

Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias

ISSN 0365514-8 Versión Impresa
ISSN 1514-2590 Versión Electrónica
ISSN 1666295-4 Versión CD-ROM

ANALECTA VETERINARIA



Publicación de la
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Volumen 30 n° 1 año 2010
número especial



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

ANALECTA

VETERINARIA

ANALECTA VETERINARIA vol. 30 sup, 2010

Publicación de la

Facultad de Ciencias Veterinarias

Universidad Nacional de La Plata

Autoridades

Decano

Méd.Vet. Eduardo Rafael Pons

Vicedecano

Méd.Vet. Daniel Osvaldo Arias

Secretario de Asuntos Estudiantiles

Méd.Vet. Fernando Pedro Marino

Secretaria de Ciencia y Técnica

Dr. Adriana Massone

Secretario de Extensión

Méd.Vet. Guillermo Broglio

Secretario de Posgrado

Dr. Eduardo Carlos Mórto

Prosecretario Académico de

Gestión Curricular

Méd.Vet. César Augusto Savignone

Prosecretario Académico de

Gestión en Enseñanza

Dr. Alejandro Palacios

Prosecretario de Bienestar Estudiantil

Méd.Vet. Hernán Javier Figueredo

Prosecretaria de Bienestar Estudiantil

Méd.Vet. María Eugenia Mangialavori

ANALECTA VETERINARIA

Director

Dr. Nestor Oscar Stanchi

Editor Responsable

Dr. Eduardo Marotta

Secretaría de Redacción

Dra. Yanina Corrada

Méd. Vet. Daniel O. Arias

Comité Editorial

(Facultad de Ciencias Veterinarias)

Dra. Liliana Lagrecca

Dr. Eduardo Gimeno

Bact. Carlos Gómez

Dr. Florestán Maliandi

Dra. Pilar Peral García

Méd.Vet. Enrique Pennimpe

Dr. Carlos Perfumo

**Clasificada nivel 1 (superior de excelencia) por
CAICYT-CONICET**

Evaluadores de trabajos de Analecta Veterinaria:

G. Antúnez Sánchez (Cuba), L Basso (Argentina), HA Brusco (Argentina), F Capano (Uruguay), A Conigliaro (Argentina), L Estol (Argentina), J Idiart (Argentina), RA Fernández (Argentina), J Lasta (Argentina), A Fernández Alosa (Brasil), H Tersolo (Argentina), J Zorzópulos (Argentina), E Gimeno (Argentina), C Schenk (Argentina), E Coppo (Argentina), LM Friche Passos (Brasil), JM Gutiérrez (Costa Rica), F Cortés Benavides (España), M Carballo (España), RM Dauder (España), R de Torres (Argentina), P Ostrosky-wegman (España), J Surralles Calonge (España), N Auza (Argentina), M Barrandeguy (Argentina), M Carballo (Argentina), JA Coppo (Argentina), C Corbellini (Argentina), F Costa (Argentina), C Eddi (Argentina), A Fosatti (Argentina), E Gentilini (Argentina), N Gómez (Argentina), S Gómez Cabrera (Argentina), C Gómez Dumm (Argentina), J González Tomé (Argentina), G. González (Argentina), A Guglielmone (Argentina), I von Landzewitsch (Argentina), N Leardini (Argentina), L León Vizcaino (España), C Lerena (Argentina), JC Lorente (Argentina), M Mariano (Argentina), H Molinuevo (Argentina), M Monina (Argentina), E Moras (Argentina), SJ de Oliveira (Brasil), A Parma (Argentina), J Pereira (Argentina), J Pistani (Argentina), B Ruksan (Argentina), B Rutter (Argentina), E Smitsaart (Argentina), J Troiano (Argentina), C Carfagnini (Argentina), J de Filippo (Argentina), C Machado (Argentina), I Sommerfelt (Argentina), P Soto (Argentina), E. Romero (Argentina), R Alberio (Argentina), A Soraci (Argentina).

La revista ANALECTA VETERINARIA es una publicación semestral de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos científicos en el campo de las Ciencias Veterinarias, generados en esta Unidad Académica y en otras instituciones. Asimismo, reflejará las actividades académicas de postgrado y de extensión que se desarrollan en esta Casa de Estudio.

The Journal ANALECTA VETERINARIA is a biannual publication of the College of Veterinary Sciences of the National University of La Plata, Argentina. It is dedicated to the diffusion of scientific reports in the field of the Veterinary Sciences, generated in this and in other institutions. Also, it will reflect the academic activities of graduate school and of extension that they are developed in this College.

ISSN 0365514-8 Versión Impresa

ISSN 1514-2590 Versión Electrónica

<http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html>

ISSN 1666295-4 Versión CD-ROM

Registro Propiedad Intelectual 77383

Dirección postal: CC 296 (B1900AVW)

La Plata, Buenos Aires, ARGENTINA

Las opiniones expresadas por los autores que contribuyen a esta revista no reflejan necesariamente las opiniones de este medio, ni de las entidades que la auspician o de las instituciones a que pertenecen los autores.

Queda prohibida la reproducción total o parcial por cualquier metodología del material impreso en esta revista sin el consentimiento expreso del Editor. Está autorizada la reproducción con fines académicos o docentes mencionando la fuente. El uso de nombres comerciales está destinado únicamente para la identificación y no implica el respaldo directo o indirecto de los Ministerios de la Nación Argentina ni de los países respectivos de donde provengan los trabajos. Tampoco se garantizan ni respaldan los productos promocionados en los avisos de publicidad.

Acceso Electrónico a ANALECTA VETERINARIA

Si tiene acceso a INTERNET, puede recuperar la revista electrónicamente y en forma gratuita accediendo a la página en la Web

www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html

Los números de la revista a partir del Volumen 18 están disponibles en formato de archivo: pdf (Portable Document File-Adobe Acrobat Reader®) y pueden imprimirse en cualquier impresora que permita diferenciar escala de grises o colores. Se recomienda que la misma posea un resolución mínima de 600 x 600 dpi.

Para más información sobre cómo recibir ANALECTA VETERINARIA electrónicamente, enviar un e-mail a la dirección: analecta@fcv.unlp.edu.ar

Revisión de estilo:

Per. Eleonora Rolleri

Diseño

Prof.Dr. Nestor Oscar Stanchi

Diseño de Tapa

Andrea López Osornio (DCV)

ANALECTA VETERINARIA está indizada en el Índice Latinoamericano de Revistas Científicas LATINDEX

(www.latindex.unam.mx),

Ulrich's International Periodicals Directory

(www.ulrichsweb.com)

Zoological Records

(www.biosis.org.uk/products_services/zrss.html)

BIOSIS (<http://www.biosis.org>)

Infocyt <http://www.redhucyt.oas.org/infocyt/>

Se solicita canje - On demande l'échange - We ask for exchange - Si prega lo scambio
Man bitter um austausch - Pedese permuta - Oni petas intersangon

Citación de la versión electrónica: La citación de los artículos aparecidos en la versión electrónica de ANALECTA VETERINARIA (VE) debería seguirse según el siguiente ejemplo:

Costa E.F. y col. Alteraciones en la diferenciación y proliferación celular cutánea en bovinos, inducidas por Hipervitaminosis D de origen vegetal. *Analecta vet* (VE) 1998; 18,1/2: 7-13 (7 pantallas). Recuperable de www.fcv.unlp.edu.ar

Citación de la versión CD-ROM: La citación de los artículos aparecidos en la versión en CD-ROM de ANALECTA VETERINARIA (CD-ROM) debería seguirse según el siguiente ejemplo:

Tittarelli C.M. y col. Efecto de las lluvias sobre la composición mineral de gramíneas y *Lotus glaber mill* del partido de Magdalena. *Analecta vet* (CD-ROM) 2001; 21, 1: 54-57 (4 pantallas).

Impresión

ANALECTA

Pronunciación: «a-n&l-'ek-t&

Etimología: LatinModerno *analecta*, del Griego *analekta*, plural neutro de *analektos*, verbo de *analegein* recolectar, de *ana-* + *legein* reunir: **selección miscellanea de pasajes escritos**, cartas.

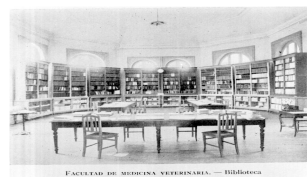


Foto de tapa: Facultad de Veterinaria (Biblioteca) Medios del siglo XX.

Todos los trabajos publicados en ANALECTA VETERINARIA son sometidos a revisores externos.

El Editor se reserva el derecho de editar los artículos para clarificarlos y modificarles el formato para adecuarlos al estilo de ANALECTA VETERINARIA.

All articles published in ANALECTA VETERINARIA are submitted to external scientific reviewers.

The Editor reserves the right to edit articles for clarity and to modify the format to fit the publication style of ANALECTA VETERINARIA

Impreso en papel libre de ácido

Printed in acid-free paper

Impreso en Argentina

Printed in Argentina



ANALECTA VETERINARIA Vol 30 sup, 2010

BOLIVIA

SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS ENZOOTICA BOVINA EN LAS PRINCIPALES PROVINCIAS DE LA CUENCA LECHERA DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ, BOLIVIA.

Serological Survey Of Enzootic Bovine Leukemia in the Principal Province of the of Dairy Zone of the Department of Santa Cruz, Bolivia.

Ruiz G, Suzuki K, López R, Pereira J, Coca C, Loza A, Guzmán J, Pecoraro M, González T.

11-16

SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS POST-CAMPAÑA DE VACUNACIÓN CONTRA LA RABIA EN PERROS DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA, BOLIVIA.

Serological Survey of Post-Campaign Vaccination Against the Rabies in Dogs of Santa Cruz de La Sierra, Bolivia.

Loza A, Marín G, Ascarrunz G, Suzuki K, González T, Pecoraro M.

17-21

PARAGUAY

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL AISLAMIENTO Y LA IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella enterica* EN CERDOS DE LA REPÚBLICA DEL PARAGUAY.

Preleminary Study On Isolation and Characterization of *Salmonella enterica* in Pigs from República del Paraguay.

Cardozo L, Alvarez M, Suzuki K, Gimenez G, Weiler N, Leotta G, Nuñez L, Zarate N, Lopez D, Copes J.

22-24

EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE PCR EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE *Escherichia coli* O157:H7 A PARTIR DE CARNE BOVINA MOLIDA.

Evaluation of a Real Time PCR System for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in Ground Beef.

Brusa V, Palacios M, Loup V, Copes J, Pineda G, Brocardo S, Aliverti V, Aliverti F, Galleri D, Peral Garcia P, Pellicer K, Leotta G.

25-28

EVALUACIÓN DE DIEZ CEPAS DE *Salmonella* Enteritidis EN RICOTA ALMACENADA A 4 Y 8 °C .

Evaluation Of Ten Strains Of *Salmonella* Enteritidis In Ricotta Stored at 4 And 8 °C.

Brocardo S, Aliverti S, Aliverti F, Galleri D, Brusa V, Coca Camacho C, Pellicer K, Leotta G, Copes J.

29-32

FRECUENCIA DE *Salmonella enterica* EN AVES DE TRASPATIO DE LA LOCALIDAD DE SAN LORENZO, DEPARTAMENTO CENTRAL, REPÚBLICA DEL PARAGUAY.

Frequency of *Salmonella enterica* in Backyard Chicken from San Lorenzo City, Departamento Central, República Del Paraguay.

Alvarez F, Copes J, Alvarez M, Nuñez Yegros L, Suzuki K, Goretti Silva M, Zarate N, Castro L, Weiler N, Faccioli M, Leotta G.

33-35

URUGUAY

ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE METAPNEUMOVIRUS, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Mycoplasma synoviae* Y *M. gallisepticum* EN POLLOS PARRILLEROS EN URUGUAY.

Serological Study of Metapneumovirus, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Mycoplasma synoviae* and *M. gallisepticum* in Broilers In Uruguay.

Trenchi H, Giossa G, Rodríguez G, Trenchi G, Suzuki K, Petrucelli M.

36-39

EVIDENCIA SEROLÓGICA DE LA PRESENCIA DE *Ornithobacterium rhinotracheale* EN PONEDORAS COMERCIALES EN URUGUAY.

Serological Evidence of Infection with *Ornithobacterium rhinotracheale* in Commercial Flocks in Uruguay.

Trenchi H, Trenchi G, Rodríguez G, Giossa G, Suzuki K, Petruccelli M.

40-42

EVIDENCIA SEROLÓGICA DE LA PRESENCIA DE *Ornithobacterium rhinotracheale* EN POLLOS PARRILLEROS EN URUGUAY.

Serological Evidence of Infection with *Ornithobacterium rhinotracheale* in Broilers in Uruguay.

Trenchi H, Rodríguez G, Trenchi G, Giossa G, Suzuki K, Petruccelli M.

43-45

RELEVAMIENTO POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN SEMEN CONGELADO DE ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN EN BOVINOS EN URUGUAY.

Survey of Diseases Affecting Reproduction in Freeze Bovine Semen Using the Polymerase Chain Reaction (PCR).

Alzugaray MF, Suzuki K, Acevedo C, Satragno D, González G, Guarino H, Bermúdez J, Echeverría MG.

46-49

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA ALGUNAS ENFERMEDADES ABORTIGÉNICAS EN VACUNOS DE LECHE DEL URUGUAY.

Prevalence of Antibodies Against Some Abortifacient Infections of Dairy Cattle in Uruguay.

Satragno D, Galosi CM, Alzugaray MF, Suzuki K, de Torre E, Guarino H, Freyre A

50-53

Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA)

La Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) es un organismo dependiente del Gobierno del Japón, que ejecuta los programas de cooperación técnica y económica, determinados por el Gobierno Japonés, en base a los requerimientos de los países que están en vías de desarrollo. En Argentina, ejecuta dichos programas en base al Convenio de Cooperación Técnica firmado entre ambos gobiernos en 1979 y del Acuerdo de Migraciones firmado en 1961.

El objetivo de las actividades de JICA es desarrollar los recursos humanos para contribuir en el progreso de los países en vías de desarrollo. Con esta idea básica, acepta Becarios de dichos países y también envía a Expertos y Voluntarios para la Cooperación con el Extranjero. Por otra parte, JICA suministra equipos y materiales para el mejoramiento tecnológico, envía misiones de expertos para realizar diversos estudios de desarrollo y administra los programas de cooperación financiera no reembolsable para la construcción de hospitales, escuelas e institutos de investigación.

El Plan de Cooperación Técnica Internacional entre Japón y la Universidad Nacional de La Plata se inició en 1982, cuando el Gobierno de Japón aceptó un becario de la Facultad de Ciencias Veterinarias para realizar un curso sobre Sanidad Animal en el Instituto Nacional de Salud Animal de Tsukuba.

En el año 1984, el gobierno argentino efectuó un pedido de cooperación técnica a Japón, con el fin de fortalecer las investigaciones, principalmente en el área de sanidad animal y la capacitación de recursos humanos, tomando como centro a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, para promover la actividad ganadera del país. Y, en 1985, JICA envió un experto a largo plazo, por un período de 3 años, a la Cátedra de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. Al término de su estadía, en diciembre de 1988, los Gobiernos de la República Argentina y del Japón, a través de JICA, firmaron un Proyecto de Cooperación Técnica en el Área de las Ciencias Veterinarias, el cual comenzó en marzo de 1989 y finalizó en febrero de 1994. Posteriormente se ejecutó una cooperación de seguimiento (*follow-up*) por 2 años. Asimismo, durante los años 2001 y 2003, se ejecutó una cooperación post-proyecto (*after-care*), a fin de extender el alcance al área clínica.

Desde 1996, durante 10 años, se realizaron cursos de entrenamiento en diagnóstico de enfermedades animales para terceros países, con una duración de 6 semanas por curso, en los cuales se recibieron un total de 162 becarios de 14 países de Latinoamérica. En 1998 se inició el envío de 50 expertos a terceros países, varios de ellos latinoamericanos.

En el año 2001 se firmó el Proyecto PPJA entre los gobiernos de Japón y Argentina, y en el marco del mismo, se firmó un primer proyecto con SENACSA del Paraguay, para el mejoramiento de los laboratorios de diagnóstico. Posteriormente se firmó uno similar con SENASA de Perú, llamado PROMESA, el cual se inició en 2003 y finalizó en 2006.

PROVETSUR

El tránsito de animales en pie y de productos de origen animal a través de las fronteras de los países de la parte sur de Sudamérica, como Argentina, Bolivia, Paraguay y Uruguay, se ha visto incrementado en estos últimos años. Con la creciente profundización de la integración económica de la región, ha aumentado el interés por evitar pérdidas de la industria ganadera causadas por enfermedades de origen animal. Como consecuencia de ello, el mejoramiento de las técnicas de diagnóstico y el entendimiento de la epidemiología en el campo de la veterinaria han incrementado su importancia.

A fines de 2004, la Universidad Nacional de La Plata JICA firmaron un nuevo proyecto en el cual se crea una red de Facultades de Veterinaria de Sudamérica, transformando a la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Plata en el centro de entrenamiento para los profesionales de la región. El plan de cooperación fue titulado “Proyecto Regional para la mejora de las técnicas de diagnóstico veterinario en Sudamérica” (PROVETSUR), y tiene como objetivo mejorar el estado sanitario de los animales y contribuir al mejoramiento de la productividad en la región, con particular énfasis en el desarrollo profesional continuo, capacitando a los veterinarios de las facultades participantes para mejorar la capacidad de diagnóstico de enfermedades y determinar las necesidades específicas en la relación entre el sector productivo y la comunidad en que están insertos.

Las facultades participantes son:

Facultad de Ciencias Veterinarias,

Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Facultad de Ciencias Veterinarias,

Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Bolivia.

Facultad de Ciencias Veterinarias,

Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

Facultad de Veterinaria,

Universidad de la República Oriental del Uruguay, Uruguay.

PROVETSUR contribuye para solucionar los problemas específicos que se detectan en cada país.

BOLIVIA

Por Kuniaki Suzuki

Desde el inicio del proyecto, el daño provocado en la población por la rabia canina ha sido un tema de suma importancia. Por ello, se tomó como localidad modelo, para la prevención de la rabia canina, a la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, en donde se encuentra la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Gabriel René Moreno, y se han realizado diferentes actividades para reducir el daño provocado. Recientemente la facultad ha sido equipada con insumos y equipos de laboratorio para poder realizar diagnósticos mucho más precisos. Además, se ha mejorado la perera municipal y se ha modernizado su administración.

También se han realizado entrenamientos teórico-prácticos sobre epidemiología y diagnóstico en el laboratorio. Gracias a esta ayuda, se han podido llevar a cabo algunas investigaciones en campo, y de esta manera se pueden realizar cálculos científicos anuales del riesgo de infección por rabia, conocer el número total de perros que habitan la ciudad, y ver el efecto de la vacunación de la campaña de prevención. Estos resultados, además de ser presentados en revistas internacionales y libros científicos, serán utilizados como información para aplicar políticas de prevención de rabia canina.

Además, se han podido avanzar en trabajos no realizados hasta el momento, como son las investigaciones en campo sobre leucosis bovina, y se han suministrado insumos y equipos para la producción de antígenos utilizados en el diagnóstico de brucelosis bovina. Al mismo tiempo, se han realizado capacitaciones teórico-prácticas de los conocimientos necesarios para dichas prácticas.

En Bolivia se están cumpliendo satisfactoriamente los objetivos del proyecto, tales como el equipamiento de las instalaciones de la contraparte y el desarrollo de recursos humanos para contribuir en el mejoramiento de la sanidad animal del país.

PARAGUAY

Por Julio Copes

En la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción, se realizó un estudio de situación y como resultado se propuso una estrategia de formación profesional y fortalecimiento de laboratorios en áreas que estaban adquiriendo gran importancia en la producción de alimentos, lo cual tiene como resultado una marcada mejora en la economía.

Como resultado de este estudio, la estrategia de los profesionales Veterinarios fue dirigida a la producción de aves y cerdos. Dos cátedras tomaron el desafío y pudieron llevar a cabo exitosamente una excelente formación y consolidación de todos sus profesionales en los laboratorios. La puesta a punto de diferentes técnicas de diagnóstico (ELISA, PCR, etc) han sido un arma excluyente para la detección de diferentes enfermedades que afectan en forma directa la producción de Aves y Cerdos. Esto quedó plasmado en los diferentes artículos de investigación publicados en revistas de la especialidad y más aún, las dos cátedras han comenzado a prestar servicios a terceros. La Facultad de Veterinarias de la Universidad de Asunción ha cumplido con las expectativas de este proyecto y garantiza su continuidad mediante un trabajo en conjunto con otras entidades nacionales de gran relevancia, tales como el Ministerio de Salud y el SENACSA.

URUGUAY

Por Miguel Petruccelli

Si bien el PROVETSUR comienza sus actividades en Uruguay con un año de retraso debido a postergaciones en la firma de los convenios, se trabajó contra reloj en la puesta a punto de laboratorios que recibieron la donación de equipamiento e insumos para diagnóstico (PCR, ELISA, etc.) de parte de JICA y se capacitó sin inconvenientes a los profesionales que luego formaron parte de los grupos de investigación. Los resultados obtenidos están a la vista, ya que se logra diagnosticar dos enfermedades de las aves de las cuales no había registros en el Uruguay, los laboratorios se incorporan a las redes nacionales de diagnóstico de enfermedades en animales de producción, el personal formado por el proyecto también logra insertarse en instituciones nacionales y fundamentalmente, se mejoró la capacidad de diagnóstico en Uruguay.

Expertos a largo plazo		
Año	Cantidad de Expertos	Detalle
2005 - 2010	1	Suzuki Kuniaki
2008 - 2009	1	Udagawa Tamami
	Total: 2	
Expertos a corto plazo		
Año	Cantidad de Expertos	Detalle
2006	1	Izuchi Toshiro
2007	2	Harasawa Ryo Ono Kenichiro
2008	1	Kunieda Tetsuo
2009	2	Nakao Toshihiko Muramatsu Yasukazu
	Total: 6	
Transferencia entre contrapartes (Argentina)		
Año	Cantidad de Expertos	Detalle
2005 - 2007	1	Eduardo Pons (Coord. Gral.)
2006	1	Marcelo Pecoraro
2007	5	Edgardo Nosetto Miguel Petruccelli Edgardo Nosetto Santiago Corva Estela Bonzo
2008	2	Julio De Luca Julio Copes
2009	2	Luzbel de la Sota Julio Copes
	Total: 11	

Recepción de Becarios

Bolivia		
Año	Cantidad	Detalle
2005	4	Isi Angulo Arauz Carola Alcoba Geiger Oswaldo Chavez C. Ariel Loza
2006	4	Miguel Perez Griselda Ruiz Gabriela Ascarrumz Armando Rendon
2007	5	Ariel Loza Miguel Perez Gabriela Ascarrumz Griselda Ruiz Limberg Rojas
2008	3	Griselda Ruiz Ariel Loza Miguel Perez
2009	4	Gloria Marin Paola Espinosa Claudia Coca Camacho Carmaña Salazar
	Total: 20	

Paraguay		
Año	Cantidad	Detalle
2005	4	María Liz Faccioli Luz Cardoso Shyrley Amarilla Raquel Pedroso
2006	4	Isabel Grau Guillermo Gimenez Norma Uran María Goretti
2007	4	Shyrley Amarilla Luz Cardoso María Liz Faccioli Liz Castro
2008	4	Lorena Nuñez Guillermo Gimenez María Liz Faccioli Fredí Alvarez
2009	6	Dalila López Luz Cardoso Lorena Nuñez Liz Castro Verónica Loup Gloria Pineda
	Total: 22	
Uruguay		
Año	Cantidad	Detalle
2005	4	Liliana Godiño Gerardo Giossa Laura Ricciardi Soledad Valledor
2006	2	Milton Cattaneo Fernando Gutierrez
2007	5	Germán Rodríguez Rody Artigas Laura Ricciardi Rodrigo Puentes Palombo Federico Marmo Gonzalez
2008	3	Dinora Stragno Gustavo Trenchi María Fernanda Alzugaray
2009	4	Dinora Stragno Gustavo Trenchi María Fernanda Alzugaray Juan Moreno
	Total: 18	

Envío de Expertos a Terceros Países

Año	Cantidad	Detalle
2006	9	Florestan Maliandi (Bolivia) Miguel Petruccelli (Paraguay) Santiago Corva (Paraguay) Marcelo Pecoraro (Uruguay) Cecilia Galosi (Uruguay) Hernán Sguazza (Uruguay) Teresa González (Bolivia) Marcelo Pecoraro (Bolivia) Miguel Herrero (Paraguay)
2007	8	Marcelo Pecoraro (Bolivia) Florestan Maliandi (Bolivia) Santiago Corva (Bolivia) Teresa González (Uruguay) Miguel Petruccelli (Uruguay) Marcelo Pecoraro (Bolivia) Miguel Piscopo (Paraguay) Javier Origlia (Paraguay)
2008	8	Marcelo Pecoraro (Bolivia) Teresa González (Bolivia) Gabriela Echeverría (Uruguay) Cecilia Galosi (Uruguay) Gabriel Travería (Uruguay) Miguel Petruccelli (Uruguay) Julio Copes (Paraguay) Gerardo Leotta (Paraguay)
2009	17	Nelly Ortíz (Bolivia) Estela Bonzo (Paraguay) Santiago Corva (Paraguay) Estela Bonzo (Bolivia) Santiago Corva (Bolivia) Marcelo Pecoraro (Bolivia) Estela Bonzo (Uruguay) Santiago Corva (Uruguay) Julio Copes (Paraguay) Gerardo Leotta (Paraguay) Nelly Ortíz (Bolivia) Miguel Petruccelli (Uruguay) Gabriel Travería (Uruguay) Gabriela Echeverría (Uruguay) Cecilia Venturini (Uruguay) Julio Copes (Paraguay) Gerardo Leotta (Paraguay)
	Total: 42	

SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS ENZOOTICA BOVINA EN LAS PRINCIPALES PROVINCIAS DE LA CUENCA LECHERA DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ, BOLIVIA

Ruiz G², Suzuki K¹, López R², Pereira J², Coca C², Loza A², Guzmán J², Pecoraro M³, González T³

¹ Coordinador PROVETSUR (JICA); ²Facultad de Ciencias Veterinarias. UAGRM (Bolivia); ³Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP (Argentina)

Resumen. Con el objetivo de investigar la seroprevalencia de Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) en la cuenca lechera del departamento de Santa Cruz - Bolivia, se procesaron 1769 sueros de bovinos hembras, mayores de dos años, de diferentes razas existentes en la región, durante los meses de Abril a Septiembre 2009, pertenecientes a 94 unidades productivas (tambos) distribuidas en cinco provincias del departamento (Andrés Ibáñez, Warnes, Ichilo Obispo Santistevan y Sara). La técnica serológica utilizada fue inmunodifusión en gel de agar. Los resultados se interpretaron de acuerdo a las variables: provincia, raza y edad. Los datos fueron analizados mediante la prueba de χ^2 y Fisher. Sobre el total de animales muestreados, 492 de las muestras fueron positivas, lo cual representa una prevalencia del 27,81%. La mayor seroprevalencia fue encontrada en las provincia Obispo Santistevan (52,50%) y Warnes (38,44%), observándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre si y de igual manera con el resto de las provincias. Las provincias Andres Ibañez (19,85%), Ichilo (18,47%) y Sara (21,80%) no presentan diferencias significativas entre sí ($p \geq 0.05$). No se encontraron diferencias significativas de seroprevalencia asociadas a las variables raza y edad ($p \geq 0.05$). Ningún animal se evidenció sintomatología clínica compatible con la enfermedad.

