raZyEie

Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes

Publicación Científica de la Asociación Argentina de Zoonosis

Buenos Aires • Volumen X • Nº 3 • Diciembre 2015

ISSN 1851-3638
(En línea) ISSN 2346-8858

Asociación Argentina de Zoonosis

MAYOR PRODUCCIÓN CON MÁS PRODUCTORES, TRABAJO Y ALIMENTO PARA TODOS

Presidencia de la Nación
Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca

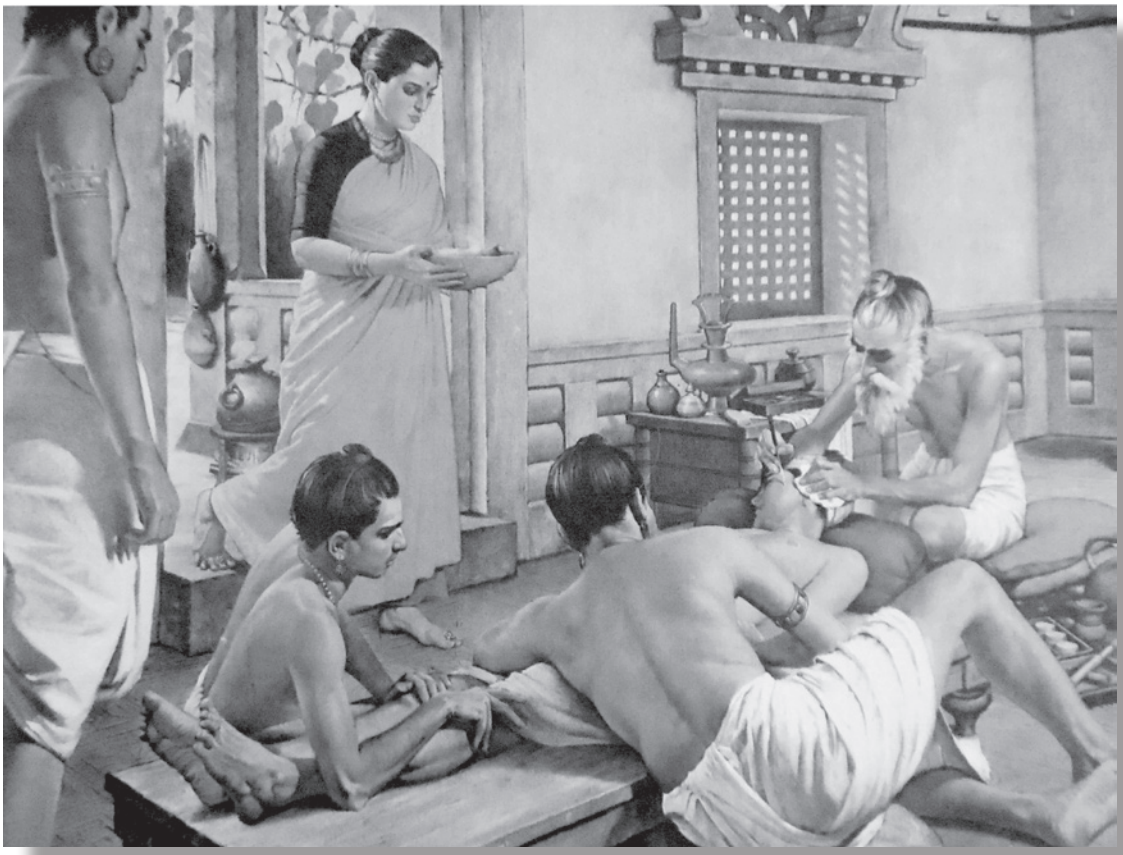
Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes
ISSN 1851-3638

Buenos Aires. Volumen X, Nº 3 , Diciembre 2015

raZyEie

Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes

Publicación científica cuatrimestral de la Asociación Argentina de Zoonosis



La *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes* (raZyEie) forma parte de la Asociación Argentina de Editories Biomédicos y es indizada por la Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC Data Bases) y por LATINDEX

Secretaría de Redacción:
Asociación Argentina de Zoonosis: Chile 1856 (1227) CABA
www.aazoonosis.org.ar

Registro de Propiedad Privada: DNDA Nº 5234826

Impreso por: DEOGRAFICA SERVICIOS EDITORIALES
Perón 935 (1038) C.A.B.A. • ideografica@netizen.com.ar

Tirada: 1100 ejemplares.

Comité Editorial

Directores Editoriales

Dr. Alfredo Seijo
Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires - Argentina

Dr. Pablo Martino
Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires - Argentina

Dr. Ricardo Rodríguez
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Buenos Aires

Editores Asociados

Lic. Marcelo Abril
Fundación Mundo Sano - Buenos Aires - Argentina

Dra. Marina Khoury
Comité de Docencia e Investigación Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari - Buenos Aires - Argentina

Dra. Marta Rivas
Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas ANLIS "Dr. C. G. Malbrán" - Ciudad de Buenos Aires

Asistente Editorial

Lic. Karina Veliz
Asociación Argentina de Zoonosis
Ciudad de Buenos Aires - Argentina

Secretaría de redacción *on line*

Dr. Sergio Giamperetti
Hospital Muñiz
Ciudad de Buenos Aires - Argentina

Secretario de Relaciones Institucionales

Dr. Gabriel Capitelli
Relaciones Internacionales Universidad de Buenos Aires - CABA

Consejo Editorial

Argentina

Dr. Miguel A. Basombrío
Universidad Nacional de Salta (UNSA) - Salta

Dr. Juan Basualdo Farjat
Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de La Plata - Buenos Aires

Dr. Jorge Bolpe
Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires - Azul

Dra. Bibiana Briguega
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Buenos Aires - Argentina

Dr. Marcelo Corti
Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires

Dra. Sabrina Domené
Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular - Ciudad de Buenos Aires

Dr. Ricardo Durlach
Hospital Alemán - Ciudad de Buenos Aires

Dra. Delia Enría
Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui" - Pergamino - Pcia. Buenos Aires

Lic. Manuel Osvaldo Espinosa
Fundación Mundo Sano - Ciudad de Buenos Aires

Dr. Amadeo Esposto
Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata - Pcia. de Buenos Aires

Dr. Jorge Gorodner
Académico de Medicina; Instituto de Medicina Regional. Universidad Nacional del Noreste - Corrientes

Dr. Olindo Martino
Academia Nacional de Medicina - Buenos Aires

Dr. Ramón Noseda
Laboratorio de Azul - Provincia de Buenos Aires

Dr. Domingo Palmero
Hospital Muñiz - Ciudad de Buenos Aires

Dr. Alberto Parma
Universidad Nacional del Centro. Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología (CIC) Tandil - Buenos Aires

Dr. Daniel Salomón
Instituto Nacional de Medicina Tropical - Misiones

Dr. Luis Samartino
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Buenos Aires

Dr. Alejandro Schudel
Fundación PROSAIA - Ciudad de Buenos Aires

Dra. Cristina Salomón
Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo - Mendoza

Dr. Eduardo Zerba
Centro de Investigación en Plagas e Insecticidas (CIPEIN). CITEFA-CONICET

Del Exterior

Dr. Juan Arbiza
Facultad de Ciencias - Montevideo - Uruguay

Dr. Joan A. Cayla i Buqueras
Agencia de Salud Pública de Barcelona - España

Dr. Cesar Cabezas
Instituto Nacional de Salud - Perú

Dr. José Guillermo Estrada Franco
División Medicina. Universidad de Texas - EE.UU.

Dr. Eduardo Gotuzzo
Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt", Universidad Peruana Cayetano Heredia - Perú

Dr. Marcelo Gottschalk
Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Montreal - Canadá

Dra. María Guadalupe Guzmán
Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" de la Habana - Cuba

Dr. Yoshihisa Haschiguchi
Universidad de Kochi - Japón

Dr. Dionisio José Herrera Guibert
Director, Red de Programas de Formación en Epidemiología de Campo y Salud Pública (TEPHINET) EE. UU.

Dr. Alvaro Hilinki
Medicina Tropical e Infectología. Facultad de Ciencias Médicas de Santos - Brasil

Dr. James Le Duc
Galveston National Laboratory. Departamento de Medicina. Universidad de Texas -EE.UU.

Dr. Santiago Mas Coma (España)
Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia - España

Dr. Christopher Paddock
Infectious Diseases Pathology Branch. Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta. EE.UU.

Dr. Hector Ratti Jaeggli
Academia Nacional de Medicina del Paraguay

Dr. Eric Martínez Torres
Miembro del Tribunal Permanente de Infectología y Medicina Tropical de la Comisión. Nacional de Grados Científicos y miembro del Grupo Internacional Estrategia de Gestión Integrada-Dengue de la OPS y del Grupo de expertos de Dengue del TDR/OMS - Cuba

Dr. Pedro F. C. Vasconcelos
Instituto Evandro Chagas (IEC). WHOCC - Brasil

ÍNDICE

Acerca de la ilustración de tapa 6

Editorial 7

Artículos Originales

Desarrollo de un método para el diagnóstico molecular de enfermedades transmitidas por garrapatas
Laura Tomassone, Eliana C. Guillemi, Marisa D. Farber ... 8

Estudio proteómico para mejorar el reactivo PPD-B utilizado en el diagnóstico de tuberculosis bovina: Producción de nuevas mezclas enriquecidas con los componentes más antigénicos de la PPD-B
María Laura Mon, Roberto Damián Moyano, Mariana Viale, María Alejandra Colombatti, Ignacio José Gamietea, Bernardo Alonso, María de la Paz Santangelo, María Isabel Romano 15

Fortalecimiento de la responsabilidad ciudadana en la prevención de las enfermedades transmitidas por alimentos y zoonosis
Jesica Blajman, Diego Astesana, Analía Romero Scharpen; Surpik Karabdajian, Ayelén Berisvil, Jorge Zimmermann, Eugenia Rossler, Laureano Frizzo, Marcelo Signorini, Enrique Martí, Gabriel Sequeira, Marcelo Rosmini, María Virginia Zbrun 20

Artículo Especial

La Novena Reunión de la Sociedad Argentina de Patología Regional en Mendoza: a 80 años de su inauguración
Sergio Bontti 25

Comunicaciones breves

Evaluación de la cinética de muerte bacteriana de *Escherichia coli* frente a distintos antimicrobianos en asociación con un inhibidor de bombas de eflujo
Laura Marchetti; Valeria Vedovato; Andrea Buchamer; Juan Chiarizi; Yanina Cabril; Nora Mestorino 30

Abordaje interdisciplinar de zoonosis en caninos del Centro de Reinserción Municipal
Mariana Fiorimanti, Melina Richardet, Leticia Espinosa, Yoana Scrivanti, Analía Bosque, Natalia Epulef, Maria Cremaschi, Mariana Benavent, Stefani Gregori, Carlos Motta, Verónica Nuesch, Claudina Vissio, Nancy Espósito, Sebastián Elena, Vivian Martin 31

Araneismo en la Provincia de Catamarca
Raúl Alfredo López, María Constanza Martínez Bombelli, Cristian Marcelo Marquetti, Adolfo Rafael de Roodt, Ramón Eugenio Moreno, María Laura Sosa Balessio 32

Brucelose humana: doença das mil faces
Marcos Vinicius da Silva 34

Brucelosis en cabras abortadas en majadas de los Llanos de La Rioja
Tomás Aníbal Vera, Ernesto J. A. Späth, Rosana Claudia Malena, Elena Raquel Brizuela, Eliana Villagrán, Ramón Armando Ricarte, Elias Bazan, Dante Díaz 35

Brucelosis: estudio de prevalencia en veintiséis hatos caprinos del sur del Departamento Rosario Vera Peñaloza, La Rioja
Carla Mendez, Daniel Cabral Ortiz, Juan Pablo Alberghini, Diego Bonelli, Gabriel Lezcano, Anabel Lucero 38

Búsqueda bioinformática de secuencias específicas en *Campylobacter fetus*
Andrea Gioffré, María Paula Passina, Paolicchi Fernando, Silvio Cravero 39

Caracterización de la respuesta inmune innata pulmonar a la infección intratraqueal con *Brucella abortus* 2308
Soledad Hielpos, Mariana Ferrero, Josefina Bonetto, Andrea Fernández, Diego Comerci, Pablo Baldi 41

Caracterización genética de cepas de virus Coriomeningitis Linfocitaria de Argentina
Julia Brignone, Jorge García, Carina Sen, Carmen Saavedra, Gladys Calderón, Silvana Levis 42

Coincidencia de perfiles genéticos de *Leptospira borgpetersenii* en animales silvestres y domésticos de Argentina
Sylvia Grune Loffler, Mara Martinez, Luis Samartino, Graciela Romero, Bibiana Brihuega 43

Condiciones y escenarios de contagio de Síndrome Pulmonar por Hantavirus en la zona andina de la provincia de Río Negro
Gabriel Talmon, Eduardo Herrero, Marcos Arezzo, Gustavo Cantoni, Edmundo Larrieu 45

Conhecimento de gestantes e puérperas sobre medidas preventivas da toxoplasmose
Liz Lehmann, Paula Santos, Gabriela Soares, Gabriela Mattos, Carlos Scaini 46

