de pulmón, 5 fueron fértiles (6,76%), correspondientes a animales de dos partidos de la provincia. Los otros quistes extraídos fueron infértiles. En conclusión, la presencia de quistes fértiles fue baja, la mayor fertilidad se observó en los quistes procedentes de parénquima pulmonar de bovinos de dos de las localidades incluídas, evidenciando allí la presencia de factores de riesgo para la salud humana y animal. Si bien la muestra fue pequeña y provenían de animales adultos, la viabilidad hallada fue elevada, lo cual implica elevado potencial epidemiológico. Son necesarios más estudios a fin de determinar si lo observado se debe a particulares características biológicas de las cepas circulantes.

¹Cátedra de Parasitología Comparada.²Cátedra de Tecnología y Sanidad de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, 60 y 118. apaladini@fcv.unlp.edu.ar

PARTICIPACIÓN DE LA ENZIMA LACTATO DESHIDROGENASA EN LA REACCION ACROSOMAL DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS CRIOPRESERVADOS

PARIS DUPRAT ML, BREININGER E, RODRIGUEZ PC

La enzima lactato deshidrogenasa (LDH; 1.1.1.27) cataliza la oxidación reversible del lactato a piruvato utilizando la coenzima NAD. Esta enzima está involucrada en la generación de la energía necesaria para los procesos metabólicos del espermatozoide y su actividad fue previamente demostrada en semen porcino fresco. 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 y estudiar su participación en el proceso de reacción acrosomal en espermatozoides porcinos criopreservados. 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 μ mol de NADH/minuto. Los porcentajes de espermatozoides reaccionados

se determinaron, en presencia y ausencia de diferentes concentraciones de oxamato de sodio (inhibidor competitivo de LDH; 0,5, 1, 5 y 10 mM) en el medio de incubación utilizando fluido folicular porcino como inductor fisiológico de la reacción acrosomal, por la técnica de azul tripan y contraste interferencial diferencial (DIC). Se evaluaron la vitalidad por la técnica de eosina/nigrosina y la movilidad por microscopía óptica en platina termostaticada. La actividad de LDH fue $0,65 \pm 0,09$ UE/ 10^{10} espermatozoides (promedio \pm error estándar de la media). El agregado del oxamato de sodio, inhibidor competitivo de la enzima, a una concentración de 1 mM, disminuyó significativamente los niveles de reacción acrosomal ($8,67 \pm 0,33$) sin afectar la motilidad ni la vitalidad. Los resultados obtenidos indican que existe actividad de la enzima lactato deshidrogenasa en el espermatozoide porcino criopreservado y que esta enzima participa en los mecanismos que generan la energía necesaria para la reacción acrosomal, indicando la importancia de la vía fermentativa en esta célula.

PRUEBA DE ESTABILIDAD DE TEICoplanina A -20

PASSINI, S.; MONTOYA, L.; LUPI, M.; LORENZINI, P.; ARAMAYONA, S.; ALBARELLOS, G.

Introducción: Teicoplanina es un glicopéptido que actúa interfiriendo con la síntesis de péptidoglicano. Su uso está reservado exclusivamente para el tratamiento de infecciones producidas por cocos gram positivos y anaerobios multi resistentes, indicado por pruebas de susceptibilidad. La forma farmacéutica es un polvo liofilizado que una vez reconstituido debe almacenarse a 4°C por no más de 7 días. Debido al volumen empleado para pequeños animales y al costo de la droga sería de utilidad conservarla en condiciones que mantenga su potencia durante períodos más prolongados. **Objetivos:** Estudiar la estabilidad de teicoplanina en solución cuando es conservada a -20°C durante 5 meses mediante la comparación de los criterios de validación de su curva estándar. **Materiales y métodos:** Teicoplanina Richet® se diluyó con agua para inyectable a una concentración final de 200 mg/3 ml (según indicación del laboratorio), se fraccionó y almacenó a -20°C y a -70°C (control de estabilidad). Se construyeron curvas estándares de cada uno de los tratamientos (-20°C y -70°C) una vez por mes durante 5 meses. Las concentraciones del antimicrobiano se determinaron mediante el método microbiológico (cepa patrón *B. subtilis*

ATCC 6633). Los criterios que se utilizaron para validar la estabilidad de teicoplanina fueron: regresión (R^2), pendiente, precisión ($CV < 15\%$ y $< 20\%$ para el límite de cuantificación -LOQ-) y exactitud (80-120%). Estos criterios se aplicaron a cada tratamiento durante los 5 meses y se definieron los límites de detección (LOD) y LOQ de cada uno. **Resultados:** El promedio y DE para las temperaturas -20°C y -70°C de cada ensayo fueron respectivamente: R^2 : $0,99 \pm 0,006$ y $0,99 \pm 0,004$ y pendiente $6,17 \pm 0,064$ mm*ml/mcg y $6,41 \pm 0,025$ mm*ml/mcg. Por otro lado se comparó la pendiente y la ordenada al origen de la curva estándar de teicoplanina almacenada a -20°C con su correspondiente control a -70°C para cada mes, y no se observaron diferencias significativas, excepto en el mes 5, para el valor de la ordenada al origen. Del análisis de cada temperatura de conservación se obtuvo una precisión (CV%) $< 10\%$ y una exactitud entre 80 y 120%. El LOD se estableció en 0,195 mcg/ml y el LOQ en 0,39 mcg/ml, sin variación a lo largo de los 5 meses estudiados. **Conclusiones:** La teicoplanina en solución se ha mantenido estable almacenada a -70°C y -20°C demostrando una potencia equivalente durante al menos 4 meses.

RELACIÓN ENTRE EL CONSUMO DE GLUCOSA Y EL ATP DURANTE LA MADURACIÓN DE LOS OVOCITOS PORCINOS IN VITRO

PAZ, MATÍAS¹; GUTNISKY, CYNTHIA^{1,2}; CETICA, PABLO^{1,2}; ALVAREZ, GABRIEL^{1,2}

Durante la maduración in vitro la glucosa es la principal fuente de energía para el complejo ovocito-cumulus (COC). El ATP es efector alostérico negativo de la principal enzima reguladora de la vía glucolítica, además de ser la molécula que mejor representa la alta carga energética de la célula. El objetivo del trabajo fue evaluar la relación entre el ATP y el consumo de glucosa por el COC durante la maduración in vitro. Los COCs inmaduros se obtuvieron por aspiración de folículos antrales (3-8 mm de diámetro) de ovarios de cerdas faenadas. La maduración se llevó a cabo durante 48 o 72 hs. en atmósfera humidificada con 5% de CO₂ a 39°C en medio 199 (control) suplementado con: gonadotrofinas (10 UI/ml de FSH + 10 UI/ml de LH), gonadotrofinas + 0,1 mM ATP o gonadotrofinas + 1 mM ATP. Se determinó mediante espectrofotometría la concentración de glucosa remanente en el medio de cultivo una vez finalizada la maduración y mediante quimioluminiscencia el contenido de ATP endógeno del COC. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante la prueba de ANOVA de una vía. El consumo de glucosa por COC luego de 48 hs. de maduración fue mayor en presencia de gonadotrofinas

y gonadotrofinas + 0.1mM ATP respecto al control y gonadotrofinas + 1mM ATP (65,2 ± 4,9; 63,3 ± 5; 25,4 ± 4,5 y 25,8 ± 3,5 nmol/COC, respectivamente, p>0,05). El contenido de ATP endógeno del COC fue mayor luego de 48 hs de maduración con gonadotrofinas (0,046 ± 0,008 vs. 0,027 ± 0,007 control, pmol/COC, p<0,05), no pudiendo determinarse en los grupos en los que se suplementó ATP. Para evaluar el efecto del aumento del ATP endógeno en el consumo de glucosa, se prolongó el cultivo hasta las 72 hs sólo en el grupo madurado en presencia de gonadotrofinas. No se observó diferencia en el consumo de glucosa entre las 48 o 72 hs de cultivo in vitro (36,5 ± 3,8 y 39,7 ± 5,1, nmol/COC, respectivamente). Las gonadotrofinas estimularían el consumo de glucosa durante el cultivo in vitro, lo que elevaría la carga energética de las células al aumentar el contenido de ATP del COC. Sin embargo, a pesar de poder inhibirse el consumo de glucosa mediante el agregado de ATP al medio de maduración, el incremento de ATP endógeno por efecto de las gonadotrofinas no estaría produciendo inhibición en la utilización de glucosa por el COC durante la maduración in vitro.

¹ Cátedra de Química Biológica, INITRA (UBA), ² INPA (UBA-CONICET), Facultad de Cs. Veterinarias, UBA. Buenos Aires, Argentina.

EFFECTO DE EJERCICIO SUPRAMÁXIMO SOBRE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS EN PERROS DURANTE UN ESTUDIO A CAMPO

PELLEGRINO FJ^{1,2}, VAQUERO P³, PELOSI J², RISSO A^{1,2}, CORRADA Y^{1,2}

En caninos, el ejercicio induce respuestas agudas en parámetros fisiológicos como la frecuencia cardíaca (FC), temperatura rectal (TR) y lactato sanguíneo (LS). El objetivo del presente trabajo fue valorar el efecto de un ejercicio supramáximo sobre la FC, TR y LS, en perros durante un estudio a campo. Para ello se utilizaron nueve perros sanos, machos (n=3) y hembras (n=6), raza Galgo, de 2-5 años de edad, y 25-33 kg de peso, que realizaron un ejercicio supramáximo controlado que incluyó 100 metros de carrera a máxima velocidad sobre terreno de tierra. Las muestras de FC (lpm), TR (°C) y LS (mM) se tomaron previo al inicio del ejercicio, inmediatamente finalizado, y a los 5 y 10 minutos durante la fase de recuperación. La concentración de LS se determinó con el analizador portátil StatTrip X-Press®. Los datos se analizaron con el programa estadístico SAS

9.0. Los valores de FC, TR y LS aumentaron significativamente finalizado el ejercicio (p<0,01). La FC retornó a valores basales a los 10' de la fase de recuperación, mientras que los valores de TR y LS se mantuvieron aumentados. Los valores más altos de TR y LS se registraron a los 5' de la fase de recuperación. El abrupto incremento en los valores de FC, TR y LS podría indicar un ejercicio de máxima intensidad. El aumento en los valores de LS en la fase de recuperación puede deberse a una liberación retrasada de lactato desde los músculos a la circulación sanguínea producto de un ejercicio anaeróbico, mientras que la TR podría estar condicionada por la temperatura ambiente. La FC, TR y LS se muestran como indicadores confiables para evaluar la respuesta fisiológica en ejercicios a campo de máxima intensidad.

¹CONICET. ²Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), UNLP. ³FCV, UNLPam. fpellegrino@fcv.unlp.edu.ar

EFFECT OF FISH OIL AND VITAMIN E ON SPERM LIPID PEROXIDATION IN DOGS

PELLEGRINO FJ1,2, PLAZA L2, PELOSI J2, MARMUNTI M2, GAVAZZA M2, PALACIOS A2, RISSO A1,2

Introduction. Mammalian sperm contains a high proportion of polyunsaturated fatty acids sensitive to lipid peroxidation (LP). **Objective.** Evaluate the effects of dietary fish oil (FO) and vitamin E (VE) supplementation on sperm sensitivity to LP in dogs. **Materials and methods.** Using a 3x3 Latin square design, five male dogs were allocated into three groups and fed a control diet (C), C supplemented with 54 mg fish oil/Kg metabolic body weight per day (FO), and FO plus 400 mg VE per day (FOE) for 60 days. Semen samples were collected on days 0 and 60. Lipid peroxidation was initiated by adding ascorbate-Fe⁺⁺ to semen samples and evaluated using chemiluminescence (CL) (counts per minute/mg of protein). Fatty acid profile was determined by gas chromatography. Data were analyzed using SAS. **Results.** When the control and ascorbate-

Fe⁺⁺ dependent samples were compared, a significant increase in CL was observed. On day 0, total CL increased in all groups in the peroxidised samples (with ascorbate-Fe⁺⁺) ($p < 0.05$), but there was no differences between treatments. On day 60, CL increased in the peroxidised samples ($p < 0.05$) in C, but no in FO or in FOE. However, there was a difference between treatments in the peroxidised samples ($p < 0.05$) (Table 1). The total concentration of omega 3 was higher in FO and FOE compared with C ($p \leq 0.05$). **Discussion and conclusion.** Supplementation with FO alone or together with VE increase total omega 3 but did not increase LP in dog sperm (at day 0). Conversely, we observed a decrease LP in day 60. Further studies are needed to understand the mechanism whereby FO and FOE decreases LP in dog sperm.

Table 1. Lipid peroxidation ascorbate-Fe⁺⁺ of sperm dogs

Treatment	Day 0		Day 60	
	Control	Peroxidised	Control	Peroxidised
C	429.40±40.10 ^a	990.50±87.19 ^a	380.05±35.10 ^a	900±54.76 ^a
FO	429.40±40.10 ^a	990.50±87.19 ^a	436.00±21.00 ^a	536±35.00 ^b
FOE	429.40±40.10 ^a	990.50±87.19 ^a	303.50±30.00 ^a	532±31.00 ^b

Different superscripts indicate differences between treatments ($p < 0.05$).

¹CONICET, ²Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. arisso@fcv.unlp.edu.ar

ACTIVIDAD DE SUPERÓXIDO DISMUTASA Y PEROXIDACIÓN DE LÍPIDOS DE MEMBRANA EN ESPERMATOZOIDES PORCINOS CRIOPRESERVADOS CON ALFA TOCOFEROL

V. PEREYRA, E. BREININGER

La criopreservación está asociada con el aumento de especies reactivas del oxígeno (EROS) y la consecuente alteración de la funcionalidad de los espermatozoides congelados-descongelados. El espermatozoide porcino es especialmente susceptible al daño por peroxidación debido a su alto contenido de ácidos grasos insaturados. En contraposición, este tipo celular cuenta con un sistema antioxidante complejo dentro del cual, destaca la enzima superóxido dismutasa. En los últimos años, gran parte de los estudios se centran en la utilización de antioxidantes en el diluyente de congelamiento como posible solución al daño por estrés oxidativo. El objetivo de este trabajo fue comparar la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1) y el grado de peroxidación lipídica entre espermatozoides porcinos frescos y criopreservados en presencia y ausencia de alfa tocoferol (n=4). La actividad de SOD se midió por inhibición de la autooxidación de la epinefrina, mediante espectrofotometría. Se definió como unidad enzimática (U) a la cantidad de SOD necesaria para inhibir en un 50% la autooxidación de la epinefrina.

La peroxidación de lípidos de membrana se determinó por el ensayo del ácido 2-tiobarbitúrico midiéndose como nmol de TBARS (Sustancias que reaccionan con ácido tiobarbitúrico)/10⁸ espermatozoides. Los resultados se expresaron como media ± SEM y el análisis estadístico fue realizado por ANOVA y Tukey. Se comprobó que existe actividad de SOD en el espermatozoide porcino, siendo mayor en la muestra de semen fresco (2206 ± 538 U) comparadas con las muestras congeladas-descongeladas. En cambio no se observaron diferencias entre las muestras de congelado con (818 ± 292 U) y sin alfa tocoferol (695 ± 245 U). Para los niveles de peroxidación los resultados mostraron un menor nivel para el fresco (0,1 ± 0,08 nmol TBARS/10⁸ espermatozoides), no habiendo diferencias para las muestras congeladas con (0,5 ± 0,1 nmol TBARS/10⁸ espermatozoides) y sin el antioxidante utilizado (0,7 ± 0,2 nmol TBARS/10⁸ espermatozoides). La pérdida de actividad enzimática y lipoperoxidación se deberían a la criopreservación, no observándose efecto beneficioso del agregado del alfa tocoferol, mayores estudios son necesarios para evaluar el efecto observado.

PARTICIPACIÓN DE LA ENZIMA SUCCINATO DESHIDROGENASA EN LA CAPACITACIÓN DE ESPERMATOZOIDES PORCINOS CRIOPRESERVADOS.