Palabras claves: Leucosis Enzoótica bovina, seroprevalencia leucosis, provincias lecheras.

SEROLOGICAL SURVEY OF ENZOOTIC BOVINE LEUKEMIA IN THE PRINCIPAL PROVINCE OF THE OF DAIRY ZONE OF THE DEPARTMENT OF SANTA CRUZ, BOLIVIA

Abstract. - During the months of April to September 2009, 1769 serum samples from cows over two years old, from different races belonging to 94 productive units in five provinces of the department (Andrés Ibáñez, Warnes, Ichilo Obispo Santistevan and Sara) were processed in order to investigate the seroprevalence of Enzootic Bovine Leukosis (EBL) in the milk basin of the department of Santa Cruz - Bolivia. The serological technique used in this study was agar gel immunodiffusion. The results were interpreted according to the variables: province, race and age. The data were analyzed by χ^2 and Fisher test. Over all animals sampled, 492 samples were positive to ELB, representing a prevalence of 27,81%. The higher prevalence was found in the provinces of Obispo Santistevan (52,50%) and Warnes (38,44%), showing significant differences ($p < 0.05$) among themselves and equally with the rest of the provinces. Andres Ibañez (19,85%), Ichilo (18,47%) and Sara (21,80%) provinces were not significantly different from each other ($p \geq 0.05$). There were no significant differences in seroprevalence associated with race and age variables ($p \geq 0.05$). No animals showed clinical symptoms compatible with the disease.

Dirección para correspondencia: Griselda Ruiz. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Avenida 26 de febrero, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

E-mail: griseldarf@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El virus de la Leucosis Bovina es un retrovirus asociado a la Leucosis bovina enzoótica (LEB), enfermedad de distribución mundial y largo período de incubación que se presenta especialmente en ganado adulto (1).

La vía habitual por la que el virus se propaga en condiciones naturales es la transmisión horizontal, llevada a cabo fundamentalmente por sangre de animales portadores, aún en pequeños volúmenes (microlitros). Prácticas que impliquen la manipulación del ganado como el descorne sin desinfección, la palpación con guantes no desechables (2) y la antigua práctica de la premunición (transfusión de sangre de animales adultos a jóvenes, para favorecer la "estabilidad enzoótica" por babesia y el anaplasma), han favorecido la diseminación de la infección, particularmente en los hatos lecheros (transmisión iatrógena) cuando se realizan sin respetar las medidas higiénicas (2). Aunque usualmente, los terneros nacidos de vacas seropositivas para la LEB sufren por lo general infección congénita debido a la exposición transplacentaria del virus durante la gestación (3); el virus se encuentra principalmente en los linfocitos y puede identificarse en sangre, leche y otros fluidos corporales como el semen (4).

La LEB puede considerarse responsable de pérdidas económicas debidas a la disminución de la producción láctea y a la restricción de importación de semen, siendo que la OIE, 2008, prohíbe la exportación de material genético proveniente de animales seropositivos a LEB (5).

En los últimos años se viene promoviendo la producción de leche en un grupo de provincias (Andrés Ibáñez, Warnes, Ichilo Obispo Santistevan y Sara) que se denomina como la cuenca lechera del departamento de Santa Cruz - Bolivia, especialmente entre pequeños y medianos productores (6). La posibilidad del desarrollo de cuencas no tradicionales como alternativa productiva es una propuesta viable, ya que oportunamente se iniciaron algunos emprendimientos exitosos y por otra parte este departamento cuenta con un importante número de bovinos destinados a la producción de leche. La sanidad cobra gran importancia en estas explotaciones lecheras por tratarse de sistemas semiintensivos, e intensivos. Además de las enfermedades que comprometen la productividad y calidad de la leche, como brucelosis, tuberculosis y mastitis, otra afección de gran impacto sanitario y económico en tambos es la LEB.

Con respecto a la distribución, la LEB está diseminada mundialmente, aunque un número de países están reconocidos oficialmente como libres. En Europa es una enfermedad de declaración obligatoria y lucha sanitaria, estimándose una prevalencia menor al 0,1 %. En Turquía el

0,3 %; España, Francia e Italia tienen una tasa de infección del 1 al 5 %. En Estados Unidos, las luchas sanitarias se encararon por estado ó en forma individual, por rodeo. Argentina han reportado prevalencias del 32,53 % (7, 13, 14). En Bolivia, los primeros reportes de la enfermedad son publicados por Rojas y colaboradores en 1980, con una seroprevalencia promedio del 15% en las provincias Andrés Ibáñez, Obispo Santistevan y Warnes. Los últimos reportes fueron realizados por Mena y col (1999) en la provincia Guarayos con un 4,73 % de seroprevalencia en 6 zonas de la región (8, 9).

Desde hace más de 10 años no se han realizado relevamientos serológicos que permitan contar con otros datos sobre la casuística de la LEB en el Departamento de Santa Cruz. Por otro lado, los estudios realizados anteriormente no son suficientes para realizar una evaluación sanitaria a nivel departamental. Por ello se consideró pertinente diseñar un plan de trabajo que permita conocer la prevalencia de LEB en la cuenca lechera y ayude a evaluar el estado sanitario de las unidades productivas, así como proponer medidas para su control, adaptadas a las posibilidades de todos los propietarios de los tambos involucrados en el presente estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Método de campo: Entre los meses de Abril a Septiembre del 2009, se encuestaron y tomaron muestras de sangre de 1769 bovinos pertenecientes a 5 provincias (Andrés Ibáñez, Warnes, Ichilo Obispo Santistevan y Sara) de la cuenca lechera del Departamento de Santa Cruz (Fig. 1).

Fig. 1. Mapa político del departamento de Santa Cruz, Bolivia donde se ubican las provincias de la cuenca lechera.



La cuenca lechera del departamento de Santa cruz cuenta con 9 asociaciones, en las cuales están ubicadas las cinco provincias mencionadas. Actualmente la Federación de Productores de Leche (FEDEPLE) ha identificado 713 productores en la zona. Se ha considerado como la unidad de muestreo a las unidades productivas u.p. (lecherías o tambos), distribuidas en las 5 provincias, de las 9 asociaciones 1. Andrés ibañes (10 up); 2.- Alsi (12 up), 3.- Agalei (11 up); 4.- Asople (12 up); 5.- Agalewar (10 up); 6.- Agalech (13 up); 7.- Aganorte (10 up); 8.- Agapor (10 up); 9.- Agalesar(10 up).

Siguiendo un diseño completamente al azar de un método probabilístico, tomando en cuenta un mínimo de 20 animales en producción mayores de 2 años, la sangre se obtuvo por venopunción de la yugular o vena caudal media, según la disponibilidad de infraestructura para

la sujeción de los animales. En total se muestrearon 94 unidades productivas. De las muestras de sangre se extrajeron los sueros que fueron conservados a -20 °C hasta su procesamiento en el laboratorio.

Para el cálculo del tamaño de muestra se consideró el total de unidades productivas (N = 713), con un IC:95% y un $\alpha=0,05$, utilizando la siguiente fórmula:

$$n = [1-(1-NC)/1d] \times [N- d-1]$$

Donde:

n = tamaño de la muestra requerida

N= Tamaño de la población

D= Número de animales enfermos en la población (para una prevalencia de 1%)

NC= Nivel de confianza (95%)

Tabla 1. Seroprevalencia general de animales positivos a LEB

n	%	I.C.95%	
		mínimo	máximo
1769	27,81	25,7	29,93

Tabla 2.- Porcentaje de animales seropositivos y seronegativos según la Provincia

Provincia	Animales seronegativos		Animales seropositivos		Animal total	
	N°	(%)	N°	(%)	N°	(%)
Andrés Ibañes	105	80,15	26	19,85	131	100
Warnes	253	61,56	158	38,44	411	100
Ichilo	512	81,53	116	18,47	628	100
O. Santistevan	95	47,50	105	52,50	200	100
Sara	312	78,20	87	21,80	399	100
Total	1277	72,19	492	27,81	1769	100

Pearson $\chi^2 = 122.4532$ Pr = 0.000

Tabla 3. Porcentaje de animales seropositivos y seronegativos a LBE según la edad.

Grupo etáreo	Negativos (%)	Positivos (%)	Total (%)
2 a 5 años	70,50	29,50	100
Más de 5 años	73,35	26,65	100
Total	72,19	27,81	100

Tabla 4.- Distribución de frecuencia de animales seropositivos y seronegativos a LVB según la raza.

Raza	Negativos (%)	Positivos (%)	Total (%)
Pardo Suizo	71,24	28,76	100
Holando	70,59	29,41	100
Gyrholando	78,17	21,83	100
Criollo	77,68	22,32	100
Mestizo	71,74	28,26	100
Simmental	100,00	0,00	100
Total	72,19	27,81	100

$p \geq 0.05$

Pearson $\chi^2 (5) = 6.2018$ Pr = 0.287

Se detalla la seroprevalencia general de animales positivos (27.81%) a LEB con respecto al total de muestras (1769), con un intervalo de confianza al 95%.

MÉTODO DE LABORATORIO

Las muestras de sangre fueron procesadas en el laboratorio PROVETSUR de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma Gabriel René Moreno. El diagnóstico de LEB se realizó por medio de la técnica serológica de Inmunodifusión en gel de agar (IGDA), de acuerdo a normas de la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). Como antígeno se utilizó el equipo elaborado por la Cátedra de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (12). Los datos se analizaron mediante la prueba del χ^2 y Fisher.

RESULTADOS

En Tabla 1 se presentan los resultados de seroprevalencia obtenidos para LEB en las cinco provincias estudiadas. De las 1769 muestras examinadas, se detectaron 492 animales positivos (27,81 %).

En la tabla 2, al analizar el porcentaje de positividad de anticuerpos contra LEB en los rebaños pertenecientes a las cinco provincias, se puede observar diferencias que van desde 18,47 a 52,50 %. En los datos de la tabla 2 se muestra que las provincias Obispo Santistevan (52,50 %) y Warnes (38,44 %) presentaron el mayor número de animales seropositivos, observándose diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre sí y de igual manera con el resto de las provincias. Las provincias Andrés Ibañez (19,85 %), Ichilo (18,47 %) y Sara (21,80 %) no presentan diferencias significativas entre sí ($p > 0,05$).

Al analizar los resultados con relación a seropositividad versus edad, se determinó que no existe diferencia estadística significativa ($\chi^2 = 1,7334$ Pr = 0,188) $p \geq 0,05$ (Tabla 3).

Análisis del factor raza.- El grado de asociación entre la variable raza y la seropositividad a LEB no fue significativo (Pearson χ^2 (5) = 6,2018 Pr = 0,287, $p \geq 0,05$); por lo que la presencia de la enfermedad no está asociada con la raza del animal (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Se estima que la alta seroprevalencia hallada para LEB (27,81 % de animales) podría deberse al desconocimiento de los productores respecto de la necesidad de efectuar controles sanitarios para detectar esta virosis, particularmente importante en los tambos.

Al considerar los diferentes grados de correlación entre seropositividad a LEB y las variables analizadas, se encontró una relación significativa de la infección con la variable provincia, posiblemente debido al mayor flujo de animales en la provincia Obispo Santistevan, la cual es una zona ganadera que moviliza mucho

ganado a comparación de las otras provincias, dándose una mayor probabilidad de propagarse la enfermedad. De igual manera al analizar el porcentaje de positividad a anticuerpos de la LEB en los rebaños pertenecientes a las cinco provincias en estudio, (Tabla 2) se pueden observar diferencias significativas ($p < 0,05$) que van desde 18,47 % (Ichilo) a 52,50 % (Obispo Santistevan). Esto puede ser debido a que en algunas de ellas, como es el caso de Ichilo, existe gran cantidad de pequeños productores, poca afluencia de animales y donde el manejo es semi intensivo, por lo cual se puede realizar un mejor control sanitario de la enfermedad.

En 1980, Rojas y col. realizaron un estudio para la determinación de anticuerpos de la LEB en 3 provincias del departamento de Santa Cruz – Bolivia, donde se encontró que la seroprevalencia de la enfermedad era más baja (3,14 % animales seropositivos en la provincia Andrés Ibañez, 8,65 % en O Santistevan y 21,78 % en Warnes). Actualmente, según los resultados analizados en la Tabla 2, la provincia Andrés Ibañez presenta 19,85 % de animales positivos, O. Santistevan 52,50 % y Warnes 38,44 %, demostrando una elevación considerable en porcentaje de animales infectados, indicando una amplia difusión de la enfermedad en la zona de estudio y en este tipo de producción. Teniendo en cuenta que en las otras provincias (Ichilo y Sara) la tasa de infección fue menor, resulta evidente la posibilidad de segregar animales positivos en las explotaciones con baja prevalencia y realizar controles sanitarios a fin poder mantener a las lecherías o tambos de la región serológicamente negativos.

Respecto a la edad como factor de riesgo, se decidió relacionarla con la prevalencia serológica encontrada. Teniendo en cuenta que LEB es una enfermedad típicamente crónica, es pertinente evaluar epidemiológicamente si existe una asociación estadística positiva entre el factor edad y la enfermedad. Los resultados indican que hubo mayor número de animales positivos en las edades comprendidas entre 2 y 5 años (29,50 %) (Tabla 3). Este hallazgo fue inverso al esperado, ya que la expectativa era encontrar mayor prevalencia en el rango etario de animales mayores de 5 años (10,15). Estos resultados se atribuyen indirectamente al descarte de estos animales mayores por otros factores como baja productividad y por haber resultado positivos a los diagnósticos de otras enfermedades como TBC y brucelosis, entre otras causas, lo cual conlleva a una disminución de la población de animales adultos en los rodeos (17, 18).

En este estudio se determinó que no hubo diferencias altamente significativas para las variables raza (tabla 4). Según revisiones bibliográficas y comparando nuestros resultados con otros trabajos de investigación ya realizados, se

coincide en observar que si bien las razas lecheras son más propensas a contraer la infección con respecto a las razas de carne, la susceptibilidad no varía entre razas (4).

La situación económica actual de nuestro país y la carencia de recursos, incluyendo los destinados a la rama agropecuaria, así como la poca exigencia en el control de determinadas enfermedades infecciosas, ha incidido negativamente en la salud de nuestros animales, permitiendo que una enfermedad como la LEB haya encontrado condiciones favorables que facilitaran su transmisión.

En aquellos establecimientos lecheros con elevada prevalencia en los que se pretende controlar la enfermedad, debería pensarse en trabajar con rebaños separados según el diagnóstico realizado (libres o portadores crónicos del virus), implementando estrictas normas de higiene y control de insectos hematófagos (11,18).

Dada la ausencia de estudios de seroprevalencia desde hace 10 años sobre la LEB en ganado lechero en las provincias del área integrada del departamento de Santa Cruz, esta presentación constituye un importante aporte de actualización sobre la tasa de infección en las cinco provincias más importantes del departamento.

Se deja señalado que hasta el presente no se han detectado casos de presentación clínica de la enfermedad (tumores) que llevan invariablemente a la letalidad. De no implementarse medidas que controlen su diseminación, se incrementará paulatinamente el número de portadores y será inevitable las pérdidas por mortalidad.

En conclusión el alto porcentaje de LEB (27,81 %) confirman la necesidad de establecer la detección de seroreactores como un diagnóstico de rutina y sugiere la necesidad de implementar programas de control y prevención y de ser posible, erradicación de los animales infectados con el VLB. Esto ayudaría a prevenir su diseminación y por ende las pérdidas económicas asociadas a esta enfermedad.

AGRADECIMIENTO

A JICA – PROVETSUR y Cátedra de Virología (FCV-UNLP) por la colaboración en la realización del presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Beer J. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Tomo I. Zaragoza, España: Acribia; 1987.
- Kohara J, Konnai S, Onuma M. Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation. *Jpn J Vet Res* 2006; 54(1): 25-30.
- Piper C, Prenatal and postnatal transmission of the bovine leukemia virus. In: Kirkbride, CA. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diagn Invest* 1992; 4 : 374-379.
- Blood DC, Radostis OM, Gay CC, Blood DG, Hinchcliff, KW. Medicina veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Tomo 2. Londres: Mc Graw Hill; 2002.
- OIE. 2008. Enzootic Bovine Leukosis. Chapter 2.4.11. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Disponible en: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.html
- Federación departamental de productores de leche, (FEDEPLE), 2005. Santa Cruz – Bolivia, Av. Ovidio Barbery esq. Gregorio Reynolds Cod. Postal: 3877. FAX : 5913 3427100.
- Sponchiado D. 2008. Prevalencia de anticorpos séricos anti – virus da leucose enzootica bovina em rebanhos da raza holandesa preta e branca, criados no estado do paranae universidade federal do Parana. Curitiva Brasil (Tesis de maestría).
- Rojas VF. 1980. Determinación de anticuerpos leucócicos en bovinos de la cuenca lechera de Santa Cruz Central, mediante la prueba de inmunodifusión en gel de Agar (Coggins).
- Mena FV. 1999. Prevalencia de Leucosis viral bovina en la provincia Guarayos del departamento de Santa Cruz. Tesis de grado Lic. U.A.G.R.M. – F.C.V, Bolivia.
- Rehinhard G, Hochstein-Mintzel V, Riedemann S, Leal H, Neyda M. Estudio serológico de leucosis enzootica bovina en un predio de la provincia de Valdivia y su relación a parámetros productivos y reproductivos. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 1988; (35): 178-185.
- Thrusfield M. 1995. *Veterinary Epidemiology*, 2nd ed., Blackwell Science, Oxford, p. 3-10.
- González, ET, Oliva GA, Valera, A, Bonzo, E, Licursi, M, Etcheverrigaray, ME. Leucosis Enzootica Bovina: evaluación de técnicas de diagnóstico (ID, ELISA-I, WB, PCR) en bovinos inoculados experimentalmente. *Analecta Veterinaria*. 2001;21(2):12-20.
- Jacobo RA, Storani CA, Cipolini MF, Martínez DE, Cardozo RO, Martínez EI. 2004. Seroprevalencia de leucosis bovina en rodeos lecheros de la Provincia de Corrientes. *Anales de la Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas de la UNNE*, Corrientes, Argentina, p. 132.
- Betancur CH, Rodas JG. Seroprevalencia del virus de la Leucosis Viral Bovina en animales con trastornos reproductivos de Montería. *Rev. MVZ Córdoba*. 2008;13(1):1197-1204.
- Johnson R, Kaneene JB. Bovine Leukemia Virus. Part 1. Descriptive Epidemiology, Clinical Manifestation and Diagnostic Test. *The Compendium*. *Food Animal*. 1991;13(2):315-325
- Tan MT, Yildirim Y, Erol Gungor A. The seroprevalence of Bovine Herpes Virus type 1(BHV-1) and Bovine Leukemia Virus (BLV) in Selected Dairy Cattle Herds in Aydıń Province, Turkey. *J Vet Anim Sci*. 2006;30:353-357.
- OTT SL, JOHNSON R, WELLS SL. Association

Bolivia

between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. Preventive Veterinary Medicine, Amsterdam, v.61, p.249-262, 2003.

17. Nuotio L, Rusanen H, Sihvonen L, Neuvonen E. Eradication of enzootic bovine leucosis from Finland. Prev Vet Med 2003; 59: 43-49.

18. DiGiacomo R. The epidemiology and control of bovine leukemia virus infection. Vet Med 1992; 87: 248-257.

SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS POST-CAMPAÑA DE VACUNACIÓN CONTRA LA RABIA EN PERROS DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA, BOLIVIA

Loza A¹, Marín G¹, Ascarrunz G¹ (+), Suzuki K², González T³, Pecoraro M³

¹Área de Serología - Laboratorio Provetsur - Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Avenida 26 de febrero, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia;

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

³Laboratorio de Virología - Cátedra de Virología Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

RESUMEN: Durante la campaña de vacunación antirrábica masiva realizada en Santa Cruz, Bolivia, en agosto de 2007, 369.000 perros (82% de la población canina estimada) fueron vacunados durante 2 días con vacunas hechas en Cerebro de Ratón Lactante (CLR) Fuenzalida-Palacios. Desde entonces se han registrado 7 casos de rabia humana, además, el número de casos de rabia canina se ha reducido de 866 casos reportados el año 2006 a 516. Por esta razón, se realizó una encuesta serológica 3 meses después de la vacunación, colectando 320 muestras de sangre de perros con dueños seleccionados al azar, para determinar la respuesta inmune humoral. Tres meses después de la vacunación, el 20,94% de los perros tenían anticuerpos neutralizantes contra la rabia de $\geq 0,5$ UI/ml. Al respecto se determinó que los animales mayores a un año estaban más protegidos que los menores ($p < 0,01$), sin embargo el sexo de los perros evaluados no mostró asociación estadística con la protección ($p > 0,05$). De acuerdo con las recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud las campañas de vacunación deben contemplar coberturas no menores a 80 % para que tengan el efecto deseado. De nuestro estudio se desprende que existe una deficiente protección inmune contra la rabia en la población de canes vacunados de todas las zonas evaluadas, lo cual pone de manifiesto la susceptibilidad a aumentar los casos de rabia canina en la ciudad.

Palabras clave: Rabia, vacunación, ELISA, encuesta serológica

SEROLOGICAL SURVEY OF POST-CAMPAIGN VACCINATION AGAINST THE RABIES IN DOGS OF SANTA CRUZ DE LA SIERRA, BOLIVIA

Abstract: During a 2 days massive anti-rabies vaccination campaign held in Santa Cruz, Bolivia in August 2007, 369,000 dogs (82% of the estimated canine population) were vaccinated with vaccines made of suckling mouse brain (CLR) Fuenzalida-Palacios. Since then there have been 7 cases of human rabies, moreover, the number of canine rabies cases have been reduced from 866 cases reported in 2006 to 516. For this reason, a serological survey was performed 3 months after vaccination, collecting 320 samples from dogs with owners selected at random to determine the humoral immune response. Three months after vaccination, 20.94% of the dogs had rabies neutralizing antibodies of ≥ 0.5 IU / ml. We found that animals older than a year were more protected than younger ones ($p < 0.01$), but when sex of the dogs was evaluated it showed no statistical association with protection ($p > 0.05$). According to the recommendation of Panamerican Health Organization for rabies vaccination campaign, an effective coverage against the disease should be $\geq 80\%$. Our results demonstrate a deficient immune protection against rabies in the population of dogs vaccinated in all areas evaluated, which shows increased susceptibility to canine rabies in the city.

Key Words: Rabies, vaccination, ELISA, serosurvey

Dirección para correspondencia: A. Loza. Lab Provetsur. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno, Avenida 26 de febrero, Santa Cruz de la Sierra, Bolivia

E-mail: arlove@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El número de casos de rabia animal en el departamento de Santa Cruz permanece alto, 214 en 2007. Este número es constituido principalmente por caninos y bovinos. En 2007, fueron notificados al Ministerio de Salud 161 casos de rabia canina en la ciudad de Santa Cruz. Los canes estuvieron involucrados en 100% de 3 casos de rabia humana ocurridos en 2007. La distribución de los casos de rabia canina en el departamento de Santa Cruz es heterogénea, con las redes de salud Sur y Norte presentando los mayores índices.

El centro de control de rabia del municipio de Santa Cruz de la Sierra, viene realizando en el mes de agosto de cada año, como parte del Programa de Nacional de control de la rabia, campañas de vacunación masiva contra la rabia. En los últimos 5 años las campañas de vacunación contaron con más de 1000 brigadas de vacunación, que son distribuidas por toda la ciudad, manteniendo una cobertura vacunal de 82,42% para el año 2007; (Alcaldía de Santa Cruz de la Sierra ZONOSIS-CEDES, 2008).

La vacuna utilizada durante todo este período fue Fuenzalida-Palacios de virus rábico inactivado, producida en cerebro de ratones lactantes, fabricada por el laboratorio INLASA-Instituto Nacional de Laboratorios. El mismo recomienda la revacunación cada 12 meses. Sikes et al, (1971) y Fields et al, (1976) demostraron que esta vacuna confería inmunidad superior a 12 meses cuando es administrada en dosis única en canes. Desde mucho tiempo, diferentes investigaciones han demostrado la importancia de los anticuerpos anti-rábicos neutralizantes en la profilaxis de la infección rábica. Estos anticuerpos son esenciales en la inmunidad por que intervienen en los primeros estadios de la infección del virus; (Baltazar et al, 1955). Por lo tanto, la determinación de estos anticuerpos es un método para determinar a resistencia del individuo a la infección.