Conocimiento sobre síndrome urémico hemolítico y su prevención asociado a la presencia de anticuerpos anti-VT en pobladores rurales y urbanos de la región sur de la provincia de Buenos Aires (Agosto 2010-noviembre 2012)
Mariana Rivero, Paula Lucchesi, Juan Passucci, Alejandra Krüger, Laura Alconcher, Cecilia Martínez, Matías Tringler, Ileana Mastropierro,Yanil Parma, Edgardo Rodríguez y Grupo de Trabajo de SUH 47

Contaminación del pelaje corporal de los perros domésticos con huevos de *Echinococcus granulosus*
Gustavo Diego, Rocío García, Osvaldo Germán Astudillo, Ignacio Velázquez, Marta Cabrera 48

Datos preliminares sobre serovares de *Leptospira* spp. predominantes en bovinos de la región insular del partido de Campana, delta inferior bonaerense del río Paraná, Argentina
Ignacio José Gamietea, Mara Martinez, Sylvia Grune Loffler, Graciela Romero, Bibiana Brihuega 49

Detección de *Mycobacterium bovis* en bovinos a partir de muestras de hisopado nasal y leche
Sergio G. Garbaccio, Fernando O. Delgado, Pablo S. Huertas, Martín J. Zumárraga, Carlos J. Garro 51

Diagnóstico de brucelosis canina mediante un ELISA-indirecto utilizando LPS-r de Brucella abortus RB
María Ignacia Meza, Patricio Retamal, Consuelo Borie, Alicia Valdés, Pedro Abalos 52

Diagnóstico serológico de la brucelosis canina: aglutinación rápida en placa e inmunodifusión en gel de agar
Silvia M. Estein, María Clausse, Alejandra G. Díaz, Hilda M. Echevarría, Enrique Lucchesi, Pedro Soto 53

Diagnóstico socioambiental participativo en microcuencas del Área Metropolitana, Ciudad de Barros Blancos (Canelones), en un contexto de alta vulnerabilidad social
Ma Soledad Valledor; Nicolas Marinof, Ana Acuña, Simón Centurión, Ismael Diaz, Claudia Toro, Ma José Cabrera, Cecilia Tort, Cristina Desiderio, Laura Décia, Mauricio Ceroni 54

(Comunicaciones breves presentadas en el III Congreso Panamericano de Zoonosis y VIII Congreso Argentino de Zoonosis)

Caso clínico
Respuesta inmunológica rápida e hipersensibilidad tipo III, con vacuna antirrábica originada en cerebro de ratón lactante (CRL)
Jorge Correa, Alfredo Seijo 57

Imágenes en Zoonosis
Leishmaniosis visceral canina
Lilian Tartaglino, Rossana Gacek 59

Reglamento de Publicación 61

CONTENTS

About the picture of the magazine cover 6

Editorial 7

Original Articles
Development of a method for the molecular diagnosis of diseases transmitted by ticks
Laura Tomassone, Eliana C. Guillemi, Marisa D. Farber 8

Proteomic study to improve PPD-B reagent used in the diagnosis of bovine tuberculosis: Production of new mixtures enriched with PPD-B antigenic components
María Laura Mon, Roberto Damián Moyano, Mariana Viale, María Alejandra Colombatti, Ignacio José Gamietea, Bernardo Alonso, María de la Paz Santangelo, María Isabel Romano 15

Strengthening of civic responsibility in prevention of foodborne diseases and zoonoses
Jesica Blajman, Diego Astesana, Analía Romero Scharpen; Surpik Karabdajian, Ayelén Berisvil, Jorge Zimmermann, Eugenia Rossler, Laureano Frizzo, Marcelo Signorini, Enrique Martí, Gabriel Sequeira, Marcelo Rosmini, María Virginia Zbrun 20

Special Article
The Ninth Meeting of the Argentine Society of Pathology Regional in Mendoza: at 80 years after its inauguration
Sergio Bontti 25

Brief Reports
Evaluation of the bacterial kill kinetic of *Escherichia coli* against several antibiotics in combination with an efflux pump inhibitor
Laura Marchetti; Valeria Vedovato; Andrea Buchamer; Juan Chiarizi; Yanina Cabril; Nora Mestorino 30

Interdisciplinary approach of zoonoses in dogs of Municipal Reintegration Center
Mariana Fiorimanti, Melina Richardet, Leticia Espinosa, Yoana Scrivanti, Analía Bosque, Natalia Epulef, Maria Cremaschi, Mariana Benavent, Stefani Gregori, Carlos Motta, Verónica Nuesch, Claudina Vissio, Nancy Espósito, Sebastián Elena, Vivian Martin 31

Araneism at Catamarca province
Raúl Alfredo López, María Constanza Martínez Bombelli, Cristian Marcelo Marquetti, Adolfo Rafael de Roodt, Ramón Eugenio Moreno, María Laura Sosa Balessio 32

Human brucellosis: disease of thousand faces
Marcos Vinicius da Silva 34

Brucellosis in aborted goats in flocks located in the Llanos of La Rioja
Tomás Aníbal Vera, Ernesto J. A. Späth, Rosana Claudia Malena, Elena Raquel Brizuela, Eliana Villagrán, Ramón Armando Ricarte, Elias Bazan, Dante Díaz 35

Brucellosis: An study of the prevalence in twenty goats herds, in Rosario Vera Peñaloza department, La Rioja
Carla Mendez, Daniel Cabral Ortiz, Juan Pablo Alberghini, Diego Bonelli, Gabriel Lezcano, Anabel Lucero 38

Bioinformatics searching of specific *Campylobacter fetus* gene sequences
Andrea Gioffré, María Paula Passina, Fernando Paolicchi, Silvio Cravero 39

Characterization of pulmonary innate immune response to intratracheal infection with *Brucella abortus 2308*
Soledad Hielpos, Mariana Ferrero, Josefina Bonetto, Andrea Fernández, Diego Comerci, Pablo Baldi 41

Genetic characterization of *Limphocytic Choriomengitis* virus strains from Argentina
Julia Brignone, Jorge García, Carina Sen, Carmen Saavedra, Gladys Calderón, Silvana Levis 42

Matching *Leptospira borgpetersenii* genetic profiles in wild and domestic animals of Argentina
Sylvia Grune Loffler, Mara Martinez, Luis Samartino, Graciela Romero, Bibiana Brihuega 43

Terms and scenarios spread of Hantavirus Pulmonary Syndrome in the Andean region of the Rio Negro province
Gabriel Talmon, Eduardo Herrero, Marcos Arezzo, Gustavo Cantoni, Edmundo Larrieu 45

Knowlegde of pregnant and postpartum women about preventive measures of toxoplasmosis
Liz Lehmann, Paula Santos, Gabriela Soares, Gabriela Mattos, Carlos Scaini 46

Hemolytic uremic syndrome and prevention knowledge associated with the presence of anti-VT antibodies in rural and urban dwellers in the southern region of Buenos Aires province (August 00-November 0)
Mariana Rivero, Paula Lucchesi, Juan Passucci, Alejandra Krüger, Laura Alconcher, Cecilia Martínez, Matías Tringler, Ileana Mastropierro,Yanil Parma, Edgardo Rodríguez y Grupo de Trabajo de SUH 47

Contamination of body coat of domestic dogs with *Echinococcus granulosus* eggs
Gustavo Diego, Rocío García, Osvaldo Germán Astudillo, Ignacio Velázquez, Marta Cabrera 48

Preliminary data on predominant *Leptospira spp.* serovars in cattle in the insular region of Campana, lower delta of Buenos Aires at the Paraná river, Argentina.
Ignacio José Gamietea, Mara Martinez, Sylvia Grune Loffler, Graciela Romero, Bibiana Brihuega 49

Detection of *Mycobacterium bovis* from samples of nasal swab and milk in dairy cattle
Sergio G. Garbaccio, Fernando O. Delgado, Pablo S. Huertas, Martín J. Zumárraga, Carlos J. Garro 51

Canine brucellosis diagnosis by an indirect-ELISA using LPS-r from Brucella abortus RB
María Ignacia Meza, Patricio Retamal, Consuelo Borie, Alicia Valdés, Pedro Abalos 52

Serological diagnosis of canine brucellosis: rapid agglutination plate test and agar gel immunodifussion
Silvia M. Estein, María Clausse, Alejandra G. Díaz, Hilda M. Echevarría, Enrique Lucchesi, Pedro Soto 53

Participatory socio-environmental diagnostic in micro-watersheds of the Area Metropolitana, city of Barros Blancos (Canelones), in a context of high social vulnerability
Ma Soledad Valledor; Nicolas Marinof, Ana Acuña, Simón Centurión, Ismael Diaz, Claudia Toro, Ma José Cabrera, Cecilia Tort, Cristina Desiderio, Laura Décia, Mauricio Ceroni 54

(Abstracts submitted in III Congreso Panamericano de Zoonosis y VIII Congreso Argentino de Zoonosis)

Case reports

Rapid immune response and type III hypersensitivity, with rabies vaccine originated in suckling mouse brain (CRL)
Jorge Correa, Alfredo Seijo 57

Zoonosis pictures

Canine visceral leishmaniasis
Lilian Tartaglino, Rossana Gacek 59

Submission rules 61

Acerca de la ilustración de la tapa

Imagen del libro Shalya Tantra "un libro de procedimientos quirúrgicos" descripto por Susruta.

En el número 2 de raZyEie, de 2015, en el artículo "La preservación de la cultura clásica y la medicina en el mundo árabe", se hizo alusión a la medicina hindú ayurveda, representada por Susruta y Charaka y la influencia que habían tenido sus obras en la medicina árabe. Los textos escritos en sánscrito fueron traducidos al árabe posiblemente en el siglo VIII d.C. y utilizados por Avicena en su obra *Al-Qanun* conocido como el Canon de Avicena, una de las obras más completas sobre medicina, que llegó a ser base doctrinaria de las ciencias occidentales hasta la finalización de la Edad Media.

La ilustración de tapa muestra a Susruta realizando una cirugía otoplástica, es decir reconstituyendo el lóbulo de la oreja a partir de un colgajo obtenido de la mejilla. Esta práctica de verdadera cirugía plástica, requería no sólo de la habilidad y conocimientos técnicos de los que la realizaban, sino además conocimientos sobre hierbas y sustancias anticoagulantes y antisépticas, sin las cuales no hubieran podido ser llevadas a cabo. El ambiente de la casa muestra una familia de buen nivel social, lo cual hace pensar que los éxitos de éstas plásticas superaban con creces a sus posibles complicaciones.

La obra de Susruta constituyó un gran avance en las ciencias relacionadas con la salud en la India, y formaron la base de la medicina conocida como Ayur Veda, que actualmente se enseña y practica en la India. Siendo el Veda (Sabiduría) el libro sagrado de la cosmología hindú, el Ayur Veda es el cuerpo doctrinario del conocimiento por el cual "la vida se alarga y mejora". Como sucedió con el desarrollo del conocimiento clásico, el reemplazo de conceptos mágicos no fue realizado abruptamente, e incluso aún prevalecen en la actualidad, tradiciones mágicas que involucran dioses en el desarrollo del proceso salud-enfermedad. El conocimiento de las plantas medicinales fue muy detallado y le dio a la medicina hindú, las primeras armas, que hoy denominaríamos científicas, para tratar un gran grupo de enfermedades. Citaremos la chaulmoogra, cuyo aceite obtenido de los frutos de árboles achariácidos, fue utilizado incluso en Occidente hasta la década de 1940 para el tratamiento de la lepra, la rawolfia arbusto de cuya raíz se obtiene la reserpina medicamento antihipertensivo utilizado hasta mediados del siglo XX con efectos psicotrópicos. Preceptos muy precisos de higiene y dieta completaban un poderoso arsenal terapéutico. Quizá el mayor logro para la salud pública fue la variolización a partir de las secreciones de las pústulas de la viruela. La linfa era preservada con técnicas milenarias, y su inoculación seguía estrictos protocolos. India, China y algunos pueblos africanos fueron desde antes de la era cristiana, quienes pudieron controlar esta enfermedad, luego tan temible en Occidente y el Asia Anterior. Con la expansión del Imperio Británico a la India, la técnica de variolización fue llevada a Europa y al nuevo continente, hasta que progresivamente fue reemplazada con la vacuna originada del "*Cowpox*" o viruela de la vaca, obtenida por Jenner en el siglo XVIII en Inglaterra.

Susruta (Siglo VII d.C.), dejó un gran legado que abarca la descripción de más de un millar de enfermedades, y en especial procedimientos quirúrgicos en el área obstétrica y en la cirugía plástica, en especial la reconstrucción nasal y de la oreja, a partir de colgajos del propio enfermo. En este sentido, sus métodos han sido muy precisos, y ha dejado constancia de ellos en la Colección de Susruta, escrita en sánscrito, y que sirvió a los primeros cirujanos plásticos occidentales.

Existe cierto paralelismo entre las doctrinas hipocráticas y las hindúes, pero la marcha y el desarrollo posterior las fueron diferenciando, debido al desarrollo lógico del conocimiento que se dio en occidente.