PÉREZ COLMAN, MC; BREININGER E; RODRIGUEZ PC

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 succinato deshidrogenasa (SDH; EC 1.3.5.1) 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 succinato deshidrogenasa se determinó espectrofotométricamente a 600 nm durante 2 minutos, a 37 °C. La unidad enzimática (UE) se definió como la cantidad de enzima succinato deshidrogenasa que cataliza la reducción de un μmol de DCPIP/minuto. Los porcentajes de espermatozoides capacitados se determinaron, en presencia y ausencia de diferentes concentraciones de malonato de sodio (inhibidor de SDH; 1, 5 y 10 mM) en

el medio de incubación, por la técnica de cloro tetraciclina (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 error estándar de la media y fueron evaluados estadísticamente por análisis de varianzas (ANOVA) con el test de Bonferroni como post-ANOVA. La actividad de SDH fue $0,7 \pm 0,1$ UE/ 10^{10} espermatozoides. El agregado del inhibidor de la enzima disminuyó significativamente los niveles de capacitación a partir de 1 mM de malonato de sodio (12 ± 3) respecto del control positivo (20 ± 1). La movilidad disminuyó significativamente respecto del control (13 ± 3) cuando la concentración de malonato de sodio fue de 10mM (3 ± 1), mientras que la vitalidad no se vio afectada por ninguna de las dosis usadas del inhibidor. Nuestros resultados indican que existe actividad de la enzima SDH en el espermatozoide porcino criopreservado y que esta enzima participa en la generación de la energía necesaria para llevar a cabo el proceso de capacitación espermática.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PRESENTES EN DIARREAS DE POTRILLOS

PEREZ, A; GALLARDO, J; RETAMAR, G; LANZA, N; SARCONE, N; DEFERRARI, M; MCAULIFFE, S; BUSTOS, C; MUÑOZ, A; GUIDA, N.

Las diarreas en potrillos tienen múltiples agentes causales, infecciosos y no infecciosos. Debido a su baja inmunocompetencia, la adquisición de nuevos hábitos alimenticios, la coprofagia y la falta de flora intestinal competitiva, esta categoría es más sensible a este tipo de cuadro clínico. El objetivo del presente trabajo fue aislar e identificar agentes bacterianos en muestras de diarreas de potrillos. Se procesaron 47 muestras, tomadas por hisopado rectal durante tres días consecutivos. Se utilizaron hisopos en medio Cary Blair y en medio Stuart. Con los primeros se realizó un preenriquecimiento selectivo en Caldo Selenito por 24 hs. Luego se sembró en XLD, se incubó a 37°C por 24-48 hs y se seleccionaron las colonias lactosa negativas buscando *Salmonella* sp. Partiendo del hisopo en medio Stuart se sembró la muestra en Agar Sangre (AS) y XLD, y se incubó por 24-48 hs a 37°C. Del AS se seleccionaron las colonias que se encontraban en mayor cantidad, se reaislaron y se identificaron. Se pudieron aislar cepas de: *Escherichia coli* (100%), *Corynebacterium* sp (46,81%), *Citrobacter* sp (14,89%), *Proteus* sp (8,51%), *Staphylococcus* sp (6,38%), *Shigella* sp

(4,25%), *Enterobacter* sp (4,25%), *Klebsiella* sp (4,25%), *Salmonella* sp (2,13%), *Enterococcus* sp (2,13%), *Pseudomonas* sp (2,13%), *Micrococcus* sp (2,13%) y *Actinomyces* sp (2,13%). En un potrillo se aisló *Salmonella* sp como patógeno primario y en un gran número de muestras encontramos mayor cantidad de agentes comensales. Estos agentes pueden producir diarreas en caso de disbacteriosis por numerosas causas, tratamiento antibiótico, parasitosis o simplemente por el cambio dietario cuando comienzan a comer pasto. A la vez puede haber causas no bacterianas de diarrea en potrillos, como por ejemplo agentes virales, intolerancia dietaria, la ingestión de elementos extraños o la diarrea del celo del potro. Es interesante destacar la alta incidencia de aislamientos de *Corynebacterium* sp encontrada, ya que éste puede actuar como patógeno oportunista en potrillos inmunosuprimidos. *Enterococcus* sp., *Actinomyces* sp y *Pseudomonas* sp pueden ser aislados de potrillos con signos generales de infección. Estos agentes provocan septicemia, por lo tanto sería importante poder realizar hemocultivos en esos animales para poder relacionarlos definitivamente con el cuadro.

Cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV. UBA.

Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020130100299BA.

EL CULTIVO BACTERIOLÓGICO COMO “PRUEBA DE ORO” EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS PORCINA.

PIETRONAVE, J.1; CAMPOS, B.1; FALZONI, E.1; BARANDIARAN, S.1; ZUMÁRRAGA, M.2; MARTINEZ VIVOT, M.1

La tuberculosis (TBC) porcina es una enfermedad zoonótica, causada por microorganismos del género *Mycobacterium*, que produce un fuerte impacto en los sistemas productivos. En 2009, se aprobó en la Argentina el “procedimiento para la certificación de Predios Libres de Tuberculosis Porcina”, el cual combina la utilización de pruebas tuberculínicas con la inspección en faena. En este marco, se aprecia la importancia del desarrollo de nuevos procedimientos diagnósticos. Objetivo: confirmar por cultivo bacteriológico, el diagnóstico de TBC en muestras de cerdos que fueron previamente analizadas por métodos moleculares e histopatológicos. Materiales y métodos: se procesaron 10 muestras con lesiones compatibles con tuberculosis de linfonódulos mediastínicos y mesentéricos de cerdos procedentes de un frigorífico de la provincia de Buenos Aires. Las mismas fueron sometidas a extracción de ADN directa de tejidos utilizando el kit comercial “Purelink®” (Invitrogen) y formoladas al 10% para el diagnóstico histopatológico. Para confirmar los resultados, las mismas fueron cultivadas en medios Stonebrink y Löwestein Jensen. Resultados: 7 muestras revelaron coincidencia entre los resultados de la histopatología y de la

PCR IS-6110 directa de órgano, sin embargo, a pesar que en todas ellas la histopatología demostró una lesión granulomatosa, en 3 no se evidenciaron bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) con la coloración de Ziehl-Neelsen. Una muestra fue negativa para ambas técnicas. En dos casos no hubo coincidencia en los resultados. Luego de 2 meses de incubación, 7 muestras crecieron a 37° C, confirmando la coincidencia de los resultados positivos entre ambas técnicas. También resultó negativa una muestra a cultivo que reafirma el resultado dado por las otras dos técnicas como negativas. Sólo hubo discrepancia entre los resultados de ambas técnicas en dos muestras que resultaron negativas al cultivo: una negativa a la PCR directa en tejido y positiva a la histopatología, aunque sin BAAR y otra positiva a PCR e histopatología pero negativa a coloración de BAAR. Conclusiones: Los resultados revelan que, a pesar que contamos con técnicas innovadoras, sencillas de realizar y donde el resultado se obtiene rápidamente, el cultivo bacteriológico continúa siendo la prueba confirmatoria por excelencia en el diagnóstico de TBC, sobre todo cuando se presentan discrepancias entre los resultados de la PCR directa de órgano y la Histopatología en la que no se revelan BAAR.

1- Cátedra de Enfermedades Infecciosas. FCV. Universidad de Buenos Aires. 2- Instituto de Biotecnología, CICVyA – INTA, Castelar.

DETERMINACIÓN DE ESTADO REDOX EN LA VITRIFICACIÓN DE MÍNIMO VOLUMEN DE OVOCITOS PORCINOS

PINCHETTI D¹, APARICIO A¹, CETICA P^{1,2}, DALVIT G¹, MORADO S¹.

La vitrificación de ovocitos porcinos presenta aún resultados sub-óptimos debido, en parte, a su alto contenido citoplasmático de lípidos, al grosor de la zona pelúcida y a la composición de la membrana plasmática. El objetivo de este trabajo fue evaluar el estado redox mitocondrial y citosólico de ovocitos porcinos madurados in vitro y sometidos al proceso de vitrificación-atemperado. Los complejos ovocito-cúmulus fueron obtenidos por aspiración de folículos ováricos antrales, seleccionados bajo lupa estereoscópica y madurados en medio 199 con sulfato de gentamicina, fluido folicular porcino, FSH y LH, bajo aceite mineral a 39°C, 5% de CO₂ en estufa de aire humidificado durante 48hs. Los ovocitos madurados (n=35) fueron denudados y vitrificados por el método de mínimo volumen

Cryotech[®]. El estado redox de los ovocitos fue determinado por la autofluorescencia de FAD y NADH, utilizando filtros verde (excitación 473nm, emisión 490-590nm) y azul (excitación 405nm, emisión 420-520nm), respectivamente, mediante el análisis de microfotografías digitales. La autofluorescencia correspondiente a NADH fue mayor en ovocitos frescos que en vitrificados ($3,9 \times 10^6 \pm 669118$ versus $2,6 \times 10^6 \pm 782646$ unidades arbitrarias/ovocito; $p < 0,05$); por otro lado, la correspondiente a FAD fue indetectable en ovocitos frescos, mientras que en vitrificados presentó niveles bajos ($1,02 \times 10^6 \pm 245233$ unidades arbitrarias/ovocito). En conclusión, los ovocitos presentarían un mayor estado oxidativo mitocondrial y citosólico al ser sometidos al proceso de vitrificación-atemperado.

¹Cátedra de Química Biológica, INITRA (UBA), ²INPA (UBA-CONICET), Facultad Cs. Veterinarias, UBA. Buenos Aires, Argentina.

ESTUDIO EXPERIMENTAL DE *AELUROSTRONGYLUS ABSTRUSUS* EN EL CARACOL DOMÉSTICO *RUMINA DECOLLATA*

PITTARO, M.¹; CARDILLO, N.^{1,2}

La Aelurostrongylosis es una parasitosis emergente que afecta el aparato respiratorio de felinos, ocasionando bronconeumonías de variada intensidad. El crecimiento de poblaciones felinas semi silvestres en lugares públicos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, y la observación del crecimiento poblacional del caracol *Rumina decollata* en detrimento de las poblaciones de *Helix aspersa*, planteó el interrogante como posible nuevo transmisor de esta parasitosis en el felino. Se estudió la capacidad receptiva del caracol *R. decollata* a larvas infectivas de *Aelurostrongylus abstrusus*, su desarrollo evolutivo y sus implicancias epidemiológicas como reservorio para felinos domésticos y hospedadores paraténicos. A partir de materia fecal de felinos naturalmente infectados, se obtuvieron dosis de inóculos de 500 larvas de *A. abstrusus*. Se utilizaron 24 caracoles *R. decollata*, los que fueron

alojados, individualmente en cubas con tierra. Se administró una dosis de inóculo por caracol, la que permaneció en contacto durante 48hs. Se eutanasiaron 3 caracoles por fecha, los días 8-10-12-16-22- 26-45 y 55 post inoculación (p.i). Se separó el pie del resto de los órganos (TGI) y se procesaron en forma separada, por digestión artificial. Tres caracoles controles se procesaron al final de la prueba (día 55). Se llevó a cabo el recuento e identificación (L1, L2 y L3) de las larvas recuperadas en el pie y en el TGI, por observación en microscopio óptico, de acuerdo a sus características morfológicas y morfométricas. Se obtuvieron larvas de los tres estadíos en pie y en TGI en todos los individuos inoculados. El recuento máximo de larvas infestantes totales fue a los 55 días p.i., con un promedio de 250 larvas/caracol. Se confeccionó una tabla en el programa Statistix para su posterior análisis.

Día	L1P	L2P	L3P	L1TGI	L2TGI	L3TGI	L3TOT	LTOT
8	33	142	1	23	89	0	1	286
10	4	36	1	17	10	2	2	65
12	25	93	0	8	16	0	0	143
16	15	120	1	11	46	1	2	193
22	2	32	10	4	17	0	10	50
26	5	25	17	2	20	21	30	75
45	0	34	150	0	12	23	172	218
55	0	24	224	0	4	38	250	276

Fig. 1. Recuento promedio de estadíos larvarios de *A. abstrusus* en pie y TGI de caracoles *R. decollata*, por día p.i. Los datos procesados hasta el presente sugieren un aumento progresivo de L3 a partir del día 22 p.i., demostrando la capacidad infectiva de *R. decollata* y su potencial como hospedador intermediario de *A. abstrusus*.

¹ Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. FCV. ²INPA UBA. CONICET.

EVALUACIÓN BIOQUÍMICA Y HEMATOLÓGICA EN CANINOS TRATADOS CON DROGAS COXIBS

POSSE, L.¹; MONFRINOTTI, A.¹; PASSINI, S.¹; LUPI, M.¹; ALBARELLOS, G.¹; MONTOYA, L.¹

Introducción: Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) han sido ampliamente utilizados en medicina veterinaria. En búsqueda de drogas más seguras es que se han incluido recientemente los AINEs selectivos COXIBs, como el firocoxib (FRX) y mavacoxib (MVX). El objetivo del siguiente trabajo fue evaluar los parámetros bioquímicos y hematológicos luego de un tratamiento corto y prolongado con FRX y MVX respectivamente. **Materiales y métodos:** Se utilizaron 6 caninos Beagles (Peso: 14.53 +/- 0.88 kg) pertenecientes al Área de Caniles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA (CICUAL 2015/34). Se realizaron en tiempo basal chequeos hematológicos y bioquímicos para asegurar su condición de inclusión al estudio. Dichos animales, fueron tratados con FRX (Previcox, Merial comprimidos) 5 mg/kg por vía oral única dosis y pasado un mes, se dosificaron con MVX (Trocoxil, Pfizer tabletas masticables) a 2 mg/kg junto a la comida, repitiéndose a los 15 y 45 días. Todas las administraciones para ambas drogas fueron hechas a las 8:00 AM. Se evaluó diariamente la presencia de efectos colaterales y entre las 24 h post FRX y las 48-72 h post MVX, se extrajeron muestras de sangre para análisis

hematológico y bioquímico. Los resultados se analizaron mediante un test estadístico de medidas repetidas ANOVA más un post test para saber en qué momento del tratamiento se hallaban las diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$). **Resultados:** Los perros no presentaron efectos colaterales y si bien hubo un leve descenso en el peso, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Los hemogramas completos, parámetros bioquímicos, y coagulogramas realizados no mostraron valores fuera del rango normal. Para el KPTT, se hallaron diferencias significativas entre FRX y primera dosis para el MVX y entre ésta, 15 y 45 días MVX. Para el TP se hallaron diferencias entre el basal y primera dosis MVX, entre ésta y la segunda dosis de MVX y entre FRX y primera dosis de MVX. **Conclusiones:** En nuestro trabajo, las distintas mediciones realizadas, se mantuvieron dentro de valores normales, mostrando a estos fármacos como opciones terapéuticas relativamente seguras. No obstante, es importante y prioritaria, la continua monitorización y realización de este tipo de experiencias y la realización de ensayos en animales con ciertas patologías que podrían verse más afectados con esquemas de dosificación prolongada.

1: Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA

USO DE UN CAMPO ABIERTO COMO MODULADOR DE LA MEMORIA EN UN LABERINTO CON ROEDORES.

PSYRDELLIS, M.¹; PAUTASSI, R.²; JUSTEL, N.¹.

El laberinto en forma de T es un paradigma animal validado para estudiar la memoria espacial. En una primera fase de entrenamiento, los roedores pueden explorar el corredor principal y solo uno de los brazos transversales que posee. Posteriormente en la fase de testeo, los animales pueden recorrer libremente ambos extremos, siendo esperable que permanezcan más tiempo en el sector que estuvo bloqueado en el entrenamiento, debido a la tendencia natural de estos animales a preferir lo novedoso en comparación con lo ya conocido. Por otro lado, fue demostrado que exponer a ratas a una situación novedosa, como la exploración de un campo abierto (CA) puede tener efectos diferenciales sobre la memoria dependiendo del momento en que se aplique el tratamiento. Objetivo: investigar los efectos de la novedad (CA) sobre la consolidación de la memoria de un laberinto en T. La variable dependiente es el porcentaje de tiempo de permanencia en cada brazo. Los sujetos, ratas macho Wistar, fueron colocados en el CA por 5 min o permanecieron en sus cajas hogares. Una hora después, fueron colocados en el laberinto T para la fase de entrenamiento (con un sector boqueado) por 10 minutos. En el experimento 1, el test que

consistía en 5 minutos de libre exploración de ambos brazos, se realizó a los 30 minutos. En el experimento 2, el intervalo de demora entre ambas fases fue de 2h y en el experimento 3 fue de 4 hs. En el experimento 1, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, dado que en ambos casos los sujetos exploraron más el brazo novedoso comparado con el ya conocido, lo que permite inferir que no hubo efecto del CA. En el experimento 2, el grupo control exploró más el brazo novedoso comparado con el conocido, mientras que el grupo expuesto al CA, exploró ambos brazos por igual. Esto permite inferir que el CA generó un deterioro en el desempeño. En el experimento 3, el grupo control exploró ambos brazos por igual, siendo esperable ya que se empleó un intervalo de tiempo prolongado. Sin embargo, el grupo experimental permaneció más tiempo en el brazo novel. Esto permite inferir que en este caso el tratamiento actuó como un potenciador del recuerdo, siendo el efecto opuesto a lo reportado en el experimento anterior. Los datos permiten pensar en el uso de la novedad como un tratamiento modulador de la consolidación de esta memoria espacial. Además, se puede concluir que existe una dependencia temporal del fenómeno.