Investigaciones realizadas por Dean et al, (1964) demostraron que los canes vacunados que presentan niveles detectables de anticuerpos anti-rábicos en suero, raramente enfermaran de rabia a un desafío viral.

Entre las proteínas del virus rábico, únicamente la glicoproteína puede inducir la síntesis de anticuerpos neutralizantes para rabia; (Cox et al, 1977). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la evaluación de la inmunidad anti-rábica a través de titulación de anticuerpos y considera un título igual o superior a 0,5 UI/ml como efecto de un estado inmunitario suficiente para proteger individuos expuestos al riesgo de contaminación.

La respuesta inmune humoral no es el único mecanismo involucrado en la protección de los individuos, ya que concomitantemente actúan mecanismos de la respuesta inmune celular; (Mifune et al, 1981).

Con el objetivo de evaluar canes vacunados durante la campaña que presentaban título protector (0,5 UI/ml) después de la vacunación, y un título de anticuerpos 90 días después de la vacunación, se realizó un muestreo serológico en 320 canes del Municipio de Santa Cruz de la Sierra.

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

Santa Cruz de la Sierra es la ciudad capital del Departamento de Santa Cruz, ubicado en la parte oriental de Bolivia (17 ° 45 'S, 63 ° 14' O) a 416 metros sobre el nivel del mar. La ciudad tiene un clima semi-tropical, con una temperatura promedio de 21 ° C en invierno y 32 ° C en verano. La superficie total es de aproximadamente 370 kilómetros cuadrados. La población estimada es de 1,4 millones de personas (Ministerio de Salud y Previsión Social, 2007). El Gobierno de Bolivia emitió una regulación especial de medidas sanitarias para el control de la rabia en noviembre de 2005, debido al aumento de la incidencia de

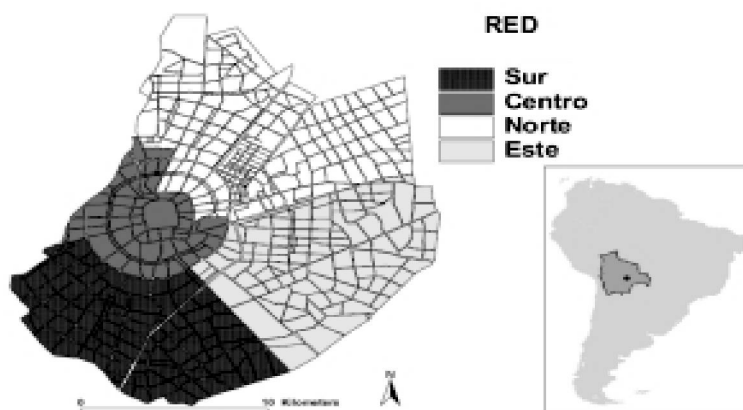


Figura 1. Mapa de distribución de redes de salud en el área de estudio. Inserto: el punto indica la posición de Santa Cruz en Bolivia en Sudamérica (Suzuki et al, 2008).

casos de rabia canina y humana en los últimos años (Ministerio de Salud y Deportes, 2005).

UNIDAD DE MUESTREO

El Gobierno Municipal de Santa Cruz de la Sierra dividió la ciudad en cuatro Redes de Salud (Centro, Sur, Norte y Este) como áreas de responsabilidad de cada uno de los cuatro centros de servicios municipales de salud, siendo el encargado del control de la rabia. A fin de seleccionar los animales, el estudio adoptó la norma de zonificación con una modificación de la combinación de Sur, Norte y Este, como área periférica de Santa Cruz, en comparación con la red Centro, como área central de Santa Cruz, (Fig. 1). El método de selección utilizado fue de muestreo aleatorio estratificado (Thrusfield, 2005). El Gobierno Municipal de Santa Cruz de la Sierra proporcionó acceso a las estimaciones de la población de perros de cada zona sobre la base de los resultados de la última campaña de vacunación realizada en agosto de 2007. La asignación de los individuos a los diferentes estratos fue equilibrada resultando en un total de 320 animales. El tamaño de muestra necesario se calculó utilizando el software Win Episcope 2.0 El tamaño de la muestra de 320 de una población de 400.000 perros fue suficiente para producir un 95 % intervalo de confianza (IC) con una exactitud deseada de $\pm 5\%$, asumiendo la seroprevalencia de anticuerpos estimada en 82 %.

RECOPIACIÓN DE DATOS

El trabajo de campo fue realizado por equipos conformados por los autores y el personal de la Alcaldía Municipal de Santa Cruz de la Sierra. Los 320 animales del estudio fueron analizados en febrero de 2009. El trabajo de campo consistió en la recopilación de datos a través de entrevistas a cada propietario de perro doméstico. A tiempo de la extracción de sangre se elaboró un cuestio-

nario en el que se identificaba los datos de cada animal (edad, sexo y red de salud).

Se pidió información al padre de familia o una persona adulta de cada hogar de donde se colectaron las muestras. La confirmación del estado de vacunación de los perros fue verificada por los certificados de vacunación individual o de acuerdo a la información suministrada por los encuestados. Se tomaron muestras de sangre de las venas cefálica o safena de cada perro, recogidos en tubos sin anticoagulante y se dejó reposar a temperatura ambiente para la liberación del suero. Las muestras fueron centrifugadas y los sueros separados y almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis.

MÉTODO DE LABORATORIO

Las muestras de sangre fueron procesadas en el laboratorio Provetsur de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma Gabriel René Moreno. Los sueros fueron analizados usando un Enzimoimmunoensayo Indirecto comercial (ELISA-I) que emplea la glicoproteína extraída de la membrana del virus inactivado y purificado como antígeno (Platelia rabia II Kit, Bio-Rad Laboratories, Francia). Los controles positivos y negativos fueron incluidos para cada serie de muestras analizadas.

La absorbancia fue leída en un lector Multiskan EX marca Thermo a 450-620 nm. Para la interpretación de la lectura, se siguieron las recomendaciones de los expertos de la OMS y OIE, los cuales indican que un nivel de anticuerpos igual o superior a 0,5 UI / ml es considerado como protección adecuada contra los riesgos de enfermedad (OMS, 1987). Por lo tanto, se expresaron los resultados de protegidos o no protegidos en función a la densidad óptica (DO) de cada muestra comparada con el umbral correspondiente a la OD valor de corte del control positivo límite inferior (0,5 UI/ml).

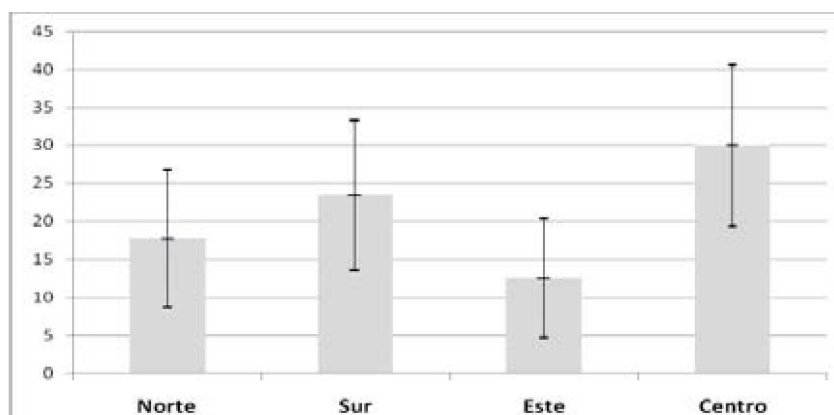


Figura 2. Prevalencia verdadera IC 95% ($P < 0,05$) de perros protegidos contra la rabia por redes de salud en Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

Tabla 1. Valores de Odd Ratio calculado por Red de Salud en Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

RED	SUR	ESTE	CENTRO
NORTE	0,702 OR: 0,324 - 1,522	1,51 OR: 0,626 - 3,630	0,50 OR: 0,237 - 1,055
SUR		2,145 OR: 0,927 - 4,961	0,715 OR: 0,354 - 1,442
ESTE			0,33 OR: 0,147 - 0,754

Tabla 2. Relación entre las características de perros protegidos y no protegidos según edad y sexo en Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

	Protegidos		No Protegidos		X ²	Valor-P
	%	n	%	n		
Sexo: macho	18,58	34	81,42	149	1,44	0,23
(versus hembra)	24,08	33	75,91	104		
Edad: <1 año	16,7	7	83,3	35	13,99	<0,01
(versus ≥1 año)	21,58	60	78,42	218		

ANÁLISIS DE DATOS

El análisis estadístico se realizó con la versión del software Epidat 3.1. (Xunta de Galicia, OMS-OPS) La relación entre el área geográfica (centro versus sur, este y norte) y las características de los perros se analizó usando chi-cuadrado de Pearson para la comparación estadística de estos factores categóricos. Sobre la base de la sensibilidad de ELISA-I publicado en 88,4 % y especificidad 98,8 % (Anon, 2005; Feyssaguet et al, 2005), se calculó una prevalencia verdadera estimada de anticuerpos entre los perros de estudio y se calculó el intervalo de confianza en 95 %. Se utilizó un valor de p de 0,05 para indicar significancia estadística.

RESULTADOS

De los 320 perros evaluados la seroprevalencia verdadera de anticuerpos protectores contra la rabia, estimada para las cuatro redes de salud fue de 20,94 % con un IC95 % de 16,32 - 25,55 en noviembre de 2007.

Las redes de salud con la seroprevalencia mas alta fue la red Centro, respecto las tres redes evaluadas (Figura 2).

Se evaluó el riesgo relativo aproximado a infectarse de rabia entre las diferentes redes de salud, donde se observó probabilidad de riesgo significativo para la población de perros de la red Centro respecto la red Este (Tabla 1).

En la evaluación de las variables respuesta por sexo no se observó diferencia estadística significativa para la seroprevalencia calculada en machos respecto de hembras.

Según los estratos etarios evaluados se observó diferencia estadística significativa entre los animales <1 año, respecto a los animales ≥1 año (Tabla 2).

DISCUSIÓN

El programa nacional de control y erradicación de rabia urbana contempla la vacunación masiva de perros y tiene como objetivo fundamental mantener los índices inmunogénicos protectivos en perros domésticos, disminuyendo el número de animales susceptibles (Alcaldía de Santa Cruz de la Sierra ZONOSIS-CEDES, 2008).

El método Enzimoimmunoensayo (ELISA-I) Platelia rabia II Kit, Bio-Rad Laboratories, Francia, es recomendado por la OIE (Organización Internacional de Sanidad Animal) como el método válido para identificar animales protegidos y no protegidos a un desafío del virus de la rabia a campo.

El presente estudio permitió determinar que la mayoría de los animales no presentan títulos de protección 20,9 % (67/320), después de tres meses de haber recibido vacunación contra la rabia, esto podría estar influenciado por el tipo de vacuna utilizado durante la campaña.

En un estudio realizado por Haddad et al (1985), únicamente 24,2 % (7/29) de los animales mantuvieron título protector después de 12 meses cuando fueron vacunados con vacuna de cultivo celular y 5,7 % (2/35) con vacuna de tejido nervoso. Estos autores discuten la existencia de factores intrínsecos (étnicos) que interfieren en la

respuesta inmune, asociado al estado nutricional de los animales.

Debe considerarse también que los estudios de Sikes et al (1971) y Fields et al (1976), con canes que recibieron dosis única de vacuna hecha en cerebro de ratón lactante y mantuvieron la inmunidad por 3 años, fueron realizados con animales mantenidos en condiciones controladas de laboratorio. Germano et al (1982), analizando la respuesta inmune de canes domiciliados, primo vacunados con la vacuna Fuenzalida-Palacios, en condiciones de campo, observaron una rápida caída de los títulos de anticuerpos contra rabia a los 45 días después de la vacunación cuando fueron analizados por la técnica de Seroneutralización en ratones, y a los 60 días analizados por Inmunofluorescencia Indirecta. En nuestro estudio, los animales menores a 1 año reportaron diferencia estadística significativa, respecto a los animales mayores a 1 año, lo que puede estar atribuido a factores de interferencia maternal en cachorros, estado nutricional deficiente o a la no aplicación de dosis vacunal de refuerzo.

Akakpo et al (1986), analizando la respuesta inmune de 514 canes que recibieron dosis única de vacuna antirrábica de cultivo celular, observaron un decrecimiento en el número de animales protegidos de 74 % 30 días después de la vacunación a 7,0 % después de 360 días, efecto atribuido a la baja condición de salud de los animales, mal nutrición, infecciones y parasitosis.

Los resultados encontrados indican que existe un gran riesgo de que la rabia se mantenga en todos los distritos evaluados (Centro, Sur, Norte y Este), existiendo un mayor riesgo en los distritos periurbanos (Sur, Norte y Este). De acuerdo con las recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud las campañas de vacunación deben contemplar coberturas no menores a 80 % para que tengan el efecto deseado.

Es evidente la necesidad de realizar refuerzos de vacunación en animales menores a 1 año para disminuir el riesgo de infección a desafío viral en este grupo etario.

Mayores estudios son necesarios para evaluar, otros factores extrínsecos e intrínsecos a los canes y sobre todo los aspectos logísticos, para determinar si las campañas de vacunación antirrábica canina se realizan de manera adecuada en Santa Cruz de la Sierra, Bolivia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akakpo AJ, Mbou G, Bornarel P, Sarradin P, Bada AR. Serologic response in dogs after a mass primary antirabies vaccination (inactivated vaccine) at pikine dakar (senegal) (translated from french). *Dakar med.* 1993. 38(2):123-128.
2. Baltazar M, Bahamanyar M. Essai pratique du serum antirabique chez les mordus par les loups en-

rages. *Bull. Org. Mond. Sante.* 1955. 13:747-72.

3. Cox JH, Dietzschold B, Schneider LG. Rabies virus glycoprotein: biological and serological characterization. *Infect. Immun.* 1977. 16:754-9.

4. Dean DJ, Evans WM, Thomson WR. Studies on the low egg passage flury strain of modified live rabies virus produced in embryonating chicken eggs and tissue culture. *Am. J. Vet. Res.* 1964. 25:756-63.

5. Fields M, Ament RD, Lamb D, Blades J. Suckling mouse brain rabies vaccine: duration of immunity in dogs. *Veterinary medicine of small animals clinical* 1976. 71: 37-40.

6. Germano PM, Marilene F, Almeida AC, Aguiar AF, Martorelli P, Marcelo M, Octávio AC. Avaliação da resposta imunitária da vacina anti-rábica preparada em cérebros de camundongos lactentes aplicada em cães primo vacunados em condições naturais. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 1982. 19: 67-73.

7. Haddad N, Soares IC. Activité de deux vaccins antirabiques employés lors de la primovaccination de chiens "tout venant" em Tunisie, *Rec. Med. Vét.*, 1985. 161: 755- 62.

8. Mifune K, De Oliveira AN, Romijn CP, Kimura LS. Essential role t cell in the post exposure prophylaxis of rabies in mice. *Microbiol. Immunol.* 1981. 25:895-904.

9. Sikes R, Cleary WF, Koprowski H, Wiktor TJ, Kaplan MM. Effective protection of monkeys against death from street virus by post-exposure administration of tissue culture rabies vaccine. *Bulletin of the world health organization* 1971.45:1-11.

10. Suzuki K, Gonzales E, Ascarrunz G, Loza A, Pérez M, Ruiz G, Rojas L, Mancilla K, Pereira JA, Guzman J, Pecoraro M. Antibody response to an anti-rabies vaccine in a dog population under field condition in bolivia. *Zoonoses public health*, 2008. 1863 - 2378.

11. Trusfield M. *Veterinary epidemiology*, Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, p. 584. 2005.

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL AISLAMIENTO Y LA IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella enterica* EN CERDOS DE LA REPÚBLICA DEL PARAGUAY

CARDOZO L¹, ALVAREZ M², SUZUKI K³, GIMENEZ G¹, WEILER N²,
LEOTTA G^{3, 5, 6}, NUÑEZ L¹, ZARATE N², LOPEZ D¹, COPES J^{3, 4 *}

¹ Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay, ² Departamento de Bacteriología y Micología, Laboratorio Central de Salud Pública, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social de la República del Paraguay, ³ Laboratorio de Microbiología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, ⁴ PROVETSUR - Agencia de Cooperación Internacional del Japón, ⁵ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), ⁶ Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout" CCT-La Plata CONICET- Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

RESUMEN: La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) más importantes de América del Sur, que puede ser transmitida por una gran variedad de alimentos. En Paraguay, se observa un aumento en la producción de cerdos para consumo. El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de *Salmonella enterica* y sus diferentes serotipos presentes en cerdos en crecimiento de doce distritos de la República del Paraguay. Se recolectaron 1000 muestras de materia fecal en 33 granjas de cerdos en crecimiento. Las muestras fueron pre-enriquecidas en agua peptonada a 37 °C durante 24 h, enriquecidas en caldo tetracionato a 42 °C por 24 h y finalmente fueron sembradas en medios de cultivo selectivos y diferenciales. Las colonias sospechosas fueron caracterizadas por pruebas bioquímicas y serotipificación. Se obtuvieron 189 (18,9 %) muestras positivas, de las cuales se aislaron 189 cepas de *S. enterica*. Se identificaron 28 serotipos, entre los que predominaron *S. Typhimurium* (16 %), *S. Schwarzengrund* (13 %), *S. Derby* (11 %), *S. Anatum* (7 %), *S. Cerro* (7 %), *S. Stanley* (5 %), *S. Saintpaul* (4 %) y *S. Rissen* (4 %). De los 12 distritos estudiados, Tablada y Capiata presentaron los porcentajes de aislamiento más altos (26 %). Los datos obtenidos en este trabajo son los primeros en Paraguay. Consideramos necesario implementar medidas de intervención para disminuir la portación de *S. enterica* en el reservorio porcino y proteger la salud de los consumidores de cerdo.

Palabras clave: cerdos, *Salmonella enterica*, materia fecal, Paraguay.

PRELIMINARY STUDY ON ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF *Salmonella enterica* IN PIGS FROM REPÚBLICA DEL PARAGUAY

ABSTRACT: Salmonellosis is a foodborne disease (FBD) more important in South America, which can be transmitted by a variety of foods. In Paraguay, there was an increase in pork production to consumption. The aim of this study was to determine the frequency of *Salmonella enterica* and its different serotypes present in growing pigs of twelve districts of the República del Paraguay. One thousand samples of stool were collected in 33 farms growing pigs. The samples were pre-enriched in peptone water at 37 °C for 24 h, enriched in tetrathionate broth at 42 °C for 24 h and then were sown on selective and differentials culture media. Suspicious colonies were characterized by biochemical tests and serotyping. We obtained 189 (18.9 %) positive samples, of which 189 isolated strains of *S. enterica*. We identified 28 serotypes, including *S. Typhimurium* (16 %), *S. Schwarzengrund* (13 %), *S. Derby* (11%), *S. Anatum* (7 %), *S. Cerro* (7%), *S. Stanley* (5 %), *S. Saintpaul* (4 %) and *S. Rissen* (4 %). Of the 12 districts studied, Tablada and Capiata isolation rates showed higher (26 %). The data obtained in this work are the first in Paraguay. We consider intervention measures should be implemented to reduce the bearing of *S. enterica* in pig reservoir and protect the health of consumers of pork.

Key words: growing pigs, *Salmonella enterica*, feces, Paraguay.

Dirección para correspondencia: Julio A. Copes, Cátedra de Tecnología y Sanidad de los Alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

E-mail: jcopes@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una enfermedad que reviste gran importancia en todo el mundo. El principal agente etiológico es *Salmonella enterica*. En América de Sur, la salmonelosis constituye una de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) de mayor relevancia y se caracteriza por producir cuadros entéricos graves, septicemia y en algunos casos la muerte de los afectados (1). Los alimentos de origen cárnico pueden contaminarse en las distintas etapas de la cadena de producción-comercialización. La producción porcina no es ajena a esta problemática, la cual no solo produce cuantiosas pérdidas económicas, sino que también pone en riesgo la salud pública (2).

El paso más importante para comenzar a controlar, y posteriormente erradicar, la portación de *S. enterica* en los animales de producción es reconocer el problema. Para ello, es necesario determinar la presencia de *S. enterica* en la granja, e identificar los serotipos prevalentes y sus perfiles de resistencia antimicrobiana. La presentación más común de salmonelosis en cerdos es como una enfermedad subclínica. Estos animales asintomáticos cumplen el rol de diseminadores de *S. enterica* por materia fecal o bien la mantienen en su aparato digestivo y linfonodos hasta la faena, momento crucial en donde se puede contaminar la carne destinada a consumo humano (3).

Por lo tanto, la investigación bacteriológica de materia fecal de los cerdos en la granja es uno de los pasos recomendados para iniciar el control de la salmonelosis subclínica (4, 5).

El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de *S. enterica* y sus diferentes serotipos presentes en cerdos en crecimiento en doce distritos de la República del Paraguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Desde el mes de marzo hasta noviembre del año 2009, se recogieron y analizaron 1000 muestras de materia fecal de cerdos procedentes de 33 granjas distribuidas en 12 distritos del Departamento Central: San Lorenzo, Villeta, Tablada, Ita, Capiata, Nueva Italia, Aregua, Limpio, Ypane, Villa Elisa, Luque y Thompson. De las granjas muestreadas, 27 pertenecían a explotaciones familiares y 6 pertenecían a explotaciones comerciales. En las granjas se criaban entre 100 y 500 cerdos. Se recolectó materia fecal de todos los corrales de cada establecimiento. En cada granja se obtuvo un total de 30 muestras, con excepción de una de la que se recolectaron 10 muestras. Todas las muestras fueron remitidas refrigeradas al laboratorio para su procesamiento.

Diez gramos de materia fecal fueron di-

luidos en 90 ml de agua peptonada (Acumedia, EE.UU.), se homogeneizaron durante 2 minutos en Bag Mixer (Bag Mixer, EE.UU.) y se incubó a 37 °C durante 24 h. Se inocularon 0,5 ml del pre-enriquecimiento en 10 ml de caldo tetratio-nato (Acumedia), incubándose en baño de María a 42°C durante 24 h. Luego, se sembraron 10 µl del enriquecimiento en agar xilosa lisina tergitol (XLT4, Acumedia) y agar verde brillante sulfapiridina (BGS, Acumedia). La incubación se llevo a cabo a 37°C durante 24. Tres colonias características de cada medio fueron sembradas en agar triple azúcar hierro (TSI, Acumedia) y agar lisina decarboxilasa (LIA, Acumedia). Las colonias sospechosas fueron confirmadas por pruebas bioquímicas y serotipificación. La determinación de especie y subespecie se realizó de acuerdo con el método descrito por Poppof (6) y la serotipificación se realizó según el esquema de Kauffman-White (7).

RESULTADOS

Sobre un total de 1000 muestras de materia fecal, se aisló *S. enterica* en 189 (18,9 %). De todas las granjas estudiadas se aisló al menos un serotipo de *Salmonella*. Sobre un total de 195 cepas, e identificaron 24 serotipos de *S. enterica*: *S. Typhimurium* (16 %), *S. Schwarzengrund* (13 %), *S. Derby* (11 %), *S. Anatum* (7 %), *S. Cerro* (7 %), *S. Stanley* (5 %), *S. Saintpaul* (4 %), *S. Rissen* (4 %), *S. London* (3 %), *S. Javiana* (2 %), *S. Mbandaka* (2 %), *S. Adamstua* (2 %), *S. Newport* (1 %), *S. Give* (1 %), *S. Infantis* (1 %), *S. Senftenberg* (1 %), *S. Westhampton* (1%), *S. Sandiego* (1%), *S. Tennessee* (1%), *S. Bredeney* (1%), *S. Livingston* (1 %), *S. Albany* (1 %) y *S. Enteritidis* (1 %). Respecto de los distritos que intervinieron en la toma de muestra, los resultados obtenidos se describen en figura 1.

DISCUSIÓN

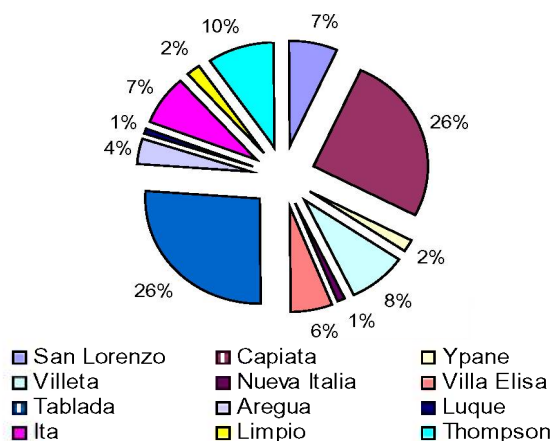
Los datos obtenidos en este trabajo son los primeros en la República del Paraguay. El porcentaje de *S. enterica* (18,9 %) indica una alta contaminación en los sistemas de explotación estudiados. Dentro de la totalidad de las granjas, se observaron resultados muy dispares que oscilaron entre 3,3 % y 63,3 %. Estos resultados pueden asociarse a deficiencias identificadas en las condiciones edilicias y en la aplicación de las buenas prácticas de manejo en los establecimientos muestreados (8, 9, 10). Por lo tanto, es importante continuar con este tipo de estudios, ya que el conocimiento de las características fenotípicas y genotípicas de las cepas de *S. enterica* circulantes en el reservorio animal permitirá mejorar el sistema de vigilancia de las ETA en la República del Paraguay. Desde el punto de vista de la salud pública, es interesante desatacar

Paraguay

que el serotipo más frecuentemente aislado fue *S. Typhimurium*, uno de los serotipos más prevalentes en casos de ETA en el mundo (8), como así también en Paraguay (11).