Un precepto para los estudiantes hindúes que expresó en su Conocimiento: "Un médico conocedor de los principios de la medicina, pero inhábil en su arte por la carencia de práctica, pierde su talento junto al cama de su enfermo… por otra parte, un médico con experiencia en su arte, con conocimientos deficientes está condenado por todos los hombres como un charlatán…".

Editorial

A la altura de las circunstancias

El hecho que las poblaciones tanto humana como porcina o aviar (o incluso hasta bovina, ovina o cunícola), sigan creciendo en una tasa paralela de expansión, dramática y rápidamente, a nivel mundial, es más que casual. Muchos expertos se han expedido en esto, y han enfocado las coordenadas causales, lógicamente, en las necesidades nutricionales de un mundo todavía ávido de proteínas animales.

Estas especies (sobre todo la porcina) contribuyen equitativamente al bienestar humano en dos frentes: el de la nutrición y la investigación biomédica. Pero todas estas especies animales pueden, incluso, convertir eficientemente, en mayor o menor medida y con distintas capacidades fisiológicas, materias de bajo contenido nutricional en alimento de alto valor nutricional, pueden adaptarse a ambientes tropicales de muchos países en desarrollo, y aliviar, finalmente, la aguda escasez de proteína y energía para un mundo en expansión. En este sentido, la mancomunión de especies (humana y animales) está garantizada por décadas.

En otro orden, y también en amplia expansión, más de 100 millones de animales de sangre caliente son utilizados anualmente (sólo en los laboratorios de unos pocos países del primer mundo) con fines científico-biomédicos (principalmente ratones, ratas, pájaros, hámsteres, monos y conejos). Todas estas actividades de interrelación hombre-animal, sumadas a las ancestrales convivencias con innumerables y diversos animales exóticos y de compañía, se complejizan día a día. Convulsiones sociales, cambios climáticos y la pertinaz industrialización (cuando no está regida por prácticas más amigables con el medio ambiente), contribuyen a consolidar un escenario muy distinto a aquel pretérito de coexistencia bíblica entre el hombre y los animales. La explosión de enfermedades emergentes y re-emergentes, de carácter zoonótico en muchos casos, es la conclusión lógica de esta enorme ecuación.

La alimentación y los alimentos están en el epicentro de todo esto: se estima que al menos un 80% de las proteínas ingeridas en países desarrollados derivan de animales que han sido medicados durante parte o en el total de sus vidas, a la vez que estos animales de producción consumen millones de toneladas conteniendo algún tipo de medicación. Las dificultades encontradas por las profesiones biomédicas para tratar enfermedades humanas y animales como resultado de las droga-resistencias son largamente conocidas.

En este contexto conceptual donde nuestra comunidad científica y profesional de la salud se desenvuelve, nuestra Asociación Argentina de Zoonosis ha impulsado la reciente creación de una nueva Filial en un centro estratégico y productivo de nuestro país: la Provincia de Santa Fe, todo con el compromiso de profesionales universitarios de alto mérito en el sector de los Alimentos y la Salud Pública.

Y, por otro lado, la Asociación acaba de aprobar el lanzamiento de nuestro futuro Congreso Internacional de Zoonosis para el año 2018, para explorar todos estos nuevos desafíos científicos, con la conducción asegurada de un experto de larga experiencia nacional e internacional en Alimentos y Sanidad: el Dr. Ricardo Rodríguez, del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, INTA.

Los hombres se deciden ante muchos más problemas, dejándose llevar por el odio, el amor, la lujuria, la rabia, el dolor, la alegría, la esperanza, el miedo, la ilusión o alguna otra emoción interior, que por la realidad, la autoridad, cualquier norma legal, precedente judicial o estatuto.

Cicerón, Marco Tulio (106-43 a. C, Imperio Romano, en la actual Italia).
De Oratore II.

Artículo original

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2015; 10(3): 8-14

Desarrollo de un método para el diagnóstico molecular de enfermedades transmitidas por garrapatas

Laura Tomassone[1], Eliana C. Guillemi[2], Marisa D. Farber[2]

Resumen
Se propone mejorar el diagnóstico molecular de las bacterias del orden Rickettsiales (familias *Anaplasmataceae* y *Rickettsiaceae*), que son transmitidas por garrapatas. **Materiales y Métodos**: se desarrolló y validó una membrana de hibridización reversa en línea (RLBH) para la identificación conjunta de bacterias de los géneros *Ehrlichia, Anaplasma* y *Rickettsia.* Se analizaron garrapatas recolectadas del ambiente (*dragging*), de perro, de humanos, de carpinchos provenientes de las provincias de Chaco, Corrientes y Santiago del Estero, Argentina. **Resultados:** la membrana tiene un buen poder discriminador para *Anaplasma* y *Ehrlichia*, para las *Rickettsias* en cambio, la discriminación no es completa. Se verificó la presencia de candidatus *R. sp. argentina* en *Amblyoma parvum* y se detectó *R. bellii* en una muestra de *A. dubitatum.* **Conclusiones**: La herramienta desarrollada resulta útil como metodología diagnóstica para evaluar la emergencia de las enfermedades bacterianas transmitidas por garrapatas.

Palabras clave: Garrapata, *Rickettsia, Anaplasma, Ehrlichia.*

Development of a method for the molecular diagnosis of diseases transmitted by ticks

Abstract
We propose to improve the molecular diagnosis of bacteria from the order Rickettsiales (*Anaplasmataceae* and *Rickettsiaceae* families), which are tick-borne. **Materials and Methods**: a reverse line bloot hibridization membrane (RLBH) was developed and validated for the simultaneous identification of the genera *Ehrlichia, Anaplasma and Rickettsia*. Ticks collected from dogs, humans, capybaras and in host seeking (dragging) from Chaco Corrientes and Santiago del Estero (Argentina) were analized. **Results:** the membrane resulted in a high discrimination power for *Anaplasma* and *Ehrlichia*. For the genus *Rickettsias* instead discrimination was not complete. We verified the presence of candidatus *R.sp. argentina* in *Amblyoma parvum* and we detected *R. bellii* in *A. dubitatum*. **Conclusions**: The developed tool resulted useful for diagnosis and the study of the emergence of tick-borne bacteria.

Key words: Tick-borne bacteria, *Rickettsia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia.*

Introducción

El orden Rickettsiales está compuesto por bacterias intracelulares obligadas Gram-negativas que infectan células eucariotas[1], el cual se subdivide en dos familias: *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae.* La familia *Rickettsiaceae* se distingue por permanecer en el compartimiento intra-citoplasmático en la célula hospedadora infectada y está integrada por bacterias de los géneros *Rickettsia* y *Orientia*,, mientras que las bacterias de la familia *Anaplasmataceae*, integradas por los géneros *Ehrlichia, Anaplasma, Neorickettsia* y *Wolbachia* ocupan un compartimento intra-vacuolar dentro de la célula infectada[2]. Tanto las bacterias de los géneros *Ehrlichia, Anaplasma* como algunas especies de *Rickettsia* son considerados patógenos emergentes de distribución mundial y son transmitidas a los animales y/o al ser humano por medio de la picadura de diversas especies de garrapatas de la familia *Ixodidae*.

Las especies incluidas en el género *Rickettsia* están a su vez organizadas en cuatro grupos: el grupo ancestral (AG), el grupo typhus (TG), el grupo de las fiebres manchadas (SFG) y el grupo transicional (TRG). Al primero (AG) lo componen las especies *R. bellii* y *R. canadensis,* de las cuales no hay registros de patogenicidad al TG lo componen las especies *R. typhi* y *R. prowazekii,* al SFG lo componen una gran diversidad de especies entre las cuales se pue-

1. Dipartimento di Produzioni Animali Epidemiologia ed Ecologia, Università degli Studi di Torino, Torino, Italia.
2. Instituto de Biotecnología, INTA Castelar. Los Reseros y N. Repetto, 1686 Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.
laura.tomassone@unito.it

den mencionar *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. conorii* y *R. massilliae* entre otras, finalmente, el TRG se halla constituido por *R. akari*, *R. australis* y *R. felis* [3, 4, 5]. En su conjunto, las rickettsias constituyen enfermedades emergentes de riesgo zoonótico, en su mayoría transmitidas por vectores artrópodos, tanto garrapatas como pulgas y piojos[6].

El género *Ehrlichia* está conformado por seis especies: *E. canis, E. ovis, E. muris, E. ruminantium, E. ewingii* y *E. chaffeensis* [2], de las cuales las últimas dos son reconocidos patógenos para el humano[7, 8], aunque existen reportes en los que se menciona a algunas de las otras especies como posibles riesgos para la salud pública, tales como *E. canis*, el agente etiológico de la Ehrlichiosis monocítica canina[9] y organismos emparentados con *E. muris* [10] y *E. ruminantium,* responsable de la enfermedad llamada "Heartwater" de importancia en la producción bovina[12, 13]. Finalmente el género *Anaplasma* se compone de seis especies: *A. phagocytophilum, A. platys, A. marginale, A. centrale, A. bovis* y *A. ovis* [2], de las cuales *A. phagocytophilum* es responsable de graves cuadros febriles en humanos y animales y *A. platys* es considerado un patógenos de bajo riesgo en salud pública[14], siendo las restantes especies de relevancia en medicina veterinaria. En este sentido, *A. marginale* es un patógeno de alta prevalencia en el ganado bovino a nivel mundial, responsable de importantes pérdidas económicas en la producción[15]. Debido a la menor patogenicidad de *A. centrale,* esta última especie es empleada como vacuna atenuada para prevenir los signos asociados a *A. marginale* en el ganado bovino[16]. Existen además otras especies candidatas propuestas en la literatura, algunas de las cuales son de relevancia en la salud animal como es el caso de *A. omatjenne.*

En los últimos años, el reporte de casos producidos por rickettsias o ehrlichias en pacientes humanos se ha incrementado[17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25], motivo por el cual es importante contar con una herramienta diagnóstica que permita identificar de manera simultánea los patógenos de riesgo del orden *Rickettsiales*.

El método de hibridación reversa en línea (RLBH) es una herramienta de diagnóstico que permite la detección simultánea de diferentes especies de microorganismos a partir de un gran número de muestras (hasta 43), a través de un primer paso que consiste en un ensayo de PCR y la posterior visualización del resultado por medio de una reacción de hibridación específica sobre una membrana de nylon utilizando reactivos de quimioluminiscencia. La membrana contiene oligonucleótidos especie-específico (sondas) unidos covalentemente, que permiten la identificación de los fragmentos de PCR de cada muestra[26].

En el presente trabajo se realizó el diseño y puesta a punto de una membrana de RLBH para la detección simultánea de las bacterias del orden *Rickettsiales*, de manera de identificar conjuntamente a los patógenos de relevancia médica de las familias *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae*.

Materiales y Métodos

Muestras analizadas

Se analizaron muestras de garrapatas colectadas a partir del ambiente, muestreando tanto el suelo como la vegetación (garrapatas en busca de hospedador). Para este fin se aplicó la metodología de *vegetation dragging* utilizando un género blanco de algodón de 1 m^2. También se recolectaron garrapatas a partir de huéspedes humanos y animales (caninos y carpinchos). Se analizaron un total de 64 garrapatas provenientes de las provincias de Chaco, Corrientes y Santiago del Estero (Argentina). Los especímenes fueron identificados según las claves taxónómicas disponibles[27, 28]. Para la extracción de ADN a partir de las garrapatas se procedió según lo descripto por Tomassone y col.[29]. A su vez, para validar la especificidad de la membrana, se utilizaron muestras de ADN control de distintas especies de *Rickettsiales* (*R. slovaca*, *R. conorii*, *R. rickettsii*, *R. bellii*, *R. parkeri*, *A. marginale*, *A. centrale*, *E. chaffeensis* y *E. canis*).

Diseño de la membrana para la Hibridación reversa en línea (RLBH)

El ensayo de hibridación reversa en línea se procesa en un dispositivo llamado "*line blotter*" que permite el análisis simultáneo de hasta 43 muestras empleando hasta 43 sondas distintas que se encuentran inmovilizadas en sentido transversal a la línea donde se siembra el producto de amplificación obtenido con primers biotinilados. Este último se une por complementariedad de bases a las sondas específicas y dado que presenta una molécula de biotina en el extremo 5´ es posible identificar la hibridación por medio de una reacción de quimioluminiscencia[26, 29, 30].