¹Laboratorio de Psicología Experimental y Aplicada (PSEA), Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM). CONICET.²Instituto de Investigación Médica M. y M. Ferreyra (INIMEC) CONICET-UNC, Córdoba, Argentina.

EFECTO DE LA MÚSICA SOBRE UN LABERINTO ESPACIAL EN ROEDORES

PSYRDELLIS¹; DIAZ ABRAHAN^{1,2}, CETRATELLI ²& JUSTEL.

El laberinto en forma de T es un paradigma animal validado para estudiar la memoria espacial. En una primera fase de entrenamiento, los roedores pueden explorar el corredor principal y solo uno de los brazos transversales que posee. Posteriormente en la fase de testeo, los animales pueden recorrerlo completamente, siendo esperable que permanezcan más tiempo en el sector que estuvo bloqueado en el entrenamiento. Por otro lado, existe gran cantidad de literatura que muestra el efecto de la música sobre varias funciones cognitivas, en seres humanos y modelos animales. Las piezas musicales activantes se reportaron como potenciadores de la memoria; mientras que las piezas relajantes posibilitan deteriorar recuerdos. Objetivo: investigar el efecto de la música sobre la consolidación de la memoria de un laberinto en T en roedores, específicamente se evalúa el efecto de una pieza de música de rock activante y relajante aplicadas previamente a la fase de entrenamiento del paradigma mencionado. La variable dependiente es el porcentaje de tiempo de permanencia en cada brazo. Los sujetos, ratas macho Wistar, fueron expuestos por 5 minutos a la pieza activante o escucharon la pieza relajante mientras el grupo control fue expuesto a ruido blanco. Inmediatamente

después, fueron colocados en el laberinto en T para la fase de entrenamiento (con un sector bloqueado) por 10 minutos. El test consistía en 5 minutos de libre exploración de ambos brazos fue realizado a las 2 hs en el Exp. 1, a las 4hs en el Exp. 2 y a las 6 hs en el Exp. 3. En el exp. 1 se encontró que todos los grupos exploraron significativamente más el brazo novedoso en comparación con el ya conocido accesible durante el entrenamiento, a excepción del grupo expuesto a la pieza relajante que exploró ambos sectores por igual. Esto permite pensar en un efecto deteriorador del este tipo de estímulo musical. En el exp. 2, todos los grupos exploraron significativamente más el novedoso que el conocido, sin reportarse ningún efecto de la música. En el exp. 3, el grupo control exploró ambos brazos por igual, siendo esperable ya que se emplearon intervalos de tiempo prolongado. Sin embargo, los sujetos expuestos a la pieza musical activante, permanecieron más tiempo en el brazo novel. Esto permite inferir que el tratamiento musical actuó como un potenciador del recuerdo y mejoró el desempeño, ya que permitió un mejor aprendizaje y reconocimiento del aparato. Los datos permiten pensar en el uso de la música como un tratamiento modulador de la consolidación de la memoria espacial.

¹Laboratorio de Psicología Experimental y Aplicada (PSEA), Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM). CONICET.² Universidad de Buenos Aires.

MEDICIÓN EN MATERIA FECAL DE HORMONAS ESTEROIDES EN EL PRE Y POSPARTO DEL PRIMATE *Cebus apella*.

PULIDO, P. G(**); GETTE, G(*); FARINATI, Z.(*); LOUZAN, P (***), NAGLE C.(*)

Introducción: En nuestra Colonia de la especie americana *Cebus apella* se ha desarrollado una metodología no invasiva de medición en materia fecal (MF) de hormonas esteroideas: estradiol (E) y progesterona (P), cuyas concentraciones son indicadores fisiológicos de la gestación.

Objetivos: El propósito de este trabajo es conocer la evolución fisiológica de E y P durante el período de pre y post parto de una mona preñada utilizando muestras de materia fecal, con el fin de aportar datos de referencia en futuros estudios reproductivos no invasivos.

Materiales y Métodos: El estudio se realizó en la hembra N° 204 de nombre Katy. La metodología aplicada fue la siguiente: A) Recolección de MF excretada entre las 9 y las 16

hs, conservándola a -70°C hasta su procesamiento; B) Descongelación de la MF para extraer esteroides con etanol absoluto, mediante los pasos siguientes: 1) agregado de 5 ml de etanol a una alícuota de MF de 250mg exactamente pesados, 2) agitación en vórtex durante 2 minutos, 3) centrifugación a 5000 RPM durante 10 minutos, 4) evaporación a sequedad de 200µl. del sobrenadante dejándolo 48 hs a temperatura ambiente, 5) resuspensión del pellet con un volumen adecuado exactamente medido de buffer de esteroides; C) Medición de los esteroides por electroenzimoinmunoanálisis (Modular E170- Roche).

Resultados: Se tomaron muestras semanales durante el mes anterior al parto y en los 2 subsiguientes, los valores obtenidos se muestran en la tabla:

Semana	-4	-3	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	4	5	6
E ₂ ng/gr	241	194	413	778	101	Parto	62,2	86,2	63,3	44,5	73,0	49,4	77,6
P ug/gr	5,11	12,5	13,8	15,9	3,12	Parto	0,45	0,24	0,42	0,22	0,58	1,06	0,37

Conclusión: Durante las 2 últimas semanas previas al parto, esta experiencia de un individuo, muestra que las concentraciones tanto de E₂ como P en MF alcanzan valores muy altos. En

la fase post-parto los niveles hormonales son aún más bajos, los cuales se mantuvieron durante el tiempo registrado en la experiencia, mostrando las oscilaciones fisiológicas esperadas.

Centro de Investigación en Reproducción Humana y experimental (CIRHE)- Instituto Universitario CEMIC(*) – Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad de Buenos Aires (**)- Argentina-CEMIC-CONICET(***)

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN EN LA MORFOMETRÍA DEL NÚCLEO ESPERMÁTICO DE CERDO. DATOS PRELIMINARES.

QUIROGA M C, CAMPI S, CISALE H

La criopreservación disminuye las medidas de la cabeza espermática, lo que podría deberse a una deshidratación de la misma, a una pérdida del acrosoma, a la pérdida de la funcionalidad de la membrana y a alteraciones en la condensación de la cromatina. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la criopreservación en la morfometría del núcleo espermático porcino. Se trabajó con tres cerdos en rutina de extracción, recolectándose un eyaculado por animal. Con los tres eyaculados se formó un pool; repitiéndose esta metodología a los 7 y 14 días de la primera extracción. Cada pool

fue congelado, haciéndose una evaluación previa del semen fresco y otra posterior a la congelación. La morfometría de los núcleos espermáticos coloreados con la reacción de Feulgen se evaluó sobre 300 espermatozoides pertenecientes a cada pool, utilizando el programa de análisis informático ISASv1® Proiser. Los efectos del proceso de congelación (Fresco vs. Congelado) sobre las variables morfométricas de los núcleos espermáticos, fueron analizados utilizando estadística descriptiva. Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla:

Medidas Morfométricas	Semen Fresco	Semen Congelado
Longitud (μm)	6,90 \pm 0,29	6,49 \pm 0,33
Ancho (μm)	3,28 \pm 0,21	3,21 \pm 0,14
Área (μm^2)	22,86 \pm 0,81	22,17 \pm 1,01
Perímetro (μm)	21,95 \pm 0,71	20,1 \pm 1,00
Elipticidad	1,26 \pm 1,09	1,81 \pm 0,11
Elongación	0,32 \pm 0,20	0,29 \pm 0,03
Rugosidad	0,65 \pm 0,03	0,61 \pm 0,04
Regularidad	0,89 \pm 0,02	0,86 \pm 0,20

También, se aplicó un test de homogeneidad de varianzas para inferir si las muestras de semen fresco y congelado presentaban diferencias entre sí. El análisis confirmó diferencias significativas para todas las medidas morfométricas entre

ambos tratamientos ($p \leq 0,05$). De acuerdo con los resultados obtenidos, el proceso de congelado-descongelado modificaría significativamente los valores de las variables morfométricas de los núcleos espermáticos de cerdo.

DEGRADABILIDAD “*IN SITU*” DE FORRAJES ENRIQUECIDOS CON COBRE Y ZINC

RAMOS, M.L.^{1,2}, MOSCUZZA C. H.^{1,2}, FERNÁNDEZ CIRELLI, A^{1,2}.

En los sistemas extensivos de producción, las principales fuentes de minerales para los animales son los forrajes y el agua de bebida. Los minerales son un componente importante de la pared celular de las diferentes especies forrajeras. A fin de evaluar el valor nutricional de los alimentos y obtener información de la cinética de digestión de sustratos a nivel ruminal, se utiliza como uno de los métodos biológicos la degradabilidad *in situ*. El objetivo de este trabajo es evaluar en qué medida los elementos minerales (Cu y Zn) presentes en mezclas forrajeras a base de gramíneas, con y sin aplicación de fertilizantes inorgánicos, son liberados en el rumen a través del uso de la técnica previamente mencionada. Para dicho fin, se utilizaron cuatro ovinos fistulizados de la raza Frisona*Texel de 80 kg PV. Se colocaron bolsas de nylon de 41 micrones de poro, con 2 gr de materia seca de forrajes enriquecidos en Cu y Zn, y forrajes sin fertilización dentro del rumen de cada animal siguiendo el procedimiento de Ørskov *et al.* (1980). Previamente, se efectuó un período de 15 días de acostumbramiento a dietas netamente pastoriles (pasturas consociadas

de base gramínea). Los tiempos de incubación para cada período fueron: 3, 6, 9, 12 y 24 horas, utilizando tres bolsas por cada uno de ellos. Las bolsas extraídas de cada tiempo fueron sometidas a cinco lavados sucesivos (sin uso de detergente) y secadas a estufa a 65°C durante 72 hs. Los tiempos 0 hs no fueron incubados en rumen, pero se lavaron de la misma manera. Se determinó el contenido de materia seca remanente y luego se efectuó una digestión en plancha caliente con una mezcla de HNO₃:HClO₄ (3:1) para la determinación de Cu y Zn mediante espectrometría de emisión atómica (ICP-OES). A partir de dichos datos se calculó la tasa de degradabilidad de la materia seca y el porcentaje de liberación de cada mineral. Los resultados obtenidos muestran diferencias en el porcentaje de materia seca degradado en rumen según el tratamiento utilizado sobre el forraje incubado (secado en estufa), y diferencias en el porcentaje de liberación de Cu y Zn dependientes del tiempo de incubación, del tipo de sustrato incubado y las características del ambiente ruminal (pH, concentración de ácidos grasos volátiles).

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

ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS GENÉTICOS EN BOVINOS HOLANDO PARA CARACTERES PRODUCTIVOS

RASCHIA, M AGUSTINA¹; MAIZON, DANIEL O²; POLI, MARIO A¹.

La caracterización fenotípica y genética de una población es crucial para la implementación de programas de mejoramiento. El objetivo de este trabajo fue estimar parámetros genéticos y caracterizar fenotípicamente un rodeo comercial de bovinos de raza Holando (H) de 50 tambos de la cuenca lechera central argentina. La base de datos fenotípicos inicial contaba con 716.195 registros de control lechero (CL) -años 1994 a 2012- de 20.006 vacas pertenecientes a 25 familias de medias hermanas paternas. La base se editó conservando los animales con al menos 4 CL para producción de leche (PL), de grasa (PG) y de proteína (PP), entre los días 1 y 305 de sus primeras lactancias. Las PL, PG y PP a 305 días se estimaron por el método de Fleischmann. Así se obtuvieron 13.446 vacas con registros para PL, 12.276 para PG y 12.090 para PP; con media y desvío estándar de 5904 (1020), 217 (42) y 203 (37) kg para PL, PG y PP, respectivamente. Mediante análisis de modelos lineales mixtos multicarácter empleando REML se estimaron los componentes de varianza, las heredabilidades, las correlaciones genéticas y los valores de cría (EBV) para PL, PG y PP con el programa WOMBAT. Los modelos incluyeron

como efectos fijos el año de nacimiento, el tambo, el efecto combinado de estación-año de inicio de lactancia y la edad al primer parto, y como efecto aleatorio el valor genético aditivo de los animales. Para verificar el aporte de los efectos considerados se realizaron pruebas de razón de verosimilitud (LRT), siendo en todos los casos significativas ($p < 0,001$). Las heredabilidades estimadas tuvieron medias y desvíos estándar de 0.079 (0,001), 0,095 (0,024) y 0,087 (0,023) para PL, PG y PP, respectivamente. La PL se correlacionó positivamente con la PG (correlación=0,94) y la PP (correlación=0,97). A su vez, los rangos de EBV fueron -462,8 a 564,3 kg para PL, -15,4 a 22,8 kg para PG y -15,8 a 18,6 kg para PP. Los resultados precedentes resaltan el alto impacto ambiental en estas características, para el sistema de producción en estudio, dadas las bajas estimaciones de heredabilidades. Por otra parte, confirman las altas correlaciones genéticas entre los caracteres en estudio. Finalmente, se debe destacar que los EBV estimados mostraron un amplio rango y podrían ser utilizados para seleccionar las hembras por productividad.

1-IGEA, INTA Castelar, Argentina; 2-INTA, EEA Anguil, Argentina.

DESARROLLO DE UN ELISA COMPETITIVO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE AVES CON SEROLOGÍA POSITIVA A *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS*

FELIPE REDONDO, ANA M. JAR, SILVIA MUNDO.

La paratuberculosis es una enteritis granulomatosa infectocontagiosa crónica y progresiva de los rumiantes causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map). Este agente se ha aislado de numerosas aves tanto en Europa como en América, por lo que resulta de interés determinar cuál es la situación en poblaciones como las de ñandúes y otras aves que puedan encontrarse cercanas a establecimientos ganaderos. Nuestro primer objetivo fue 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, que utiliza un antígeno protoplasmático de Map (PPA-3), y un antisuero anti-IgY de ñandú. Se estudiaron los sueros de 55 ñandúes clínicamente sanos, de un criadero de la provincia de Buenos Aires, entre los que 8 animales mostraron valores de D.O. elevados (0.412-0.833) con los sueros pre-adsorbidos con *Mycobacterium phlei*, con el fin de eliminar las reacciones contra micobacterias no patógenas. A partir de estos resultados iniciamos nuestro segundo objetivo, el desarrollo de un ELISA competitivo, en el que la señal positiva de un suero bovino usado como patrón disminuye por la interferencia del suero positivo de un

animal de otra especie (en este caso el ñandú). Hemos trabajado en la puesta a punto de los parámetros involucrados en la prueba. Pudimos comprobar la falta de reactividad cruzada entre un anticuerpo comercial anti-IgG bovina conjugado con peroxidasa (KPL, EE.UU.) y los sueros de ñandú. Hemos establecido la concentración óptima de PPA para sensibilizar la placa en 30 µg/ml (concentraciones probadas: 5-40 µg/ml), la dilución óptima del suero bovino positivo de referencia en 1:100 (diluciones probadas: 1:100-1:800) y el tiempo y temperatura de incubación del sustrato en 20 min a 24 °C (tiempos probados: 5-30 min; temperaturas probadas: 24 y 37 °C). Hasta el momento, con las diluciones evaluadas de los sueros positivos de ñandú (1:100 como se estableció en el ELISA indirecto) no se observó un efecto competitivo hacia el suero bovino. Esto posiblemente se deba a la mayor afinidad de este suero de referencia, que pertenece a un bovino infectado. Actualmente estamos revisando las diluciones de los sueros de ñandú a utilizar. La aplicación de este ELISA-PPA competitivo permitirá ampliar el estudio serológico de la paratuberculosis en el ñandú, pero también en otras numerosas especies silvestres.

UBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología.

IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS CONTRA PPA (ANTÍGENO PROTOPLASMÁTICO DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS*) EN SUEROS DE CERDOS

REDONDO, F.^{*1}; VAN GROOTHEEST, J.H.¹; MOYANO, R. D.²;
MARTINEZ VIVOT, M.³; ROMANO, M.I.²; JAR, A.M.¹; MUNDO, S.L.¹.