Consideramos necesario promover e implementar programas para el control de *S. enterica* en el ambiente, en los alimentos, en la producción de animales y en la etapa de faena y comerciali-

Figura 1: Distribución de las cepas aisladas en los diferentes distritos



zación de cerdos en la República del Paraguay.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco del Proyecto de Desarrollo Profesional Continuo para los Veterinarios del Sur (PROVETSUR), Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA). Al Dr. Javier Kanazawa y la Dra. Paola Amarilla, por su colaboración en la toma de muestras.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carbó Malonda R, Miralles Espí T, Sanz Bou R, Mañas Gimeno F, Guiral RS, Pérez E. Brote de toxoinfección alimentaria por *Salmonella enterica* en un establecimiento de restauración colectiva. Rev Esp Salud Pública, 2005; 79:47-57
2. Guan T, Holley R. Pathogen survival in swine manure environments and transmission of human enteric illness - A Review. J Environ Qual, 2003; 32:383-92
3. Davies P, Turkson P, Funk F, Nichols M, Ladely M, Fedorka-Cray F. Comparison of methods for isolating *Salmonella* bacteria from faeces of naturally infected pigs. J Appl Microbiol, 2000; 89:169-77
4. Creus E. Monitorización de *Salmonella* en porcino: métodos de detección PigCHAMP Pro Europa. Mundo Ganadero, España, 2007. <http://www.eumedia.es/portales/mundoganadero/suscripciones/index.html>
5. Letellier A, Messier S, Paré J, Ménard J, Quessy S. Distribution of *Salmonella* in swine herds in Québec. Vet Microbiol, 1999; 67:299-306
6. Popoff M, Le Minor L. Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovar. 8th ed. WHO Collaborating Centre

for Reference and Research on *Salmonella*, Institute Pasteur, Paris, France. 2008.

7. Poppoff M, Bockemuhl J, McWorther-Murlin A. Supplement 1990 (n°34) to the Kauffman-White scheme. Res Microbiol (Inst Pasteur), Paris, France, 1990; 142:1029-33.

8. Besser T, Goldoft M, Pritchett L, Khakhria R, Handcock D, Rice D, Gay J, Johnson W, Gay C. Multiresistant *Salmonella* Typhimurium DT104 infections of humans and domestic animals in the Pacific Northwest of the United States. Epidemiol Infect, 2000; 124:193-200

9. Ibar M, Vigo G, Piñeyro G, Caffer M, Quiroga P, Perfumo C, Centrón D, Giacoboni G. Serovariedades de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* en porcinos de faena y su resistencia a los antimicrobianos. Rev Argent Microbiol, 2009; 41:156-62

10. Parada J, Carranza A, Tamiozzo P, Pelliza B, Ambrogi A. Monitoreo de *Salmonella* por serología y bacteriología en cerdos vivos y su relación con el aislamiento a faena. Memorias del IX Congreso Nacional de Producción Porcina, San Luis, Argentina, 2008.

11. Álvarez M, Zarate N, Fariña N. Vigilancia de Serovariedades de *Salmonella* spp. circulantes en Paraguay en el período 2004-2008. Memorias del VII Congreso Paraguayo de Infectología, Asunción,

EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE PCR EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE *Escherichia coli* O157:H7 A PARTIR DE CARNE BOVINA MOLIDA

BRUSA V¹, PALACIOS M², LOUP V³, COPEL J^{1, 4}, PINEDA G³, BROCARDI S¹, ALIVERTI V¹, ALIVERTI F¹, GALLERI D¹, PERAL GARCIA P^{5, 6}, PELLICER K¹, LEOTTA G^{1, 5, 6 *}

¹ Laboratorio de Microbiología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, ² Mediatec, Buenos Aires, Argentina, ³ Servicio Nacional de Salud Animal - SENACSA, Paraguay, ⁴ PROVETSUR - Agencia de Cooperación Internacional del Japón, ⁵ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET),

⁶ Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout" CCT-La Plata CONICET-Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

RESUMEN: La infección por *Escherichia coli* O157:H7 es causa de diarrea con o sin sangre, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH) en humanos. El principal reservorio animal de *E. coli* O157:H7 son los bovinos y la carne bovina molida es una potencial fuente de infección. El objetivo de este trabajo fue evaluar un sistema comercial de PCR en tiempo real para la detección de *E. coli* O157:H7. Se determinó límite de detección, selectividad y robustez. Se contaminaron experimentalmente 50 muestras de carne molida bovina con 10 cepas de *E. coli* O157:H7 (10, 100 y 1000 UFC/25 g) y 20 cepas de bacterias no-*E. coli* O157:H7 (1000 UFC/25 g). El límite de detección dependió de la cepa analizada, el valor mínimo fue 6,1 UFC/25 g. La robustez fue óptima al modificar diferentes variables. Se obtuvo 100% de inclusividad y 100% de exclusividad. La técnica evaluada es una alternativa apropiada para la detección de *E. coli* O157:H7 a partir de carne bovina molida.

Palabras clave: PCR en tiempo real, *E. coli* O157:H7, carne bovina.

EVALUATION OF A REAL TIME PCR SYSTEM FOR DETECTION OF *Escherichia coli* O157:H7 IN GROUND BEEF

ABSTRACT: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) cause non-bloody or bloody diarrhea, hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome (HUS) in humans. Cattle are a major animal reservoir for *E. coli* O157:H7 and the ground beef are a potential source of infection. The aim of the present study was to evaluate a real time PCR commercial system for detection of *E. coli* O157:H7. Detection limit, selectivity and robustness were established. Fifty samples of ground beef were experimentally contaminated with 10 *E. coli* O157:H7 strains (10, 100 y 1000 CFU/25 g) and 20 non-*E. coli* O157:H7 strains (1000 CFU/25 g). The detection limit depended on the strain analyzed, the minimum values was 6,1 cfu/15 g. A good robustness was observed when different variables were introduced. Inclusivity and exclusivity were of 100%. The evaluated technique is an appropriate alternative for detection of *E. coli* O157:H7 from ground beef.

Key words: real time PCR, *E. coli* O157:H7, ground beef.

Dirección para correspondencia: Gerardo Leotta, Cátedra de Tecnología y Sanidad de los Alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

E-mail: gleotta@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCION

Escherichia coli O157:H7 es un patógeno emergente asociado a Enfermedades Transmitedas por Alimentos (ETA). Fue reconocido por primera vez como patógeno humano en 1982 durante dos brotes de colitis hemorrágica (CH) atribuidos al consumo de hamburguesas en restaurantes de comidas rápidas (1).

La infección por *E. coli* O157:H7 puede causar casos esporádicos o brotes de diarrea, CH y síndrome urémico hemolítico (SUH). En Argentina, el SUH es endémico y constituye la primera causa pediátrica de insuficiencia renal aguda y la segunda de insuficiencia renal crónica; además, es responsable del 20% de los trasplantes renales en niños y adolescentes. Cada año se producen aproximadamente 400 casos nuevos de SUH, aunque existe un importante subregistro. Desde 1965 hasta el presente se registraron más de 7.000 casos (2)

Numerosos estudios realizados en diferentes países, incluyendo a la Argentina permitieron confirmar el rol del ganado vacuno como principal reservorio de *E. coli* O157:H7 (3). La principal vía de transmisión de este microorganismo son los alimentos contaminados, como por ejemplo, carne molida, productos cárnicos crudos o insuficientemente cocidos, hamburguesas y embutidos fermentados, entre otros (4, 5, 6).

El objetivo de este trabajo fue evaluar un sistema comercial de PCR en tiempo real para la detección de *E. coli* O157:H7 a partir de muestras de carne bovina molida.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 100 muestras de 25 g cada una de carne bovina molida. Las muestras fueron analizadas para determinar la ausencia de *E. coli* O157:H7 según la metodología recomendada por *United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service* (USDA/FSIS) (10). Cada muestra fue colocada en una bolsa de Stomacher (BagFilter, Interscience, Francia) y conservada a 6 °C durante 24 h.

Se utilizaron 30 cepas; 10 cepas de *E. coli* O157:H7 y 20 cepas no-*E. coli* O157:H7 (Tabla 1). Las cepas *E. coli* EDL933 (O157:H7) y *E. coli* ATCC 25922 (no-O157:H7), fueron utilizadas como controles positivo y negativo, respectivamente. Las cepas utilizadas fueron identificadas por pruebas bioquímicas (8) y seroagrupadas según su antígeno somático (O) y flagelar (H). Para la detección del antígeno O se utilizó la técnica de aglutinación en látex (Denka Seiken, Tokyo, Japón) y para la detección del antígeno H se utilizó la técnica de aglutinación en tubo con antisuero anti-H (Denka Seiken).

Las cepas, conservadas a -70 °C en caldo cerebro corazón (CCC, Acumedia, Michigan, EE.UU.) con 30 % de glicerol, fueron sembra-

das en 5 ml de CCC (Acumedia) e incubadas a 37 °C durante 6 h, y luego en agar MacConkey (Acumedia) a 37 °C durante 18 h. A partir de una colonia se realizó un subcultivo en CCC a 37 °C durante 6 h hasta la fase de crecimiento exponencial (aproximadamente 10⁸ UFC/ml). La concentración bacteriana se determinó por recuento en agar para recuento en placa (Acumedia), por triplicado. Las placas se incubaron a 37°C durante 18 h. La concentración bacteriana se expresó en unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml). Paralelamente, se realizaron 7 diluciones decimales en agua peptonada hasta obtener una concentración aproximada de 10, 100 y 1000 UFC/ml (Tabla 1). Sesenta muestras fueron contaminadas experimentalmente con 1 ml de cada una de las mencionadas diluciones correspondientes a las cepas *E. coli* O157:H7 y 40 muestras fueron contaminadas con 1000 UFC/ml de las cepas no-*E. coli* O157:H7. Posteriormente, se agregaron 225 ml de caldo EC (Acumedia) a cada muestra. Todas las muestras fueron procesadas durante 2 minutos en BagMixer (Interscience) y se incubaron a 37 °C durante 18 h.

PCR en tiempo real. Se utilizó el sistema de PCR en tiempo real R.A.P.I.D. LT Food Security System y el kit comercial *E. coli* O157:H7 LT Test Kit (Idaho Technologies Inc., Utah, EE.UU.), siguiendo las instrucciones específicas del fabricante.

Límite de detección. Se determinó la probabilidad de detección de *E. coli* O157:H7 al comparar el número de resultados positivos con la concentración de cada cepa en las muestras analizadas. El ensayo de PCR se realizó por duplicado en un intervalo de 1 a 3 días.

Selectividad. La determinación de selectividad se realizó de acuerdo a los conceptos propuestos por Feldsine *et al.* (9). Se analizaron muestras con todas las cepas detalladas en la Tabla 1, por duplicado.

Robustez. Los ensayos se realizaron por triplicado y se repitieron en las mismas condiciones, en 3 días consecutivos, con 3 operadores.

RESULTADOS

Límite de detección. Todas las muestras contaminadas con diferentes concentraciones de *E. coli* O157:H7 fueron positivas. El límite de detección dependió de la cepa analizada y la concentración bacteriana con la que se contaminaron las muestras, el valor mínimo se obtuvo con las muestras contaminadas con la cepa LAMA 74 y fue 6,1 UFC/25 g. El valor máximo se obtuvo con las muestras contaminadas con la cepa LAMA 40 y fue de 20 UFC/25 g de carne bovina molida.

Selectividad. Todas las muestras contaminadas con las cepas de *E. coli* O157:H7 fueron positivas en las tres concentraciones (N=30) y

Tabla 1. Cepas de *E. coli* O157:H7 y no-*E. coli* O157:H7 provenientes del cepario del Laboratorio de Microbiología de los Alimentos (LAMA) y utilizadas para evaluar el sistema comercial de PCR en tiempo real.

Origen	Cepa	UFC/ 25 g	origen	cepa	UFC/ 25 g
LAMA 32	<i>E. coli</i> O157:H7	7,5	LAMA 65	<i>E. coli</i> O157:H7	11,6
		75			116
		750			1160
LAMA 39	<i>E. coli</i> O157:H7	8,5	LAMA 70	<i>E. coli</i> O157:H7	19,6
		85			196
		850			1960
LAMA 40	<i>E. coli</i> O157:H7	20	LAMA 73	<i>E. coli</i> O157:H7	7,5
		200			75
		2000			750
LAMA 46	<i>E. coli</i> O157:H7	19	LAMA 74	<i>E. coli</i> O157:H7	6,1
		190			61
		1900			610
LAMA 55	<i>E. coli</i> O157:H7	14	LAMA 81	<i>E. coli</i> O157:H7	6,4
		140			64
		1400			640
LAMA 90	<i>E. coli</i> O91:H21	610	LAMA 25	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1360
LAMA 67	<i>E. coli</i> O103:NM	955	LAMA 13	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2190
LAMA 80	<i>E. coli</i> O113:H4	650	LAMA 2	<i>Yersinia enterocolitica</i>	1185
LAMA 88	<i>E. coli</i> O145:NM	930	LAMA 10	<i>Shigella flexneri</i>	735
LAMA 77	<i>E. coli</i> O146:H28	860	LAMA 20	<i>Shigella dysenteriae</i>	1515
LAMA 107	<i>Salmonella</i> Enteritidis	700	LAMA 23	<i>Shigella boydii</i>	800
LAMA 24	<i>Salmonella</i> Typhimurium	895	LAMA 21	<i>Morganella morganii</i>	1020
LAMA 1	<i>Salmonella</i> Newport	840	LAMA 16	<i>Proteus mirabilis</i>	1070
LAMA 28	<i>Enterobacter cloacae</i>	1295	LAMA 18	<i>Proteus vulgaris</i>	1010
LAMA 149	<i>Staphylococcus aureus</i>	3380	LAMA 8	<i>Escherichia hermannii</i>	350

todas las muestras contaminadas con las cepas no-*E. coli* O157:H7 (N=20) fueron negativas. Por lo tanto, se obtuvo un 100% de inclusividad y un 100% de exclusividad.

Robustez. Todos los resultados fueron reproducibles al analizar las muestras contaminadas con 10 cepas de *E. coli* O157:H7 en 3 días consecutivos y por 3 operadores.

DISCUSIÓN

En el Artículo 255 del Código Alimentario Argentino se especifica el criterio microbiológico que debe cumplir la carne picada fresca, en el cual se establece ausencia de *E. coli* O157:H7/NM en 5 muestras de 65 g cada una. Para el aislamiento y la caracterización de *E. coli* O157:H7 y O157:NM en productos cárnicos se recomienda la metodología validada por USDA/FSIS (7). En esta metodología se recomienda un tamizaje basado en el sistema de PCR BAX® (10).

El sistema evaluado en este trabajo se

basa en PCR en tiempo real y utiliza sondas específicas para la detección de los amplicones generados en el proceso. Si bien, no es el mismo fundamento que el sistema BAX®, este presenta valores similares en cuanto a límite de detección, inclusividad, exclusividad y robustez.

El sistema de PCR en tiempo real R.A.P.I.D. LT Food Security System y el kit comercial *E. coli* O157:H7 LT Test Kit presentaron un buen desempeño, ya que fue posible detectar hasta 6,1 UFC/25 g de carne bovina molida. No se observaron interferencias al utilizar diferentes concentraciones bacterianas. Si bien, este sistema de PCR en tiempo real cuenta con la validación de AOAC International (AOAC N° 100901), en el presente trabajo se demostró su utilidad para la detección de cepas de *E. coli* O157:H7 circulantes en Argentina.

En conclusión, el sistema de PCR en tiempo real evaluado es una técnica rápida, precisa y selectiva para la detección de *E. coli* O157:H7 en carne bovina molida.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco del Proyecto de Desarrollo Profesional Continuo para los Veterinarios del Sur (PROVETSUR), Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA). El sistema de PCR en tiempo real fue provisto por Idaho Technologies Inc., UTA, EE.UU.

BIBLIOGRAFIA

1. Riley LW, Remis RS, Helgerson, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Herbert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* O157:H7 serotype. N Engl J Med 1983; 308: 681-5.
2. Rivas M, Miliwebsky E, Chinen I, Deza N, Leotta GA. Epidemiología del Síndrome Urémico Hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión. Medicina (Buenos Aires) 2006; 66 (Supl.III): 27-32.
3. Masana MO, Leotta GA, Del Castillo LL, D'astek BA, Palladino PM, Galli L, Vilacoba E, Carbonari CC, Rodríguez HR, Rivas M. Prevalence, characterization, and genotypic analysis of *Escherichia coli* O157:H7/NM from selected beef exporting abattoirs of Argentina. J Food Prot 2010; 73: 649-656.
4. Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chillemi G, Ledri S, Baschkier A, Scarpin M, Manfredi E, Rivas M. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. J Food Prot 2001; 64: 1346-51.
5. Chinen I, Epszteyn S, Melamed CL, Aguerre L, Martínez Espinosa E, Motter MM, Baschkier A, Manfredi E, Miliwebsky E, Rivas M. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in beef and chicken burgers, and chicken carcasses in Buenos Aires, Argentina. Int Food Microbiol 2009;132:167-71.
6. Oteiza JM, Chinen I, Miliwebsky E, Rivas M. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from precooked sausages (morcillas). Food Microbiol 2006; 23: 283-8.
7. United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science. USDA/FSIS (2008) United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science. Detection, isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 from Meat Products. MLG5.04. 2008.
8. Edwards and Ewing's. The Genus *Escherichia*. En: Ewing WH (Ed), Edwards and Ewing's, Identification of Enterobacteriaceae 4th Ed. Elsevier 1986, New York, p. 93-134.
9. Feldsine P, Abeyta C, Andrews W. AOAC International Methods Committee Guidelines for Validation of Qualitative and Quantitative Food Microbiological Official Methods of Analysis. J AOAC Internat 2002; 85: 1187-200.
10. Food Safety and Inspection Service Procedure for the Use of *Escherichia coli* O157:H7 Screening Tests MLG 5A.01. 2008

EVALUACIÓN DE DIEZ CEPAS DE *Salmonella* Enteritidis EN RICOTA ALMACENADA A 4 Y 8 °C

**BROCARDO S¹*, ALIVERTI S¹, ALIVERTI F¹, GALLERI D¹, BRUSA V¹,
COCA CAMACHO CP², PELLICER K¹, LEOTTA G^{1, 4, 5}, COPEL J^{1,3}**

¹Laboratorio de Microbiología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina, Cátedra de Microbiología, ² Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno (FCV - UAGRM), Bolivia, ³ PROVETSUR - Agencia de Cooperación Internacional del Japón, ⁴ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), ⁵ Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout" CCT-La Plata CONICET-Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

Resumen: *Salmonella* Enteritidis es uno de los agentes etiológicos involucrados con mayor frecuencia en las infecciones alimentarias registradas en América del Sur. El objetivo de este trabajo fue evaluar diez cepas de *Salmonella* Enteritidis inoculadas en muestras de ricota e incubadas a 4 y 8°C durante 7 días. A las temperaturas estudiadas los recuentos de *Salmonella* Enteritidis se mantuvieron constantes durante el período de almacenamiento, lo que implicaría que las temperaturas de almacenamiento estudiadas controlan el desarrollo de este microorganismo.

Palabras claves: Ricota, *Salmonella* Enteritidis, temperatura.

EVALUATION OF TEN STRAINS OF *Salmonella* Enteritidis IN RICOTTA STORED AT 4 AND 8 °C

ABSTRACT: *Salmonella* Enteritidis is one of the more commonly pathogen involved in food-borne in South America. The aim of this work was evaluate ten *Salmonella* Enteritidis strains inoculated in ricotta samples, stored at 4 and 8°C for 7 days. Counts of *Salmonella* Enteritidis were constant during the store period, which would imply that the storage temperatures studied to control development of this organism.

Key words: Ricota, *Salmonella* Enteritidis, temperature.

Dirección para correspondencia: Silvina Brocardo, Cátedra de Tecnología y Sanidad de los Alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

E-mail: silvina.brocardo@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCION

La salmonelosis es una enfermedad infecciosa del hombre y los animales causada por microorganismos pertenecientes a dos especies de *Salmonella*, *S. enterica* y *S. bongori*. Es considerada como una de las enfermedades zoonóticas más frecuentes en América del Sur. Muchos animales, especialmente rumiantes, aves y cerdos, pueden diseminar la enfermedad (1). Los lácteos revisten una gran importancia sanitaria, en particular aquellos elaborados en forma artesanal. Según el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (2), entre los años 1990-1995 se registraron en EE.UU. más de 420 brotes de salmonelosis, cuyo agente causal fue *S. Enteritidis*, involucrando alimentos como leche, huevos, quesos, cremas, etc. (3, 4). La ricota es un producto obtenido por la precipitación de las sustancias proteicas de la leche o del suero del queso mediante calor en medio ácido. La misma elaborada con leche entera tiene un contenido máximo de agua de un 75%, debido a esto es un alimento altamente perecedero. Desde su elaboración y hasta su expendio debe almacenarse a una temperatura inferior a 10 °C siendo su vida útil no mayor a 7 días (5, 6).

Los requisitos microbiológicos exigidos por el Código Alimentario Argentino (CAA) para quesos de alta humedad, establecen la ausencia de *Salmonella* spp. en 25 g de muestra.

Los alimentos perecederos y los que requieren mucha manipulación, son los que con mayor frecuencia están involucrados en brotes alimentarios debido a este patógeno (3).

El objetivo de este trabajo fue evaluar diez cepas de *Salmonella* Enteritidis inoculadas en ricota elaborada con leche entera, almacenadas a 4 y 8 °C dentro del período de vida útil.

MATERIALES Y MÉTODOS

La ricota fue elaborada con leche entera y el agregado de vinagre de alcohol (5). Se fraccionaron 156 porciones de 25 g cada una, envasadas en bolsas de Stomacher (BagFilter, Interscience, Francia). Para cada temperatura de almacenamiento se destinaron siete bolsas como control de esterilidad y una para la medición de pH y temperatura (termopHmetro Altronix). La contaminación experimental se llevó a cabo con 10 cepas de *S. Enteritidis*, pertenecientes al Laboratorio de Microbiología de los Alimentos (LAMA) en concentraciones de $5,2 \times 10^4$ y $9,2 \times 10^5$ UFC/25 g de ricota (Tablas 1 y 2). Se utilizaron 7 bolsas para cada cepa y se almacenaron a 4 y 8 °C (registrador electrónico de temperatura Datalogger, Testo, Argentina) durante 7 días. Se realizaron recuentos de *S. Enteritidis* todos los días del almacenamiento.

Las muestras de ricota se diluyeron en 225 ml de agua peptonada buferada (Biokar

Diagnostics, Francia) y se sembraron 100 µl de cada una en agar lisina desoxicolato XLD (Acumedia, Michigan, EE.UU.), incubándose a 37°C durante 48 h.

RESULTADOS

La concentración bacteriana en las muestras de ricota no sufrió modificaciones en el transcurso de 7 días a 4 y 8 °C. En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos al realizar el recuento de *S. Enteritidis* a partir de las muestras de ricota almacenadas a 4°C. Los resultados presentados en la Tabla 2 corresponden al almacenamiento de ricota realizado a 8 °C.

DISCUSIÓN

En nuestro país existe una apreciable cantidad de granjas que elaboran ricota en forma artesanal y no cuentan con las buenas prácticas de manufactura e higiene (7). Las diferentes maniobras culinarias empleadas actualmente, utilizan la ricota cocida y cruda. Al ser un queso de alta humedad y perecedero, cuando se consume crudo o bajo un proceso térmico insuficiente, es probable su contaminación (7, 8).

En este trabajo se confirmó que el almacenamiento de ricota a 4 y 8 °C permitió controlar el desarrollo de *S. Enteritidis*, ya que las bacterias permanecieron viables y su número se mantuvo estable, en coincidencia con lo indicado por otros autores (9). Por lo tanto, es importante promover la capacitación de los manipuladores de ricota, particularmente en buenas prácticas de manufactura e higiene, tanto en las granjas artesanales como en el hogar. Asimismo, es importante cumplir con lo estipulado en el CAA y evitar el fraccionamiento de ricota en la boca de expendio (6). Todas estas medidas son esenciales para la obtención de un producto inocuo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco del Proyecto de Desarrollo Profesional Continuo para los Veterinarios del Sur (PROVETSUR), Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA).

BIBLIOGRAFÍA

1. OIE Capítulo 2.10.3. Salmonelosis. Disponible en http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.10.03_Salmonelosis.pdf
2. Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE.UU. Disponible en <http://www.cdc.gov/foodnet>
3. Alcazár Montañez C, Rubio Lozano M, Núñez Espinosa F, Alonso Morales R. Detección de *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* en quesos frescos y semimadurados que se expenden en vía pública en la ciudad de México. Rev Vet México 2006; 37: 417-29.
4. Marth EH. *Salmonellae* and salmonellosis associated

Tabla 1. Recuento de 10 cepas de *Salmonella* Enteritidis inoculadas en ricota durante 7 días y almacenadas a 4 °C.

Cepa	Inóculo	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
LAMA 4	1,2 x 10 ⁵	6,7 x 10 ⁴	9,5 x 10 ⁴	8,5 x 10 ⁴	7,6 x 10 ⁴	9,4 x 10 ⁴	9,4 x 10 ⁴	9,3 x 10 ⁴
LAMA 107	5,2 x 10 ⁴	8,2 x 10 ⁴	7,26 x 10 ⁴	7,6 x 10 ⁴	5,0 x 10 ⁴	3,5 x 10 ⁴	5,1 x 10 ⁴	6,2 x 10 ⁴
LAMA 108	1 x 10 ⁵	4,5 x 10 ⁴	4,3 x 10 ⁴	3,2 x 10 ⁴	4,3 x 10 ⁴	1,3 x 10 ⁴	1,9 x 10 ⁴	2,8 x 10 ⁴
LAMA 110	6 x 10 ⁴	1,3 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁵	9,1 x 10 ⁴	1,0 x 10 ⁵	8,8 x 10 ⁴	9,7 x 10 ⁴	8,1 x 10 ⁴
LAMA 120	1,7 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁵	6,7 x 10 ⁴	8,5 x 10 ⁴	9,9 x 10 ⁴	6,1 x 10 ⁴	6,6 x 10 ⁴	6,9 x 10 ⁴
LAMA 131	1,5 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁵	7,4 x 10 ⁴	7,6 x 10 ⁴	7,9 x 10 ⁴	7,1 x 10 ⁴	7,9 x 10 ⁴	5,8 x 10 ⁴
LAMA 134	7,6 x 10 ⁴	5,8 x 10 ⁴	1,9 x 10 ⁴	2,3 x 10 ⁴	3,0 x 10 ⁴	2,6 x 10 ⁴	2,7 x 10 ⁴	4,4 x 10 ⁴
LAMA 135	2,5 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁵	9,5 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁵
LAMA 220	9,3 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁵	8,0 x 10 ⁴	7,3 x 10 ⁴	8,4 x 10 ⁴	7,6 x 10 ⁴	8,3 x 10 ⁴	8,3 x 10 ⁴
LAMA 253	6,9 x 10 ⁴	8,0 x 10 ⁴	6,5 x 10 ⁴	5,6 x 10 ⁴	6,9 x 10 ⁴	7,0 x 10 ⁴	7,1 x 10 ⁴	6,4 x 10 ⁴

Tabla 2. Recuento de 10 cepas de *Salmonella* Enteritidis inoculadas en ricota durante 7 días y almacenadas a 8 °C.