A fin de obtener una membrana que permita la detección simultánea de las bacterias pertenecientes a las familias *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae,* se utilizaron sondas previamente diseñadas para la identificación de *Anaplasma/Ehrlichia* spp. (A/E catch all), *E. ewingii, E. chaffeensis, E. canis, A. centrale, A. marginale, A. phagocytophylum, A. omatjenne* [31], *Rickettsia spp*. (R. general probe), *R. slovaca, R. conorii y R. rickettsii/sibirica, R. helvética* [32] y se diseñaron nuevas sondas para la identificación de *R. bellii*, *R. massiliae* y *R. parkeri* (Tabla 1). En este último ca-

so, se trabajó sobre las regiones variables contenidas en el espaciador transcripto interno 23S-5S de *Rickettsia spp*. La sonda correspondiente a *A. omatjenne* se incluyó debido a que se trata de una especie de alta prevalencia en el ganado bovino africano[33,34] pero que se ha identificado en varias oportunidades en bovinos locales por nuestro grupo de trabajo (datos no publicados)

Todos los oligonucleótidos fueron sintetizados por *Integrated DNA Technologies Inc*. y las sondas adheridas a la membrana de nylon según lo descripto por Kong y Gilbert[26]. En todos los casos se utilizaron 200 pmol/calle de cada sonda, además, para el caso de la sonda específica de *R. parkeri,* se utilizaron 400 pmol/calle y 600 pmol/calle.

Amplificación por PCR e identificación de los amplicones

Se realizaron las reacciones de amplificación utilizando los oligonucleótidos biotinilados en su extremo 5´ listados en la Tabla 2, según lo descripto por Jado y col.[32] para la familia *Rickettsiaceae* y Bekker y col.[31] para la familia *Anaplasmataceae.* Este último protocolo implica una amplificación en dos pasos (nested-PCR) que aumenta la sensibilidad de la reacción.

Tabla 1. Sondas específicas para la identificación de las familias *Anaplasmataceae* y *Rickettsiaceae*

Género y especie	Gen target	Sonda	Secuencia	Referencia
Anaplasma/Ehrlichia	**16S RNA**	EAcatchall	5´GGGGGAAAGATTTATCGCTA 3´	Bekker y col., 2002
A. marginale		A. marginale	5´ GACCGTATACGCAGCTTG 3´	
A. centrale		A. centrale	5´ TCGAACGGACCATACGC 3´	
A. phagocytophylum		P-APHAG16S	5´ TTGCTATRAAGAATARTTAGTGG 3	
A. omatjenne		P-EOMATJ	5´ CGGATTTTTATCATAGCTTGC 3´	
E. ewingii		P-EEW16S	5´ CAATTCCTAAATAGTCTCTGA 3´	
E. chaffeensis		P-ECHAF_16S	5´ ACCTTTTGGTTATAAATAATTGTT 3´	
E. canis		P-ECAN_16S	5´ TCTGGCTATAGGAAATTGTTA 3´	
Rickettsia spp.	**23S-5S ISR**	GP-RICK_23_5	5´TAGCTCGATTGRTTTACTTTG 3´	Jado y col., 2003
R. slovaca		P-RSLO_23_5	5´GTAGCCCCTGCCACGATA 3´	
R. conorii		P-RCON_23_5	5´GTTATATACTGTAGCCCTG 3´	
R. rickettsii/sibirica		P-RRI/SI_23_5	5´GTTATACTGTAGTCCTGCAA 3´	
R. helvetica		P-RHELV_23_5	5´CATGGCTTGATCCACGGTA 3´	
R. bellii		P-RBELL2_23_5	5´TATATGTCATTCCTGCGA 3´	Este trabajo
R. massiliae		P-RMASS_23_5	5´CCACGATATCTAGCAAAA 3´	
R. parkeri		P-RPARK_23S5S	5´ATTTTATACTGTAGCCCTGCC 3´	

Los productos de PCR obtenidos se evaluaron utilizando el "line blotter" conteniendo la membrana diseñada según fue descripto por Kong y Gilbert[26], de manera tal que la dirección de esta siembra se realizó perpendicular a la correspondiente a las sondas especie-específicas. Luego de la etapa de hibridación se realizaron lavados para remover los productos de PCR que no se unieron por complementariedad. Los que en cambio hibridaron específicamente se visualizaron a partir de la biotina presente en los oligonucleotidos empleados en la reacción de PCR. Con este fin se incubó la membrana con estreptavidina conjugada a la enzima peroxidasa. A continuación se incubó la membrana con el sustrato de la enzima (ECL). La reacción de quimioluminiscencia se detectó con un film de rayos X bajo una exposición de dos minutos y su posterior revelado

Resultados

Las especies de garrapatas identificadas fueron las siguientes: 11 *Amblyomma cajennense* en búsqueda de hospedador; 4 *Rhipicephalus sanguineus* y 1 *Amblyomma tigrinum* colectadas de perros (Pampa del Indio, Chaco); 10 *Amblyomma parvum* y 8 *A. cajennense* colectadas de humanos (Reserva Loro hablador, Chaco), 18 *Amblyomma dubitatum* colectadas de carpinchos (Corrientes), 12 *A. parvum* colectadas de guazuncho (Santiago del Estero) (Tabla 3)

La membrana permitió distinguir inequívocamente a los miembros de la familia *Anaplasmataceae*, sin embargo para los miembros de la familia *Rickettsiaceae* es necesario mejorar el poder discriminador de las sondas, dado que si bien fue posible distinguir entre *R. bellii* y las especies pertenecientes al SFG, no se logró discriminar las diferentes especies pertenecientes a este último grupo (Figura 1). Por otra parte, dado que 19 de las muestras reaccionaron con la sonda correspondiente a *R. rickettsii/ sibirica* (Figura 1) y con el fin de discriminar entre ambas especies, se procedió a amplificar y secuenciar el gen *ompA* (Fournier y col., 2003). Las secuencias obtenidas resultaron 100% identicas a candidatus *R. sp. Argentina* [29, 36]. Este resultado indica que la sonda P-RRI/SI_23_5 originalmente diseñada para la identificación de *R. rickettsii, R. sibirica también permite el diagnóstico de la presencia de* candidatus *R. sp. argentina.* En cuanto a las diferentes concentraciones de la sonda para *R. parkeri*, la menor concentración (200 pmol/calle) fue la que demostró mejores resultados a pesar de algunas reacciones cruzadas, ya que a 400 y 600 pmol/calle se incrementó el número de reacciones inespecíficas.

De las muestras analizadas, 11 *A. cajennense* en busca de hospedador y las 5 garrapatas de perro (4 *R. sanguineus* y 1 *A. tigrinum*) de Chaco resultaron negativas. Ocho de las 10 *A. parvum* colectadas de humanos en la reserva Loro Hablador (Chaco) resul-

Tabla 2. Primers para la identificación de las familias *Anaplasmataceae* y *Rickettsiaceae*

Género	Gen target	Primers	Secuencia	Referencia
Ehrlichia spp./ Anaplasma spp.	16S RNA	HER F HER Fint HER R	5´AGAGTTGGATCMTGGYTCAG 3´ 5'-Biotina-GGCTCAGAACGAACGCTG-3' 5'-Biotina-CGGGATCCCCAGTTTGCCGG-GACTTYTTCT-3'	Bekker y col., 2002
Rickettisa spp.	23S-5S ISR	Rick_23_5F Rick_23_5R	5'-Biotina-GATAGGTCRGRTGTGGAAGCAC 3´ 5'-Biotina-TCGGGAYGGGATCGTGTGTTTC 3´	Jado y col., 2003

Tabla 3. Especies de garrapatas evaluadas, su origen geográfico y fuente de muestreo

	Ambiente	Perro	Carpincho	Guazuncho	Humano
Chaco	***A. cajennense* 11**	***R. sanguineus* 4** ***A. tigrimun* 1**			***A. parvum* 10** ***A. cajennense* 8**
Santiago del Estero				***A. parvum* 12**	
Corrientes			***A. dubitatum* 18**		

taron positivas a candidatus *R. sp. argentina.* Las 8 *A. cajennense* de esta misma región no contenían Rickettsiales. De las 18 *A. dubitatum* de carpinchos una resultó positiva a *R. bellii.* De las 12 *A. parvum* de guazuncho, 11 fueron positivas para candidatus *R.sp. argentina* y 3 de ellas resultaron además positivas a *E. chaffensis.*

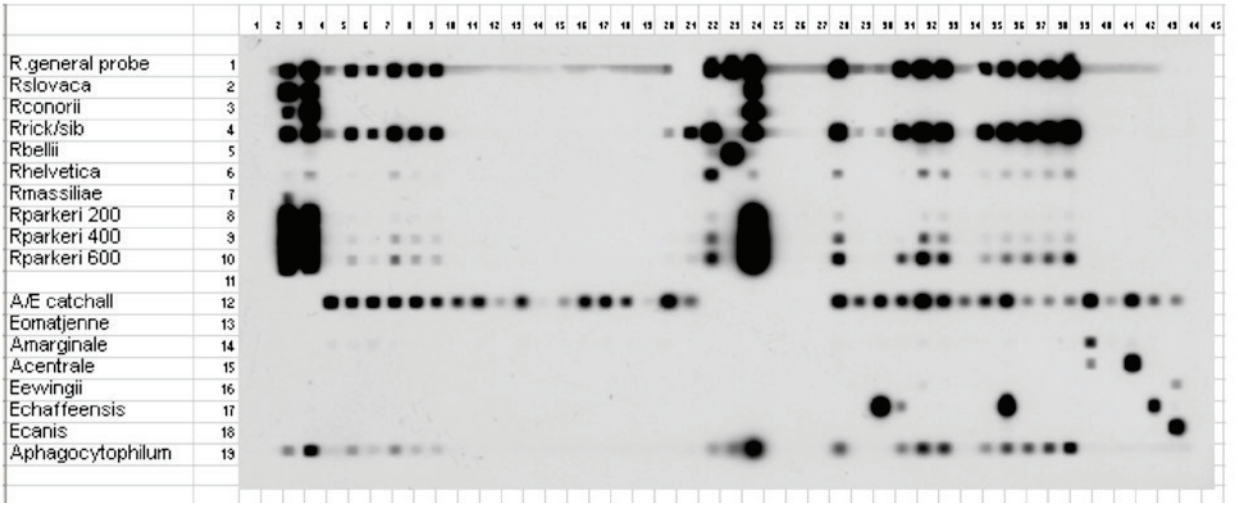
Discusión

El método de RLBH puede ser aplicado en estudios tanto epidemiológicos como diagnósticos y posee la ventaja de permitir el análisis simultáneo de hasta 43 muestras identificando hasta 43 regiones o genes *target* para cada una de ellas en una única membrana, a su vez, cada membrana puede ser reutilizada hasta 20 veces. Una ventaja adicional que presenta esta herramienta, es la de permitir la identificación de nuevas especies, ya que frente a una muestra que reacciona positivamente a la sonda "*catch all"* de género, pero no se une específicamente a ninguna sonda de especie presente en la membrana, debería contemplarse la posibilidad de que se trate de una nueva especie, Es posible identificar de qué especie se trata através de la secuenciación del producto de PCR y comparación de la secuencia obtenida contra la Base de Datos GeneBank.

Para el estudio de las enfermedades producidas por bacterias del orden Rickettsiales, existen membranas de RLBH publicadas, con las cuales es posible identificar patógenos del género *Rickettsia*[32] o *Ehrlichia* y *Anaplasma*[31, 25]. En el presente trabajo se diseñó una membrana conteniendo sondas específicas previamente publicadas para rickettsiales de los tres géneros e incluso se diseñaron e incorporaron tres sondas nuevas. Una de estas sondas fue evaluada a distintas concentraciones, ya que la mejor relación entre la sonda del género respecto de la sonda de especie es una condición experimental que debe ser validada[37]. En este caso, la menor concentración evaluada fue la que presentó mejores resultados a pesar de que todavía son necesarias algunas correcciones para mejorar la especificidad. Esta inespecificidad podría deberse a la dificultad para encontrar regiones exclusivas de especie y posiblemente a la gran abundancia de Adenina y Timina típica de las rickettsias[38] que, sumado a las mayores concentraciones de sonda, atentan contra la especificidad de la hibridación.

De las muestras de *A. cajennense* analizadas ninguna resultó positiva, a pesar de ser esta la especie de garrapata conocida como vector de *R. rickettsii* en América del Sur[39]. *Candidatus R. sp. argentina* fue hallada en una nueva área de estudio en Argentina, confirmando lo publicado anteriormente[29, 40] en relación a la alta prevalencia de esta especie en Argentina. Las muestras de *A. parvum* de Santiago

Figura 1. Membrana de RLBH para la detección simultánea de miembros de la familia *Rickettiaceae* (panel superior) y de la familia *Anaplasmataceae* (panel inferior). En las líneas horizontales (1 a 19*) figuran las diferentes sondas correspondientes a las distintas especies. Las líneas verticales (líneas 2 a 44) corresponden a diferentes tipos de muestras: - Controles positivos (2, *R. slovaca*; 3, *R. conorii*; 22, *R. rickettsii*; 23, *R. bellii*; 24, *R. parkeri*; 40, *A. marginale*; 42, *A. centrale*; 43, *E. chaffeensis*; 44, *E. canis*); - Muestras incógnitas (reacciones de PCR a partir de preparaciones de ADN de diferentes especies de garrapatas del tipo *Amblyomma*) sembradas en las columnas: 4 – 21, 25 – 39, 41.**líneas 8 a 10 diferentes concentraciones de la misma sonda*



del Estero resultaron coinfectadas por *candidatus R. sp. argentina* y *E. chaffensis* de acuerdo a lo reportado previamente[25]. En este trabajo se identificó *R. bellii* en la garrapata de carpincho *A. dubitatum*, esta rickettsia fue anteriormente identificada en el país en las especies de garrapata *A. neumanni* y *A. tigrinum*[29] e incluso recientemente en esta misma especie de garrapatas[41]. *R. belli*, cuyo nivel de patogenicidad es desconocido aún, representa la especie de *Rickettsia* más comúnmente hallada en garrapatas de Brasil, país donde ya fue descripta en A. *dubitatum*[42].