La paratuberculosis es una enteritis granulomatosa infectocontagiosa crónica y progresiva de los rumiantes causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map), un microorganismo ubicuo y altamente resistente en el ambiente, que puede infectar también otras especies domésticas y silvestres. El objetivo de este estudio fue adaptar la prueba de ELISA-PPA indirecto que se realiza en la Cátedra de Inmunología, para aplicarla a sueros de cerdos. Las placas se recubrieron con un antígeno protoplasmático de Map (PPA-3, Allied Monitor, USA) recomendado por la OIE para el diagnóstico de la paratuberculosis en bovino. La presencia de anticuerpos específicos contra PPA se identificó con un suero comercial anti-IgG de cerdo conjugado con peroxidasa (KPL), se reveló con OPD y se leyó a 490 nm. En cada prueba se incluyeron sueros bovinos de referencia (positivo y negativo) como controles de la reacción. Se estudiaron 120 sueros provenientes de un criadero de la provincia de Buenos Aires, los que se analizaron sin preabsorber con *M. phlei*, procedimiento que elimina la reactividad inespecífica debida a micobacterias saprófitas. De estos, 17 (14,2%) mostraron valores de

DO $\geq 0,400$, mientras que los 103 restantes (85,8%) mostraron valores de DO $\leq 0,250$. Los 17 sueros positivos se preabsorbieron con *M. phlei* y se analizaron nuevamente mediante el ELISA-PPA. En paralelo, se analizaron en el CICV-INTA Castelar con antígenos específicos de paratuberculosis (Map0038/2513/1272/1693/2020; Mon ML *et al*, 2012) y tuberculosis (esat6/cfp10/ag83). Siete sueros mantuvieron reactividad positiva con valores de DO $\geq 0,500$ para ambas pruebas, observándose que los valores más altos de DO correspondían a la respuesta a Map. Cuando utilizamos un ELISA con un antígeno producido a partir de una cepa de *M. avium* subsp. *avium* (Maa), dieron positivos estos sueros más algunos que resultaron negativos con el antígeno PPA-3. Podemos concluir que hemos encontrado reactividad a Map y también a Maa, por lo que estos estudios serológicos deberían complementarse con estudios bacteriológicos. Aquí se presentan resultados preliminares que nos alientan a seguir estudiando la epidemiología de las infecciones por micobacterias del complejo *M. avium* en las poblaciones porcinas.

UBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, Buenos Aires, Argentina. ¹Cátedra de Inmunología y ³Cátedra de Enfermedades Infecciosas. ²CICV, INTA Castelar.

(*). Correo electrónico: felipe.redondo@yahoo.com.ar

COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE PCR Y EL CULTIVO BACTERIOLÓGICO PARA LA DETECCIÓN DE SALMONELLA A PARTIR DE MUESTRAS CLÍNICAS DE EQUINOS

RETAMAR, G; BUSTOS, C; GALLARDO, J; MUÑOZ, A; GUIDA, N; MESPLET, M.

La salmonelosis es una enfermedad que causa serios problemas en la salud de los equinos, desde fiebre y diarrea hasta abortos que llevan a grandes pérdidas económicas. El objetivo de este trabajo fue comparar los resultados obtenidos para el diagnóstico de *Salmonella enterica* ssp. mediante el aislamiento bacteriológico tradicional, considerada como “gold estándar”, y la técnica de PCR a partir de muestras clínicas provenientes de equinos. Se analizaron en el Laboratorio Escuela de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA, muestras clínicas provenientes de 9 fetos abortados y de 86 equinos con signos clínicos entéricos compatibles con salmonelosis. En el caso de los fetos se realizó la necropsia y se tomaron muestras de líquido estomacal, placenta e hígado. En el caso de los equinos con signología entérica, se tomaron hisopados de mucosa entérica. Cada muestra fue procesada mediante cultivo bacteriológico específico para *Salmonella* y se le realizó la extracción de ADN para el posterior diagnóstico por PCR. En el caso de las muestras de abortos,

se pudo determinar la presencia de *Salmonella* en el contenido estomacal de seis de los fetos por ambos métodos. Las cepas fueron tipificadas como *Salmonella* Abortus equi. De las muestras de materia fecal, se obtuvieron cuatro resultados positivos mediante la técnica de PCR y sólo un aislamiento mediante cultivo bacteriológico, que fue tipificado como *Salmonella* Typhimurium. Se concluye que la detección de *Salmonella* por PCR a partir de materia fecal, fue superior al aislamiento tradicional, esto puede deberse a las limitaciones de la técnica de cultivo bacteriológico, ya que frente a una baja carga bacteriana o a la falta de viabilidad de los microorganismos podría generar una falla en el diagnóstico por este método. La alta sensibilidad de la técnica de PCR demuestra que puede ser utilizada como complemento de la técnica “gold standard” con la ventaja de obtener resultados más rápidos con respecto al cultivo tradicional que permitiría instaurar en menor tiempo medidas de profilaxis y de tratamiento en caso de ser necesarias.

Laboratorio Escuela de Enfermedades Infecciosas. Cátedra de Enfermedades Infecciosas. FCV. UBA.
Este trabajo fue financiado por el proyecto UBACyT 20020130100299BA

ENFERMEDAD INTESTINAL INFLAMATORIA FELINA: HISTOPATOLOGÍA Y MEDICION DE INTERLEUQUINAS

RICART MC, GÓMEZ NV

Introducción: la Enfermedad Intestinal Inflamatoria (EII) es una patología con signos gastrointestinales recurrentes o persistentes, de evolución crónica (3-4 semanas). Objetivo: correlacionar el score clínico FCEAI (Feline Chronic Enteropathy Activity Index) con la inflamación en la histopatología y citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-12) y antiinflamatorias (TGF- β , IL-17, IL-10). Materiales y método: a un grupo de 9 gatos con EII se le realizó: valoración clínica por el FCEAI,

toma de muestra de biopsia por endoscopia, histopatología e inmunohistoquímica de las mencionadas citoquinas. Se analizó una correlación de variables por medio del test de Spearman, considerando $\alpha=0,05$ (Graphpad 5). Resultados: hubo correlación negativa significativa entre el FCEAI y la histopatología de duodeno (p-valor = 0,02; Spearman $r = -0,74$). El análisis de las correlaciones entre la histopatología y las diferentes interleuquinas se muestran en las tablas.

	TNF- α	IL-1 β	IL-12
Duodeno	p=0,11; r=0,57	p=0,006; r=0,84	p=0,0004; r =0,94
Colon	p=0,98; r=0,02	p=0,91; r = 0,04	p=0,19; r= 0,48

	TGF- β	IL-10	IL-17
Duodeno	p=0,55; r=-0,23	p=0,55; r=-0,22	p=0,61; r=0,19
Colon	p=0,49; r=0,26	p=0,77; r=0,11	p=0,74; r=-0,13

Se muestra que hubo correlación significativa entre la histopatología del duodeno con IL-1 β y con IL-12. Conclusiones: se trabajó con los informes estandarizados de valoración clínica e histopatología para felinos con EII. Las

correlaciones significativas halladas entre las citoquinas proinflamatorias y lo observado en la histopatología podría mostrar su vinculación con la fisiopatología de la EII y ser de utilidad diagnóstico-terapéutica.

PRODUCCIÓN DE ANTÍGENOS DE IgA BOVINA POR MÉTODOS BIOTECNOLÓGICOS

VERÓNICA RIGO, CLAUDIA BUENDIA, ANA JAR, SILVIA MUNDO

La Inmunoglobulina A (IgA) es una glicoproteína dimérica. Predomina en las secreciones y constituye el principal mecanismo de la respuesta inmune específica a nivel de mucosa. El objetivo de este trabajo es producir un anticuerpo específico para la IgA bovina, que constituye un desarrollo local y se aplicará para desarrollar o complementar pruebas diagnósticas de la paratuberculosis y profundizar el conocimiento sobre el papel de la IgA en las respuestas del bovino en estados de salud y enfermedad. Se realiza un abordaje biotecnológico, que consiste en la producción de la cadena pesada de la IgA (cadena alfa) como proteína recombinante para ser utilizada como inmunógeno. En este periodo amplificamos y clonamos tres fragmentos, que codifican para: A) la cadena pesada completa (dominios CH1, bisagra, dominios CH2 y CH3), B) la región Fc (dominios CH2 y CH3) y C) el dominio CH3 de la IgA. La amplificación se realizó por RT-PCR a partir del ARN total de mononucleares de bazo obtenido en forma aséptica de la necropsia de un bovino sin enfermedad aparente. Las células se separaron por perfusión de los trozos de tejido con medio de cultivo frío y se purificaron por centrifugación sobre un colchón de Ficoll y diatrizoato de sodio (Histopaque®

1077), se trataron con TRIZOL® a razón de 750 µl por cada 250 µl del paquete celular para obtener el ARN, y la reacción de RT-PCR se realizó utilizando oligo-dT. Se diseñaron cuatro cebadores específicos para las reacciones de PCR: tres en sentido directo, que insertan un sitio de restricción para *Bam*HI en el extremo 5' de la secuencia, y uno en sentido inverso, que inserta un sitio para *Hind*III en el extremo 3' de la secuencia. Se obtuvieron tres fragmentos de ADN (amplicones) con los tamaños esperados: 1032 pb para A, 725 pb para B, y 395 pb para C. Los amplicones se clonaron por ligación en el vector pGEM®-T Easy y los productos se utilizaron para transformar bacterias competentes *E. coli* DH5α. Las muestras de ADN plasmídico se enviaron a secuenciar por electroforesis capilar. Se comprobó que los tres fragmentos amplificados tienen 100% de identidad con la secuencia de nucleótidos de la cadena alfa de la IgA bovina presente en la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica de EE.UU. (*National Center for Biotechnology Information*: NCBI, Acceso GenBank # AF109167.1). Aún resta transferir estos fragmentos a un vector de expresión para producir la proteína recombinante, trabajo que se desarrollará en el transcurso de este año.

DIAGNOSTICO DE TUBERCULOSIS PORCINA: COMPARACION ENTRE RESULTADOS HISTOPATOLOGICOS Y PCR DIRECTA DE ORGANO

RIVERA, S.¹; PIETRONAVE, J.¹; GUILLEMI, E.¹; SIROTINSKY, V.¹; MARTINEZ VIVOT, M.¹;
FALZONI, E.¹

La tuberculosis porcina es una enfermedad infecto-contagiosa, crónica, producida por bacilos ácido alcohol resistentes del género *Mycobacterium*. El cultivo de estas bacterias insume entre 4 a 8 semanas. Las técnicas moleculares han tenido un gran avance en los últimos años como método diagnóstico rápido y sensible. En la búsqueda de otros metodologías eficaces para disminuir el tiempo de confirmación de tuberculosis, surge la técnica histopatológica que describe las lesiones granulomatosas características y detecta a las micobacterias mediante la tinción Ziehl Neelsen para tejidos. El objetivo de este trabajo es comparar los resultados del diagnóstico histopatológico teñidos con Hematoxilina/Eosina (HPT HE) y con Ziehl Neelsen (HPT ZN), con los resultados de la PCR directa de órgano, de muestras provenientes de decomisos por tuberculosis en frigoríficos porcinos. Se analizaron 12 muestras con lesiones compatibles con tuberculosis halladas en linfonódulos y pulmones de porcinos. Se fijaron en formol al 10% y se incluyeron en parafina. Se hicieron cortes de 5 µ, con micrótopo tipo Minot y se colorearon con Hematoxilina/Eosina y Ziehl

Neelsen. Simultáneamente se realizó la PCR directa de órgano, usando la secuencia de inserción IS6110. La extracción de ADN fue realizada utilizando el kit comercial "Purelink[®]" (Invitrogen). Resultados: hubo coincidencias en 11 muestras entre los resultados de la HPT HE con los de la PCR directa de órgano. Se observaron micobacterias en 7 cortes HPT ZN, de un total de 9 muestras con lesiones granulomatosas. No hubo coincidencia en una sola muestra entre los resultados de ambas técnicas (falso negativo a HPT). Discusión: podemos afirmar, que hay altos porcentajes de coincidencia entre HPT y PCR. No obstante, no se pudo revelar la presencia de micobacterias en todos los cortes coloreados con Ziehl Neelsen. Concluimos que tanto la PCR directa de órgano como la histopatología son métodos rápidos y simples que permitirían la confirmación del diagnóstico en frigorífico, a partir de lesiones compatibles con tuberculosis porcina, disminuyendo significativamente el tiempo de espera para su confirmación definitiva por cultivo. Continuaremos avanzando en el mejoramiento de la técnica para evidenciar micobacterias en cortes histopatológicos.

¹ Cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV- UBA. Sofii.9@hotmail.com

CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DE LA PLACENTA DE *MYOTIS ALBESCENS* Y *EUMOPS PATAGONICUS*.

RODRÍGUEZ, F.E.⁽¹⁾; SANDOVAL, M.T.⁽¹⁾; ÁLVAREZ, B.B.⁽¹⁾; LOMBARDO, D.M.⁽²⁾

La placenta constituye un órgano de vital importancia con múltiples funciones, siendo la principal asegurar el desarrollo embrionario. En los mamíferos, su estructura es muy variable dependiendo de su localización uterina, la distribución de las vellosidades coriónicas y las características histológicas. Para el orden Chiroptera la placenta de tipo discoidal, endoteliocorial o hemocorial, es la más generalizada, aunque la constitución histológica de la barrera interhemal es variable entre las diferentes especies. En el presente trabajo describimos a nivel macroscópico e histológico la placenta corionalantoidea de *Myotis albescens* (N=2) y *Eumops patagonicus* (N=3) en etapas avanzadas de la gestación. El material fue procesado siguiendo la técnica histológica convencional y coloración con Hematoxilina-Eosina y Tricrómica de Gomori. En *Myotis albescens* la vesícula coriónica se presenta de forma ovoide con vellosidades localizadas en un disco de posición fúndica, siendo el resto del corion liso. El disco placentario presenta una región central de anclaje con la decidua glandular y el margen libre. En este disco se observó una región periférica constituida por un tejido formado

por vasos sanguíneos maternos rodeados por citotrofoblasto y escaso tejido conjuntivo y una región central formado por vasos maternos rodeados por citotrofoblasto y tejido conjuntivo laxo con vasos fetales. En la vesícula coriónica de *Eumops patagonicus* se distinguieron vellosidades coriónicas en un laberinto placentario discoidal de organización compleja y posición uterotubárica y vellosidades rudimentarias dispuestas de forma difusa asociadas a una decidua glandular. En la zona de intercambio se observaron células deciduales y pleomórficas multinucleadas características del trofoblasto invasor. En la zona del laberinto se identificaron vasos sanguíneos maternos, con o sin endotelio vascular, rodeados por una capa de trofoblasto celular y/o sincitial; tejido conjuntivo laxo, vasos sanguíneos fetales y regiones con abundantes inclusiones de lipofucsina y hemosiderina. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto diferencias en la organización tisular de la placenta corionalantoidea entre las especies estudiadas. En *Myotis albescens* la placenta es de tipo hemomonocorial citotrofoblástica, mientras que en *Eumops patagonicus* es de tipo hemodicorial con cito y sincitiotrofoblasto.

⁽¹⁾ Asignatura Embriología Animal. FaCENA-UNNE. Av. Libertad 5470. Corrientes Argentina. ⁽²⁾ Cátedra de Histología y Embriología. FCV-UBA, INITRA. Chorroain 280, Buenos Aires. (CABA). CC1427CWO.

ACUMULACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN PECES PROVENIENTES DE UN ESTABLECIMIENTO DE PRODUCCIÓN ACUÍCOLA.

RODRÍGUEZ VIDA JULIÁN M., FERNÁNDEZ CIRELLI, ALICIA.