Cepa	Inóculo	Día 0	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6
LAMA 4	2,3 x 10 ⁵	1,5 x 10 ⁵	2,0 x 10 ⁵	2,1 x 10 ⁵	1,5 x 10 ⁵	1,3 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁵
LAMA 107	3,4 x 10 ⁵	1,5 x 10 ⁵	2,3 x 10 ⁵	2,8 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁵	1,5 x 10 ⁵	1,5 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵
LAMA 108	3,2 x 10 ⁵	5,0 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁵	9,2 x 10 ⁴	1,0 x 10 ⁵
LAMA 110	3,7 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁵	2,1 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁵	1,3 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁵	7,1 x 10 ⁴	1,1 x 10 ⁵
LAMA 120	2,7 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁵	2,1 x 10 ⁵	2,2 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁵
LAMA 131	3,5 x 10 ⁵	2,2 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁵	1,5 x 10 ⁵	1,3 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁵	9,1 x 10 ⁴
LAMA 134	2,8 x 10 ⁵	7,5 x 10 ⁴	1,4 x 10 ⁵	1,5 x 10 ⁵	7,4 x 10 ⁴	8,4 x 10 ⁴	7,4 x 10 ⁴	7,6 x 10 ⁴
LAMA 135	1,9 x 10 ⁵	2,2 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁵	2,1 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁵	2,1 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁵	1,4 x 10 ⁵
LAMA 220	1,9 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵	1,7 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁵
LAMA 253	7,5 x 10 ⁵	1,8 x 10 ⁵	2,3 x 10 ⁵	2,4 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁵	2,4 x 10 ⁵	2,3 x 10 ⁵	1,9 x 10 ⁵

Paraguay

with milk and milk products. A review. *J Dairy Sci* 1969; 52: 283-315.

5. Asociación Argentina de Productores de Granja. Disponible en http://www.infogranja.com.ar/distintos_tipos_de_quesos.htm

6. Código Alimentario Argentino (CAA) capítulo VIII art 614. <http://www.alimentosargentinos.gov.ar>

7. Michelena G. Producción segura de cárneos y lácteos. Análisis de la contaminación. Tesis de Maestría en Salud Pública Orientación Sistemas de Salud. Laboratorio Central de Salud Pública de la Provincia de Buenos Aires; 2008.

8. Michanie S. Calidad microbiológica de los alimentos vendidos en las calles. *Alim Latinoam* 1994; 203: 66-72.

9. Rajesh M, Hirvi Y, Hill A, Griffiths MW. Effect of Phage on Survival of *Salmonella* Enteritidis during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. *J Food Prot* 2001; 64: 927-933.

FRECUENCIA DE *Salmonella enterica* EN AVES DE TRASPATIO DE LA LOCALIDAD DE SAN LORENZO, DEPARTAMENTO CENTRAL, REPÚBLICA DEL PARAGUAY

ALVAREZ F¹, COPEL J², ALVAREZ M³, NUÑEZ YEGROS L¹, SUZUKI K⁴, GORETTI SILVA M¹, ZARATE N³, CASTRO L¹, WEILER N³, FACCIOLI M¹, LEOTTA G^{2, 5, 6 *}

¹ Lab. de Diagnóstico de las Enfermedades de las Aves, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay, ² Laboratorio de Microbiología de los Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, ³ Departamento de Bacteriología y Micología, Laboratorio Central de Salud Pública, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social de la República del Paraguay, ⁴ PROVETSUR - Agencia de Cooperación Internacional del Japón, ⁵ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), ⁶ Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando Noel Dulout" CCT-La Plata CONICET-Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

RESUMEN: La salmonelosis es la enfermedad transmitida por alimentos de origen bacteriano más importante a nivel mundial y su agente etiológico es *Salmonella enterica*. En Paraguay, es habitual la cría de aves de traspatio para consumo de huevos y carne. El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de *S. enterica* en aves de traspatio de la Localidad de San Lorenzo, Departamento Central, República del Paraguay. Se recolectaron 400 muestras cloacales de aves de traspatio. La detección de *S. enterica* se realizó por PCR. Para el aislamiento se utilizó la metodología de separación inmunomagnética y la siembra en agar XLT4. Las colonias sospechosas fueron caracterizadas por pruebas bioquímicas y serotipificación. Se determinó la susceptibilidad a 11 antimicrobianos. Se detectaron 25 (6,25%) muestras positivas por PCR y se aislaron 11 (2,75%) cepas de *S. enterica*: 8 *S. Enteritidis*, 2 *S. Schwarzengrund* y 1 *S. Saintpaul*. Todos los aislamientos fueron sensibles a 9 antimicrobianos probados. Sin embargo, todas las cepas de *S. Enteritidis* presentaron resistencia a ácido nalidixico y nitrofurantoina. *Salmonella Enteritidis* se encuentra entre las serovariedades más comunes que causan salmonelosis en el ser humano y es el serotipo más prevalente en casos de ETA en Paraguay. Consideramos necesario implementar medidas de intervención relacionadas con la educación de los propietarios de aves de traspatio. Este es el primer trabajo en el que se detectó, aisló y caracterizó *S. enterica* en aves de traspatio de la República del Paraguay.

Palabras clave: *Salmonella*, aves de traspatio, Paraguay.

FREQUENCY OF *Salmonella enterica* IN BACKYARD CHICKEN FROM SAN LORENZO CITY, DEPARTAMENTO CENTRAL, REPÚBLICA DEL PARAGUAY

ABSTRACT: Salmonellosis is a disease transmitted by food of more important bacterial origin worldwide. The ethiological agent is *Salmonella enterica*. In Paraguay, backyard chicken raising is common for home eggs and meat production and consumption. The aim of this work was to determine the frequency of *S. enterica* in backyard chicken at San Lorenzo, a city located in the Central Department of Paraguay. Four hundred cloacae samples of backyard chicken were collected. *S. enterica* was detected through PCR technique. The immunomagnetic separation methodology and streaked in agar XLT4 were used for *Salmonella* isolation. Suspicious colonies were characterized by biochemical tests and serotyping. Susceptibility to 11 antimicrobial agent was determined. Twenty five positive samples (6.25%) were detected by PCR and 11 strain (2.75 %) of *S. enterica* were isolated: 8 *S. Enteritidis*, 2 *S. Schwarzengrund* and 1 *S. Saintpaul*. All the isolates were sensitive to 9 antimicrobial tested. However, all *S. Enteritidis* showed resistance to nalidixic acid and nitrofurantoin. *Salmonella Enteritidis* is between the most common serovar that may cause salmonellosis in the human being. It is also the most prevailing serotype in ETA cases in Paraguay. It is necessary to implement measures related to the education of backyard chicken owners and raisers. This is the first work that detected, isolated and characterized *S. enterica* in backyard chickens in Paraguay

Key words: *Salmonella*, backyard chicken, Paraguay.

Dirección para correspondencia: Gerardo Leotta, Cátedra de Tecnología y Sanidad de los Alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

E-mail: gleotta@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCION

La salmonelosis es la enfermedad transmitida por alimentos (ETA) de origen bacteriano más importante a nivel mundial. En los países de Latinoamérica los rangos de prevalencia varían entre 200 y 500 casos cada 100.000 habitantes (1). En Paraguay, la salmonelosis es una de las primeras causas de enfermedades transmitidas por alimentos.

El principal agente etiológico de esta enfermedad es *Salmonella enterica*. Su clasificación taxonómica es muy compleja, actualmente se reconocen dos especies: *S. enterica* y *S. bongori*. La primera de ellas incluye seis subespecies que agrupan 2443 serotipos: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (2). Estos microorganismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se los encuentra como comensales y patógenos en el tracto gastrointestinal de mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves e insectos (3). Los alimentos involucrados en brotes de ETA causados por *Salmonella* son huevos, ovoproductos, carnes y derivados, productos lácteos, alimentos a base de cremas, vegetales y panificados.

En Paraguay, la cría de aves de traspatio para consumo familiar de huevos y carne es habitual. Por lo tanto, se debe considerar a estas aves como un potencial reservorio de *S. enterica* y por ende una potencial fuente de infección para el ser humano.

El objetivo de este trabajo fue determinar la frecuencia de *S. enterica* en aves de traspatio de la Localidad de San Lorenzo, Departamento Central, República del Paraguay.

MATERIALES Y METODOS

Entre el 31 de marzo y el 9 de abril de 2009, se recolectaron muestras cloacales de 400 aves de traspatio. Las aves fueron criadas por 48 propietarios en 25 de los 52 barrios de la Localidad de San Lorenzo. Se recolectaron 16 muestras por cada barrio y 8 muestras por cada propietario. Las muestras se obtuvieron a partir de hisopados cloacales y se conservaron en tubos con agua peptonada (Acumedia, Michigan, EE.UU.). Los tubos fueron incubados a 37°C durante 20 h y luego cada muestra fue analizada por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de *S. enterica*. Para ello, se extrajo ADN a 1 ml de cada pre-enriquecimiento. Se utilizaron oligonucleótidos específicos (Invitrogen, Brasil) para la detección del gen *invA* S139 y S141 (4). El volumen final de la reacción de PCR fue de 25 µl, y consistió en 2,5 µl de buffer de PCR 10X (500 mM KCl, 200 mM Tris HCl), 1,25 µl de dNTPs (10 mM), 1,6 µl de MgCl (25 mM), 0,5 µl de cada oligonucleótido (0,1 nmol/µl), 0,5 µl de *Taq* DNA polimerasa (5U/µl) (Fermentas, California, EE.UU.) y 5 µl de ADN templado obtenido de

cada muestra. La amplificación se realizó en un termociclador MyCycler (Bio-Rad, CA, EE.UU.). Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: incubación inicial a 94 °C por 60 seg, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por 60 seg, annealing a 64 °C por 30 seg y elongación a 72 °C por 30 seg, seguido de 7 min finales de extensión a 72 °C. Los productos de ADN amplificado de las muestras analizadas fueron analizados en geles de agarosa al 1,2%, coloreados con el intercalante *sybr safe* (Invitrogen Life Technologies, Brasil) y visualizados con transiluminador de lámpara azul. Como marcador de peso molecular se utilizó Cienmarker (Biodynamics, Bs As, Argentina).

Para el aislamiento de *Salmonella* spp. se utilizó la metodología de separación inmunomagnética según las instrucciones del fabricante (Dynal, Invitrogen). Posteriormente, se sembró el inmunocentrado en agar xilosa lisina tergitol (XLT4, Acumedia), incubándose a 37°C durante 20 h. Las colonias sospechosas fueron sembradas en agar triple azúcar hierro (TSI, Acumedia) y en agar lisina decarboxilasa (LIA, Acumedia). Las colonias sospechosas fueron confirmadas por pruebas bioquímicas y serotipificación. La determinación de especie y subespecie se realizó de acuerdo con el método descrito por Poppof (5). La serotipificación fue realizada según el esquema de Kauffman-White (6) con antisueros somáticos y flagelares para *Salmonella* (Denka-Seiken, Tokyo, Japón). La susceptibilidad a los antimicrobianos se determinó por la técnica de difusión en disco según las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute for Enterobacteriaceae* (7). Los antimicrobianos utilizados fueron ampicilina (AMP), amoxicilina-acido clavulánico (AMC), cefixima (CFM), cefotaxima (CTX), ciprofloxacina (CIP), cloranfenicol (CL), gentamicina (GN), nitrofurantoína (NIT), tetraciclina (TE), trimetoprima-sulfametoxazol (TXS) (Becton Dickinson BBL, MD, EE.UU.).

RESULTADOS

Se detectaron 25 (6,25 %) muestras positivas por PCR, correspondientes a 19 (39,6%) propietarios provenientes de 18 barrios. Se aislaron 11 (2,75 %) cepas de *S. enterica*, 8 (2 %) fueron identificadas como *S. Enteritidis*, 2 (0,5 %) *S. Schwarzengrund* y 1 (0,25 %) *S. Saintpaul*. Todas las cepas (N=11) fueron sensibles a 9 antimicrobianos: AMP, AMC, CFM, CTX, CIP, CL, GN, TE y TXS. Sin embargo, todas las cepas de *S. Enteritidis* fueron resistentes a NAL y NIT, hecho que coincide con los datos reportados en cepas aisladas de muestras humanas (8, 9).

El porcentaje de detección por PCR fue superior al porcentaje de aislamientos, este hecho pudo deberse a la alta sensibilidad de la técnica de tamizaje y a que el aislamiento se realizó directamente del agua peptonada utilizando partículas

inmunomagnéticas. Debemos considerar que el agua peptonada no es un medio de enriquecimiento selectivo, probablemente al utilizar una etapa de enriquecimiento en medios selectivos y temperaturas restrictivas, el porcentaje de recuperación podría ser mayor. Sin embargo, los componentes de los medios de enriquecimiento para *Salmonella* pueden afectar la unión de los anticuerpos adsorbidos a las partículas magnéticas.

Se aisló *S. Enteritidis* en un 2 % de las aves muestreadas. Si bien, *S. Schwarzengrund* y *S. Saintpaul* fueron asociadas con brotes de ETA en EE.UU. (10), *S. Enteritidis* se encuentra entre las serovariedades más comunes que causan salmonelosis en el ser humano (11) y es el serotipo más prevalente en casos de ETA en Paraguay. Este serotipo fue el más frecuente entre las aves de traspatio de San Lorenzo. Es interesante mencionar que en la mayoría de las viviendas donde se tomaron las muestras, las condiciones higiénico-sanitarias de las aves de traspatio no eran adecuadas y compartían el hábitat con diferentes especies animales (domésticas y silvestres).

DISCUSIÓN

Teniendo en cuenta estas observaciones y los resultados obtenidos en este trabajo, consideramos necesario implementar medidas de intervención relacionadas con la educación de los propietarios de las aves de traspatio, particularmente en el manejo sanitario de las aves, del ambiente, de los huevos y de las carcasas. De esta manera, se podrán prevenir potenciales infecciones en los consumidores.

El único dato previo sobre aves de Paraguay y *S. enterica* es un trabajo realizado sobre 255 gallinas ponedoras de tipo casero en la Localidad de Santo Domingo, Departamento Central, en el cual se comprobó que el 3,24 % de las aves analizadas presentaban anticuerpos contra *S. Gallinarum* (12). Por lo tanto, este es el primer trabajo en el que se detectó, aisló y caracterizó *S. enterica* en aves de traspatio de la República del Paraguay.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco del Proyecto de Desarrollo Profesional Continuo para los Veterinarios del Sur (PROVETSUR), Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA).

BIBLIOGRAFIA

1. Miller IS, Hohmann EL, Pegues DA. *Salmonella* (Including *Salmonella* Typhi). In: Mandel, Douglas and Bennett, editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 4th ed., Churchill Livingstone, New York; 1995; p. 2013-33

2. Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. *Salmonella* nomenclature. J Clin Microbiol 2000; 38:2465-7.

3. Global Salm-Surv. Manual de Procedimientos. *Salmonella*: PARTE I. Aislamiento, identificación y serotipificación A global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization, 2003.

4. Rahn K, De Grandis SA, Clarke RC, McEwen SA, Galán JE, Ginocchio C, Curtiss III R, Gyles CL. Amplification of an *invA* gene sequence of *Salmonella* typhimurium by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*. Mol Cell Probes, 1992; 6:271-9.

5. Popoff M, Le Minor L. Antigenic Formulas of the *Salmonella* Serovar. 8th ed. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institute Pasteur, Paris, France. 2008.

6. Poppoff M, Bockemuhl J, McWorther-Murlin A. Supplement 1990 (n°34) to the Kauffman-White scheme. Res Microbiol (Inst Pasteur), Paris, France, 1990; 142:1029-33

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement, 2007; M100-S20, Wayne, Pa (EE.UU.).

8. Álvarez M, Zarate N, Fariña N. Vigilancia de Serovariedades de *Salmonella* spp. circulantes en Paraguay en el período 2004-2008. Memorias del VII Congreso Paraguayo de Infectología, Asunción, Paraguay, 2009.

9. Álvarez M, Zarate N, Fariña N. Vigilancia de Susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella* spp. de origen clínico en el periodo 2004-2008. Memorias del VII Congreso Paraguayo de Infectología, Asunción, Paraguay, 2009.

10. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention 2010. <http://www.cdc.gov/Salmonella>.

11. Le Bacq F, Louwagie B, Verhaegen J. *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis: Changing epidemiology from 1973-1992. Europ J Epidemiol 1994; 10:367-71

12. Acosta Amarilla BC. Estudio de la presencia de salmonelosis en gallinas ponedoras tipo casero en la Localidad de Santo Domingo, Distrito de Capiata, Departamento Central. Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNA) como requisito para la obtención del Título de Doctor en Ciencias Veterinarias. 2006.

ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE METAPNEUMOVIRUS, Ornithobacterium rhinotracheale, Mycoplasma synoviae Y M. gallisepticum EN POLLOS PARRILLEROS EN URUGUAY

Trenchi H¹, Giossa G¹, Rodríguez G¹, Trenchi G², Suzuki K*, Petruccelli M³

¹Area de Patología y Producción Avícola – Departamento de Animales de Granja
Instituto de Producción Animal - Facultad de Veterinaria, Las Placas 1550 C.P. 11600.

²Ejercicio Liberal de la Profesión. ³Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Experto JICA

* Experto JICA.

RESUMEN: Las afecciones respiratorias son causantes de importantes pérdidas económicas en la producción de parrilleros. Estas ocasionan la muerte de animales, perjuicios en la ganancia de peso y conversión, así como decomisos durante la faena. Nuestro país es un caso singular al no estar presente la Enfermedad de Newcastle y estar prohibido el uso de todo tipo de vacunación contra ésta en parrilleros. Por ello se seleccionaron para la investigación los *Mycoplasmas gallisepticum* y *synoviae*, el *Metapneumovirus* y el *Ornithobacterium rhinotracheale*. Entre octubre 2008 y abril 2009 se obtuvieron 1866 muestras de suero de parrilleros de 35 días que correspondían al 1% de las aves de cada lote. Las 17 granjas participantes se ubicaban en los Departamentos de Montevideo, Canelones y Lavalleja y pertenecían a 3 diferentes integraciones. La técnica utilizada fue ELISA con kits comerciales de IDEXX Laboratories. Resultaron positivos a *Metapneumovirus* 195 (10.45%), a *Ornithobacterium rhinotracheale* 47 (2.51 %), a *Mycoplasma synoviae* 23 (1.23%) y a *Mycoplasma gallisepticum* 11 (0.58%). Si consideramos como unidad el lote, resultaron positivos 70.58 %, 82.35 %, 52.94 % y 41.17 % a las respectivas afecciones. La evidencia serológica de *Metapneumovirus* y *Ornithobacterium* muestra una considerable difusión entre aves y lotes. Para ambos *Mycoplasmas* los positivos fueron escasos si lo comparamos a los diagnósticos clínicos que se efectúan.

Palabras Clave: parrilleros, enfermedades respiratorias, serología

SEROLOGICAL STUDIE OF METAPNEUMOVIRUS, Ornithobacterium rhinotracheale, Mycoplasma synoviae AND M. gallisepticum IN BROILERS IN URUGUAY

ABSTRACT: Respiratory diseases causes important economic losses in poultry due to increase mortality, poor performance parameter such as growth per day or feed conversion, and an increase of condemnation rates. In Uruguay it is forbidden the vaccination against New Castle disease because the country is considered as free of this disease. The purpose of this study is determinate the serological evidence of Avian *Metapneumovirus*, *Ornithobacterium rhinotracheale*, *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae*. During October of 2008 and April of 2009, 1866 serum samples were taken from 35 days old broilers corresponding to the 1% of the total broiler population of each group. The 17 sampled farms are located in the departments of Montevideo, Canelones and Lavalleja belonging to 3 different companies. The serum samples were analyzed by ELISA technique using IDEXX commercial kits. 195 (10,45%) serum samples were positive to *Metapneumovirus*, 47 (2,51%) were positive to *ORT*, 23 (1,23%) to *Mycoplasma synoviae* and 11 (0,58%) positives to *Mycoplasma gallisepticum*. If we consider the 17 sampled farms as a 100% the results were 70,58% ; 82,35% ; 52,94% and 41,17% respectively for each disease. The serological evidence of *metapneumovirus* and *ORT* shows a considerable diffusion between birds and groups. For both *Mycoplasmas* the positive serum samples were few compared with the positive clinical field diagnosis.

Key words: broilers. Respiratory diseases. serology

Dirección para correspondencia: H. Trenchi, Area de Patología y Producción Avícola – Depto Animales de Granja. Instituto de Producción Animal. Facultad de Veterinaria, Las Placas 1550 (11600). Uruguay
E-mail: htrenchi@itz.de

INTRODUCCIÓN

En la cría de parrilleros las afecciones respiratorias son una importante causa de pérdidas económicas. Estas se deben tanto a la muerte de animales como a otros factores por ejemplo, disminución en la ganancia de peso, perjuicio de la conversión alimenticia, gastos de tratamiento y decomisos en el momento de la faena. Las causas están tanto en agentes patógenos virales y bacterianos como en el mal manejo de las condiciones ambientales de las aves. Detrás de los casos más graves siempre encontramos una combinación de ambas. En nuestro país no existen referencias bibliográficas respecto a estudios sobre la incidencia y alcance de la difusión de la mayoría de las afecciones más comunes en las aves. Solamente en el caso de las enfermedades que son trabas para el comercio internacional, Influenza Aviar y la Enfermedad de Newcastle, el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca realiza periódicamente encuestas seroepidemiológicas tanto a nivel industrial como en aves migratorias y de traspatio. En estos dos casos se dispone de datos actualizados. Nuestra industria productora de carne de ave se encuentra en una condición especial respecto a la enfermedad de Newcastle ya que el uso de cualquier tipo de vacuna (a virus vivo o inactivado) está prohibido desde hace una década.

En el caso de ponedoras comerciales o reproductoras pesadas o livianas la vacunación está permitida con virus inactivado y con vacunas vivas siempre y cuando el Índice de Patogenicidad Intracerebral no exceda el valor de 0,20. Descartadas las afecciones mencionadas, nuestro interés se centró entonces en otras patologías respiratorias como son: *Metapneumovirus* (APV), los *Mycoplasmas gallisepticum* (Mg) y *sinoviae* (Ms) y por último *Ornithobacterium rhinotracheale* (Ort). Para los tres primeros agentes mencionados existen diagnósticos previos en nuestro país. La presencia de Mg se conoce desde la década de los 60', siendo más reciente el caso de Ms y en los últimos 10 años, APV. En el caso de *Ornithobacterium* no existen referencias a la sospecha de su presencia en nuestro medio ni de intentos para su aislamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se realizó con la colaboración de tres empresas productoras de carne de ave que permitieron acceder a granjas de sus integrados ubicadas en los Departamentos de Montevideo, Canelones y Lavalleja. El muestreo se realizó entre los meses de octubre 2008 y abril 2009. Se sangraron por punción cardíaca 1866 aves de 35 días de edad. Las mismas correspondieron a 17 diferentes criadores. El número de las muestras fue en cada caso, el 1% de las aves que integraban el lote. Los sueros obtenidos se

mantuvieron congelados hasta el momento de su procesamiento. La técnica utilizada para ello fue ELISA siguiendo las instrucciones del proveedor de los kits comerciales (IDEXX Laboratories). Para la lectura de la densidad óptica se utilizó un equipo Bio-Rad modelo 550 y los resultados fueron procesados con el programa de interpretación provisto por el fabricante de los kits.

RESULTADOS

Los resultados observados en la Tabla 1, nos muestran una diferencia muy alta entre los positivos a APV y el resto de los agentes, así mismo el porcentaje de granjas estudiadas es alto con respecto a Mg y Ms, sin embargo a pesar de observarse un porcentaje bajo de animales positivos, el número de granjas positivas fue superior a los demás agentes (82,35 %). Si observamos la Tabla 2, la integración A, aparece como con mejor condiciones sanitarias, con porcentajes relativamente bajos. La integración B con porcentajes altos para APV y relativamente bajos para los otros agentes, y la C con las peores condiciones sanitarias.

DISCUSIÓN

La real incidencia de APV es desconocida ya que no existen publicaciones nacionales al respecto. El diagnóstico, como lo es en otros casos, se efectúa clínicamente con la posibilidad de error que ello implica. Resultó llamativa la diferencia en cuanto al número de aves positivas entre las diferentes integraciones. La difusión de la afección es horizontal (1) por lo que la explicación puede encontrarse en las diferencias de manejo y tal vez, en la variación de los planes de vacunación. Frecuentemente la gravedad de las lesiones está potenciada por la acción de otros virus y bacterias presentes ya sea por desafío de campo o inmunización (1). En el caso de *Ornithobacterium rhinotracheale* la evidencia serológica muestra por primera vez su presencia en parrilleros de nuestro país. La difusión aceptada de esta bacteria es de tipo horizontal. Según la literatura disponible, (2) durante la cría las pérdidas no son relevantes (2-3%) aunque su acción se potencia por su asociación con otros patógenos. No obstante se encuentran citas de casos donde ha causado daños elevados por decomiso durante la faena (3).