Los resultados presentados son preliminares y es necesario continuar trabajando en la puesta a punto para la mejora de membrana de RLBH para la detección conjunta de los miembros de las familias *Rickettsiaceae* y *Anaplasmataceae*. Sin embargo, por medio de estos resultados se pone de manifiesto una vez más el poder de discriminación de la herramienta RLBH y su utilidad como prueba de detección molecular para el estudio de las enfermedades transmitidas por garrapatas.

Bibliografía

1. Kang, Y.J., Diao, X.N., Zhao, G.Y., y col. Extensive diversity of Rickettsiales bacteria in two species of ticks from China and the evolution of the Rickettsiales. *BMC Evol Biol.* 2014; 14:167.
2. Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C.P., y col. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001; 51(Pt 6):2145-65.
3. Fuxelius, H.H., Darby, A., Min, C.K., Cho, N.H., Andersson, S.G. The genomic and metabolic diversity of *Rickettsia*. *Res Microbiol.* 2007; 158(10):745-53.
4. Gillespie, J.J., Beier, M.S., Rahman, M.S., y col. Plasmids and rickettsial evolution: insight from *Rickettsia felis*. *PLoS One.* 2007; 7;2(3):e266.
5. Gillespie, J.J., Williams, K., Shukla, M., y col. *Rickettsia* phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. *PLoS One.* 2008; 3(4):e2018.
6. Labruna, M.B. Ecology of rickettsia in South America. *Ann N Y Acad Sci.* 2009; 1166:156-66
7. Breitschwerdt, E.B., Hegarty, B.C., Hancock, S.I. Sequential Evaluation of Dogs Naturally Infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii*, or *Bartonella vinsonii*. *J Clin Microbiol.* 1998; 36(9): 2645–2651.
8. Goldman, E.E., Breitschwerdt, E.B, Grindem, C.B., Hegarty, B.C., Walls, J.J., Dumler, J.S. Granulocytic ehrlichiosis in dogs from North Carolina and Virginia. *J.Vet. Interm. Med.* 1998; 12, 61-70.
9. Perez, M., Boodor, M., Zhang, C., Xiong, Q., Rikihisa, Y. Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. *Ann N Y Acad Sci.* 2006; 1078: 110-117.
10. Nefedova, V.V., Korenberg, E.I., Kovalevski, Iu.V., Gorelova, N.B., Vorob'eva, N.N. Microorganisms of the order *Rickettsiales* in taiga tick (*Ixodes persulcatus* Sch.) from the Pre-Ural region. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 2008; 7:47–50.
11. Pritt, B.S., Sloan, L.M., Johnson, D.K., y col. Emergence of a new pathogenic *Ehrlichia* species, Wisconsin and Minnesota, 2009. *N Engl J Med.* 2011; 365(5):422-9.
12. Louw, M., Allsopp, M.T., Meyer, E.C. *Ehrlichia ruminantium*, an emerging human pathogen--a further report. *S Afr Med J.* 2005; 95(12):948, 950.
13. Reeves, W.K., Loftis, A.D., Nicholson, W.L., Czarkowski, A.G. The first report of human illness associated with the Panola Mountain *Ehrlichia* species: a case report. *J Med Case Rep.* 2008; 2:139.
14. Otranto, D., Dantas-Torres, F., Breitschwerdt, E.B. Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part one. *Trends Parasitol.* 2009; 25(4):157-63.
15. Kocan, K.M., de la Fuente, J., Guglielmone, A., Meléndez, R.D. Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle. *Clin. Microbiol. Reviews.* 2003; 16(4): 698-712
16. Bock, R., De Vos. A. Immunity following use of Australian tick fever vaccine: a review of the evidence. *Aust. Vet. J.* 2001; 79:832–839.
17. Abarca, K., López, J., Acosta-Jamett, G., Lepe, P., Soares, J.F., Labruna, M.B. A third *Amblyomma* species and the first tick-borne rickettsia in Chile. *J Med Entomol.* 2012; 49(1):219-22.
18. André, M.R., Adania, C.H., Machado, R.Z., y col. Molecular and serologic detection of *Ehrlichia* spp. in endangered Brazilian wild captive felids. *J Wildl Dis.* 2010; 46(3):1017-23.
19. Cicuttin, G., Nava, S. Molecular identification of *Rickettsia parkeri* infecting *Amblyomma triste* ticks in an area of Argentina where cases of rickettsiosis were diagnosed. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013; 108(1):123-5.
20. García-García, J.C., Portillo, A., Núñez, M.J., Santibáñez, S., Castro, B., Oteo, J.A. A patient from Argentina infected with *Rickettsia massiliae. Am J Trop Med Hyg*. 2010; 82(4):691-2.
21. Martínez, M.C., Gutiérrez, C.N., Monger, F., Ruiz, J., Watts, A., Mijares, V.M., Rojas, M.G., Triana-Alonso, F.J. *Ehrlichia chaffeensis* in child, Venezuela. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14(3):519-20.
22. Miranda, J., Contreras, V., Negrete, Y., Labruna, M.B., Máttar, S. Surveillance of *Rickettsia* sp. infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) a potential model of epidemiological alert in endemic areas. *Biomedica.* 2011; 31(2):216-21.

23. Miranda, J., Portillo, A., Oteo, J.A., Mattar, S. *Rickettsia* sp. strain colombianensi (*Rickettsiales*: *Rickettsiaceae*): a new proposed *Rickettsia* detected in *Amblyomma dissimile* (*Acari*: *Ixodidae*) from iguanas and free-living larvae ticks from vegetation. *J Med Entomol.* 2012; 49(4):960-5.
24. Romer, Y., Nava, S., Govedic, F., y col. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis in different ecological regions of Argentina and its association with *Amblyomma tigrinum* as a potential vector. *Am J Trop Med Hyg.* 2014; 91(6):1156-60.
25. Tomassone, L., Nuñez, P., Gürtler, R.E., y col. Molecular detection of *Ehrlichia chaffeensis* in *Amblyomma parvum* ticks, Argentina. *Emerg Infect Dis.* 2008, 14(12):1953-5.
26. Kong, F. and Gilbert, G.L. Multiplex PCR-based reverse line blot hybridization assay (mPCR/RLB) a practical epidemiological and diagnostic tool. *Nat Protoc.* 2006; 1(6):2668-80.
27. Guglielmone AA, AE Viñabal. Claves morfologicas dicotomicas e informacion ecologica para la identificacion de las garrapatas del genero *Amblyomma* Koch, 1844 de la Argentina. *Rev Invest Agropec.* 1994; 25:36-67.
28. Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo, Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006; 23 p
29. Tomassone L, Nuñez P, Ceballos LA, y col. Detection of "*Candidatus* Rickettsia sp. strain Argentina" and *Rickettsia bellii* in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) from Northern Argentina. *Exp Appl Acarol.* 2010; 52(1): 93-100.
30. Petrigh R, Ruybal P, Thompson C, y col. Improved molecular tools for detection of *Babesia bigemina*. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1149:155-7
31. Bekker CP, S de Vos, A Taoufik et al. Simultaneous detection *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. *Vet Microbiol.* 2002; 89:223–38.
32. Jado I, R Escudero, H Gil y col. Molecular method for identification of species in clinical and environmental samples. *J Clin Microbiol.* 2006; 44(12):4572-6
33. Aktas M, Altay K, Dumanli N. Molecular detection and identification of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in cattle from Turkey. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011; 2(1):62-5.
34. Teshale S, Geysen D, Ameni G, Asfaw Y, Berkvens D. Improved molecular detection of *Ehrlichia* and *Anaplasma* species applied to *Amblyomma* ticks collected from cattle and sheep in Ethiopia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015; 6(1):1-7.
35. Fournier, P.E., Dumler, J.S., Greub, G., Zhang, J., Wu, Y., Raoult, D. Gene sequence-based criteria for identification of new rickettsia isolates and description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. nov. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(12):5456-65.
36. Pacheco RC, Moraes-Filho J, Nava S, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Labruna MB. Detection of a novel spotted fever group rickettsia in ticks *Amblyomma parvum* (*Acari*: *Ixodidae*) from Argentina. *Exp Appl Acarol.* 2007; 43:63–71.
37. Gubbels J. M., de Vos A. P., van der Weide M., y col. Simultaneous Detection of Bovine *Theileria* and *Babesia* Species by Reverse Line Blot Hybridization. J. *Clin. Microbiol.* 1999; 37(6): 1782-1789
38. Ellison DW, Clark TR, Sturdevant DE, Virtaneva K, Porcella SF, Hackstadt T. Genomic comparison of virulent *Rickettsia rickettsii* Sheila Smith and avirulent *Rickettsia rickettsii* Iowa. *Infect Immun.* 2008; 76(2):542-50.
39. Guedes E, Leite RC, Pacheco RC, y col. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma* ticks from an area endemic for Brazilian spotted fever in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2011; 20(4):308-11
40. Pacheco RC, Horta MC, Moraes-Filho J, y col. Rickettsial infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Sao Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia bellii* and *Rickettsia parkeri*. *Biomedica* 2007; 27(3):364–371
41. Monje LD, Nava S, Eberhardt AT, Correa AI, Guglielmone AA, Beldomenico PM. Molecular detection of the human pathogenic *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in *Amblyomma dubitatum* ticks from Argentina. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(2):167-9.
42. Pacheco RC, Horta MC, Pinter A, y col. Survey of *Rickettsia* spp in the ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum* in the State of São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42(3):351-3.

Sea como fuere, los hombres sabían ir hasta el fin del mundo, sabían destruir ciudades con un trueno artificial más terrible que el trueno verdadero; pero no conocían la circulación de la sangre, la gravidez del aire, las leyes del movimiento, la luz, el número de nuestros planetas, etc... Las invenciones más asombrosas y las más útiles, no son las que más honran al espíritu humano. Es el instinto mecánico, que está en la mayoría de los hombres, al que debemos las artes y no a la sana filosofía.
El descubrimiento del fuego, el arte de hacer el pan, de fundir y preparar los metales, de edificar cosas….fueron inventadas por hombres todavía salvajes.

Voltaire (Paris, Francia, 1694-1778).
Cartas filosóficas (doceava carta: Sobre el canciller Bacon)

Artículo original

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2015; 10(3): 15-19

Estudio proteómico para mejorar el reactivo PPD-B utilizado en el diagnóstico de tuberculosis bovina: Producción de nuevas mezclas enriquecidas con los componentes más antigénicos de la PPD-B

María Laura Mon[1], Roberto Damián Moyano[1], Mariana Viale[1], María Alejandra Colombatti[1], Ignacio José Gamietea[2], Bernardo Alonso[3], María de la Paz Santangelo[1], María Isabel Romano[1]

Resumen
La reacción de hipersensibilidad retardada (DTH) producida por la aplicación intradérmica del derivado proteico purificado de una cepa de *M. bovis* (PPD-B) y la prueba que mide liberación de interferón-gamma (IFN-ϒ) son usadas para el diagnóstico de tuberculosis bovina (TBB). La especificidad de estas pruebas puede verse comprometida si se utiliza PPD-B, debido a reaccionantes positivos por sensibilización con otras micobacterias. En el presente estudio evaluamos dichas pruebas con dos mezclas conteniendo proteínas recombinantes de *M. bovis*: Mezcla 1 (M1): con ESAT-6, CFP-10 y MPB83; y mezcla 2 (M2): con ESAT-6, CFP-10, MPB83, HspX, TB10:3 y MPB70. Las mezclas M1, M2 y PPD-B aplicadas intradérmicamente en cobayos sensibilizados con *M. bovis* mostraron respuestas similares. Sin embargo, M1 indujo una reacción significativamente menor que la PPD-B en cobayos sensibilizados con *M. avium*. En bovinos, utilizando M1 en la prueba de IFN-γ se obtuvo mayor especificidad que con PPD-B o M2, dado que M1 fue mínimamente detectada por animales con paratuberculosis (PTB) o experimentalmente vacunados con BCG. Para optimizar estas mezclas, se obtuvieron diferentes fracciones de las PPD-B identificándose 7 proteínas en aquellas fracciones más inmunogénicas: MPB70, MPB83, CFP10, CFP2, FixB, PepA y HspX. Al utilizar M1 con FixB en la prueba de IFN-γ aumentó el reconocimiento de animales en un rodeo con TBB, sin reaccionar animales de un rodeo con PTB. Nuestros resultados demuestran que esta nueva mezcla antigénica es detectada específicamente por animales con TBB, mientras que el reactivo PPD-B fue detectado por animales infectados con otras micobacterias.