De las producciones acuícolas, la piscicultura es la que verifica un mayor desarrollo en nuestro país y es el rubro de producción animal con mayor crecimiento en el mundo. No obstante, son escasos los estudios sobre la presencia de elementos traza en los sistemas de cultivos. Se analizó de la presencia de As, Pb, V, Mo, Cd, Cr, Mn, Ni, Fe y Zn en el agua de cultivo y músculo de cinco ejemplares de talla comercial de bagre sapo (*Rhamdia quelen*), y de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), provenientes del Centro Nacional de Desarrollo Acuícola (CENADAC). Se determinó la concentración de los elementos traza mediante ICP-OES, según protocolos APHA y EPA. As y Pb no fueron detectados en ninguna muestra. Se calculó el Factor de Bioacumulación (razón entre la concentración de cada metal en músculo y agua) para los metales detectados en ambos compartimientos,

obteniéndose valores entre 2,8 (Mn) y 122 (Zn) para bagre y entre 3,3 (Mo) y 150 (Zn) para tilapia, indicando la acumulación de metales en músculo en ambas especies. Se estimó el coeficiente de riesgo para consumo humano (Target Hazard Quotient; THQ) a partir de las concentraciones promedio en músculo de cada metal y los valores sugeridos por USEPA para las restantes variables presentes en este coeficiente (las que asumen un consumo promedio de solo 2,4 kg pescado/año durante 70 años por parte de una persona de 70kg). Los valores obtenidos de THQ para bagre variaron entre 0.0002 (Cd) y 0.0033 (Zn) y para tilapia entre 0.0009 (V) y 0.0108 (Ni), con un THQ total para los metales evaluados de 0,015 y 0,030 para bagre y tilapia respectivamente. Estos resultados sugieren que los potenciales de riesgo para consumo humano son bajos.

EFECTO DEL RIEGO CON ARSÉNICO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA EN *Bromus sp.*

RODRIGUEZ M., ALVAREZ GONCALVEZ C.V., PÉREZ CARRERA A.L.

Uno de los biomarcadores utilizados para evaluar el estado fitosanitario de los forrajes es el contenido de clorofila. En múltiples estudios se ha visto que ante determinadas agresiones las plantas disminuyen su contenido de clorofila, por lo que su capacidad fotosintética, y consecuentemente su calidad, se ven afectadas. Dentro de los pigmentos fotosintéticos, la clorofila α y la clorofila β , constituyen los más importantes. Estos tienen un pico de máxima absorbancia a dos longitudes de onda distintas: 663 y 645 nm para clorofila α y β respectivamente. Para su cuantificación, la metodología tradicional se basa en una extracción por maceración en acetona (80%). El objetivo de este trabajo es determinar si la concentración de clorofila en un forraje varía en función de la exposición a arsénico (As) en el agua de riego. Para ello se sembraron 8 macetas con *Bromus sp* que fueron separadas en

dos grupos (n=4): uno que fue regado con una alta concentración de As (5 ppm) y otra con agua corriente durante 15 días desde la germinación. Se tomaron muestras de hojas. Todo el proceso de extracción fue llevado a cabo en oscuridad. Se midieron las absorbancias (A) a 645nm y 663nm. Se calculó la concentración en $\mu\text{g/ml}$ mediante las ecuaciones: clorofila $\alpha=12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$; clorofila $\beta=22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$; clorofila total $=20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}$. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Se observaron diferencias significativas en los niveles de clorofila β y clorofila total entre las plantas expuestas y no expuestas a As, en cambio, no se observaron diferencias significativas en los niveles de clorofila α . Este estudio contribuye a evidenciar que además del riesgo de transferencia del As a los forrajes se debe evaluar el impacto de la exposición de los forrajes a As sobre el estado fitosanitario y la productividad.

Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA, UBA-CONICET), Centro de Estudios Transdisciplinarios del Agua (CETA, UBA), Facultad de Cs. Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

USO DE UN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO PARA EL DESARROLLO TEMPRANO DE PARATUBERCULOSIS

ROMERO MAGALI¹, ALVARADO FIORELLA², DI PAOLO ADRIAN², SANTANGELO MARIA³, TRAVERIA GABRIEL².

Introducción. El *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) es el agente causal de la paratuberculosis (PTB), una ileocolitis granulomatosa crónica de los rumiantes. El cultivo es la técnica diagnóstica de oro, el medio comúnmente usado es el de Herrold con micobactina, en el cual las colonias aparecen entre los 2 a 6 meses de incubación. **Objetivos.** Utilizar un medio líquido que logre disminuir el tiempo siembra-diagnóstico y la concentración utilizada de micobactina. **Materiales y métodos.** El medio utilizado es el M7H9C (Whittington 2013), con el agregado de agar 0,185%, ácido nalidíxico y nistatina. Se sembró en paralelo con el medio sólido de Herrold, 8 muestras de animales con PTB. Para evidenciar la presencia de bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) se realizó coloración de Ziehl Neelsen (ZN) el día de la siembra y semanalmente. Se utilizó Chi² con la corrección de Yates y un grado de significancia

de $P < 0,05$. **Resultados.** Mediante ZN se vio en el medio líquido gran cantidad de BAAR en grupos entre los días 9 y 15 de incubación. En el medio de Herrold se observó desarrollo de colonias a los 2, 3 y 4 meses. En cuanto al desarrollo en los medios de cultivo no se observó diferencias significativas ($P = 0,89$). Sin embargo, al contrastar los tiempos de incubación, el medio líquido presentó el desarrollo de MAP en menos de un mes, encontrándose diferencias significativas con el medio de Herrold que necesitó una incubación mínima de 2 meses ($P = 0,019$). **Discusión y conclusiones.** Este medio presenta ventajas económicas en relación al de Herrold, al utilizar la mitad de micobactina (producto importado y caro), y diagnósticas y sanitarias, al disminuir el tiempo entre la siembra y el resultado definitivo, probablemente debido a que los medios líquidos facilitan el acceso de las bacterias a los nutrientes.

¹ Comisión de investigaciones científicas. ² Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

³ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

RENDIMIENTO Y CONTENIDO DE RESIDUOS DE DESECANTES EN GRANOS DE GIRASOL

RONDANINI D., SZEMRUCH C., GARCÍA F., AGUIRRE M., MARCO L., CANTAMUTTO, M., CRISTOS, D. Y PELISSIER, G.

Los desecantes aceleran la pérdida de humedad en las plantas de girasol, permiten lograr una cosecha anticipada y reducen las potenciales pérdidas económicas y de productividad. Dicha práctica se aplica como una moderna estrategia de manejo, sin embargo, algunos productos pueden dejar residuos tóxicos comprometiendo la inocuidad de los granos. El objetivo del trabajo fue evaluar el rendimiento y cuantificar la presencia de residuos químicos de diferentes desecantes en granos de girasol. Los ensayos se realizaron en Buenos Aires (C.A.B.A) con 2 fechas de siembra: temprana (Temp) y tardía (Tard) y 3 genotipos [alto linoléico sin *stay-green* (ALS), alto linoléico con *stay-green* (ALC) y alto oleico sin *stay-green* (AOS)], aplicando 3 tratamientos de desecado: Paraquat (2 L/ha), Carfentrazone (60 cc/ha) y Saflufenacil (60 g/ha) y un control sin desecar. El diseño fue DCA con 2 repeticiones. Los desecantes se aplicaron con 15% y 30% de humedad en grano para Temp y Tard, respectivamente. Cuando los granos alcanzaron el 10 % de humedad, se recolectaron para la determinación del rendimiento. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza y test de comparación de medias LSD entre tratamientos

y genotipos ($p < 0.05$). Los granos se almacenaron a temperatura ambiente en bolsas de papel durante 3 meses. Luego se enviaron las muestras al Laboratorio de Contaminantes Químicos, CIA INTA – Castelar, para análisis de residuos mediante cromatografía gaseosa, considerando los límites de 0.02 mg/Kg para Carfentrazone y de 0,05 mg/Kg para Paraquat. Los resultados de los cromatogramas demostraron la ausencia de residuos correspondientes a los diferentes productos desecantes. Respecto al rendimiento, no se presentaron efectos significativos entre desecantes, manteniendo el rendimiento [1440±104 kg/ha (Temp) y 2747±321,5 kg/ha (Tard)] con respecto al control [1697±320,3 kg/ha (Temp) y 2945 ± 430,9 kg/ha (Tard)] y entre híbridos [Temp: 1737±417.2 kg/ha (ALS), 1418±371.0 kg/ha (ALC), 1357±332,9 kg/ha (AOS); Tard: 2781±193,6 kg/ha (ALS), 2773±730,8 kg/ha (ALC), 2836±432,8 kg/ha (AOS)]. Los desecantes utilizados en estos experimentos, no produjeron pérdidas en el rendimiento en grano en los genotipos evaluados. Además, no se detectaron residuos en los granos almacenados en base a los límites de detección antes mencionados.

DETERMINACIÓN DE VALORES DE REFERENCIA DE CITOQUINAS Y MMPs DE LÍQUIDO SINOVIAL EN EQUINOS DE DIFERENTES GRUPOS ETARIOS

RUBATINO F, PERRONE G, CAGGIANO N, LASTRA Y, FERRETTO A, DE SIMONE E, CHIAPPE BARBARÁ MA

Introducción: La osteoartritis (OA) es una enfermedad articular degenerativa más común en equinos deportivos. La medición de citoquinas y las metaloproteasas en líquido sinovial podrían mejorar un diagnóstico temprano pero podría variar con la edad.

Objetivo: Determinar las concentraciones sinoviales de los biomarcadores inflamatorios en equinos de diferentes edades.

Materiales y Métodos: Se tomaron 3

grupos de equinos I) potrillos sanos entre 1 y 2 años (n=21), II) adultos con edad entre 3 y 14 años (n=84) sanos y con grados variables de enfermedad articular y III) adultos mayores a 15 años en algunos casos con alteraciones articulares por envejecimiento pero sin procesos activos de OA (n=18).

Se analizó la actividad MMP en zimografía con geles de poliacrilamida y ELISA para concentración de las citoquinas.

Resultados:

	Potrillos (1-2 años)	Adultos 3-14 años			Gerontes >15 años
		bajo	medio	alto	
IL-1 β	120.96 \pm 42.49 ^a	37.37 \pm 12.25 ^b	61.75 \pm 7.02	171.56 \pm 132.68	57.12 \pm 8.38
IL-4	6.10 \pm 1.43 ^{d, g}	2.94 \pm 0.93 ^{a, d}	7.41 \pm 0.71 ^{d, g}	14.61 \pm 5.37 ^g	10.83 \pm 4.20 ^c
IL-6	115.14 \pm 52.49	62.68 \pm 25.16	148.66 \pm 28.86	363.73 \pm 123.6 ^e	134.21 \pm 45.24
TNF- α	41.42 \pm 13.64 ^a	30.61 \pm 6.39	46.45 \pm 10.94	108.71 \pm 50.39 ^e	86.35 \pm 43.25 ^e
MMP-2	140.47 \pm 61.98 ^a	63.23 \pm 25.61	128.27 \pm 24.8 ^f	354.3 \pm 174.88 ^e	49.13 \pm 18.50
MMP-9	55.45 \pm 58.17 ^{a, c}	0.34 \pm 0.15	11.19 \pm 3.96	85.95 \pm 47.97 ^e	8.28 \pm 7.63
n	21	34	29	21	18

^a P < .001 vs gerontes; ^b P < .05, ^c P < .01, ^d P < .001 vs alto; ^e P < .001 vs otros grupos; ^f P < .05, ^g P < .01 vs gerontes

Conclusión: Como consecuencia del trabajo resaltamos que el rango etario del equino debe

tenerse en cuenta al momento de interpretar los resultados de su perfil sinovial.

EVALUACIÓN DE INDICADORES REPRODUCTIVOS EN SISTEMAS LECHEROS A PASTOREO

RUSCICA, MARÍA VICTORIA, MARINI, PABLO ROBERTO

MEDIAS GLOBALES PARA CADA INDICADOR REPRODUCTIVO
SEGÚN EL NIVEL DE PRODUCCIÓN (EN DÍAS)

PRODUCCIÓN	IPPC	IPPS	S	IPC
ALTA	72,787	88,558	3,757	186,854
MEDIA	63,974	79,272	2,288	121,678
BAJA	56,56	69,256	1,702	88,851

En los sistemas lecheros argentinos la selección basada en una mayor producción láctea individual ha provocado un deterioro en la supervivencia y en la eficiencia reproductiva de los animales. El objetivo de este trabajo fue estudiar el comportamiento del intervalo parto-primer celo (IPPC), el intervalo parto-primer servicio (IPPS), el intervalo parto-concepción (IPC) y el número de servicios por preñez (S). Se analizaron 14112 lactancias entre el año 1990 y el año 2013 pertenecientes a vacas Holando Argentino de cinco establecimientos lecheros de la provincia de Santa Fe. La alimentación, sanidad y manejo fue similar entre los establecimientos a lo largo de los años, utilizándose estrategias semejantes para sobreponerse a las crisis climáticas y económicas. Se utilizó R para el análisis estadístico de los datos, que consistió en ANOVA multifactoriales. Los factores fueron el año de parto, el establecimiento, el nivel de producción y el número de partos. Los

animales fueron clasificados en tres categorías de acuerdo a su producción (alta, media y baja) tomando como punto de corte los terciles, que fueron distintos para cada década. Se generaron cuatro categorías según el número de parto: primero, segundo, tercero y cuarto o más. Los resultados obtenidos muestran que los indicadores reproductivos fueron afectados por todos los factores con diferencia significativa ($p < 0,01$). En todos los casos, el nivel de producción explicó en mayor medida la variabilidad. Las medias aritméticas globales de los indicadores, teniendo en cuenta exclusivamente el nivel productivo, fueron siempre mayores en las vacas de nivel productivo alto, y menores en las vacas de nivel productivo bajo (ver tabla). Hubo diferencia significativa entre los valores ($p < 0,01$). La selección genética basada exclusivamente en la producción láctea individual puede causar un pobre rendimiento reproductivo.

APLICACIÓN DEL AUTOANTÍGENO IA-2 RECOMBINANTE EN INMUNOENSAYOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS AUTOINMUNE

ADRIANA V. SABLJIC, LUCIANO L. GUERRA, NATALIA I. FACCINETTI, BRUNO D. ROVITTO, ALDANA TRABUCCHI, EDGARDO POSKUS, RUBEN F. IACONO, SILVINA N. VALDEZ

La proteína tirosina fosfatasa 2 asociada a insulinoma (IA-2) es uno de los principales autoantígenos vinculados a Diabetes Mellitus (DM) Autoinmune. Los autoanticuerpos anti-IA-2 (IA-2A) constituyen un marcador del proceso autoinmune que precede a la sintomatología clínica y sirve de apoyo diagnóstico a las formas de DM con componente autoinmune. El objetivo del trabajo fue desarrollar inmunoensayos no radiométricos para la detección de IA-2A, empleando IA-2 recombinante humana expresada en *E. coli*. La región intracelular de IA-2 fue expresada como proteína de fusión con Tiorredoxina (TrxIA-2_{ic}) en la cepa GI724 y purificada por cromatografía de afinidad a partir de la fracción intracelular soluble. Empleando dicha proteína se desarrollaron dos diseños de ELISA: Modelo indirecto, inmovilizando TrxIA-2_{ic}-biotina a través de avidina, con posterior agregado del suero de los pacientes y detección colorimétrica del inmunocomplejo; y un modelo doble paratope, basado en la doble interacción del anticuerpo, presente en los sueros de

pacientes, tanto con TrxIA-2_{ic} inmovilizado en la placa como con TrxIA-2_{ic}-biotina soluble y posterior revelado con avidina-peroxidasa. Las muestras de pacientes diabéticos tipo 1 (n=48) fueron analizadas en paralelo por el método de referencia radiométrico (RBA). La purificación proteica dio un rendimiento de ≈ 10 mg TrxIA-2_{ic}/L cultivo con una pureza $\approx 77\%$. El diseño de ELISA indirecto alcanzó una sensibilidad relativa a la del RBA del 40,5% y una especificidad del 95,7%, con *scores* de desvío estándar (SDs) que fueron desde -2,76 a 4,85, y una mediana de 1,05. El diseño de doble paratope presentó una sensibilidad relativa del 59,5% y una especificidad del 94,9% con un rango en SDs de -0,71-111,20 y una mediana de 1,05. Asimismo, ambos diseños detectaron 4 pacientes positivos que fueron negativos por el método de referencia. En conclusión, se logró expresar eficientemente Trx-IA-2_{ic} en *E. coli* y desarrollar métodos de bajo costo, no radiométricos y ambientalmente inocuos para la evaluación de IA-2A, accesibles para muchos laboratorios.

FARMACOCINÉTICA DE LA MARBOFLOXACINA EN CABRAS: PERFIL PLASMÁTICO DURANTE EL PICO Y AL FINAL DE LA LACTACIÓN

SÁNCHEZ LARRAÑAGA, J.; GALOTTA, L.; ESMORIS, S.; KREIL, V.; TARRAGONA, L.; VEKSLER HESS, J.; AMBROS, L.