No existen datos sobre el alcance de las eventuales pérdidas en nuestro medio. En cuanto a los *Mycoplasmas*, los resultados mostraron una realidad inesperada. Con mucha frecuencia se efectúan diagnósticos clínicos de su presencia sin realizar ningún tipo de confirmación. Con esa base, se realizan tratamientos con antibióticos predominantemente en agua de bebida. Los criterios usados para medir los resultados no son objetivos y frecuentemente se repiten frente

Tabla 1. Cantidad y porcentaje de aves y lotes positivos a los diferentes agentes etiológicos en las 1866 muestras.

Agente Etiológico	APV	ORT	Ms	Mg
Aves positivas	195	47	23	11
Porcentaje	10,45	2,51	1,23	0,58
Lotes Positivos	12	14	9	7
Porcentaje	70,58	82,35	52,94	41,17

Tabla 2. Número y porcentaje de aves positivas a las distintas afecciones discriminado por integración participante.

Integración	APV	ORT	Ms	Mg
A	20	25	5	5
958 muestras	2,09 %	2,61 %	0,52 %	0,65 %
B	159	15	10	4
768 muestras	20,70 %	1,95 %	1,30 %	0,52 %
C	18	7	8	2
140 muestras	12,86 %	5,0 %	5,71 %	1,43 %

a la escasa respuesta favorable. Si consideramos como origen de la infección la vía vertical, debemos tener en cuenta los datos obtenidos en lotes reproductores experimentalmente contaminados. (4, 5, 6), En los mismos se muestra que luego de 8 – 15 semanas de la exposición, solamente es posible aislar mycoplasmas del interior de los huevos fértiles en el 3% de los mismos. En cuanto a la difusión horizontal (6) la infección pasa por un período de latencia de 1 – 21 días al cabo de los cuales alcanza a un 5 – 10% de los integrantes de la población. Según el mismo estudio en 7 – 32 días un 90 – 95% de las aves desarrollan anticuerpos y en 3 – 39 días todo el lote se vuelve serológicamente positivo. El número de lotes que resultaron positivos en nuestro estudio es elevado, pero los animales individuales que lo fueron son un porcentaje muy reducido. Particularmente si consideramos la dinámica descrita para su difusión y la edad (35 días) en que fueron obtenidas las muestras. La prueba de ELISA es menos sensible que la seroaglutinación (7) pero es mucho más específica. De todos modos es la que se utiliza actualmente como padrón de comparación. La producción avícola se encuentra muy concentrada geográficamente. Los productores para diferentes integraciones se ubican en la inmediata vecindad y se encuentran entremezcladas entre ellas. Ésta circunstancia puede explicar la amplia difusión de afecciones cuya transmisión vertical no fue comprobada. Llama por ello poderosamente la atención las marcadas diferencias en el porcentaje de aves positivas en una y otra integración por ejemplo para APV y

Ort. Un factor que podría explicar al menos en parte las diferencias, son las distintas exigencias sanitarias que plantean a sus integrados cada una de ellas. No existe un criterio único en la selección de las instalaciones y equipamientos empleados por sus integrados. Los planes sanitarios y el número tipo y vía de aplicación de vacunas difiere ampliamente en sus criterios. El control efectuado por parte de los técnicos y extensionistas del manejo, ventilación durante la cría y las medidas de limpieza y desinfección previas al ingreso de un nuevo lote varían ampliamente en sus exigencias. El contacto mediante camiones de reparto de alimento, pájaros de vida libre, personal de servicio, y la difusión aerógena debe considerarse donde la distancia entre galpones de criadores para diferentes empresas es de pocos cientos de metros.

Es necesario efectuar relevamientos serológicos periódicos para poder evaluar correctamente la situación sanitaria general de la industria avícola, esto permitiría ajustar los planes preventivos a las verdaderas necesidades y eventualmente zonificar su aplicación.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) en el marco del Proyecto PROVETSUR.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gough RE, Jones RC. Avian Metapneumovirus en Diseases of Poultry 12th Edition. Saif, Y. M. Blackwell Publishing Professional Ames, Iowa, E.E.U.U. de Nor-

teamérica pp. 2008, 100-110.

2. Chin RP, van Empel PCM, Hafez H. M. *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection. Diseases of Poultry 12th Edition. Saif YM. Blackwell Publishing Professional Ames, Iowa, EE.UU. de Norteamérica pp.765-774. 2008.

3. van Veen L, Gruys E, Frik K, van Empel P. Increased Condemnation of Broilers Associated With *Ornithobacterium rhinotracheale*. Vet Rec. 200. 147: 422-423.

4. Kleven SH, Ferguson-Noel N. *Mycoplasma synoviae* Infection en Diseases of Poultry 12th Edition. Saif YM. Blackwell Publishing Professional Ames, Iowa, Estados Unidos de Norteamérica. pp. 845 -856. 2008.

5. Ley DH. *Mycoplasma gallisepticum* Infection en Diseases of Poultry 12th Edition. Saif YM. Blackwell Publishing Professional Ames, Iowa, E.E.U.U.de Norteamérica pp. 807- 834. 2008.

6. McMartin DA, Khan MI, Farver TB, Christie G. Delineation of the Lateral Spread of *Mycoplasma gallisepticum* Infection in Chickens. Avi Dis 1987. 31:814-819

7. Avakian AP, Kleven SH, Glison JR. Evaluation of the Specificity and Sensitivity of Two Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits, The Serum Plate Agglutination Test, and The Hemagglutination-Inhibition Test for Antibodies formed in response to *Mycoplasma gallisepticum* Avi. Dis 1988. 32: 262 - 272.

EVIDENCIA SEROLÓGICA DE LA PRESENCIA DE *Ornithobacterium rhinotracheale* EN PONEDORAS COMERCIALES EN URUGUAY

Trenchi H¹, Trenchi G², Rodríguez G¹, Giossa G¹, Suzuki K*; Petruccelli M³

¹. Área de Patología y Producción Avícola – Departamento de Animales de Granja – Instituto de Producción Animal – Facultad de Veterinaria, Lasplaces 1550 C.P. 11600. ². Ejercicio Liberal de la Profesión, ³. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Experto JICA. * Experto JICA.

RESUMEN: *Ornithobacterium rhinotracheale* fue identificado como patógeno para las aves en pavos en Alemania durante 1981. Posteriormente se lo asoció a problemas respiratorios en patos y parrilleros. El objetivo de esta investigación fue demostrar evidencias serológicas de su eventual presencia en aves de postura de huevo comercial en nuestro país. La literatura disponible describe la clínica de la afección y su repercusión en la producción de reproductoras pesadas. Los 12 establecimientos que participaron en la investigación son de edades múltiples y de características industriales. Se encontraban ubicados en los Departamentos de Montevideo, Canelones y Cerro Largo. En ellos se obtuvieron muestras de sangre de ponedoras de edades entre las 57 y 117 semanas. La recolección se realizó durante los meses de mayo y junio de 2009. Los sueros se mantuvieron congelados hasta su procesamiento. La técnica utilizada fue ELISA empleándose kits comerciales IDEXX. La técnica se ejecutó de acuerdo a los procedimientos usuales, utilizando para la medición de la densidad óptica un lector Bio-Rad modelo 550. La interpretación de los resultados se realizó con el software suministrado por IDEXX. La totalidad de las 184 muestras procesadas resultaron positivas. Según los datos obtenidos es la primera vez que se registra evidencia serológica de *Ornithobacterium rhinotracheale* en ponedoras comerciales en nuestro país.

Palabras Clave: *ornithobacterium*, ponedoras, serología

SEROLOGICAL EVIDENCE OF INFECTION WITH *Ornithobacterium rhinotracheale* IN COMMERCIAL FLOCKS IN URUGUAY

ABSTRACT: *Ornithobacterium rhinotracheale* was isolated from the respiratory tracks of turkeys in Germany during 1981. ORT is considered nowadays an important respiratory pathogen for poultry. The purpose of the present study is to demonstrate through serological evidence the presence of ORT in layers of Uruguay. The available literature only describes the clinical signs and the economical consequences of this disease in broilers breeders. This study involves twelve multiple age industrial layers farms. Those are located in the Departments of Montevideo, Canelones and Cerro Largo. The serum samples were obtained from layers from 57 to 117 weeks old during the month of May and June of 2009. They were analyzed by an Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercial kits (IDEXX) following the brochure instructions with a biorad microplate reader model 550. The results were analyzed with the IDEXX software. The 184 samples tested were positives. This is the first report of serological evidence about *Ornithobacterium rhinotracheale* in layers in Uruguay.

Key Words: *Ornithobacterium*, layers, serology.

Dirección para correspondencia: H. Trenchi. Área de Patología y Producción Avícola. Depto Animales de Granja. Instit. de Producción Animal. Facultad de Veterinaria, Lasplaces 1550 (11600). Uruguay
E-mail: htrenchi@ltz.de

INTRODUCCIÓN

Las primeras descripciones de problemas causados en la avicultura industrial por *Ornithobacterium rhinotracheale* son en pavos del norte de Alemania en 1981 (1). Con posterioridad se lo menciona en casos respiratorios en patos y parrilleros (Sud Africa (2)). Se difunde con rapidez a muchos países incluyendo en América del Sur a Brasil (1), Perú (3) y Argentina (4). La gravedad de la afección que origina se relaciona con la acción de otros patógenos como los virales. Este sinergismo se da sea por el uso de vacunas o por desafíos de campo. Particularmente se citan a la Enfermedad de Newcastle, *Metapneumovirus* o Bronquitis Infecciosa a lo que podemos agregar *E. coli*, los *Micoplasmas gallisepticum* y *synoviae* y *Pasteurellas*. Condiciones de manejo como hacinamiento, mala ventilación, o altas densidades también influyen sobre la evolución de la enfermedad.

En ponedoras comerciales los 3 casos descriptos por Sprenger et al (5) durante 1997 y 1998 son la principal referencia. Los síntomas en común entre todos ellos fueron: depresión, descarga nasal, senos infraorbitarios inflamados y dificultad respiratoria leve. Se acompañó con una disminución de la producción de 10 %. Luego de superada la etapa aguda, los valores se mantuvieron por debajo de lo esperado. En todos los casos se menciona un aumento de la mortalidad que va desde 0,2 % semanal a un 6,81 % en un plazo de 10 días. En el año 2001 se realiza un relevamiento serológico utilizando la técnica de ELISA en la región del centro y norte de los Estados Unidos (6). Fue efectuado sobre 62 lotes de ponedoras con edades entre las 22 y 304 semanas, y dio como resultados el hallazgo de anticuerpos en el 100 % de las aves y los lotes. Los lotes se eligieron al azar habiendo tenido un comportamiento normal en su producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los meses de mayo y junio de 2009 se obtuvieron muestras de sangre de aves ponedoras en producción. El sangrado se efectuó por punción cardíaca y los sueros resultantes se mantuvieron congelados hasta su procesamiento. Las granjas eran de producción industrial, ubicadas en los Departamentos de Montevideo, Canelones y Cerro Largo. Todas ellas eran de edades múltiples teniendo en conjunto un total de 514.500 aves. Los galpones muestreados totalizaban 62.655 aves con edades que iban desde las 57 a las 117 semanas de vida, estando todas en producción. De ellas 41.250 (8,01 %) se explotaban en piso representando en la muestra 13.332 aves (21,27 %).

Para la detección de anticuerpos a *Ornithobacterium rhinotracheale* se utilizó la técnica de ELISA empleándose kits comerciales de la

firma IDEXX. Los mismos fueron recibidos por colaboración de la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) en el marco del Proyecto PROVETSUR. Según las especificaciones del productor son capaces de determinar la presencia de los serotipos A hasta M del *O. rhinotracheale*. La técnica se ejecutó de acuerdo a los procedimientos usuales utilizando para la medición de la densidad óptica un lector Bio-Rad modelo 550. La interpretación de los resultados se realizó con el software suministrado por IDEXX.

RESULTADOS

La totalidad de los 184 sueros estudiados resultaron positivos. No existió ninguna diferencia entre las aves explotadas en piso con las de jaula. La edad de los lotes al momento de la obtención de la muestra (entre 57 y 117 semanas de vida) tampoco implicó cambio en cuanto a la incidencia.

DISCUSIÓN

Las menciones a la relación directa entre *Ornithobacterium rhinotracheale* y la disminución de la producción de huevos son escasas. La mayoría de las citas son de planteles de reproductoras pesadas. En Brasil 480 muestras de sangre provenientes de 40 lotes diferentes mostraron ser positivos en 100 %. A nivel individual la incidencia se estimó en 94,62 % (1). En Japón se citan como positivos el 13,9 % de los planteles de reproductoras pesadas estudiadas mientras se consideraron "sospechosos" 41,8 % de los mismos (7). La técnica utilizada fue el test de ELISA. En Perú de 19 aislamientos efectuados solamente uno correspondió a ponedoras comerciales (3). No se encontraron citas donde se evalúe pérdidas del sector huevo con la excepción de lo mencionado por Sprenger y col (5). En nuestro caso particular, la totalidad de los lotes estudiados habían recibido en alguna oportunidad antibióticos sin que mediara un diagnóstico concreto de una afección respiratoria. En todos los casos los propietarios los definieron como de comportamiento productivo normal para los estándares de cada granja.

Es posible que la presencia de *Ornithobacterium rhinotracheale* haya pasado desapercibida para los productores y técnicos actuantes. Los casos diagnosticados clínicamente como Coriza Infecciosa son frecuentes en las explotaciones de edades múltiples. No se efectúan confirmaciones por aislamiento del agente causal. Es posible entonces que algunos de los problemas de baja en producción de alcance económico limitado sean causados por *Ornithobacterium rhinotracheale* ya sea solo o en asociación con *Avibacterium* o alguna bacteria del género *Pasteurella*.

En esos casos se aplican tratamientos en

base a antibióticos en el alimento. Dentro de los más usados en nuestro medio se encuentran oxi y clortetraciclina, eritromicina y tilosina que han demostrado su eficacia en Estados Unidos, Francia y otros países (8).

En las descripciones se menciona la capacidad de difusión horizontal del agente (9).

Los resultados muestran un 100 % de reaccionantes pese a que las aves se encontraban alojadas en diferentes condiciones (91,78 % en jaulas y 8.21 % en piso). Con excepción de una granja, las restantes se ubicaron dentro de la cuenca avícola donde existe una gran concentración de establecimientos. La producción de huevos y carne no se mezclan en un mismo predio, pero la distancia entre los mismos puede ser de unos pocos cientos de metros. Este factor es importante para la difusión horizontal del agente. La difusión vertical, aunque discutida, debe tomarse en cuenta (8). El plan de vacunación que se aplica más comúnmente en aves de postura en nuestro medio finaliza antes de la postura. Por ello la posible circulación de virus respiratorios depende solamente de los desafíos de campo y no de revacunaciones que son usuales en otros países. Ésta condición resta posibilidades al desarrollo del agente.

En el presente trabajo se demuestra por primera vez en nuestro país evidencia serológica de la presencia de *Ornithobacterium rhinotracheale* en ponedoras. Es necesario efectuar el aislamiento del agente así como determinar sus características. Es de particular interés conocer los serotipos actuantes así como su comportamiento frente a los antibióticos y dosis utilizados hasta el presente.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por la agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) en el marco del Proyecto PROVETSUR

BIBLIOGRAFÍA

1. Canal CW, Leao JA, Ferreira DJ, Macagnan M, Pippi CT, Back A. Prevalence of Antibodies Against *Ornithobacterium rhinotracheale* in Broilers and Breeders in Southern Brazil. *Avi Dis* 2003. 47:731-737.
2. Bragg RR, Greyling JM, Verschoor JA. Isolation and identification of NAD-independent bacteria from chickens with symptoms of infectious coryza. *Avi. Patho.* 1997. 26: 595-606
3. Koga Y, Silvera M, Alvarado A. Estudio sobre Procesos Respiratorios Relacionados con *Ornithobacterium Rhinotracheale* en Aves Comerciales en el Perú. XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Lima, Perú 1999. 21-24 de Setiembre de 1999 p. 274 - 277.
4. Uriarte J, Corva S, Gornatti D, Origlia J, Píscopo M, Cerda R, Herrero M, Marcantoni H, Unzaga MF, Marino F, Spinsantti E, Pecoraro M, Petruccelli M. Evidencia serológica de infección en aves comerciales por *Orni-*

thobacterium rhinotracheale (ORT) en las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos (Argentina). Enviado a *Analecta Veterinaria* 2009.

5. Sprenger SJ, Halvorson DA, Nagaraja KV, Sparojevic R, Dutton RS, Shaw DP. *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection in Commercial Laying-type chickens. *Avi. Dis.* (2000) 44: 725 - 729.

6. Heeder CS, Lopes VC, Nagaraja KV, Shaw DP, Halvorson DA. Seroprevalence of *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection in commercial Laying Hens in the North Central Region of the United States. *Avi. Dis.* 2001. 45: 1064-1067.

7. Sakai E, Tokuyama Y, Nonaka F, Ohishi S, Ishikawa Y, Tanaka M, Taneno T. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in Japan: preliminary investigations. *Vet. Rec.* 2000. 147: 502 - 503.

8. van Empel PCM, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. *Avi. Patho.* 1999. 28: 217 - 227.

9. Chin RP, van Empel PCM, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection en *Diseases of Poultry* 12th Edition. Saif, Y. M. Blackwell Publishing Professional Ames, Iowa, Estados Unidos de Norteamérica 2008 p. 765 - 774.

EVIDENCIA SEROLÓGICA DE LA PRESENCIA DE *Ornithobacterium rhinotracheale* EN POLLOS PARRILLEROS EN URUGUAY

Trenchi H¹, Rodríguez G¹, Trenchi G², Giossa G¹, Suzuki k*; Petruccelli M³

- ¹. Área de Patología y Producción Avícola – Departamento de Animales de Granja. Instituto de Producción Animal – Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. Lasplaces 1550 C.P. 11600. Uruguay.
². Ejercicio Liberal de la Profesión. ³. Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Experto JICA
*Experto JICA.

RESUMEN: *Ornithobacterium rhinotracheale* fue identificado como patógeno para las aves en pavos en Alemania durante 1981. Posteriormente se lo asocia a problemas respiratorios en patos y parrilleros. En América del Sur su presencia por aislamiento o serología está reportada en Brasil (1998), Perú (1999) y Argentina (2009 enviado a publicar). El interés en demostrar la eventual presencia de anticuerpos al patógeno en nuestro medio se relaciona a importantes pérdidas económicas registradas en la producción de parrilleros en otras áreas geográficas. Se obtuvieron 1870 muestras de sangre de parrilleros con 35 días de edad que correspondían al 1% de las aves de cada lote. Se sangraron 17 granjas ubicadas en Montevideo, Canelones y Lavalleja pertenecientes a 3 diferentes integraciones. La técnica utilizada fue ELISA con kits comerciales (IDEXX). Resultaron positivos 47 sueros correspondientes a 2.52% del total. De los 17 lotes estudiados, 14 tenían aves positivas (82,35%). Se encontraron positivos en las 3 integraciones. Los resultados demuestran por primera vez evidencia serológica de la presencia de *Ornithobacterium rhinotracheale* en parrilleros en nuestro país.

Palabras Clave: *ornithobacterium*; parrilleros; serología.

SEROLOGICAL EVIDENCE OF INFECTION WITH *Ornithobacterium rhinotracheale* IN BROILERS IN URUGUAY

ABSTRACT: In Germany during 1981 *Ornithobacterium rhinotracheale* was isolated from the respiratory tracks of turkeys. Nowadays, ORT is considered a respiratory pathogen for poultry. In South America, ORT presence was determinate by serology or isolation in Brazil (1998), Peru (1999) and Argentina (2009 in press). The interest in determining the presence of antibodies against this pathogen it is related with the important economical losses in the broiler production due to respiratory diseases. 1870 blood samples were obtained from 35 days old broilers from 17 farms with 3 different origins (integrating companies) located in the cities of Montevideo, Canelones and Lavalleja corresponding to the 1% of the total broiler population of the 17 farms. The antibodies against ORT were quantified by an Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercial kits (IDEXX). 47 serum samples were positive corresponding to a 2,52 % of the total samples. Of the 17 farms in the study, 14 had positive results (82,35 %). Serological evidence was found in the 3 origins. (Integrating companies). This is the first serological evidence report of ORT in broilers in Uruguay.

Key Words: *Ornithobacterium*, broiler, serology.

Dirección para correspondencia: H. Trenchi. Área de Patología y Producción Avícola. Depto Animales de Granja. Instit. de Producción Animal. Facultad de Veterinaria, Lasplaces 1550 (11600). Uruguay
E-mail: htrenchi@itz.de

INTRODUCCIÓN

Ornithobacterium rhinotracheale es un bacilo Gram negativo inmóvil, no esporulado, no hemolítico que se desarrolla en medios sólidos conteniendo sangre de oveja (5-10%), con preferencia en condiciones de microaerofilia. Los primeros aislamientos se realizan en el norte de Alemania en 1981 en pavos con sintomatología respiratoria. Su difusión a nivel mundial es rápida (2) (3). En América del Sur fue diagnosticada en Brasil en 1998 (4), Perú 1999 (5) y Argentina 2009 (6). La sintomatología en parrilleros es respiratoria con estornudos, lacrimación y descarga nasal. A la necropsia neumonía y aerosaculitis. En estas condiciones la mortalidad relacionada a su presencia es de 1 - 2%. El propósito de esta investigación fue determinar mediante evidencia serológica la presencia de *Ornithobacterium rhinotracheale* en la población de pollos parrilleros producidos en Uruguay.

MATERIAL Y MÉTODOS

El muestreo se realizó en aves de los Departamentos de Montevideo, Canelones y Lavalleja durante los meses de octubre 2008 a abril 2009. Se obtuvieron 1.870 muestras de sangre provenientes de un total de 17 lotes de pollos parrilleros pertenecientes a tres diferentes integraciones. Correspondían al 1 % del total de la población de cada granja. En todos los casos eran explotaciones de edades únicas y tenían al momento del muestreo 35 días de edad. La sangre se obtuvo por punción cardíaca. En el laboratorio los sueros fueron congelados hasta el momento de su procesamiento. Las muestras se procesaron utilizando kits de ELISA de la firma IDEXX (Liebefeld-Berna, Suiza), los resultados se obtuvieron leyendo la densidad óptica un lector Bio-Rad modelo 550. La interpretación de los resultados se realizó con el software suministrado por IDEXX.

RESULTADOS

De los 1.870 sueros estudiados resultaron positivos 47 correspondiendo al 2,52% del total. La incidencia dentro de los lotes positivos fue desde 0,5 % al 15 %. De los 17 lotes muestreados resultaron positivos 14 es decir un 82,35 % de los mismos. Si consideramos por separado las tres integraciones a las que pertenecían las aves tenemos respectivamente: A) 1,95 %, B) 2,61 % y C) 5,0 %. Los 3 lotes donde no se registraron positivos pertenecían a la integración A.

DISCUSIÓN

Los textos de patología clásicos atribuyen la difusión de la afección a la transmisión horizontal (1). Sin embargo existe evidencia que muestra la posibilidad de su transmisión en sentido vertical (3). Otro elemento a considerar es que la vacu-

nación a germen inactivado de los reproductores protegió a su progenie hasta los 28 días de edad (3).

Tomando como referencia el hecho que la mayoría de las reproductoras de carne utilizadas en nuestro país provienen como huevo fértil desde Brasil, es interesante considerar el resultado obtenido por Canal, CW et al (7). En su publicación se muestra que el 100 % de los lotes reproductores estudiados en Río Grande do Sul resultaron positivos. La incidencia en sueros individuales fue de 94,62 %. En la República Argentina la prevalencia aparente en reproductores fue del 52% y en parrilleros del 40% (8).

En todos los casos la severidad de los síntomas y las pérdidas económicas se vinculan a la existencia de la interacción con malas condiciones de manejo o el uso de vacunas vivas (1, 3, 7, 9).

A nivel local se debería considerar el *Metapneumovirus* y a la laringotraqueítis Infecciosa como los relacionados a la afección por *O. rhinotracheale*. Existen además otros factores que diferencian las condiciones ambientales a nivel local con respecto a lo que sucede internamente: a) las formas de calefacción utilizadas y b) el manejo que se hace de la cama y los materiales empleados en ella.

El porcentaje de aves positivas resultó inferior al obtenido en las mismas condiciones en Río Grande do Sul donde lo fueron 6,52% (7) y menor a lo reportado tanto en Alemania 9,40 % (2) o Japón 13,5 % (2). No obstante, el porcentaje de lotes positivos resultó más elevado si lo comparamos con los datos brasileños donde lo fueron el 63,35 % de los mismos (7).

La investigación muestra sin lugar a dudas la presencia de anticuerpos generados en respuesta a *Ornithobacterium rhinotracheale* en la industria productora de carne de ave de nuestro país. No existe información previa a nivel nacional relacionada a la determinación de serología positiva o aislamiento de *O. rhinotracheale*.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) en el marco del Proyecto PROVETSUR.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chin RP, van Empel PCM, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection in Diseases of Poultry 12th Edition. Saif, Y. M. Blackwell Publishing Professional Ames, Iowa, Estados Unidos de Norteamérica 2008. p. 765 - 774.
2. Sakai E, Tokuyama Y, Nonaka F, Ohishi S, Ishikawa Y, Tanaka M, Taneno T. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in Japan: preliminary investigations Vet. Rec. 2000.147: 502 - 503.
3. van Empel PCM, Hafez HM. *Ornithobacterium rhi-*

notracheale: a review. 1999. *Avi. Patho.* 28: 217 – 227.

4. Arns CW, Hafez HM, Yano T, Monteiro MCG, Alves MC, Domingues HG, Coswing LT. *Ornithobacterium rhinotracheale*; Detecção Sorológica em Aves Matrizes e Frangos de Corte. Proc Conferencia Apinco Campinas, Brazil 1998, p. 55.