Palabras claves: Tuberculosis bovina, proteínas recombinantes de *M. bovis*, reacción de hipersensibilidad retardada (DTH), prueba de liberación de gamma interferón (IFN-γ), PPD-B.

Proteomic study to improve PPD-B reagent used in the diagnosis of bovine tuberculosis: Production of new mixtures enriched with PPD-B antigenic components

Abstract
The delayed type hypersensitivity skin test (DTH) and the interferon-gamma (IFN-γ) assay are used for the diagnosis of bovine tuberculosis (TBB). However, the specificity of these tests is compromised because both are based on the response against purified protein derivative of *Mycobacterium bovis* (PPD-B). In the current study, we assessed the potential of two cocktails with *M. bovis* recombinant proteins: Cocktail 1 (C1) contained ESAT-6, CFP-10 and MPB83, and cocktail 2 (C2) with ESAT-6, CFP-10, MPB83, HspX, TB10:3 and MPB70. C1, C2 and PPD-B showed similar response by DTH in *M. bovis*-sensitized guinea pigs. Importantly, C1 induced a significantly lower response than PPD-B in *M. avium*-sensitized guinea pigs. In cattle, C1 had better performance diagnostic than PPD-B and even than C2 by IFN-γ assay; indeed, C1 detected animals with TBB, with the least detection of animals either vaccinated with BCG or with paratuberculosis. For an optimization of the cocktails, we obtained different protein fractions of PPD-B and tested them in experimentally *M. bovis*-infected cattle. In a fraction highly reactive seven proteins were identified: MPB70, MPB83, CFP10, CFP2, FixB, PepA and HspX. The inclusion of FixB in C1 enhanced the recognition of naturally *M. bovis*-infected cattle by IFN-γ assay without compromising specificity. Our data provide a promising basis for the future development of a cocktail for detection of TBB without interference by the presence of animals sensitized or infected with other mycobacteria.

Key words: bovine tuberculosis, delayed hypersensitivity reaction (DTH), release of gamma interferon test (IFN-γ), PPD-B.

1. Instituto de Biotecnología, INTA, Los Reseros y N. Repetto (1686), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina, Tel: 4621-1447, Fax: 4621-0199.
2. INTA Estación Experimental Agropecuaria Delta, Buenos Aires, Argentina.
3. SENASA, Dirección de Laboratorio y Control Técnico (DILAB), Martínez, Argentina.
romano.mariaisabel@inta.gob.ar

Recibido: 15-02-2015
Aprobado: 20-07-2015

Introducción

La tuberculosis continúa siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo. El agente más común de la tuberculosis humana es *M. tuberculosis*, pero una proporción de casos son debido a *Mycobacterium bovis*, el agente causante de la tuberculosis bovina (TBB). *M. tuberculosis* y *M. bovis* pertenecen al complejo TB, formando un grupo taxonómico dentro del género micobacteria altamente relacionado a nivel genético, difícil de diferenciar si no se aplican técnicas moleculares. La TBB es considerada una de las zoonosis más importantes en Argentina, a la cual están principalmente expuestos los trabajadores rurales y de frigorífico, así como, los que consumen leche cruda sin pasteurizar. En Argentina, durante 2004–2005, fueron recogidas 448 muestras de esputos de pacientes con diagnóstico de TB, donde el 2% de estas TB pulmonares fueron debido a *M. bovis*. En este trabajo se identificó una cepa de *M. bovis* multiresistente a las drogas antituberculosas, que se transmitió por contagio persona-persona[1]. Los resultados de tuberculosis debido a *M. bovis* en humanos son sesgados debido a que muchos de los casos son extrapulmonares, por ello, la real prevalencia debería establecerse estudiando molecularmente los aislamientos de pacientes con formas pulmonares y extrapulmonares. Es esencial controlar y erradicar la TBB, en primer lugar por su implicancia en Salud Pública, pero también por las pérdidas que ocasiona en la producción ganadera, sumado a que limita el desarrollo de la industria lechera y de la carne en el comercio internacional. Los programas de erradicación de TBB en Argentina están basados en la detección de los animales infectados utilizando la reacción de hipersensibilidad retardada (DTH) producida por la inoculación intradérmica de un derivado proteico purificado de *M. bovis* (PPD-B). En algunos países para el control de esta enfermedad también se utiliza un ensayo que mide la liberación de IFN-γ, por linfocitos estimulados con PPD-B. Este reactivo es una mezcla de proteínas, lípidos y carbohidratos obtenidos de un cultivo de *M. bovis*. Si se utiliza PPD-B para ambas técnicas se obtienen falsos positivos con animales infectados con *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map), el agente etiológico de la paratuberculosis, o con animales sensibilizados con otras micobacterias. El objetivo de este estudio fue evaluar diferentes mezclas con proteínas antigénicas conocidas de *M. bovis* y proteínas obtenidas de fracciones altamente inmunoreactivas de la PPD-B, para mejorar la especificidad en el diagnóstico de TBB.

Materiales y Métodos

Los lotes de PPD-B comerciales que se utilizan en el diagnóstico de TBB son evaluados por SENASA utilizando DTH en cobayos sensibilizados con *M. bovis*. Por lo tanto, en la primera parte de este trabajo utilizamos este modelo animal para evaluar nuevos reactivos para el diagnóstico de TBB. En este modelo animal se probaron 2 mezclas con proteínas recombinantes de *M. bovis*. Mezcla 1 (M1): ESAT-6, CFP-10 y MPB83; y mezcla 2 (M2): ESAT-6, CFP-10, MPB83, MPB70, TB10:3 y HspX. La potencia de estas mezclas fue evaluada por DTH en cobayos sensibilizados con *M. bovis* (n=6) y *M. avium* (n=4). El objetivo de esta parte experimental fue contrastar la potencia de las mezclas con la potencia de la PPD-B de producción nacional, en los cobayos sensibilizados con ambas micobacterias. Por esta razón en esta parte experimental solo se utilizó PPD-B y no utilizamos el derivado proteico purificado obtenido de la cepa D4ER de *M. avium* (PPD-A). Se incluyó un grupo de cobayos no sensibilizados como controles. En bovinos, las mezclas se evaluaron midiendo liberación de IFN-γ, con un ELISA comercial (*Bovigam*™; *Prionics*) en animales experimentalmente infectados con *M. bovis* (n=6) y vacunados con BCG (n=5). El número de animales utilizados en esta parte del trabajo respondió a la capacidad de los boxes de seguridad biológica que utilizamos para esta experiencia. También se incluyó un grupo de bovinos naturalmente infectados con Map (n=17) para evaluar la especificidad de las mezclas. Los resultados fueron expresados en ODI=OD obtenida con las mezclas de proteínas/OD obtenido con PBS. Una ODI$\geq$2 fue considerada positiva. En la segunda parte de este estudio, se realizó un fraccionamiento de las proteínas de la PPD-B en SDS-PAGE 12% y las fracciones recolectadas por electroelución fueron evaluadas con la sangre de animales experimentalmente infectados con *M. bovis*. En las fracciones más antigénicas se identificaron las proteínas por espectrometría de masa (LTQ, Thermo Fisher Scientific). Las nuevas mezclas se evaluaron en un rodeo con TBB (n=58) y a su vez la especificidad en un rodeo con PTB (n=10) utilizando el ensayo de liberación de interferón gamma.

Resultados

En los cobayos sensibilizados con *M. bovis* no hubo diferencias significativas cuando se inoculó intradérmicamente M1, M2 o PPD-B (Fig. 1A); mientras que en los cobayos sensibilizados con *M. avium*, la reacción fue significativamente menor con M1 que con PPD-B ($P<0,05$) (Fig. 1 inferior). Los cobayos no sensibilizados resultaron negativos a la inoculación de las mezclas. Estos resultados mostraron que M1 es

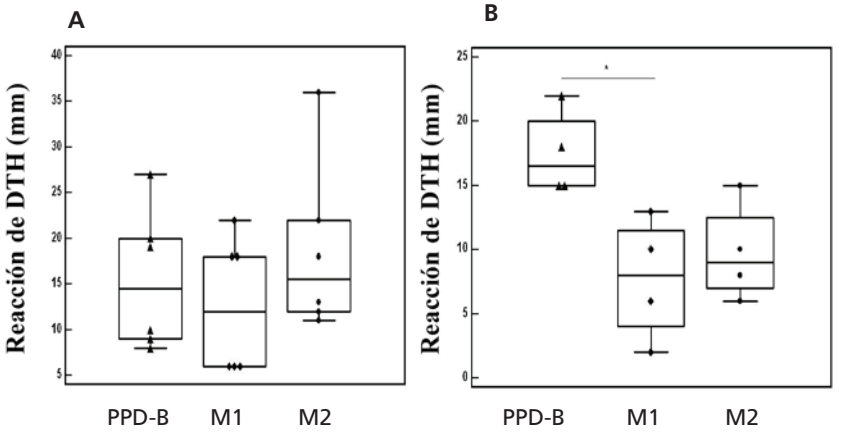
un reactivo potencialmente específico para el diagnóstico de TBB. En los bovinos experimentalmente infectados con *M. bovis* (Fig. 2 A), o vacunados con BCG (Fig. 2 B) no se observaron diferencias significativas entre los valores de IFN-γ inducidos por M1, M2 y PPD-B (Fig. 2 A y B). Sin embargo, en animales con PTB (Fig. 3), M1 es más efectiva que PPD-B y M2 al no detectar animales con PTB (Fig. 3).

Cuando se evaluaron las proteínas contenidas en las fracciones inmunogénicas de la PPD-B se identificaron 7 proteínas: MPB70, MPB83, CFP10, CFP2, FixB, PepA y HspX. Al utilizar M1 con FixB en la prueba de IFN-γ, aumentó el reconocimiento de animales en un rodeo con TBB (Fig. 4 A), sin detectar animales en un rodeo con PTB (Fig. 4 B).

Discusión

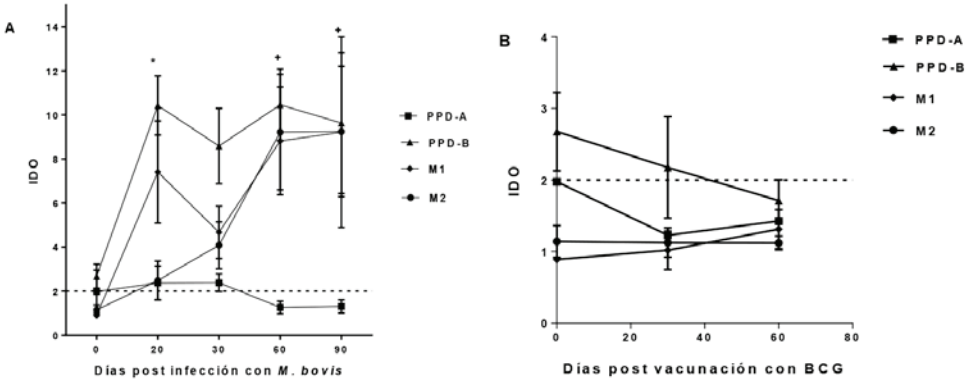
Para formular el contenido de proteínas de M1 y M2 tuvimos en cuenta los siguientes datos previos: 1- los miembros de la familia Esx, tal como ESAT-6, CFP-10 y TB10:3 (Rv3019c) han sido identificados como potentes antígenos capaces de activar las células $T^{2.3}$, 2- en un ensayo con varios antígenos de *M. bovis* midiendo liberación de IFN-γ en bovinos naturalmente infectados, se encontró que ESAT-6 y CFP-10, fueron superiores a los otros antígenos evaluados, para el diagnóstico de TBB[4], 3- los antígenos de *M. bovis*, MPB70 y MPB83, inducen fuerte liberación de IFN-γ en experiencias con sangre de animales con TBB, mientras que vacunados con BCG o sensibilizados con *M. avium* no responden[5], 4- el

Figura 1. Respuesta de intradermoreacción (DTH) en cobayos sensibilizados.



DTH inducida por PPD-B, M1 y M2 en cobayos sensibilizados con *M. bovis* (A) y en cobayos sensibilizados con *M. avium* (B). Las diferencias entre las respuestas fueron determinadas usando el test de Mann Whitney (*, P < 0.05).

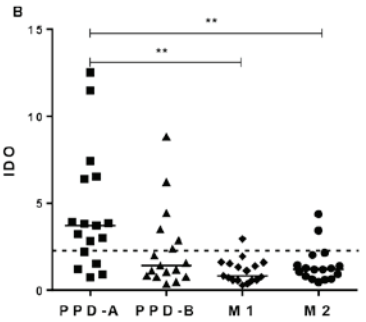
Figura 2. Evaluación de las mezclas en bovinos infectados o vacunados mediante el ensayo de liberación de interferón gamma.



Respuesta de IFN-γ inducida por PPDB, M1 y M2 en bovinos experimentalmente infectados con *M. bovis* (n=6) (A) y vacunados con BCG (n=5) (B). Los resultados se expresan como media de las ODIs con desviación estándar.