El conocimiento del perfil farmacocinético de una droga es imprescindible para la instauración de una terapia racional. Las diferencias encontradas a lo largo de la curva de lactación, tanto en el volumen de leche producido como en su composición, podrían modificar la farmacocinética de una droga. La marbofloxacin es una fluoroquinolona utilizada en animales y sus características farmacológicas la convierten en una herramienta útil para el tratamiento de infecciones de frecuente aparición en caprinos. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar y comparar el comportamiento farmacocinético de la marbofloxacin administrada por vía intramuscular a cabras durante el pico y al final de la lactación. Se utilizaron 5 cabras Anglo-nubian de segunda o tercera lactancia. Los animales recibieron una dosis por vía intramuscular de 2,5 mg/kg de marbofloxacin al 1% (Laboratorio Río de Janeiro), en una primera etapa a los 27 ± 2 días después del parto (pico) y en una segunda a los 145 ± 2 días (final). Se tomaron muestras de sangre (2 ml) de la vena yugular a tiempos predeterminados durante 24 horas. Las concentraciones de la droga fueron cuantificadas mediante el método microbiológico utilizando *Klebsiella pneumoniae*

(ATCC 10031) como microorganismo patrón. Las curvas de disposición fueron analizadas por métodos no lineales, utilizando el programa informático PcNonlin 4.0. (Lexington, USA). Para determinar si el momento de la lactancia modificó el perfil de la droga se empleó el test de Wilcoxon ($p \leq 0,05$). 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. Se muestra el valor de los principales parámetros estudiados al pico y al final, respectivamente: Concentración máxima $0,71 \pm 0,14$ $\mu\text{g/ml}$ y $0,76 \pm 0,13$ $\mu\text{g/ml}$, tiempo máximo $1,85 \pm 0,96$ h y $2,50 \pm 0,41$ h; vida media fue de $3,19 \pm 0,76$ h y $3,96 \pm 1,77$ h, área bajo la curva de $4,50 \pm 0,89$ $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ y $6,90 \pm 1,00$ $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$; tiempo medio de residencia $6,30 \pm 1,21$ h y $6,30 \pm 1,21$ h. No se encontraron diferencias en ninguno de los parámetros estudiados, por lo tanto podría emplearse el mismo esquema posológico a lo largo de la lactación. Futuros estudios serían necesarios para estudiar la llegada y permanencia de la droga a la leche.

PRODUCCIÓN DE JUVENILES EN EL CAMARÓN ORNAMENTAL “RED CHERRY”: EFECTO DEL TAMAÑO PARENTAL

SGANGA DE, TROPEA C, LOPEZ GRECO LS.

Neocaridina davidi o “red cherry” es un camarón de agua dulce nativo de Asia que debido a su intensa coloración rojiza es una especie de interés para la acuicultura ornamental siendo necesario desarrollar las condiciones de cultivo que optimicen el rendimiento. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tamaño de los parentales sobre la producción de juveniles de *N. davidi* a fin de definir un rango óptimo de tamaño que permita obtener el mayor número de juveniles. Para ello se armaron parejas de reproductores considerando los tratamientos: hembra grande: macho grande, hembra grande: macho chico, hembra chica: macho grande y hembra chica: macho chico (10 réplicas por tratamiento). Se revisaron diariamente las parejas de reproductores para la detección de hembras ovígeras y de los juveniles eclosionados. Se evaluaron dos puestas sucesivas. Al producirse la eclosión, los juveniles fueron contados y una muestra de 10

individuos fue fijada para pesaje (peso inicial). Otra muestra de 15 individuos fue asignada a un acuario para su crecimiento durante 60 días y finalizado este período los camarones fueron pesados (peso final). Se encontró que la fecundidad actual (número total de juveniles eclosionados/hembra) es significativamente mayor para la segunda puesta que para la primera, mientras que para la combinación hembra chica: macho grande la fecundidad actual fue significativamente menor que para el resto de las combinaciones de tamaño de parentales. Por otro lado, el incremento en peso de los juveniles fue similar para todas las combinaciones de tamaños de parentales, así como para ambas puestas. Por lo tanto mientras que el crecimiento de los juveniles no se vería afectado por el tamaño de los parentales, el número de juveniles eclosionados depende tanto de la combinación de tamaño de los parentales como de la puesta.

DBBE, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires e IBBEA, CONICET-UBA.

Financiamiento: PICT 2012 (01333), UBACYT 2014-2017 (20020130100186BA) y PIP 2015-2017 (11220150100544).

ANÁLISIS DEL EFECTO ANTIAPOPTÓTICO DEL GEN RELACIONADO A LA LATENCIA DE BOHV-5 Y SU COMPARACIÓN CON BOHV-1

SILVESTRO, C.A.; BRATANICH, A.C.

Introducción: Herpesvirus bovino tipo 1 y 5 (BoHV-1 y BoHV-5) son dos Alfa-herpesvirus que afectan la industria ganadera. BoHV-5 es neuropatogénico, mientras BoHV-1 provoca síndrome respiratorio, e invade raramente sistema nervioso central. Ambos generan latencia en ganglios sensoriales, acción que se atribuye al gen Relacionado a la Latencia (LR) y al comportamiento antiapoptótico de su producto (ORF-2), del cual no se halló homólogo en BoHV-5. Objetivo: Analizar *in vitro* las habilidades antiapoptóticas del gen LR de BoHV-5 en comparación con el de BoHV-1. Materiales y Métodos: A partir de una línea celular de neuroblastoma de ratón (Neuro2A), se generaron líneas que expresan, de manera estable, la región codificante del LR de BoHV-1, otra con LR de BoHV-5 y una línea como control con pcDNA vacío. Se indujo la apoptosis de las mismas con etopósido y se evaluaron los porcentajes de la misma

por los métodos de ladder y DAPI en tres experimentos. En simultáneo, se buscaron los transcritos producidos por el LR de BoHV-5 por RT-PCR tanto en las líneas como en células infectadas. Resultados: Las células que poseen al LR de BoHV-1 presentan un 30% menos de apoptosis que las que poseen el vector vacío. Sin embargo, las que poseen el LR de BoHV-5, logran solamente un 15% menos de apoptosis que el vector vacío. Se hallaron transcritos correspondientes al LR de BoHV-5 que fusionan el marco de lectura de ORF-2 con otro marco de lectura conocido del gen, comparables a los encontrados en BoHV-1 y fueron probados antiapoptóticos. Conclusiones: El gen LR de BoHV-5 presenta menor capacidad antiapoptótica que el LR de BoHV-1, pudiendo esto explicar su neurovirulencia. Los productos de fusión hallados en los transcritos podrían explicar parte del poder antiapoptótico que presenta BoHV-5.

IDENTIFICACIÓN DE COMPONENTES IMPLICADOS EN LA FORMACIÓN DE BIOFILM EN ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVOS AISLADOS DE MASTITIS BOVINA. (C. PRELIMINAR)

SREDNIK E. MARIELA, GENTILINI R. ELIDA.

Los estafilococos coagulasa negativos (ECN) son un grupo heterogéneo de bacterias aisladas frecuentemente de mastitis bovina. Los ECN son productores de biofilm. La implicación de biofilm en las infecciones crónicas ha activado un interés creciente en la caracterización de genes involucrados en la formación de estas biopelículas. Existen diversos genes que codifican la síntesis de adhesinas, proteínas de unión a moléculas de la matriz o proteínas implicadas en la formación de biofilm. Estas proteínas de superficie son: la proteína asociada a biofilm Bap que participa en el proceso de unión y colonización a un gran número de superficies, la proteína asociadas a la acumulación Aap; las proteínas que favorecen la unión a los componentes de la matriz extracelular (proteínas de adhesión a fibronectina EmbP, proteínas de adhesión a laminina Eno y proteínas de adhesión al fibrinógeno Fbe), la proteína con función de adhesina/autolisina AltE, y el operón *ica* (*icaA*) que codifica para la maquinaria que sintetiza el polisacárido de adhesión intercelular (PIA). La capacidad de formación de biofilm proporciona la adherencia de las células a una superficie y la acumulación de capas múltiples para formar grupos de células. Estos agregados no son susceptibles a la fagocitosis y son resistentes a ciertos antibióticos, un factor muy

importante para la persistencia de la infección y reacción inflamatoria. Se analizaron n=90 ECN, provenientes de leches mastíticas previamente identificados por RFLP-PCR. *Extracción de ADN y PCR*: Se realizaron 7 PCR de acuerdo con Tremblay y col. (2013). La mayoría de los aislamientos resultaron positivos al menos a uno de los 7 genes analizados, sólo 10 aislamientos resultados negativos a los 7 genes. En total, 3 aislamientos (3.3%) resultaron positivos al gen *icaA* y 3 aislamientos (3.3%) al gen *bap*. Sólo 3 aislamientos (3.3%) fueron positivos al gen *aap* siendo detectado solamente en la especie *S. epidermidis*. 12 (13.3%) aislamientos resultaron positivos al gen *fbe*. La presencia del gen *atlE* entre los aislamientos fue mayor, 24 (26.7%), al igual que el gen *embP*, 23 (25.6%) positivos. La mayoría de los aislamientos (n=79) resultaron positivos al gen *eno* (84%). Se detectaron aislamientos de ECN que portan genes relacionados a la producción de biofilm en diferente proporción. La correcta identificación, detección factores de resistencia y de virulencia, y la habilidad de formación de biofilm, es esencial para comprender la participación de los ECN en las infecciones intramamarias, y tomar decisiones apropiadas para la terapéutica y el manejo de las vacas en ordeño.

COMPONENTES DE VARIANZAS PARA LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE EN OVEJAS PAMPINTA

STAZIONATI, MICAELA F^{1,2}; MAIZON DANIEL O²

La estimación de componentes de varianza es necesaria para poder desarrollar programas de mejora genética. El objetivo del trabajo fue obtener estimaciones de componentes de varianza y covarianza, heredabilidades y correlaciones genéticas para la producción de leche (PL, l/d), grasa (PG, g/d), y proteína (PP, g/d), los porcentajes de grasa (%G) y proteína (%P), y mastitis subclínica (MSC) acumuladas en 210 d. Se tomó información del tambo de la EEA Anguil, generada entre los años 2010 y 2015, de ovejas con 3 o más controles lecheros (CL), no oficiales, por lactancia; se contó con un total de 384 ovejas y 734 lactancias. Como sugiere ICAR, se utilizó el método de Fleischmann para estimar los caracteres por oveja. Se emplearon modelos animales bicarácter para realizar las estimaciones, que incluyeron como efectos fijos, cuando fueron estadísticamente significativos, (1) edad al primer parto; (2) la combinación año-estación de parto; (3) número de parto; (4) tipo de parto y crianza, y (5) días desde el parto al primer CL. Como efectos aleatorios se incluyeron (1) las observaciones repetidas por oveja, (2) el valor genético aditivo individual, y (3) el error. Para el armado de la matriz de relaciones, en la genealogía se agregaron los ancestros que conectaban dos o más individuos;

obteniéndose así 1180 ovinos. En relación a los componentes permanente y error, se los asumió normales e independientes. Se empleó metodología bayesiana, con muestreo de Gibbs y distribuciones *a priori* no informativas, para realizar las estimaciones mediante el programa TM. Las heredabilidades estimadas fueron para PL 0,22, PG 0,17, PP 0,22, %G 0,32, %P 0,21 y para MSC 0,06; los desvíos estándares estuvieron entre 0,03 y 0,07. En tanto que, las correlaciones genéticas fueron muy altas y positivas para PL con PG 0,935 y PL con PP 0,092, moderadas a bajas para PL con MSC 0,167, PL con %G 0,151, PG con %P 0,271, %P con MSC 0,230, PP con %P 0,330 y PP con MSC 0,140, %G con %P 0,274, %G con MSC 0,185, %P con MSC 0,147, muy baja entre PG y %G 0,057, mientras que entre PL y %P fue intermedia y negativa -0,315; los desvíos estándares entre 0,05 y 0,55. Las heredabilidades y correlaciones genéticas están en concordancia, aunque algo menores, con las reportadas para East-Friesian u otras razas en la literatura. Las estimaciones obtenidas indican que existe suficiente variabilidad genética, lo que permitiría incorporar PG y PP como criterios de selección en la programa de mejora genética del ovino lechero Pampinta.

¹CONICET; ²INTA; EEA Anguil "Ing. Agr. G. Covas" – Argentina

RECUESTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN OVEJAS PAMPINTA

STAZIONATI, MICAELA F^{1,2}; MAIZON DANIEL O²

El recuento de células somáticas (RCS, cel/ml) en la leche es, en ovinos como en otras especies, una medición de la cantidad de células blancas que trasvasan de la sangre a la leche en respuesta a una agresión, infecciosa o no, de la glándula mamaria. Este recuento es un indicador indirecto de la presencia de inflamación subclínica de la glándula mamaria, que se denomina mastitis subclínica. El objetivo de este trabajo fue analizar a lo largo de la lactancia la variación del RCS, y los factores que la influyen, en ovinos Pampinta. Se tomaron dos años de lactancias, los partos del 2012 y 2014, del Tambo Experimental de la EEA Anguil, en los cuales se realizaron junto al Control Lechero (CL), no oficial, mediciones del RCS empleando un contador automático de células somáticas (DeLaval, modelo DCC). La base de datos contó con 1123 RCS de 269 lactancias de 219 ovejas, unos 4 CL por oveja por lactancia. Se modeló una transformación del RCS $[\ln(\text{RCS}/100)+4]$, y se empleó un modelo mixto que incluyó, como efectos fijos, (1) un polinomio de grado 3 para modelar los días en lactancia (entre 10 y 280 días); (2) edad del animal (1, 2, 3, 4, 50+ años); (3) presencia/ausencia de mastitis subclínica (MSC); nivel de producción de leche en el día del CL (<750 ml; entre 750 y 1150 ml; y >1150 ml) y, como aleatorio, la oveja. Para la estimación

se empleó el algoritmo EM-REML del programa WOMBAT. Los efectos considerados en el modelo fueron los estadísticamente significativos ($p < 0,05$), también se testeó el efecto año y estación de parto pero resultó no significativo. El polinomio, de grado 3, mostró que para el conjunto de ovejas, de un año de edad, producción de leche < 750 ml/d y sin MSC, el RCS comenzó elevado (>250 mil cel/ml), luego baja (a los 115 d, es de 100 mil cel/ml) y se mantiene (ondulando entre 115 y 125 mil cel/ml); el promedio de RCS aumentó con la edad de las ovejas, llegando a 200 mil cel/ml en animales de 50+ años; el RCS disminuyó a medida que aumentó la producción de leche, ovejas con producción mayor a 1150 ml/d, presentaron un promedio de RCS igual a 62 mil cel/ml. La prevalencia de MSC fue de 7,8%, y las ovejas afectas tuvieron un promedio de 566 mil cel/ml. El efecto oveja explicó el 17% de la variación fenotípica observada en el RCS, esto indica el máximo que podría tener la heredabilidad del carácter. Estos resultados están en línea con los obtenidos en otros estudios, destacando los factores que inciden en la variación del RCS. En principio, el RCS no sólo es una buena herramienta diagnóstica, sino que podría incluirse como criterio de selección.

¹CONICET; ²INTA; EEA Anguil "Ing. Agr. G. Covas" – Argentina

CULTIVO Y PURIFICACIÓN DE CÉLULAS DE CUERPO LÚTEO PORCINO COMO SUSTRATO PARA LA MADURACIÓN *IN VITRO* DE COMPLEJOS *CUMULUS* OVOCITO PORCINOS. ESTABLECIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN

TEPLITZ GM, MARURI A, LOMBARDO DM, CLAVER JA.