5. Koga Y, Silvera M, Alvarado A. Estudio sobre Procesos Respiratorios Relacionados con *Ornithobacterium Rhinotracheale* en Aves Comerciales en el Perú. XVI Congreso Latinoamericano de Avicultura. Lima, Perú 21 – 24 de Setiembre de 1999 p. 274 – 277.

6. Uriarte J, Piscopo M, Origlia J, Gornatti D, Cerda R, Herrero M, Petruccelli M. Primer aislamiento de *Ornithobacterium rhinotracheale* en Argentina. Aceptado para su publicación, *Analecta Veterinaria*.

7. Canal CW, Leao JA, Ferreira DJ, Macagnan M, Pippi CT, Back A. Prevalence of Antibodies Against *Ornithobacterium rhinotracheale* in Broilers and Breeders in Southern Brazil *Avian Dis* 2003.1 47:731 – 737.

8. Uriarte J, Corva S, Gornatti D, Origlia J, Piscopo M, Cerda R, Herrero M, Marcantoni H, Unzaga MF, Marino F, Spinsantti E, Pecoraro M, Petruccelli M. Evidencia serológica de infección en aves comerciales por *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) en las provincias de Buenos Aires y Entre Rios (Argentina). Enviado a *Analecta Veterinaria* 2009.

9. Van Veen L, Gruys E, Frik K, Van Empel P. Increased Condemnation of Broiler Associated with *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Vet. Rec.* 2000. 147: 422 – 423.

RELEVAMIENTO POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN SEMEN CONGELADO DE ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN EN BOVINOS EN URUGUAY

Alzugaray MF¹, Suzuki K², Acevedo C¹, Satragno D¹, González G¹, Guarino H¹, Bermúdez J¹, Echeverría MG³

¹UDELAR, Departamento de Ciencias Microbiológicas – Instituto de Patobiología – Facultad de Veterinaria, Lasplaces 1550 C.P. 11600, Montevideo, Uruguay.

²Experto JICA PROVETSUR, Universidad de la Plata- Facultad de Ciencias Veterinarias

³Universidad Nacional de La Plata e Investigador del CONICET
Cátedra de Virología- Facultad de Ciencias Veterinarias.

Resumen: Las enfermedades reproductivas son una de las principales causas de los bajos índices de procreo en Uruguay. El diagnóstico de estas enfermedades se lleva a cabo por diversas técnicas de laboratorio; la mayoría de las cuales no permiten la diferenciación de las distintas subespecies de cada microorganismo, hecho que si se puede determinar por medio de la técnica de PCR. En este estudio se intentó determinar la presencia de genomas de: *Diarrea Viral Bovina*, *Herpesvirus bovino tipos 1 y 5*, *Campylobacter fetus fetus* y *fetus venereal* y *Tritrichomonas foetus foetus*. Para ello, 100 pajuelas de semen de bovinos de distintas razas fueron procesadas mediante PCR utilizando "primers" específicos para cada una de las enfermedades en estudio. Todas las muestras analizadas resultaron negativas a la detección de genomas de los agentes mencionados. Esta investigación permitió comprobar el buen nivel de los centros de reproducción evaluados, repercutiendo favorablemente en la sanidad del rodeo nacional. Así mismo, el chequeo de pajuelas de semen por medio de la técnica de PCR demostró ser una herramienta necesaria que debería ser utilizada de rutina ya que permite un rápido y eficiente diagnóstico.

Palabras Clave: bovino – diagnóstico - técnicas moleculares.

SURVEY OF DISEASES AFFECTING REPRODUCTION IN FREEZE BOVINE SEMEN USING THE POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

ABSTRACT: Reproductive diseases are a major cause of low calving rates nationwide. The diagnosis of these diseases is performed by various laboratory techniques, most of them do not allow differentiation in different subspecies of each organism, a fact that it can be determined by PCR. This study attempted to determine the presence of genome of bovine viral diarrhea, bovine herpesvirus types 1 and 5, *Campylobacter fetus fetus* and *fetus venereal* and *Tritrichomonas foetus foetus*. One hundred bovine semen straws were collected and PCR technique using specific primers for each of the diseases studied were applied. All samples were negative for the detection of genomes of the pathogens mentioned. This investigation allowed to check the proper level of insemination centers evaluated, impacting positively on the health of the national herd. Likewise, the screening of bovine semen straws by PCR proved to be a necessary tool that would be used routinely for quick and efficient diagnosis.

Key Words: bovine – diagnostics - molecular techniques.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas a encarar en el control de las afecciones reproductivas del ganado bovino lo constituyen las enfermedades infecciosas transmitidas por el semen. Dentro de estas se incluyen varios agentes etiológicos destacándose virus, bacterias y protozoarios. Entre las enfermedades virales de mayor prevalencia en el Uruguay se encuentran el virus de Diarrea viral bovina (DVB) y el Herpesvirus Bovino tipo 1 (BoHV-1) (1, 2, 3). La DVB ocasiona aborto, reabsorción embrionaria, repetición de celo o infertilidad en hembras, terneros con defectos teratogénicos y machos persistentemente infectados (PI). Su agente etiológico pertenece a la familia *Flaviviridae*, y presenta desde el punto de vista de su comportamiento *in vitro*, cepas citopáticas como no citopáticas (4). El BoHV-1 infecta tanto el tracto respiratorio como el genital, causando diversos trastornos reproductivos. En terneros jóvenes puede causar encefalitis, aunque el agente causal de esta enfermedad está clasificado actualmente como Herpesvirus bovino 5 (BoHV-5) (5). Dentro de las principales enfermedades bacterianas, se encuentra la Campylobacteriosis genital bovina, que se caracteriza por ocasionar infertilidad, repetición de celo y abortos. El agente etiológico es *Campylobacter fetus* con 2 subespecies: *venerealis* y *fetus* (6). La Tricomoniasis genital bovina produce repetición de celo, infertilidad, piómetra y aborto ocasional. Su agente causal es un protozoario flagelado llamado *Tritrichomona foetus* (7). La prevalencia de Campylobacteriosis en toros en Uruguay, determinada por Inmunofluorescencia de raspajes prepuciales, es del orden del 28%, mientras que la Tricomoniasis genital en estas últimas décadas no ha sido detectada (5). Si bien estas enfermedades son de transmisión venérea, y aunque la proporción de establecimientos que utilizan la inseminación artificial es baja, su uso constituye un medio muy importante para su difusión. Las limitaciones del aislamiento de estos agentes infecciosos a partir del semen pueden ser superadas con el empleo de técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que ha demostrado ser altamente sensible y específica en el estudio de genomas de diversos microorganismos (8, 9, 10). El objetivo de este estudio fue evaluar la condición sanitaria del semen bovino congelado de origen uruguayo que se comercializa en nuestro país por medio de la técnica de PCR.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTRAS Y SEPARACIÓN DE FRACCIONES SEMINALES:

Se analizaron 100 pajuelas de semen de distintas partidas, pertenecientes a 35 toros na-

cionales de razas predominantes a nivel nacional (63 Holando, 22 Hereford, 9 Aberdeen Angus, 3 Limousin y 3 Brangus) de distintos centros de reproducción del país, concentrados en 5 establecimientos que congelan semen. El fluido seminal se separó en tres partes mediante centrifugación (7000 g 10 min): 500 µl de plasma para la obtención de ARN, 500 µl de plasma para la obtención de ADN y el pellet celular para extracción de ADN de células totales.

EXTRACCIÓN DE ARN PARA DVB:

El ARN total fue obtenido mediante el reactivo de TRIzol® (Invitrogen). Para ello, 500 µl de plasma seminal se mezclaron y agitaron durante 10 min con 500 µl de TRIzol® y 220 µl de cloroformo. Posteriormente a ser centrifugado a 12000 g por 10 min, la fase acuosa superior (650 µl) fue precipitada con 750 µl de isopropanol a -20° C, se centrifugó a 12000 g por 10 min, se secó a 37 °C por 10 min y se resuspendió con agua libre de nucleasas (40 µl).

TRANSCRIPCIÓN REVERSA:

Para el primer paso de síntesis de ADN copia se incubaron 5 min a 70°C, 5 µl de ARN, 1 µl de Random Primers® (Biodynamics) y 9 µl de agua libre de nucleasas. Luego se realizó la segunda etapa, agregándose a la mezcla anterior 5 µl Buffer MMLV (Promega), 1 µl de dNTPs, 1 µl RNasin (Promega), 1 µl MMLV transcriptasa reversa (Promega) y 2 µl de agua libre de nucleasas (total 25 µl), incubándose a 37 °C una hora para permitir la síntesis del ADN copia.

EXTRACCIÓN DE ADN:

Se realizó la extracción de ADN de plasma seminal para BoHV siguiendo el protocolo de extracción destinado a sangre entera de Wizard® Genomic DNA Purification Kit, mientras que para *Campylobacter fetus* y *Tritrichomona foetus foetus* se utilizó el pellet seminal siguiendo el protocolo para bacterias Gram negativas del kit anteriormente citado.

PRIMERS:

Para DVB las secuencias fueron: 324F 5'ATGCCCTTAGTAGGACTAGCA3' y 326R 5'TCAACTCCATGTGCCATGTAC 3' (GenBank FM 161986) produciendo un producto de PCR de 252 pb. Para el caso de BoHV se utilizaron dos pares de cebadores que amplifican una porción genómica de 183 pb del gen TK de BoHV-1 y de 564 pb del gen de la gD del BoHV-5 [11]. Se utilizaron cebadores específicos para *Campylobacter fetus fetus* (producto de 960 pb) y *Campylobacter fetus venerealis* (producto de 142 pb) de acuerdo con Hum y col. (9). Para el caso de *Tritrichomona*

foetus foetus las secuencias utilizadas fueron las utilizadas por Felleisen y col. (10) dando un producto de 347 pb.

REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR):

Todas las reacciones se realizaron en un volumen final de 25 µl de los cuales la mitad consistió en 2xPCR Master Mix (Promega) y 1 µl de cada molde, ADN o ARN. De acuerdo a la concentración de los primers utilizada, se varió el volumen de agua libre de nucleasas. Para DVB se adicionaron 0,125 µl de cada primer y las condiciones de ciclado consistieron en 35 ciclos de 94 °C por 30 seg, 55 °C por 30 seg y 72 °C por 1 min. Para el caso de BoHV-1 la mezcla de reacción contuvo 0,25 µl de cada primer, mientras que para BoHV-5 se utilizó 1 µl de cada primer. Las condiciones de ciclado fueron 35 ciclos de 95 °C por 1 min, 56 °C por 1 min y 72 °C por 1 min. Para *Campylobacter fetus fetus* se utilizaron 0,25 µl de cada primer y para *Campylobacter fetus venerealis* 0,125 µl. El ciclado fue común a ambas subespecies de 35 ciclos de 95 °C por 30 seg, 50 °C por 30 seg y 72 °C por 2 min. Para *Tritrichomona foetus foetus* se utilizaron 0,125 µl de cada primer y las condiciones de ciclado fueron 35 ciclos de 95 °C por 30 seg, 60 °C por 30 seg y

72 °C por 1 min. En todos los casos, se realizó un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C 10 min y un ciclo final de extensión a 72 °C 5 min en un termociclador Corbett Research, Modelo Palm-Cycler®. Los productos de amplificación (8 µl) fueron sembrados en geles de agarosa con buffer TBE 0,5 x (0,045 M Tris-borato y 0,001M EDTA [pH 8]), al 1,5, 2 o 2,5 % de acuerdo al tamaño de producto esperado y fueron visualizados en transiluminador con luz ultravioleta después de ser teñidos por 10 minutos en 0,5 µg/ml de bromuro de etidio. Para validar cada una de las PCR, se utilizaron cepas controles.

RESULTADOS

Todas las muestras recibidas y analizadas resultaron negativas para la detección de los agentes estudiados. En todos los casos se obtuvieron resultados positivos con las cepas controles, lo cual valida las técnicas realizadas (Figura 1).

DISCUSIÓN

Los diagnósticos realizados no arrojaron resultados positivos para los agentes estudiados. Sin embargo, estudios llevados a cabo en Uruguay por Guarino y col. (12) detectaron sobre un total de 204 muestras de semen congelado, 4

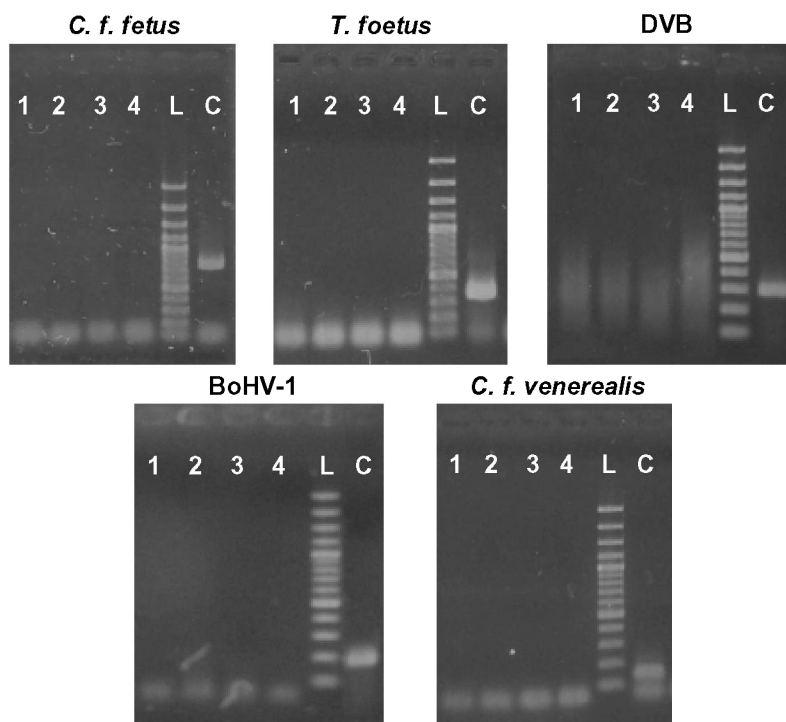


Figura 1: Amplificación por PCR para *C. f. fetus*, *T. foetus*, DVB, BoHV-1 y *C. f. venerealis*. Filas 1 a 4: muestras de semen (todas negativas); L: Marcador de 100 pb; Filas C: control positivo para cada uno de los agentes mencionados (aproximadamente 960, 347, 252, 183 y 142 pb respectivamente)

Figure 1: PCR amplification of *C. f. fetus*, *T. foetus*, DVB, BoHV-1 y *C. f. Venerealis* genomes. Files 1-4: negative semen samples; L: 100 bp ladder; File C: positive control of each pathogen (960, 347, 252, 183 and 142 bp respectively)

muestras positivas a DVB (1,9 %), 11 a BoHV-1 (5,3 %) y 11 a *Campylobacter fetus fetus* (5,3 %). Como hemos mencionado anteriormente, la presencia de BoHV constituye un riesgo ya que el animal portador de virus latente puede excretar el mismo luego de un periodo de inmunosupresión. Consideramos que este hecho fue subsanado al obtener varias muestras del mismo animal con intervalos de tiempo cortos. Por medio de la técnica de PCR es posible evaluar diferentes partidas de semen y así asegurar el uso de aquellas libre de virus detectando al portador. En el caso de DVB, se puede detectar el virus en animales PI, no identificables serológicamente. Con esta técnica se logra la detección en forma sencilla y prematura del virus. Para el caso de *Campylobacter* y *Tritrichomonas*, la mayor ventaja de la PCR es que detecta al agente en partidas de semen congeladas donde no se dispone del toro para realizar raspajes prepuciales. Es importante destacar que en el caso de nuestro estudio los centros que colaboraron son de reconocida trayectoria nacional y demostraron eficiencia al momento de enviar las muestras en condiciones adecuadas, así como en el trabajo diario con los animales. Asimismo, las razas procesadas son de importancia ya que se trata de las razas más representativas en nuestro país, permitiendo evaluar la calidad de semen que es comercializada tanto a establecimientos de leche como de carne, a pesar que solo 6 % de los establecimientos uruguayos utilizan inseminación artificial (5).

Se logró demostrar que el análisis de semen por la técnica de PCR es rápido y sensible, permitiendo certificar la condición de libre de los principales agentes infecciosos, y de esta manera se puede controlar la diseminación de los mismos en el rodeo. El uso de semen sin chequeo previo trae aparejado un importante riesgo de fracaso en el intento de mejoramiento genético uruguayo.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio contó con el apoyo económico de JICA (Agencia Internacional de Cooperación del Japón). Un especial agradecimiento a Dr. Alejandro Valera por la lectura crítica del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mederos A, Hirigoyen D. Relevamiento epidemiológico de Diarrea Viral Bovina, Rinotraqueítis Infecciosa Bovina y Leucosis bovina en predios lecheros del noreste de Uruguay. XXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú, 1998; 18- 29 junio, pág. 19-20.
2. Saizar J. Estudio serológico de la Diarrea Viral Bovina en bovinos del Uruguay. Veterinaria 1998; 34: 9-14.
3. Saizar J. Determinación de la prevalencia de la Rinotraqueítis Infecciosa bovina en rodeos de leche y carne en Uruguay. Veterinaria 1997; 33: 3-6.
4. Brownlie J, Clarke MC, Howard CJ. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea viruses infection of cattle. Ann Resh Vet 1987; 18: 157-166.
5. Repiso M, Gil A, Bañales P, D'Anatro N, Fernández L, Guarino H, Herrera B, Núñez A, Silva M, Olivera M, Osawa T, Silva M. Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas que afectan el comportamiento reproductivo en la ganadería de carne y caracterización de los establecimientos de cría del Uruguay. INIA 2001; 13: 1- 43.
6. Berg RL, Jutila JW, Firehammer BD. A revised classification of *Vibrio fetus*. Am J Vet Res (1971). 32: 11-22.
7. Anderson M. Diagnóstico de causas infecciosas en aborto bovino. XXXII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú 2004; 10-12 junio, pág. 159-163.
8. Rocha M, Barboza E, Guimaraes S, Dias Neto E, Gouveia A. A high sensitivity Nested PCR assay for BHV-1 detection in semen of naturally infected bulls. Vet Microbiol 1998; 63:1-11.
9. Hum S, Quinn K, Brunner J, On SL. Evaluation of a PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter fetus subspecies*. Aust Vet J 1997; 75: 827- 831.
10. Felleisen RS, Lambelet N, Bachmann P, Nicolet J, Muller N, Gottstein B. Detection of *Tritrichomonas fetus* by PCR and DNA enzyme immunoassay based on rRNA gene unit sequences. J. Clin Microbiol 1998; 36: 513-519.
11. Alegre M, Nanni M, Fondevila N. Development of a Multiplex Polymerase Chain Reaction for the Differentiation of Bovine Herpesvirus-1 and 5. J Vet Med B 2001; 48: 613- 621.
12. Guarino H, D'Anatro N, Bañales P, Fernández L, González G, Bailón M. Control de la calidad sanitaria y biológica del semen bovino congelado. XXXII Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú 2004; 10-12 junio, pág. 214- 216.

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA ALGUNAS ENFERMEDADES ABORTIGÉNICAS EN VACUNOS DE LECHE DEL URUGUAY

Satragno D¹, Galosi CM^{4,5}, Alzugaray MF², Suzuki K⁶, de Torre E³, Guarino H², Freyre A¹

Departamentos de ¹Parasitología, ²Ciencias Microbiológicas y ³Campo Experimental N° 2, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (UDELAR), Uruguay;

⁴Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina;

⁵Comisión de Investigaciones Científicas de la Pcia de Bs As, Argentina;

⁶Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA);

Investigación promovida y financiada por la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA)

RESUMEN: Se analizaron anticuerpos contra el virus de la diarrea viral bovina y de la rino-traqueítis infecciosa bovina, *Neospora caninum* y *Chlamydia abortus*, en vacunos de 9 tambos del Departamento de San José, Uruguay, mediante equipos comerciales de ELISA. La prevalencia de anticuerpos específicos fue de 76 y 65,3 % para 1080 sueros examinados para las infecciones virales respectivamente, 29,3% para neosporosis, y 10,22 % para 420 sueros examinados para clamidiosis. La comparación de las prevalencias de la infección a *N. caninum* entre las terneras y las vacas, permitió asumir que la principal vía de infección en este caso, fue la vertical.

Palabras clave: enfermedades abortigenas, bovinos, Uruguay.

PREVALENCE OF ANTIBODIES AGAINST SOME ABORTIFACIENT INFECTIONS OF DAIRY CATTLE IN URUGUAY

ABSTRACT: Sera from milking cows from 9 dairy farms from the county of San José, Uruguay, were tested with a commercial ELISA test for determination of antibodies against bovine viral diarrhea, bovine rhinotracheitis, neosporosis and chlamydiosis. The prevalence of specific antibodies was 76 and 65,3 % for 1080 sera examined for the viral infections respectively, 29.3% for neosporosis and 10.23% for 420 sera examined for chlamydiosis. Comparison of the prevalence of *Neospora* infection between heifers and cows, allowed to assume that the main route of transmission was vertical.

Key words: abortifacient infections, dairy cattle, Uruguay

INTRODUCCION

Dentro de las enfermedades que afectan la producción bovina en el Uruguay se encuentran principalmente la diarrea viral bovina (DVB), la rinotraqueítis infecciosa bovina-aborto bovino (IBR-AB), la clamidiosis a *Chlamydothyla abortus* y la neosporosis a *Neospora caninum*.

La DVB y la IBR causan grandes pérdidas económicas y representan un grave problema a nivel mundial tanto en ganado de carne como en ganado lechero. Desde el punto de vista reproductivo estos virus pueden producir abortos, muerte embrionaria y neonatal como así también producen pérdida de peso y disminución en la producción láctea.

El virus de la DVB, pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Pestivirus* y la principal característica de este virus es su variabilidad genética y antigénica. Las consecuencias de esta diversidad se reflejan en el espectro de manifestaciones clínicas y lesiones (1), dificultando además su diagnóstico y limitando la protección brindada por el empleo de vacunas. Según sus efectos en los cultivos celulares, los *Pestivirus* se dividen en biotipos citopáticos (CP) y no citopáticos (NCP). Los virus CP ocasionan vacuolización y muerte de la célula, los virus NCP no producen cambios visibles en el cultivo celular. Esto no significa que los biotipos NCP sean no patogénicos, por el contrario, es el biotipo predominante en la naturaleza y aislado de la mayoría de las formas clínicas como así también es el único capaz de originar infección persistente. El biotipo CP es aislado solamente de animales con enfermedad de las mucosas y se origina por mutación a partir del biotipo NCP. No existe una clasificación del virus de la DVB basada en la serotipificación y estudios de neutralización entre distintas cepas demuestran que pertenecen a un grupo serológicamente relacionado, dentro del cual hay un espectro antigénico con reacción cruzada, sin suficientes diferencias antigénicas para clasificarlos en serotipos (2).

El agente causal de la IBR-AB es el Herpesvirus bovino tipo 1.1 (BoHV-1.1) perteneciente a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alphaherpesvirinae*, género *Varicelovirus*. Como todos los herpesvirus se caracteriza por establecer infecciones latentes luego de la primoinfección y ante situaciones de estrés como el transporte, el parto y tratamientos con glucocorticoides el virus puede ser reactivado y excretado produciendo nuevas manifestaciones clínicas o subclínicas (3). En el Uruguay el BoHV fue aislado por primera vez en 1981, en el año 1999 el subtipo 1.1 fue aislado de un ternero con sintomatología nerviosa y en 2002 y 2004 se aislaron otras dos cepas caracterizadas como subtipo 1.2 (4).

Tanto el virus de la DVB como el de la IBR-AB se encuentran circulando en el Uruguay, y en

estudios previos se observó que el 69% y el 37% del ganado de carne del Uruguay estuvo expuesto al virus de la DVB y al virus de la IBR-AB aunque los porcentajes variaron en cada establecimiento en particular. La vacunación no es obligatoria y el tipo de vacuna (simple o combinada) a utilizar y el plan de vacunación depende de la decisión de cada establecimiento. Sólo el 3% del ganado de carne en Uruguay periódicamente (por lo general, anualmente) usa vacunas contra cualquiera de estos agentes (1).

La *Chlamydothyla abortus* serovar 1 ha sido descrita en muchos países del mundo como causante del aborto epizootico bovino. La vía de transmisión puede ser vertical u horizontal; los animales pueden infectarse en cualquier época del año y a cualquier edad. Los síntomas clínicos en hembras son el aborto en el último mes de la gestación y repetición del celo, aumento del intervalo parto-concepción y del número de servicios o de inseminaciones. En el Uruguay, una primera determinación de anticuerpos (Ac) en tambos, emitió una prevalencia de 28 % (5).

La neosporosis está causada por *Neospora caninum*, protozooario del *Phyllum Apicomplexa*, Familia *Sarcocystidae*, similar a *Toxoplasma gondii* pero inmunológicamente diferente. Se ha vinculado la neosporosis con importantes pérdidas por abortos en bovinos en varios países del mundo (6). En el Uruguay, Cobo y col. (7) comunicaron la observación de quistes en el cerebro de un feto Holando abortado, de características compatibles con *N. caninum* por el espesor de su membrana. En 1999, se diagnosticó la enfermedad por inmunohistoquímica y ELISA tanto en caninos como en bovinos (8). En el año 2004, Kashiwazaki y col. (9) indagaron en vacunos una epizootia de neosporosis, y posteriormente en el año 2006 Piaggio y col. (10), determinaron una prevalencia de 22% en ganado de leche. En el mismo año, Bañales y col. detectaron un prevalencia de 13,3 % en bovinos de carne por medio de la técnica de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) (11).

Debido a los antecedentes expuestos sobre la circulación de estos agentes en el Uruguay, el objetivo del presente trabajo consistió en actualizar la información preexistente concerniente a la prevalencia de Ac contra las enfermedades infecciosas causantes de trastornos reproductivos en vacunos de leche.

MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron doce establecimientos lecheros del departamento de San José. De cada establecimiento se obtuvieron muestras de sangre de terneras y de vacas. Se extrajo un total de 1080 muestras de vacunos con *status sanitario* desconocido. Las 1080 muestras fueron analizadas para determinación de Ac contra DVB e

IBR-AB, 420 muestras fueron analizadas para detección de Ac contra *Chlamydophila abortus* y 618 lo fueron para *N. caninum*.

Para todas las enfermedades se utilizaron equipos comerciales de ELISA, de laboratorios IDEXX®, Maine USA (gentileza de la Agencia de Cooperación Internacional del Japón) y se siguieron los protocolos establecidos para cada caso. Los resultados fueron procesados utilizando un lector de ELISA marca Labsystems Multiskan (AIE-USA).

RESULTADOS

El porcentaje de animales seropositivos para DVB osciló entre 57 y 97 % dependiendo del establecimiento, con un promedio de 76 %. Para IBR, los valores oscilaron entre 36,4 % y 100 % con un promedio de 65,3 % de animales seropositivos. Para *Chlamydophila abortus* los resultados oscilaron entre 7,7% y 14,6 %, con un promedio de 10,23%. Para el caso de *Neospora caninum* los valores hallados se situaron entre 13,8% y 60% para terneras (promedio 28,4 %), y 20,7 % y 75,1 % para vacas (promedio 29,7 %).

DISCUSION

Los resultados obtenidos en este estudio para ganado lechero, del 57 al 97 % y del 34 al 100 % de prevalencia de Ac para DVB e IBR-AB respectivamente (dependiendo de los establecimientos), son coincidentes en lo que a IBR se refiere, con aquellos obtenidos por Repiso y col. (2005) (1), quienes determinaron prevalencias de 100% para DVB y de 99,1% para IBR-AB en ganado de carne por el método de ELISA. La alta prevalencia de Ac para ambas virosis es coincidente con los valores hallados a nivel mundial y teniendo en cuenta que son virus que producen infecciones de tipo latente y persistente y debido el escaso uso de vacunas contra IBR-AB y virus de la DVB, se concluye que existe una continua recirculación de estos agentes entre la población bovina y que los Ac detectados son debidos a exposición natural del virus.

Para el caso de *Chlamydophila abortus*, en el presente estudio se obtuvo una prevalencia promedio de 10,23 % mientras que un trabajo previo (5) se obtuvo una prevalencia de 28 %. Dado que no se especifica la edad de las hembras bovinas en este último estudio, se presume que la diferencia de prevalencias halladas pudo deberse a la inclusión de más terneras en el estudio que aquí se presenta, dado que los equipos de diagnóstico utilizados fueron los mismos. Ambos estudios realizados constituyen las primeras determinaciones de Ac contra un agente hasta el momento declarado como exótico en el Uruguay.

Para *Neospora caninum*, se obtuvo 29.3 % de prevalencia global, considerablemente similar

a los valores anteriormente citados a nivel nacional y por estudios realizados en el año 2006 para establecimientos con infección endémica (10, 11). La comparación entre las prevalencias de las terneras y las vacas arroja guarismos muy similares en todos los establecimientos, con excepción de dos establecimientos, en los cuales la infección fue considerablemente más frecuente en las vacas que en las terneras. Ello permitiría suponer razonablemente, que en los establecimientos estudiados se ha verificado la transmisión vertical. De haber ocurrido la infección directa a través de la participación de los perros como eliminadores de ooquistes de *Neospora*, existiría una distancia apreciable entre las prevalencias de las categorías jóvenes y los animales adultos. En otros dos establecimientos, la infección fue menos prevalente en vacas que en terneras, pudiendo haber existido compraventa de animales. Como medidas de control se sugiere realizar el refugio de los animales que presenten aborto a *Neospora* (12). En efecto el aborto neosporósico puede tener carácter repetitivo, y además no es posible en la práctica la esterilización parasitológica de los animales infectados.

Se concluye que por los guarismos obtenidos en la detección de Ac contra estos agentes ameritan la profundización de estas investigaciones y analizar cada establecimiento en forma individual.

AGRADECIMIENTOS

A la Agencia de Cooperación Internacional del Japón por el aporte de los equipos de diagnóstico. A los Dres María G Echeverría y Gabriel Travería por la colaboración brindada para el desarrollo de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Repiso M, Gil A, Bañales P, D'Anatro N, Fernandez L, Guarino H, Herrera B, Nuñez A, Olivera M, Osawa T, Silva M. Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas que afectan el comportamiento reproductivo en la ganadería de carne y caracterización de los establecimientos de cría del Uruguay. Veterinaria, (Montevideo), 2005, 40:5-28.
2. Bolin SR, Ridpath JF.. The clinical significance of genetic variation among bovine viral diarrhoea viruses. Vet. Med. 1996, 91:958-961.
3. Tikoo S, Campos M, Babiuk L. Bovine herpesvirus 1 (BHV-1): biology, pathogenesis and control. Adv. Virus Res. 1995, 45: 191-223.
4. Puentes R, Alonzo P, Benavides U, Silva AD, Esteves PA, Roehe PM, Maisonnave J. Primer aislamiento de Herpesvirus bovino 1 subtipo 2 (BoHV - 1.2) en Uruguay. Veterinaria, 2007, 42: 9-14.
5. Cattáneo M, Puente R, Furtado A, Rosadilla D, Travería G, Galosi C, Moreno J, Marmo F, Bermudez J. Primer diagnóstico serológico de *Chlamydophila abortus* en vacas lecheras del Uruguay. XXXVII Jornadas

Uruguayas de Buiatría. 2009, 173-174.

6. Anderson ML, Blanchard PC, Barr BC, Dubey JP, Hoffman RL, Conrad PA. Neospora like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. JAVMA, 1991, 198:241-244.

7. Cobo A, Pacheco J, Freyre A, Gurgitano J. Primer Diagnóstico de Aborto Bovino Asociado a *Neospora Caninum* en Uruguay. Prácticas Vet., 1999, 2:5-6.

8. Bañales P, Easton C, Haritiani M, Kashiwazaki Y, Paullier C, Pizzorno M. Aborto bovino por *Neospora caninum* en el Uruguay: Primeros diagnósticos Veterinaria (Uruguay), 1998, 34:28-32.

9. Kashiwazaki Y, Gianneechini RE, Lust M, Gil J. Seroepidemiology of neosporosis in dairy cattle in Uruguay. Vet Parasitol., 2004, 120:139-144.

10. Piaggio J. Estudio Transversal de Neosporosis en la principal cuenca lechera del Uruguay. Tesis de Maestría, Facultad de Veterinaria-UDELAR, 2006, 45-47

11. Bañales P, Fernandez L, Repiso M, Gil A, Dargatz D, Osawa T. A nationwide survey on seroprevalence of *Neospora caninum* infection in beef cattle in Uruguay. Vet. Parasitol., 2006, 139:15-20.

12. Thurmond M. Strategies to Control Neospora Infection in Cattle. The Bov. Pract., 1995, (29),60-63.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

La revista ANALECTA VETERINARIA es una publicación semestral de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos científicos en el campo de las Ciencias Veterinarias, generados en esta Unidad Académica y en otras instituciones. Asimismo, reflejará las actividades académicas de postgrado, de extensión y de educación a distancia que se desarrollan en esta Casa de Estudio. El idioma oficial es el español aunque se aceptarán trabajos en inglés que seguirán el mismo esquema detallado más abajo.

ANALECTA VETERINARIA seguirá los "Requerimientos uniformes" para la presentación de manuscritos en revistas biomédicas según la quinta edición de 1997 (*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirement for manuscript submitted to biomedical Journals. N Engl J Med 1997; 336:309-15*). Puede obtener el original en Inglés en: <http://www.icmje.org/index.html>. Una traducción de estos requerimientos pueden ser recuperada en INTERNET en la dirección electrónica:

<http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta.html>

ANALECTA VETERINARIA puede ser recuperada gratuitamente en INTERNET en formato pdf (Adobe Acrobat Reader®) que permite su impresión tal como aparece en la copia final incluyendo gráficos y tablas. La misma se encuentra en la dirección electrónica <http://www.fcv.unlp.edu.ar>. La revista consta de las siguientes secciones:

I.-Trabajos de investigación, II.-Artículos de revisión, III.-Comunicaciones breves IV-Información institucional y V. Cartas al editor.

Normas generales de redacción

Los manuscritos deberán ser enviados para su publicación al Comité editorial en idioma español o inglés. Deberán enviarse por triplicado en hoja tamaño A4 (210 x 297 mm), numeradas correlativamente y escritas a doble espacio, simple faz, con un margen de 4 cm a la izquierda y no menor de 2 cm en el derecho. Deberá enviarse además una copia en archivo electrónico (MS-Word 2000®) que pueden enviarse vía mail; dos de las copias no deberán contener el nombre de los autores ni su filiación científica. Los autores deben retener una copia de todo el material enviado inclusive fotografías ya que no se aceptará responsabilidad por daño o pérdida de trabajos.

Las fotografías en blanco y negro podrán ser incluidas en número no mayor a 3 por artículo. Otras inclusiones de fotografías en blanco y negro o en color tendrán un cargo extra y estarán a cargo de los autores. Las versiones electrónica y en CD-ROM de la revista podrán contener fotografías color sin costo para los autores. La inclusión de fotografías color en el material impreso deberá ser expresamente solicitado al editor. El material enviado estará listo para su reproducción, deberán además enviarse fotografías o gráficos en formato TIF, CRD o JPG.

No son aceptables aquellos gráficos, esquemas, fotografía, tabla de excel o similares "incrustados" en el archivo de texto (word) o en planillas de cálculo (excel).

El costo de cada artículo será de \$ 50 (o 50 U\$S si el lugar de trabajo del primer principal proviene del exterior) hasta 5 hojas (publicadas) y \$ 10 por cada hoja adicional que deberá ser abonado por los autores indefectiblemente antes de su publicación.

Las unidades de medida se expresarán siguiendo las normas del Sistema Internacional de Unidades. El material enviado será analizado para su publicación por el Comité Editorial, el que lo someterá a consideraciones del referato externo. El Comité Editorial informará al autor del trabajo de las correcciones y/o recomendaciones sugeridas por el evaluador y determinará en función de ello la aceptación o rechazo del mismo. Si hubiere correcciones, las mismas deberán ser efectuadas por los autores en un plazo máximo de 6 meses, caso contrario se considerará el trabajo como "rechazado". Se deja constancia que el hecho de recibir un trabajo no conlleva la obligación de su publicación por parte de ANALECTA VETERINARIA. Una vez aceptado el trabajo se enviará a los autores la "prueba de galera" para su corrección, la que deberá ser devuelta en un plazo no mayor de 15 días. La falta de respuesta luego del plazo estipulado se entenderá como una aceptación de la misma. El envío de un trabajo a ANALECTA VETERINARIA deberá realizarse con el consentimiento de todos los autores. En todos los casos se tomará como fecha de remisión la del timbre postal correspondiente.

La falta de cumplimiento de cualquiera de las normas implica la devolución del trabajo para su adecuación. La Facultad no se hace solidaria con las opiniones vertidas en los trabajos, siendo los autores los únicos responsables. Tampoco se hace responsable ni respalda la publicidad incluida en la revista.

Normas particulares de redacción:

I. Trabajos de investigación:

No deberán exceder de 30 páginas, incluyendo 25 citas bibliográficas. Deberán ser inéditos y estarán organizados de la siguiente manera.

a) Título: será breve, preciso y reflejará el contenido del trabajo. A renglón seguido se indicará el nombre y apellido (s) del autor, acompañados de sus grados académicos más importantes, separando los autores por una coma. A renglón seguido se señalará el nombre de la institución, cátedra o laboratorio a la que pertenece, así como su dirección postal, número de fax, y dirección electrónica si la posee. Cuando haya más de un autor que pertenezca a diferentes instituciones, cátedras o laboratorios, las mismas serán identificadas con un número arábigo superíndice, después del apellido. Agregar un título resumido de un máximo de 40 caracteres (considerar espacios y símbolos como caracteres).

b) Resumen: será redactado en castellano y en inglés (abstract) incluyendo además en este último caso el título en idioma inglés. El resumen deberá sintetizar los objetivos principales del trabajo, la metodología empleada, los resultados más sobresalientes y las conclusiones que se hayan obtenido. No

superará tanto en español como en inglés las 200 palabras.
c) Palabras clave: al finalizar el resumen y el "abstract" en renglón aparte, deberán consignarse palabras clave, cinco como máximo, colocándolas bajo el título Palabras clave o "Key Words" según corresponda.

d) Introducción: se señalarán los antecedentes sobre el tema, citando la bibliografía más relevante y especificando claramente los objetivos y el fundamento del trabajo.

e) Materiales y Métodos: toda técnica nueva deberá detallarse para facilitar su comprensión. Se evitará pormenorizar sobre métodos ya experimentados, citándose los materiales utilizados en la realización del trabajo. En los casos en que el diseño experimental requiera una evaluación estadística, se indicará el método empleado.

f) Resultados: se presentarán en forma clara, ordenada y breve.

g) Discusión: incluirá la evaluación y la comparación de los resultados obtenidos con los de otros autores, indicando las referencias bibliográficas correspondientes. Las conclusiones deberán sustentarse en los resultados hallados, evitando todo concepto vago o condicional.

h) Agradecimientos: colaboraciones, ayuda técnica, apoyo financiero, etc. deberán especificarse en agradecimientos. Estas personas deberán conceder su permiso para ser nombradas.

i) Bibliografía: deberá escribirse en hoja aparte ordenada según aparece en el texto y numerada correlativamente con números arábigos, contendrá todas las citas mencionadas en el texto teniendo en cuenta el siguiente formato:

Autores: Apellido, seguido por las iniciales del/los autor/res separados del siguiente autor por coma. Título: completo del trabajo en el idioma en que fue publicado. Nombre de la revista o publicación donde aparece el artículo abreviada de acuerdo al "US National Library of Medicine (NLM)" que usa el *Index Medicus* <http://www.nlm.nih.gov>. En forma seguida el año de publicación; en forma continuada el número de volumen de la revista, seguido de coma y el número de la revista (si lo posee), dos puntos, seguido del número de páginas de inicio y terminación del trabajo. Ej.

1. Rodríguez-Vivas RI, Domínguez-Alpizar JL. Grupos entomológicos de importancia veterinaria en Yucatán, México. *Rev Biomed* 1998; 9 (1):26-37

En el texto del trabajo hacer referencia mediante números arábigos entre paréntesis.

Si se tratase de trabajos publicados en libros:

Apellido y nombres en forma similar al indicado para revistas periódicas. A continuación el nombre del libro, edición, editorial, ciudad, país entre paréntesis, seguidas del año de publicación y páginas consultadas. Ej.

1. Plonat H. Elementos de Análisis Clínico Veterinario, Ed. Acribia. Zaragoza (España), 1984; p.45-75

Las tablas se presentarán en hojas separadas y con títulos completos ubicados sobre el margen superior y numerados con números arábigos, deberá incluirse además el título en inglés. Los gráficos se presentarán también en hojas separadas pero con títulos explicativos ubicados al pie de los mismos y numerados consecutivamente con números romanos debiéndose incluir además el título en inglés. Las tablas, gráficos o fotos se adjuntarán al final del manuscrito debiéndose indicar en el texto la posición correspondiente "insertar" tabla N° o gráfico N° o foto N°. Las fotografías deberán remitirse con la numeración en el reverso escrito con lápiz (o pegar una etiqueta de papel) de acuerdo a su secuencia en el texto, así como también indicarse el título y

el autor del trabajo y cuál es la parte superior de la misma. El tamaño deberá ser de 10 por 15 cm, pudiendo reducirse en la publicación por lo que se sugiere la buena calidad del detalle que se quiera resaltar. Cada foto deberá ser acompañada de una breve reseña explicativa de la misma en español y en inglés.

MUY IMPORTANTE: No enviar trabajos con bibliografía numerada automáticamente por el procesador Word, tampoco copiar y pegar *link* de internet, estos deben ser tipeados en el procesador de texto por los autores.

II. Artículos de revisión

Versarán sobre temas relevantes incluyendo una revisión bibliográfica adecuada y sus autores deberán tener idoneidad en los mismos. Estos artículos incluirán las siguientes secciones: título, título en inglés, resumen, "abstract", texto, agradecimientos y bibliografía. La extensión de estos trabajos no excederán las cincuenta páginas y sesenta citas bibliográficas.

El autor no deberá solamente realizar una recopilación bibliográfica exhaustiva, sino que además deberá hacer una discusión crítica sobre el tema considerado, destacando la trascendencia actual y futura y los puntos sobre los que existan diferencias de opinión.

III. Comunicaciones breves

Esta sección estará destinada a la comunicación de hallazgos preliminares en trabajos de investigación en marcha y a la descripción de nuevas técnicas (de laboratorio, quirúrgicas, de producción), hallazgos clínicos exóticos o poco frecuentes, etc. Su organización deberá seguir el lineamiento general indicado en el ítem I. No deberán exceder las dos páginas incluyendo no más de 10 citas bibliográficas.

IV. Información institucional

Esta sección será destinada a difundir todas aquellas actividades o informaciones de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata que tengan una relación directa con los objetivos dispuestos para la presente publicación.

V. Cartas al editor

En esta sección se incluirán actualizaciones breves y comentarios sobre artículos ya publicados. Las cartas (hasta 1000 palabras de texto) deberán ser en formato carta y no se dividirán en secciones. Las cartas comenzarán con una introducción breve sobre la relación del tema. Incluir desarrollo de métodos; referencias, en no más de cinco; y figuras o ilustraciones, en no más de dos.

Correspondencia

Toda correspondencia dirigida a esta revista deberá realizarse a la siguiente dirección:

Sr. Director ANALECTA VETERINARIA
CC 296 (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA
TEL/FAX: 0221-4257980
Desde el exterior: +54-221-4257980
E-mail: analecta@fcv.unlp.edu.ar

<http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html>



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
SECRETARÍA DE POS GRADO

**TRIGÉSIMOSEGUNDAS JORNADAS DE
ACREDITACIÓN PARA EL PLAN
NACIONAL DE CONTROL Y ERRADICACIÓN
DE LA TUBERCULOSIS BOVINA**

Director: Doctor Carlos Francisco Amasino.
Carga Horaria: 15 horas. Fecha de realización:
viernes 1 y sábado 2 de octubre de 2010. Mo-
dalidad: Jornadas de Actualización. Arancel:
\$150. Cupo: 30 participantes. Asistencia: 100%.
Evaluación final: Obligatoria.

**TERCER CURSO DE PROCEDIMIENTOS
EXPERIMENTALES EN PEQUEÑOS
ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

Director: Méd.Vet. Cecilia Carbone Codirec-
tor: Dr. Miguel Ángel Ayala Carga Horaria: 20 h.
Fecha de realización: miércoles 6, 13, 20 y 27
de octubre y 3 de noviembre de 2010. Arancel:
\$500. Cupo: 10 participantes. Asistencia: 80%
Evaluación final: optativa.

**QUINTO TALLER DE ACTUALIZACIÓN EN
CLÍNICA REPRODUCTIVA DE CANINOS
Y FELINOS. APLICACIÓN DE BIOTEC-
NOLOGÍAS EN LA PRÁCTICA DIARIA.
MÓDULO II: MACHO**

Director: Dra. María Alejandra Stornelli.
Codirector: Méd.Vet. César A. Savignone. Carga
Horaria: 16,5 h. Fecha de realización: 4 y 5 de
noviembre de 2010. Arancel: 300 \$. Cupo: 20
participantes. Asistencia: 70%. Evaluación final:
Obligatoria.

**CURSO TEÓRICO PRÁCTICO:
PARASITOSIS AMBIENTALES ENTÉRICAS Y
OPORTUNISTAS HUMANAS**

Director: Bact. Nilda Radman Carga Hor-
aria: 24 h. Fecha de realización: del 4 al 25 de
noviembre de 2010. Duración: 4 encuentros.
Arancel: \$ 200. Cupo: 30 personas. Asistencia:
80 %. Evaluación final: obligatoria.

**INTRODUCCIÓN A TÉCNICAS
MOLECULARES APLICADAS A LA
INVESTIGACIÓN Y EL DIAGNÓSTICO**

Director: Dr. Marcelo Pecoraro Carga Hor-
aria: 45 horas. Fecha de realización: del 8 al 12 de
noviembre de 2010. Arancel: \$ 600. Evaluación
final: sí.

**III JORNADAS EN FISIOPATOLOGÍA
REPRODUCTIVA APLICADA DE LOS
CANINOS Y FELINOS**

Director: Dra. Cristina Gobello Carga
Horaria: 11 h. Fecha de realización: 18 y 19 de
noviembre de 2010. Horarios: de 8.30 a 18.00
horas. Duración: 2 días. Modalidad: presencial.
Arancel: \$150. Cupo: 70 personas. Asistencia:
80 %. Evaluación final: sí (optativa).

**VII CURSILLO SOBRE MICROSCOPIA ELEC-
TRÓNICA DE TRANSMISIÓN Y BARRIDO:
TÉCNICAS BÁSICAS PARA EL
PROCESAMIENTO DE ESPECÍMENES
BIOLÓGICOS**

Director: Dra. Susana Jurado. Carga Hor-
aria: 21 horas. Fecha de realización: del 22 al 25
de noviembre de 2010. Arancel: 300 pesos. Cupo:
10 personas. Asistencia: 100 %. Evaluación final:
Escrita. Optativa.

**Información sobre las mencionadas
actividades contactarse con:**

Secretaria de Posgrado de la Facultad de
Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata
Calle 60 y 118 S/N (1900) La Plata
Horario de consultas: lunes a viernes de 9
a 15 h
Tel.: (0221) 423-6663 / 64 Interno 444
E-mail: posgrado@fcv.unlp.edu.ar

BOLIVIA

SEROPREVALENCIA DE LA LEUCOSIS ENZOOTICA BOVINA EN LAS PRINCIPALES PROVINCIAS DE LA CUENCA LECHERA DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ, BOLIVIA. Serological Survey Of Enzootic Bovine Leukemia in the Principal Province of the of Dairy Zone of the Department of Santa Cruz, Bolivia. Ruiz G, Suzuki K, López R, Pereira J, Coca C, Loza A, Guzmán J, Pecoraro M, González T.

SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS POST-CAMPAÑA DE VACUNACIÓN CONTRA LA RABIA EN PERROS DE SANTA CRUZ DE LA SIERRA, BOLIVIA. Serological Survey of Post-Campaign Vaccination Against the Rabies in Dogs of Santa Cruz de La Sierra, Bolivia. Loza A, Marín G, Ascarrunz G, Suzuki K, González T, Pecoraro M.

PARAGUAY

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL AISLAMIENTO Y LA IDENTIFICACIÓN DE Salmonella enterica EN CERDOS DE LA REPÚBLICA DEL PARAGUAY. Preliminary Study On Isolation and Characterization of Salmonella enterica in Pigs from República del Paraguay. Cardozo L, Alvarez M, Suzuki K, Gimenez G, Weiler N, Leotta G, Nuñez L, Zarate N, Lopez D, Copes J.

EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE PCR EN TIEMPO REAL PARA LA DETECCIÓN DE Escherichia coli O157:H7 A PARTIR DE CARNE BOVINA MOLIDA. Evaluation of a Real Time PCR System for Detection of Escherichia coli O157:H7 in Ground Beef. Brusa V, Palacios M, Loup V, Copes J, Pineda G, Brocardo S, Aliverti V, Aliverti F, Galleri D, Peral Garcia P, Pellicer K, Leotta G.

EVALUACIÓN DE DIEZ CEPAS DE Salmonella Enteritidis EN RICOTA ALMACENADA A 4 Y 8 °C . Evaluation Of Ten Strains Of Salmonella Enteritidis In Ricotta Stored at 4 And 8 °C. Brocardo S, Aliverti S, Aliverti F, Galleri D, Brusa V, Coca Camacho C, Pellicer K, Leotta G, Copes J.

FRECUENCIA DE Salmonella enterica EN AVES DE TRASPATIO DE LA LOCALIDAD DE SAN LORENZO, DEPARTAMENTO CENTRAL, REPÚBLICA DEL PARAGUAY. Frequency of Salmonella enterica in Backyard Chicken from San Lorenzo City, Departamento Central, República Del Paraguay. Alvarez F, Copes J, Alvarez M, Nuñez Yegros L, Suzuki K, Goretti Silva M, Zarate N, Castro L, Weiler N, Faccioli M, Leotta G.

URUGUAY

ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO DE METAPNEUMOVIRUS, Ornithobacterium rhinotracheale, Mycoplasma synoviae Y M. gallisepticum EN POLLOS PARRILLEROS EN URUGUAY. Serological Study of Metapneumovirus, Ornithobacterium rhinotracheale, Mycoplasma synoviae and M. gallisepticum in Broilers In Uruguay. Trenchi H, Giossa G, Rodríguez G, Trenchi G, Suzuki K, Petruccelli M.

EVIDENCIA SEROLÓGICA DE LA PRESENCIA DE Ornithobacterium rhinotracheale EN PONEDORAS COMERCIALES EN URUGUAY. Serological Evidence of Infection eith Ornithobacterium rhinotracheale in Commercial Flocks in Uruguay. Trenchi H, Trenchi G, Rodríguez G, Giossa G, Suzuki K, Petruccelli M.

EVIDENCIA SEROLÓGICA DE LA PRESENCIA DE Ornithobacterium rhinotracheale EN POLLOS PARRILLEROS EN URUGUAY. Serological Evidence of Infection with Ornithobacterium rhinotracheale in Broilers in Uruguay. Trenchi H, Rodríguez G, Trenchi G, Giossa G, Suzuki K, Petruccelli M.

RELEVAMIENTO POR REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN SEMEN CONGELADO DE ENFERMEDADES QUE AFECTAN LA REPRODUCCIÓN EN BOVINOS EN URUGUAY. Survey of Diseases Affecting Reproduction in Freeze Bovine Semen Using the Polymerase Chain Reaction (PCR). Alzugaray MF, Suzuki K, Acevedo C, Satragno D, González G, Guarino H, Bermúdez J, Echeverría MG.