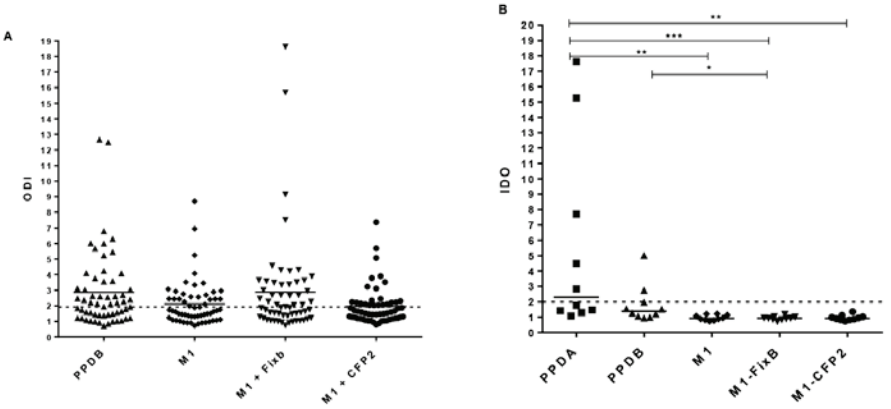
fraccionamiento de proteínas del filtrado de cultivo y el extracto celular de *M. bovis*, permitió identificar varias proteínas, de las cuales EsxI y HspX, fueron las que detectaron la mayor cantidad de animales con TBB, al ser utilizadas en la prueba de IFN-γ[6], 5- CFP-10 y ESAT-6 están presentes en el complejo TB y no en el complejo *M. avium*, y la proteína MPB83, se expresa mayoritariamente en *M. bovis* por lo cual sus ortólogos en otras micobacterias patógenas no representa una limitación para su utilización en una mezcla específica para el diagnóstico de TBB[7]. De acuerdo con estos estudios realizados previamente, se prepararon 2 mezclas, que contenían, M1: ESAT-6, CFP-10 y MPB83; y M2: ESAT-6, CFP-10, MPB83, HspX, TB10.3 y MPB70. Los antígenos contenidos en M1, los cuales ya habían sido previamente evaluados en bovinos con TBB[8], en el presente estudio fueron evaluados primero en cobayos sensibilizados con *M. avium*, donde dieron una respuesta significativamente menor que la reacción obtenida por la inoculación de PPD-B, pero aun considerable. Esta reacción de M1 podría deberse a genes de la familia esat-6 y cfp-10 presentes en *M. avium*[9]. La utilización de estos antígenos podría influir negativamente en el diagnóstico específico de TBB, sin embargo M1 induce la liberación de IFN-γ en animales experimentalmente infectados con *M. bovis*, sin inducir una reacción positiva en animales vacunados con BCG y solo detectó un animal en un rodeo con PTB. Con respecto a M2, la otra mezcla utilizada en este estudio, la inclusión de MPB70, Hspx y TB10:3 no incrementó la respuesta de IFN-γ en animales con TBB,

Figura 3. Evaluación de las mezclas en bovinos naturalmente infectados con MAP mediante el ensayo de liberación de Interferón gamma.



Respuesta de IFN-γ inducida por PPD-A, PPD-B, M1 y M2 en bovinos naturalmente infectados con Map (n=17). Se expresan los resultados de cada animal. La barra horizontal representa el valor medio de las ODIs. La línea horizontal punteada representa el valor de corte usado para considerar los animales positivos.

Figura 4. Evaluación de la nueva mezcla por el ensayo de liberación de interferón gamma.



Respuesta de IFN-γ inducida con PPD-A, PPD-B, M1, M1 más FixB y M1 más CFP2 en bovinos de un rodeo con TBB (n=58) (A) y con PTB (n=10) (B). Se expresan los resultados de cada animal. La barra horizontal representa el valor medio de las ODIs y la barra horizontal punteada representa el punto de corte usado para considerar los animales positivos.

comparada con M1 a pesar de la inmunogenicidad *in vitro* previamente demostrada de estas proteínas adicionadas. Como algunos de estos antígenos, tales como MPB70 y MPB83, comparten identidad en la secuencia de proteínas > 70%, es probable que su combinación resulte redundante. En la formulación de M1 con los antígenos dominantes de células T, ESAT-6 y CFP-10, se incluyó MPB83, por que se ha postulado que este antígeno, puede jugar un rol en promover la iniciación de la reacción celular, de esta forma ayudando a dar una mejor respuesta a los antígenos dominantes[10]. La inclusión de un nuevo antígeno de la PPD-B, evaluado por primera vez en este trabajo, FixB, aumentó la sensibilidad-especificidad del diagnóstico de TBB con respecto a las mezclas previamente evaluadas.

Conclusiones

La importancia de este estudio radica en que se evaluó una mezcla de antígenos conocidos de *M. bovis*, ESAT-6, CFP-10, MPB83 y un antígeno identificado en este trabajo, FixB, los cuales constituyeron una mezcla reactiva de gran utilidad para el diagnóstico específico de TBB, diferenciando animales con TBB de PTB. De acuerdo con el resultado obtenido por espectrometría de masas de las proteínas contenidas en las fracciones más inmunoreactivas de la PPD-B, las 4 proteínas de esta nueva mezcla están contenidas en la PPD-B, pero a diferencia de lo que ocurre con este último reactivo, la nueva mezcla evita las reacciones falsas positivas por la presencia de animales sensibilizados o infectados con otras micobacterias. Por otra parte, la utilización de este nuevo reactivo en el diagnóstico de TBB, también permitiría utilizar vacunas contra PTB, sin que dichas vacunas interfieran en el diagnóstico de TBB, una de las principales causas por las mismas no son utilizadas en los países que aún no han erradicado la TBB.

Bibliografía

1. Etchechoury et al. "Molecular typing of *Mycobacterium bovis* isolates in Argentina: first description of a person-to-person transmission case", *Zoonoses Public Health* 2010, 57(6): 375-81.
2. Cockle et al. "Field evaluation of a novel differential diagnostic reagent for detection of *Mycobacterium bovis* in cattle", *Clinical and Vaccine Immunology* 2006, 13(10): 1119-24.
3. Jones et al. "Screening of predicted secreted antigens from *Mycobacterium bovis* reveals the immunodominance of the ESAT-6 protein family". *Infection and Immunity* 2010, 78(3): 1326–32.
4. Aagaard et al. "Optimizing antigen cocktails for detection of *Mycobacterium bovis* in herds with different prevalences of bovine tuberculosis: ESAT6-CFP10 mixture shows optimal sensitivity and specificity", *Journal of Clinical Microbiology* 2006, 44(12): 4326–35.
5. Vordermeier et al. "Development of diagnostic reagents to differentiate between *Mycobacterium bovis* BCG vaccination and *M. bovis* infection in cattle", *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 1999, 6(5): 675–82.
6. Meikle et al. "Identification of Novel *Mycobacterium bovis* Antigens by Dissection of Crude Protein Fractions", *Clinical and Vaccine Immunology 2009*, 16(9): 1352–9.
7. Wiker. "MPB70 and MPB83 – Major Antigens of *Mycobacterium bovis*", *Scandinavian Journal of Immunology* 2009, 69(6): 492–9.
8. Vordermeier et al. "Development of Diagnostic Reagents To Differentiate between *Mycobacterium bovis* BCG Vaccination and *M. bovis* Infection in Cattle", *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 1999, 6(5): 675-82.
9. Gey Van Pittius et al. "The ESAT-6 gene cluster of *Mycobacterium tuberculosis* and other high G+C Gram. positive bacteria", *Genome Biology* 2001, 2(10):RESEARCH0044.
10. Whelan et al. "Development of a skin test for bovine tuberculosis for differentiating infected from vaccinated animals", *Journal of Clinical Microbiology* 2010, 48(9): 3176–81.

El intuitivo

Dicen que en el riñón de Andalucía hubo una escuela de médicos. El maestro preguntaba:

- *Que hay con este enfermo, Pepipllo?*
- *Para mí –respondía el discípulo– que se trae una cefalalgia entre pecho y espalda que lo tiene frito.*
- *Y por qué lo dices salado?*
- *Señor maestro: porque me sale del alma.*

De Alfonso Reyes, *El deslinde* (1944),
en *Cuentos breves y extraordinarios*, de Jorge Luis Borges y Adolfo Bioy Casares.

Artículo original

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2015; 10(3): 20-24

Fortalecimiento de la responsabilidad ciudadana en la prevención de las enfermedades transmitidas por alimentos y zoonosis

Jesica Blajman[1], Diego Astesana[1], Analía Romero Scharpen[1]; Surpik Karabdajian[2], Ayelén Berisvil[1], Jorge Zimmermann[1], Eugenia Rossler[1], Laureano Frizzo[1,2], Marcelo Signorini[2,3], Enrique Martí[2], Gabriel Sequeira[2], Marcelo Rosmini[2], María Virginia Zbrun[1,2]

Resumen
Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) constituyen un problema de salud pública creciente en todo el mundo. Si bien muchas de las ETAs son a su vez zoonosis, existe un número importante de zoonosis que no lo son y que ocasionan serios problemas de salud. Antes de elaborar estrategias tendientes a reducir la incidencia de las ETAs y zoonosis, resulta imprescindible evaluar el grado de conocimiento que tiene el segmento de la población más receptivo a tener cambios positivos de hábitos y conductas: los niños. Los objetivos de este trabajo fueron determinar el grado de conocimiento sobre ETAs y zoonosis que presentaban los niños de séptimo grado de escuelas primarias en comunidades pequeñas e intermedias de la provincia de Santa Fe, promover en los estudiantes una actitud responsable respecto del cuidado de su salud y desarrollar un instrumento que pudiera servir como complemento a los programas educativos ya establecidos por el Ministerio de Educación. Aproximadamente la mitad de los estudiantes (56.1%) no conocía el significado de la palabra zoonosis. Asimismo, más del 90% de los encuestados no pudo identificar las estrategias con las que el médico veterinario cuenta para inculcar criterios de salud en la comunidad. Por lo expuesto anteriormente, a través de un proyecto de extensión que incluyó actividades educativas y formativas, se buscó articular los conceptos generales y particulares de prevención de ETAs y zoonosis, recuperando a la escuela como espacio ideal para la generación de cambios futuros y a los docentes como agentes de cambio social.

Palabras clave: Enfermedades transmitidas por los alimentos, zoonosis, encuesta, educación para la salud.

Strengthening of civic responsibility in prevention of foodborne diseases and zoonoses

Abstract
It is generally acknowledged that food-borne diseases (FBD) constitute a growing public health problem worldwide. While many of them are also zoonoses it is worth noticing that a significant number of zoonoses that cause serious health problems are not FBD. Before determining the degree of knowledge about FBD and zoonoses among the population, it is essential to assess how much knowledge children have, as they constitute the most receptive group of people to change habits and behaviors. The aims of this study were to evaluate the level of awareness of FBD and zoonoses in seventh grade students in small and mid-size communities in the province of Santa Fe, to promote a responsible attitude towards their health care and to develop an instrument that could be used as a complement to the educational programs established by the Ministry of Education. About half of the students (56.1%) did not know what the meaning of zoonoses was. In addition, over 90% of students could not identify the strategies used by veterinarian to prevent and control public health problems. In view of the foregoing, by means of an extension project that included educational and training activities, we sought to manage general and specific concepts to prevent FBD and zoonoses, recovering school as an ideal place for the generation of future changes, and teachers as agents of social change.

Key words: Food-borne diseases, zoonoses, survey, health education.

Introducción

La alimentación es esencial para la salud, pero pese a los adelantos tecnológicos, la necesidad de suministrar alimentos inocuos constituye todavía un problema mundial de salud pública[1]. Si bien es difícil estimar con certeza la incidencia mundial de las ETAs, la importancia del problema es evidente debido al número de personas enfermas o que

1. Laboratorio de Análisis de Alimentos, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral, Consejo Nacional del Investigaciones Científicas y Técnicas (ICIVET-CONICET/UNL), Kreder 2805 (S3080HOF) Esperanza, Santa Fe, Argentina.
2. Departamento de Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Kreder 2805 (S3080HOF) Esperanza, Santa Fe, Argentina.
3. Consejo Nacional del Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Rafaela, Ruta 34 Km 227 (2300) Rafaela, Santa Fe, Argentina.
jblajman@yahoo.com.ar.

Recibido: 15-02-2015
Aprobado: 20-07-2015

mueren por haber ingerido alimentos no aptos para el consumo. La OMS informó que, anualmente, se producen aproximadamente 2.2 millones de muertes por enfermedades diarreicas, 1.8 millones de las cuales ocurrieron en niños menores de cinco años[2]. En Argentina, las ETAs están comprendidas en la Ley 15465 de notificación médica obligatoria, como parte del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica[3]. Sin embargo, la mayoría de los casos no son notificados, por lo que se desconoce la verdadera dimensión del problema y por lo tanto es frecuente que los esfuerzos para asegurar soluciones efectivas fracasen. Esto es debido a que, al no haber datos, no se puede disponer de los recursos y el apoyo necesarios para la identificación del problema y la implementación de soluciones adecuadas[4].