Teniendo presente los resultados obtenidos a partir de ovocitos madurados y fecundados *in vivo*, la producción *in vitro* (PIV) de embriones porcinos es aún una biotecnología ineficiente. La maduración nuclear y citoplasmática no han sido bien descritas en el cerdo, reflejado esto en inconvenientes para la formación de pronúcleos y la existencia de polispermia. La utilización de un cocultivo estandarizado recrearía de mejor forma el ambiente en el cual se desarrollan estos procesos *in vivo*. La elección de células de cuerpo lúteo porcino (CL) en monocapa para cocultivo de complejos *cumulus* ovocito (COCs) se fundamenta en su capacidad esteroidogénica, con producción basal de progesterona (P4). Esta hormona posee un efecto antiapoptótico debido a una expresión de Fas por debajo de los niveles basales (*downregulation*) y a su efecto antioxidante. A su vez, la P4, es un mediador de la reanudación meiótica inducida por el aumento de gonadotropinas. El objetivo del este trabajo fue establecer y caracterizar el cultivo de células de luteales porcino (CLP) para el cocultivo de COCs porcinos, a fin de disminuir los niveles de estrés oxidativo y la apoptosis inducida por especies reactivas del oxígeno (EROs), promoviendo la maduración ovocitaria. Para el

establecimiento y purificación del cultivo de CLP se realizó la disección de cuerpos lúteos obtenidos a partir de ovarios de frigorífico. El tejido luteal se sometió a digestión mecánica y enzimática con Colagenasa IV. La suspensión se filtró y centrifugó y se diluyeron las células en 10 mL de medio DMEM-F12 suplementado y se sembraron en 2 frascos de cultivo T25, manteniéndose en incubadora y renovando el medio cada 48, luego las células de pasaje 1 sufrieron una centrifugación diferencial en gradientes de Percoll®. Para el análisis y la caracterización del mismo se realizó la evaluación del contenido de lípidos intracelulares por tinción con rojo nilo, la inmunocitoquímica para 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-HSD) y la determinación de P4 por Elisa observando la capacidad esteroidogénica de las células en cultivo. Se realizó la recolección de ovocitos, y se hicieron ensayos preliminares de MIV de COCs en cocultivo con cultivo de CLP (con su respectivo control con y sin el agregado de hormonas) y posterior evaluación de la maduración nuclear en cada situación experimental. Los resultados permitirían la optimización de la producción *in vitro* de embriones porcinos y su posible transferencia tecnológica a los sistemas productivos.

ESTAFILOCOCOS PRODUCTORES DE MASTITIS: CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA Y MÍNIMA CONCENTRACIÓN DE ERRADICACIÓN DE BIOFILMS. INFORME PRELIMINAR

M. FLORENCIA TESTORELLI, ELIDA R. GENTILINI

Introducción: un biofilm es una comunidad sétil de microbios con un fenotipo alterado que favorece la persistencia de infecciones por ser una barrera para la llegada de antimicrobianos. Objetivo: desarrollar biofilms *in vitro*, determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la mínima concentración de erradicación de biofilms (MCEB) de penicilina y eritromicina. Materiales y métodos: se cultivaron n= 24 cepas de estafilococos, n=8 coagulasa positivos (ECP) y n=16 coagulasa negativos (ECN) en un dispositivo comercial para biofilms (MBEC™ Biofilm Technologies, Canadá). Se determinó la CIM y la MCEB de penicilina (Pen) y eritromicina (Eri), según recomendaciones del CLSI2008/2013. Rangos estudiados: Pen [128µg/ml -0.125µg/

ml] y Eri [64µg/ml-0.062µg/ml]. Resultados: todas las cepas seleccionadas desarrollaron biofilms y se obtuvieron cepas resistentes (R), 87,5% (21/24) y 37,5% (9/24) para Pen y Eri respectivamente. Las MCEB para Pen en el 91.6 % (22/24) de las cepas fue > 128µg/ml y para Eri > 64µg/ml en el 70.8% (17/24). En relación a la CIM obtenida, las MCEB resultaron entre 6 (Pen) y 5 (Eri) diluciones por encima en el 58.3% (14/24) de las cepas. En el resto, la diferencia entre CIM y MCEB fue menor. Conclusión: se requieren concentraciones mayores a la CIM para erradicar los biofilms *in vitro*. Esta forma de desarrollo microbiano, podría representar una causa de falla terapéutica con la consecuente persistencia de infecciones intramamarias.

EFECTO DEL COLOR DEL SUSTRATO SOBRE LA PIGMENTACIÓN DEL CAMARÓN ORNAMENTAL *NEOCARIDINA DAVIDI*

TOMAS A.L, LÓPEZ GRECO L.S.

La acuicultura ornamental se ha incrementado significativamente en los últimos años y entre las especies de cultivo de interés en nuestro país se encuentra el camarón *Neocaridina davidi*, un crustáceo decápodo que se caracteriza por la pigmentación rojiza que presentan las hembras y la que le confiere relevancia como especie ornamental. Este carácter podría estar modelado, entre otros factores, por el sustrato donde se desarrollan. Con el objetivo de estudiar el efecto del color del sustrato sobre la pigmentación de las hembras, se diseñó un ensayo donde se evaluaron 3 colores de sustrato: blanco, rojo y negro. Se trabajó con 12 réplicas para cada nivel de tratamiento, considerando al acuario (19,5cm x 14,5cm x 12cm) como réplica. El color diferencial del sustrato se logró mediante una capa de aproximadamente 1 cm de espesor de piedras de colores. En cada réplica se colocaron al azar 13 juveniles. Los animales fueron

mantenidos durante 120 días a una temperatura de $27 \pm 1 \text{C}^\circ$, aireación continua, musgo de Java (4 gr por réplica) y recambio semanal del volumen total de agua. La alimentación consistió en pellets Tetra Diskus Tetra® suministrado 1 vez al día *ad libitum*. Al finalizar el periodo experimental, a cada animal se le tomaron de 3 a 5 fotografías del cefalotórax en vista lateral que fueron analizadas con el programa Image Pro-Plus, con el objetivo de cuantificar las áreas más pigmentadas (mm^2). Luego se las relativizó al área total del cefalotórax. Por último, todos los animales fueron pesados, sacrificados y liofilizados para posterior determinación de carotenoides. Los primeros resultados indican que los animales sometidos al sustrato de color negro presentan mayor área relativa pigmentada. De este modo en condiciones de cultivo se recomienda colocar fondos oscuros para obtener hembras de color rojo más intenso.

DBBE, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires e IBBEA, CONICET-UBA.

Financiamiento: PICT 2012 (01333), UBACYT 2014-2017 (20020130100186BA) y PIP 2015-2017 (11220150100544).

ASOCIACIONES DEL BCF CON OTROS PARÁMETROS DE MOVILIDAD ESPERMÁTICA BOVINA

TORRES, P., MALCERVELLI, D., FRATTO, MC., FISCHMAN, ML., CISALE, H.

La frecuencia de batido flagelar está relacionada tanto con la velocidad del espermatozoide como con la potencia generada por el flagelo. Los sistemas CASA (*Computer Assisted Sperm Analysis*) permiten evaluarla en forma objetiva mediante la frecuencia de corte de la línea de trayectoria (BCF; Hz), que indica el número de veces por segundo que la cabeza espermática cruza la trayectoria media de desplazamiento. La BCF es considerada también una medida objetiva del vigor espermático (Katz & Bloom, 1981). Oliveira *et al.* (2013) establecieron que la BCF sería uno de los parámetros que permitirían predecir la fertilidad del eyaculado *in vitro*, dado que presentaron una fuerte correlación positiva con la fertilidad a

campo. Los parámetros secundarios que brinda el CASA son la STR (Rectitud), LIN (Linealidad) y WOB (Oscilación). Estos relacionan los diferentes parámetros de velocidad y permiten una mejor interpretación de la trayectoria espermática. El objetivo del presente trabajo fue determinar si existe asociación estadística entre BCF con STR, LIN y WOB en cada una de las subpoblaciones espermáticas determinadas por la VCL (Velocidad curvilínea): rápidos (R), medios (M) y lentos (L). Se analizaron muestras seminales bovinas criopreservadas de 12 animales mediante el sistema ISAS[®]. Se determinaron las medias y errores estándar para cada parámetro y se aplicó el test de correlación de Spearman.

	VCL	BCF	LIN	STR	WOB
R	79,98±1,95	9,37±0,29	38,43±1,36	71,3±1,87	53,83±0,78
M	37,18±0,33	5,25±0,35	30,32±1,82	57,79±2,27	52,09±1,14
L	19,05±0,3	3,05±0,19	40,29±1,71	66,63±1,47	60,29±1,56

Sólo se observó asociación positiva significativa en las subpoblaciones espermáticas R y M, entre BCF y LIN (r_M : 0,63; r_R : 0,78) y entre BCF y STR (r_M : 0,66; r_R : 0,85). El aumento del BCF produciría una mayor progresión del espermatozoide (a mayor LIN y STR, trayectoria más lineal). En los L, si bien LIN y STR son similares, la BCF es la más baja

y no hay correlación. Es importante evaluar la relación entre estos parámetros ya que la combinación de ambos nos permitiría una mejor comprensión de las características del movimiento espermático. La correlación positiva nos indicaría que en estas muestras el aumento del BCF es acompañado por mayor progresividad y rectitud en espermatozoides medios y rápidos.

DESARROLLO DE UN SISTEMA DE DETECCIÓN DE CEPAS DE *E COLI* ENTEROHEMORRÁGICA CAUSANTES DEL SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO

M.A. TOSCANINI, M. IGLESIAS RANDO, E. SEWELL, M. SACERDOTI, S. KRETOWICZ, R. GONZÁLEZ, M. MANZI, J. SANTOS

En la Argentina el síndrome urémico hemolítico (SUH) es una enfermedad endémica. El consumo de alimentos y agua contaminada son las principales fuentes de contagio con *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) cuya infección puede evolucionar al SUH. Nos propusimos desarrollar un *kit* rápido, de operación sencilla y de bajo costo, para la detección de bacterias patógenas utilizando *toehold switches* vehiculizados por un bacteriófago. Por búsqueda bibliográfica se seleccionaron como blancos de detección los genes *ureD* y *espK* por permitir identificar de forma específica los 7 serogrupos más prevalentes de EHEC. Para el reconocimiento

del ARNm de cada uno de dichos genes se diseñaron dos moléculas de ARN *toehold switches* que al reconocerlos se activan. Sólo en el caso de estar presentes ambos ARNm se emite una señal fluorescente medible. Inicialmente, para evaluar el sistema de detección se trabajó con el ARNm de *ureD* y se generó una bacteria blanco similar patógena de ECEH. Se generó el correspondiente *toehold switch* por PCR secuenciales y se purificó para su posterior incorporación en un plásmido. Actualmente estamos evaluando la eficiencia de nuestro sistema de detección que permitirá la identificación simultánea de los 7 serogrupos de EHEC más prevalentes.

CÉLULAS DERIVADAS DE MÉDULA ÓSEA PARA PROMOVER LA REGENERACIÓN Y RECUPERACIÓN FUNCIONAL EN UN MODELO DE DEGENERACIÓN WALLERIANA

USACH VANINA, PIÑERO GONZALO, SOTO PAULA, SETTON-AVRUJ PATRICIA

La rápida reinervación luego de una lesión nerviosa es fundamental para posibilitar la regeneración axonal, remielinización y recuperación funcional. En los últimos años las terapias con células pluripotentes adultas han surgido como herramienta para favorecer dicha regeneración, ya sea mediante su trasplante o mediante la estimulación de la migración endógena de las mismas. El objetivo del trabajo fue evaluar si las células mononucleares de médula ósea (CMMO) poseen algún efecto regenerativo frente a lesiones del nervio ciático. Ratas sometidas a compresión del nervio ciático (N= 5 por grupo experimental, por sobrevida) fueron inmediatamente trasplantadas a través de la arteria caudal con CMMO o con solución fisiológica. Animales

sham y control también se incluyeron. Estudios histológicos, de inmunofluorescencia, funcionales y comportamentales fueron analizados a diferentes sobrevidas. Los axones de los animales tratados con CMMO presentan una morfología más conservada, una reducción significativa en los acúmulos de la proteína básica de mielina, respecto a lo observado en animales no tratados. Funcionalmente presentan una leve mejora en la amplitud de conducción del impulso nervioso a partir de los 14 días y una completa prevención de la hiperalgesia mecánica a lo largo de todas las sobrevidas estudiadas. El trasplante sistémico, no invasivo de las CMMO demostró ser una herramienta promisoriosa para el tratamiento de las neuropatías periféricas adquiridas.

UTILIZACIÓN DE CEPAS DE *TRICHODERMA* COMO HERRAMIENTA PARA EL CONTROL DE ENFERMEDADES EN PRODUCCIONES HORTICOLAS HACIA UNA TRANSICIÓN AGROECOLÓGICA

VARELA PARDO, R.A., BORRELLI, N.P. , WIGDOROVITZ, P.I. , SENINNI, N.

Las plagas pueden convertirse en factores limitantes cuando disminuyen el rendimiento y la calidad de la producción, generando mayores costos y dificultades en la comercialización. El control convencional de enfermedades de las plantas se basa en el uso de agroquímicos, presentando frecuentemente casos de agricultores y operarios con problemas de salud. El manejo sobre bases agroecológicas busca disminuir el impacto de plagas y obtener productos más saludables. El presente trabajo se encuentra enmarcado dentro del Proyecto UBANEX dirigido por el Dr. Eduardo Roberto Wright. Se proponen como objetivos, buscar la disminución de la aplicación de fungicidas químicos mediante el uso de microorganismos antagonistas de hongos fitopatógenos del género *Trichoderma* y mejorar el manejo de las plagas implementando estrategias agroecológicas. Se tomaron muestras de suelo y hojas de huertos en transición hacia un manejo agroecológico de la localidad de Berazategui (provincia de Buenos Aires), se las

procesó mediante técnicas de laboratorio de rutina, utilizando la metodología de diluciones seriadas. Se probará *in vitro* su efecto inhibitorio sobre hongos fitopatógenos de suelo y aéreos a través de la técnica de cultivos duales, se seleccionarán las cepas de mejor comportamiento, se las multiplicará en distintos sustratos y se probará su eficiencia a campo en parcelas experimentales dentro de los establecimientos. Hasta el momento se logró una colección de 35 aislamientos puros del género *Trichoderma* a partir de muestras de suelo y tejido foliar. En una segunda etapa se buscará desarrollar un formulado de *Trichoderma* para el uso directo por parte de los productores. Se concluye que mediante el aislamiento y selección de hongos del género *Trichoderma* de las fincas productivas se promoverá la disminución en el uso de fungicidas químicos. Creemos que la agricultura familiar campesina necesita del acompañamiento de instituciones públicas capaces de colaborar en la búsqueda de soluciones.

DIVERSIDAD GENOTÍPICA DE CEPAS DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* AISLADAS DE MUESTRAS BOVINAS ANALIZADAS MEDIANTE MLVA

VASINI ROSELL B¹, CIRONE K², MORSELLA C², MENDEZ L², BRESKY F³, GIOFFRÉ A⁴,
PAOLICCHI F².

La paratuberculosis es una enfermedad entérica asociada a *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*, causante de grandes pérdidas de producción por deficiente conversión alimenticia y de importantes pérdidas económicas en Argentina. Conocer las distintas cepas que producen la enfermedad en la región permite evaluar la evolución epidemiológica de la misma e implementar medidas de control adecuadas y eficientes. En este trabajo se analizaron aislamientos de MAP de establecimientos ganaderos de las provincias de Buenos Aires y Santa Fe aisladas entre los años 1990 y 2015. Se trabajó con 39 aislamientos pertenecientes al cepario del Laboratorio de Bacteriología de la EEA INTA Balcarce. Las cepas fueron cultivadas en medios Herrold suplementado con micobactina y piruvato (HMP) y HMP con antibiótico (HMPA) a 37°C hasta obtener crecimiento suficiente para la extracción de ADN. Se realizó la extracción de ADN mediante shock térmico. Todos los aislamientos fueron analizados primeramente por PCR IS900 para

confirmación de especie. A continuación se realizó la tipificación a través de la técnica de MLVA (Mycobacterium Loci Variable Analysis) utilizando 8 loci marcadores. Los resultados obtenidos muestran 4 genotipos denominados INMV 1, 2, 16 y 33 (denominación establecida por el INRA-Francia). El patrón 1 resultó ser el más frecuente (69%) seguido del patrón 2 (18%). Los patrones 33 (8%) y 16 (5%) se encontraron en menor proporción. El patrón más común se encontró en los 7 establecimientos estudiados. Se pudo observar diversidad genotípica dentro del mismo año de estudio en el 57% de los establecimientos. El presente trabajo confirma que el patrón de MLVA más frecuente de la región analizada es INMV1, en concordancia con otros trabajos realizados en nuestro país. La coexistencia de diferentes genotipos en un mismo rodeo sugiere una activa circulación de distintas cepas de MAP, originadas probablemente por la introducción de animales sin control de la infección.

1. CONICET - 2. INTA EEA Balcarce. Laboratorio de Bacteriología - 3. CIC-UNMdP - 4. INTA Castelar. Instituto de Biotecnología.

MODULADORES DEL CRECIMIENTO EN CULTIVO DEL CAMARÓN ORNAMENTAL 'RED CHERRY' (*Neocaridina davidi*)

VÁZQUEZ, N.¹; COLPO, K.²; LÓPEZ GRECO, L.^{1,3}.

El camarón *Neocaridina davidi* es una especie dulceacuícola utilizada en acuariofilia y a pesar de su popularidad creciente poco se sabe de las condiciones apropiadas de cultivo. En el marco de promover esta actividad para pequeños productores en el país, se están desarrollando ensayos para realizar su cultivo de manera sustentable. En particular en varias especies de cultivo se ha demostrado que las altas densidades afectan el crecimiento y/o la supervivencia. Por otro lado en especies donde el dimorfismo sexual en tamaño es significativo y la competencia sexual es elevada el cultivo monosexo (solo macho/solo hembras) permite una optimización del crecimiento. En ese contexto el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la densidad y el cultivo monosexo sobre el crecimiento de *N. davidi*. Para el experimento de densidades fueron cultivados en cubas plásticas (18x12,5x12 cm) a tres densidades: 5, 10 y 20 juveniles por cuba (6 réplicas por tratamiento). En el caso del cultivo

monosexo éste consistió en cultivar de forma separada a una densidad de 10 individuos por cuba, machos (M) y hembras (H) y un control (5M y 5H) (6 réplicas por tratamiento). Se mantuvo a los animales con aireación constante, musgo de Java como sustrato y se los alimentó diariamente con TetraColor® *ad libitum* durante 3 meses. Para el experimento de densidades se realizaron pesajes mensuales (t=0, 30, 60 y 90 días) y para el de monosexo quincenales (t=0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días). Los principales resultados indican que aún con elevada supervivencia a las 3 densidades, 5 y 10 organismos por unidad de cultivo permiten obtener individuos de mayor peso. Respecto del cultivo monosexo, tanto los machos como las hembras crecen de modo similar en cultivo monosexo y mixto. De acuerdo a estos resultados se recomienda criar a los animales a densidad 10/unidad de cultivo para optimizar su crecimiento y aumentar el rendimiento y no sería necesario realizar cultivos monosexo.

¹DBBE, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. ²ILPLA, CONICET-UNLP. ³ IBBEA, CONICET-UBA.

Financiamiento: PICT 2012 (01333), UBACYT 2014-2017 (20020130100186BA) y PIP 2015-2017 (11220150100544).

ESTUDIO DE DIFERENTES FACTORES DE COAGULACIÓN QUE DETERMINAN EL ESTADO DE HIPERCOAGULABILIDAD EN EL PERRO CON ENFERMEDAD DE CUSHING

VIDAL, P; MICELI, D; CASTILLO, V.

El estado de hipercoagulabilidad es una situación de alta morbi-mortalidad en el perro con Enfermedad de Cushing (EC). El cuadro más grave observado es la tromboembolia pulmonar siendo causa de muerte. El dímero D (DD), producto de la degradación de la fibrina, es un indicador de trombosis. El Factor de von Willebrand (FvW) encargado de la agregación plaquetaria y el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) encargado de la inhibición de la fibrinólisis, se encuentran aumentados en síndromes plurimetabólicos. El objetivo del trabajo fue evaluar si la actividad de la Antitrombina III (ATIII) y el DD son útiles como indicadores de formación o presencia de trombosis y analizar las concentraciones del FvW y PAI-1 en el perro con EC comparándola con un grupo de animales sanos. Se estudiaron 26 perros con EC y 12 perros provenientes de caniles de la FCV-UBA, como grupo control. A todos se les realizó recuento plaquetario, tiempos de coagulación (KPTT y tiempo de protrombina (TP), fibrinógeno (F), ATIII expresado como actividad de ATIII (normal >80%) y DD (positivo >200, DD+). Se midió por método ELISA el FvW y PAI-1. Proteinuria en relación con la creatinina (RPC, valor normal

<0,30). Los resultados se expresaron como promedio \pm SEM, comparando los promedios por medio del test *t* de muestras no pareadas. Se consideró significativo $P < 0,05$. También se utilizó Test de Fisher. Resultados: El recuento plaquetario, KPTT, TP y el F fueron normales. En 9/26 (34,6%) tanto la ATIII como el DD estuvieron alterados, habiendo asociación entre ambos teniendo correlación inversa ($r = -0,5$). La RPC fue elevada en 10/26 (38,5%), asociándose con la menor actividad de ATIII y con el DD+, correlacionando los valores de RPC con ATIII ($r = -0,75$) y con DD ($r = 0,67$). Las concentraciones del FvW y PAI-1 fueron significativamente mayores en el grupo con EC respecto del control (FvW: $4,2 \pm 0,3$ vs $2,7 \pm 0,3$ ng/ml; PAI-1: $836,6 \pm 153,2$ vs $295,2 \pm 24,1$ pg/ml). Un perro con actividad de ATIII 65% y DD+ coincidió con las concentraciones más altas del FvW y PAI-1. Conclusión: Los estudios de coagulación de rutina no son relevantes para diagnosticar trombosis. El aumento del FvW y PAI-1 muestran la presencia de hipercoagulabilidad en perros con EC y mayor riesgo de trombosis. Se recomienda la evaluación de DD y ATIII para el diagnóstico de trombosis.

CONOCIMIENTOS SOBRE TOXOCARIASIS Y TOXOPLASMOSIS DE TENEDORES RESPONSABLES DE ANIMALES DE COMPAÑÍA

VIDELA, J¹; SURANITI, A²; LÓPEZ, C¹; SOMMERFELT, I¹

El estrecho contacto entre el perro o el gato y su tenedor responsable favorece la exposición de agentes capaces de producir enfermedades zoonóticas. Dentro de ellas la Toxocariasis y Toxoplasmosis son citadas con relativa frecuencia. Los conocimientos acerca de los mecanismos de transmisión de estas enfermedades disminuirían los hábitos de riesgo de contraerlas. Con el objetivo de identificar que conocimientos poseen los tenedores responsables sobre Toxoplasmosis y Toxocariasis, y para identificar conductas que aumenten la probabilidad de transmisión de dichas enfermedades, se realizó un estudio exploratorio descriptivo durante un periodo de 6 meses. Se elaboró una encuesta para recolectar datos. Se definió la variable conocimiento (categorizada en correcta completa, correcta incompleta e incorrecta) y hábitos de riesgo (acceso al exterior suelto, escape, caza, lugar de descanso, higiene de deposiciones, desparasitación, alimentación, cocción del alimento, consumo de basura). Se elaboró una base de datos que fue analizada con el programa EPI-INFO versión 3.5.4. Fueron entrevistados 50 tenedores responsables de animales que demandaron atención veterinaria

en el Hospital Escuela FCV-UBA.. El 82% tenían caninos, el resto felinos. El 68 % de ellos declaró conocer la existencia de enfermedades zoonóticas en general. El 78% reconoció a la toxoplasmosis como enfermedad zoonótica, sin embargo en este grupo más del 80% tenía información incompleta o incorrecta. El 14% de los entrevistados manifestó conocer la Toxocariasis pero sin información sobre ella. En relación a las prácticas de riesgo: el 40% permitía la salida al exterior suelto, el 15% mantenía hábitos de escape o de caza, el 34% dormía en la cama del tenedor, el 4% no se ocupaba de las deposiciones, 32% no desparasitaban con regularidad, el 92% daba alimento casero o mezcla y el 9% sin cocción, el 53% observó el consumo de basura. Los conocimientos que tienen los tenedores de la población encuestada, acerca de las zoonosis son insuficientes. Si bien reconocen más la Toxoplasmosis que la Toxocariasis, poseen poca y en algunos casos errónea información y por consiguiente no tendrían conocimientos adecuados y suficientes para adoptar medidas preventivas y evitar o reducir el riesgo de enfermarse.

DESCRIPCIÓN DEL ALZA DE LACTACIÓN OVINA EN UNA MAJADA DE OVEJAS CORRIEDALE

WELSCHEN NICOLAS¹; GONZALES SANDRA²; DONZELLI VALERIA³

El alza de lactación ovina (ALO) es definida como un aumento marcado pero transitorio en la eliminación de huevos en materia fecal de nematodos gastrointestinales en la hembra ovina adulta. Durante este período se produce una alta contaminación de las pasturas con huevos que evolucionaran a formas infectivas. Esto supone un riesgo para los corderos que comienzan a pastorear al pie de la madre. Este fenómeno está asociado a cambios metabólicos, hormonales e inmunológicos que ocurren durante la lactancia, al mismo tiempo se ha propuesto una asociación genética del hospedador en la magnitud y duración del ALO. El objetivo del trabajo fue describir la distribución de la eliminación de huevos en materia fecal en dos grupos de ovejas de raza Corriedale durante el período de parto, parto y lactancia. El trabajo se llevó a cabo en la EEA Concepción del Uruguay – INTA con un total de 11 ovejas sin desparasitar, 5 Multíparas y 6 Primíparas, sobre un pastizal natural. Tres semanas antes de la fecha probable del parto y hasta la semana 7 postparto cada animal fue muestreado 1 vez por semana y se realizó el recuento de huevos por gramo de materia fecal (HPG) utilizando la técnica de Mac Master modificada.

Los resultados sugieren un comportamiento similar en la dinámica de eliminación de huevos en materia fecal (HPG) en ambos grupos Primíparas (PP) y Multíparas (MP) durante los 3 períodos estudiados. Se observa en el primer grupo (PP) un aumento de los valores medios y desvíos estándares obtenidos para cada uno de los tres períodos descriptos, siendo los mismos; Pre: 800,74 (+/-463,28), Parto: 1160,36(+/-1001,42) y para el Posparto: 2706,60(+/-1676,88). Mientras que para el segundo grupo (MP) los valores medios observados fueron los siguientes; Pre: 342,33 (+/- 269,41), Parto: 642,40 (+/- 587,17) y para el Posparto 2366,56 (+/-972,64) Al mismo tiempo se observaron valores promedios más elevados para el grupo de las primíparas que para el de las multíparas, esto sucede en los tres períodos. Del mismo modo se puede observar que los tres períodos presentaron una gran variabilidad con respecto a los datos obtenidos. Podemos concluir por lo observado que la lactancia supone un período crítico de contaminación de las pasturas por parte de las hembras adultas. Serán necesarios más estudios para evaluar diferentes estrategias de control durante el posparto y lactancia con el fin de disminuir el riesgo parasitario en los corderos.

1 Estación Experimental Concepción del Uruguay INTA; 2 Cátedra de Bioestadística, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires; 3 Instituto de Genética, CNIA-INTA Castelar

ASOCIACIÓN ENTRE EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA FELINA (VIF) Y LAS ENFERMEDADES PARASITARIAS Y SU IMPACTO SOBRE LA SALUD PÚBLICA.

ZAPATA, F.J., GISBERT A.

Los gatos domésticos son reservorio de múltiples endoparásitos, algunos de ellos zoonóticos. El Virus de la Inmunodeficiencia felina (VIF) provoca inmunosupresión haciendo a los gatos, más propensos a infectarse y eliminar parásitos al medio. El objetivo de este trabajo es documentar la presencia de endoparásitos en los gatos infectados con VIF e identificar el grado de conocimiento de los propietarios de gatos sobre las enfermedades parasitarias zoonóticas. Se realizó un estudio transversal donde se recolectaron muestras de materia fecal de gatos mayores a un año, con vida en semi-libertar (acceso al exterior) y sin historial de desparasitaciones en los últimos 4 meses. Los gatos fueron divididos en 2 grupos: Grupo 1 (n=15): Negativos a VIF y Grupo 2 (n=51): Infectados con VIF. A cada gato se le realizaron análisis coproparasitológicos y se los subclasificó a su vez en positivos y negativos. Se diseñó adicionalmente una encuesta de tipo mixta con el fin de detectar el conocimiento de los propietarios de gatos sobre las enfermedades parasitarias zoonóticas. Con ella se encuestó a propietarios de gatos que concurren al Hospital Escuela de la FCV-UBA. De las 66 muestras analizadas, se observó que la prevalencia de

endoparásitos en el Grupo 2, fue de 37,25% \pm 13,26 (IC95%), mientras que en el Grupo 1 resultó ser de 26,67% \pm 22,38 (IC95%). Los resultados se distribuyeron de la siguiente forma: Grupo 1: *Toxocara cati* 26,66% y *Isoospora* spp 6,66%. Grupo 2: *Toxocara cati* 19,6%, *Ancylostoma* spp. 3,9%, *Giardias* spp. 5.8%, *Isoospora* spp. 5.8% y *Trichuris* spp. 1,9%. Por otro lado, de 63 propietarios de gatos encuestados, el 50,79% mostró poseer gatos cuyos hábitos de vida los predisponen a sufrir endoparasitosis. El 76,19% no consideró que convivir con su mascota represente un riesgo para su salud. El 4,7% ha escuchado hablar de la Toxocariasis y sólo un 1,5% (1 caso) tuvo conocimiento sobre su prevención. El 92,06% ha escuchado hablar de la Toxoplasmosis, 65,07% posee información básica sobre esta enfermedad y sólo el 18,9% tiene conocimiento sobre su prevención. Sorprendentemente, la cantidad de muestras con endoparásitos encontradas, resultaron ser menores a las esperadas, sin embargo la mayor frecuencia se observó en los gatos con VIF. Adicionalmente, las encuestas mostraron falta de conocimiento sobre dichas enfermedades y la necesidad de diseñar material educativo sobre ello.

EVALUACION DE LAS TECNICAS DE CENTRIFUGACIÓN POR ANDROCOLL-E™ Y FILTRACIÓN POR COLUMNAS DE LANA DE VIDRIO EN LA SELECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES EQUINOS

ZEVALLOS VALENZUELA G.E.¹, FERRANTE A.², ÁVILA G.², MIRAGAYA M.²,
MARÍN BRIGGILER C.I.¹, VAZQUEZ-LEVIN M.H.¹

La técnica de rutina utilizada en la selección de espermatozoides equinos es la centrifugación a través de coloide (Androcoll-E™), que separa espermatozoides según su densidad. Otra técnica de amplio uso en otras especies, pero de poco uso en equinos, es la de filtración por columnas de lana de vidrio (CLV), que retiene espermatozoides muertos por adherencia a la LV. El objetivo fue evaluar el efecto de la temperatura de traslado del semen al sitio de evaluación y la eficacia de Androcoll-E™ y filtración en CLV para seleccionar espermatozoides a partir de semen equino. Se colectaron un total de 12 muestras de padrillos (3-12 años) usando procedimientos estándar. El semen fue suplementado con diluyente de Kenney y trasladado por 1h a 25°C (TA) ó 7°C (REF). Luego de evaluar la motilidad post-traslado, ambas alícuotas se sembraron en columnas de 4 mL de Androcoll-E™, determinándose la

motilidad espermática post-selección. Asimismo, las muestras trasladadas a TA fueron procesadas en paralelo para evaluar la selección espermática por Androcoll-E™ y filtración en CLV (50 y 75 mg de LV). Se evaluaron parámetros de rutina (volumen recuperado, concentración, motilidad total y progresiva) y recuperación (fracción recuperada/fracción utilizada). La motilidad total y progresiva fue similar en muestras transportadas a TA (total: 65 ± 9; progresiva: 32 ± 17; media ± desvío estándar) y REF (total: 57 ± 12; progresiva 26 ± 8) (p>0,05 en todos los casos). Los % de motilidad progresiva post-Androcoll-E™ fueron mayores a los registrados previo a la selección (TA postA= 45 ± 15; REF postA= 38 ± 15; p<0,05 vs preselección en cada caso). El uso de ambas CLV arrojó resultados similares a los obtenidos con la técnica de Androcoll-E^T) (solo se muestran resultados de motilidad progresiva):

	Androcoll-E™	CLV-50 mg	CLV-75 mg	P(Test Friedman)
Esp. Mótil. Progr (%)	39 ± 18	44 ± 22	46 ± 24	0,15
Esp. Mótil Progr. (millones)	31 ± 24	29 ± 23	25 ± 24	0,49
Rec. Mótil.Progr (%)	53 ± 25	55 ± 30	42 ± 26	0,49

La filtración en CLV (50 y 75 mg) es un procedimiento alternativo adecuado a la centrifugación en Androcoll-E™ para la selección de espermatozoides móviles a partir del eyaculado equino.

¹Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET-FIBYME; ²Cátedra de Teriogenología, Fac de Cs Veterinarias-UBA, Buenos Aires, Argentina