Muchas de las ETAs son a su vez zoonosis, pero existe un número importante de zoonosis que no lo son, constituyendo algunas enfermedades emergentes y otras re-emergentes. En la actualidad, estas enfermedades representan un gran porcentaje de las enfermedades descritas en muchos países y constituyen el origen de pérdidas económicas tanto para la salud animal como para la salud pública[5]. Es importante destacar que alrededor del 75% de las enfermedades emergentes en humanos corresponden a zoonosis[6]. Algunas de ellas son enfermedades laborales y afectan a trabajadores rurales y de industrias (frigoríficas), mientras que otras se relacionan con los animales de compañía. En general, en la epidemiología de estas zoonosis, al igual que con las ETAs, también se vinculan con costumbres y hábitos en sectores de la sociedad que ponen en riesgo la salud[7]. Tanto para las ETAs como para las zoonosis existe un doble impacto en la sociedad. Por un lado el impacto en la salud pública (morbilidad y mortalidad), puesto de manifiesto en las estadísticas. Y un segundo impacto relacionado con las pérdidas económicas, que van desde las producidas por la atención de pacientes, por el decomiso de alimentos, la intervención de organismos de control, entre otros[8].

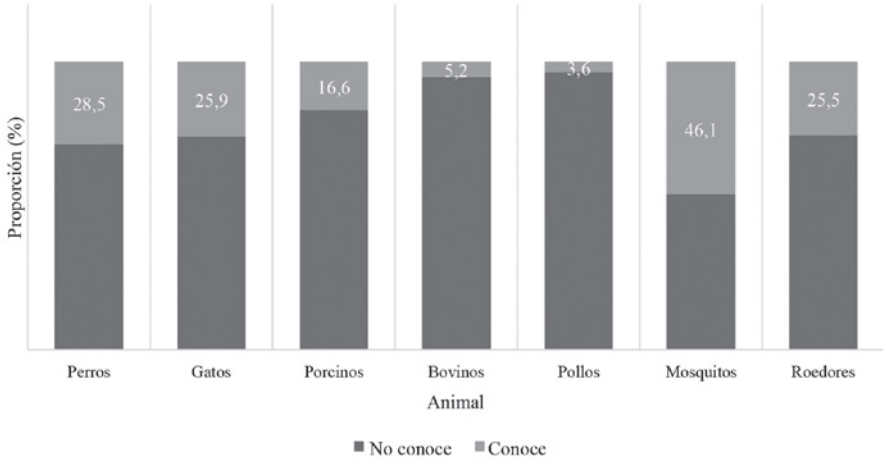
A nivel de la educación formal, las problemáticas de salud no son en general analizadas desde el enfoque de los roles en la sociedad, tanto del Estado como del ciudadano. Resulta necesario evidenciar las responsabilidades y obligaciones que ambos tienen en preservar la salud, en particular previniendo las ETAs y zoonosis.

Conocer el nivel de información que maneja la población acerca de las ETAs y zoonosis es importante para poder elaborar estrategias tendientes a reducir la incidencia de estas enfermedades. El objetivo de este trabajo fue determinar el grado de conocimiento sobre ETAs y zoonosis que presentaban los niños de séptimo grado de escuelas primarias en comunidades pequeñas e intermedias de la provincia de Santa Fe, promover en los estudiantes una actitud responsable respecto del cuidado de su salud y desarrollar un instrumento que pudiera servir como complemento a los programas educativos ya establecidos por el correspondiente Ministerio de Educación.

Materiales y Métodos

El equipo responsable del diseño, ejecución y evaluación del trabajo fue interdisciplinario. Esto contribuyó a un correcto diagnóstico de situación y a la generación de diversas actividades para el abordaje de la problemática detectada.

Figura 1. Conocimiento de las especies transmisoras de zoonosis

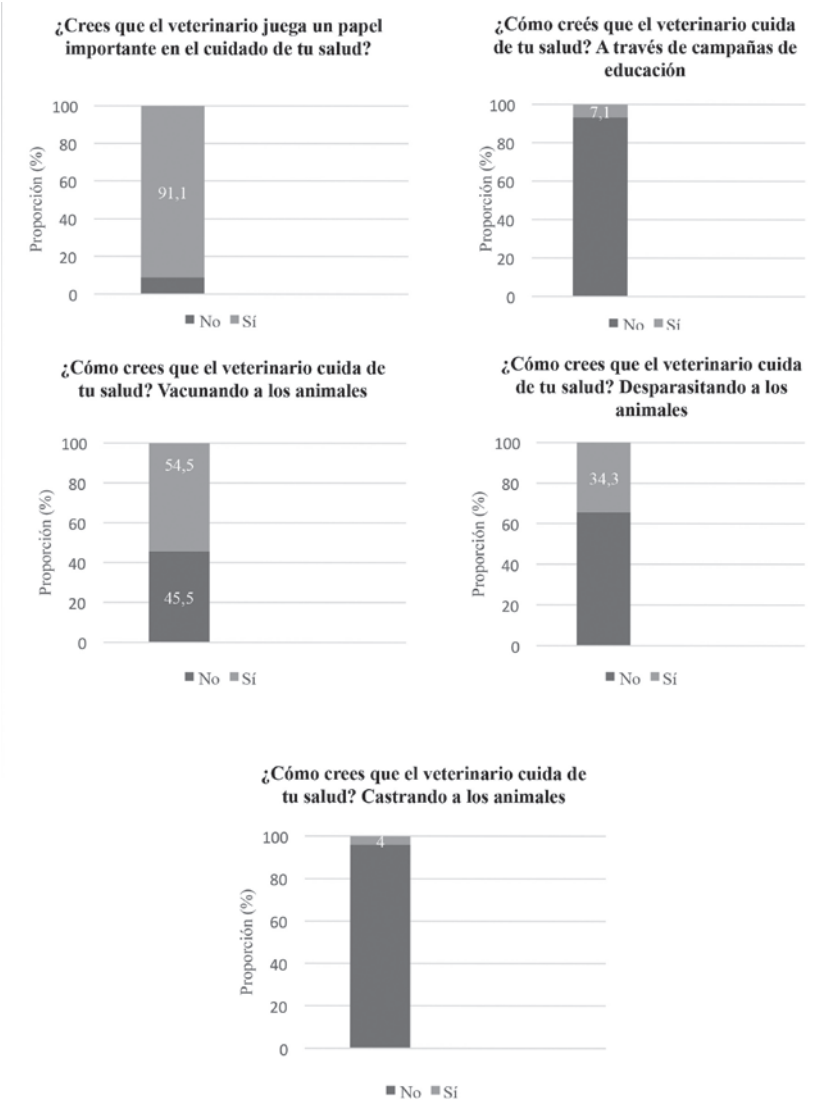


Las actividades tuvieron como destinatario directo a alrededor de 300 estudiantes de séptimo grado de escuelas primarias de los departamentos Las Colonias y Castellanos de la provincia de Santa Fe. Se trabajó con 10 escuelas rurales y urbanas, ubicadas en Esperanza, Colonia Nueva, Humboldt, Rafaela, Egusquiza y Capilla Fassi. También fueron destinatarios del proyecto los docentes de las mencionadas escuelas, a quienes se capacitó para que sean los continuadores de las actividades en los años subsiguientes. Las actividades se desarrollaron en 24 meses, con un total de 80 horas clase.

Para conocer el grado de conocimiento que los alumnos tenían acerca de las ETAs y zoonosis, se realizó un cuestionario con preguntas de opciones múltiples. Una vez realizadas las encuestas se creó una base de datos en Excel desde donde se consolidó la información.

A partir de la información generada por las encuestas se definió una metodología educativa de abordaje. Se estableció como estrategia el desarrollo de clases teóricas bajo la modalidad de exposiciones y la realización de talleres. Se diseñaron módulos de aprendizaje destinados a reforzar los temas menos conocidos o comprendidos por los estudiantes. Los mismos se elaboraron teniendo en cuenta la población objetivo (estudiantes con una edad promedio de 12 años y docentes de escuelas primarias), utilizándose un lenguaje y un nivel de contenidos apropiados. Asimismo, se diseñó un paquete de presentaciones en PowerPoint que fue utilizado como material de apoyo en las actividades

Figura 2. Percepción del rol del médico veterinario en la salud pública



con los estudiantes de las escuelas. Por otro lado, para reforzar y evaluar los conocimientos aprendidos en clase, se trabajó bajo la modalidad taller a través de instancias de diversión y entretenimiento, empleándose diferentes actividades lúdicas.

Resultados

La encuesta como herramienta diagnóstica

Con relación al conocimiento de las zoonosis, aproximadamente la mitad de los estudiantes (56.1%) no conocía cuál era su significado. Con respecto a la posibilidad de adquirir enfermedades por consumir carne poco cocida, gran parte de los encuestados (67.5%) consideró que esto no era posible.

En lo que respecta a la transmisión de enfermedades por parte de las mascotas, solo el 10.5% de los encuestados sostuvo que acariciar a su mascota podía ser una vía de contagio de enfermedades. En tanto, un 96.5% declaró que los perros abandonados podían transmitir enfermedades y un 65.5% aseguró que podían enfermar si eran mordidos por un perro.

Al consultar sobre la probabilidad de contraer enfermedades al comer verdura mal lavada, un 71.5% dijo que no era posible. Al preguntar a los estudiantes si entendían que podían enfermarse por hacer jardinería sin tomar los recaudos apropiados, un 96% declaró que no.

Si bien habían oído nombrar algunas enfermedades zoonóticas, el conocimiento de las especies que las transmiten fue limitado (Figura 1). Otros resultados demostraron que el 97.6% de los estudiantes conocía qué era el dengue, mientras que solo el 11.1% había oído hablar de leishmaniosis y un 44.7% conocía la enfermedad provocada por los hantavirus. Sin embargo, entre los estudiantes que manifestaron conocer esta última zoonosis, solo un 45.8% aseveró que "el ratón" es el agente transmisor.

De acuerdo a los estudiantes, el 90.7% de sus mascotas habían recibido atención veterinaria, el 87.2% habían sido desparasitadas y el 75% vacunadas. No obstante, menos de la mitad de los estudiantes (43.5%) aseguró haber vacunado a su mascota de pequeño y luego de manera rutinaria una vez por año. Adicionalmente, solo un 42.3% de los animales de compañía habían sido esterilizados. Estos porcentajes evidenciaron el desconocimiento existente alrededor del concepto "Tenencia Responsable de Mascotas". La mayoría de los encuestados (91.1%) consideró importante el papel del Médico Veterinario como agente en la prevención y promoción de la salud. Sin embargo, muy pocos pudieron determinar mediante qué herramientas puede lograrlo (Figura 2).

La educación como alternativa de cambio

Los módulos confeccionados incluyeron un cuadernillo de material teórico para docentes, un cuadernillo con actividades lúdicas para estudiantes y un cuadernillo de material teórico para estudiantes. Las exposiciones fueron dinámicas y participativas, promoviéndose el aporte de los estudiantes, con su opinión o destacándose las experiencias que habían vivido en torno al tema. Durante las exposiciones se brindaron contenidos claves, de manera que a los estudiantes les permita reflexionar sobre la adopción de nuevos hábitos o actitudes relacionados con un adecuado manejo de los alimentos y el cuidado de las mascotas. A su vez, se brindaron pautas básicas de prevención para hacer frente a las enfermedades reemergentes y así disminuir la diseminación de las mismas. Se profundizaron aspectos generales sobre el rol del ciudadano y del Estado en materia de salud pública, con énfasis en las obligaciones de ambos.

Las actividades lúdicas estuvieron dirigidas a profundizar sobre el conocimiento de las zoonosis urbanas y rurales, así como la tenencia responsable de mascotas, la prevención de ETAs y la correcta manipulación de los alimentos en el hogar. Se diseñó un juego de mesa denominado "ZOOnrisas y morisquETAs" (similar al juego "Pictionary"®) que consistió en adivinar una palabra a través de un dibujo o representación. El diseño de este juego contenía un tablero de aproximadamente 50 casillas de diferentes colores, 4 fichas, una caja llena de tarjetas de juego, un dado, un reloj de arena, pizarrón, tizas y fibrones. Las tarjetas de juego presentaban definiciones o preguntas acerca de la problemática

Figura 3. Juego de mesa "ZOOnrisas y morisquETAs"

de las zoonosis y ETAs, así como una leyenda que indicaba si las representaciones se realizarían a través de dibujos o mímica (Figura 3). Este juego tuvo como propósito reflejar la ineludible relación que hay entre los conceptos teóricos desarrollados en el material impreso y la realidad de la vida cotidiana. A través de las situaciones concretas planteadas, se pudo reajustar el nivel de comprensión y aprendizaje de los conocimientos teóricos analizados.

Discusión

Los resultados de la encuesta mostraron que los estudiantes poseían conocimientos básicos, pero insuficientes para prevenir la aparición de ETAs y zoonosis. Por lo tanto, además de profundizar consignas seleccionadas, era necesario enseñar y fundamentar conceptos nuevos en los niños. La educación sanitaria ayuda a los individuos a alcanzar la salud por sus propios medios y esfuerzos, estimulando en ellos el interés por mejorar sus condiciones de vida y despertando un sentido de responsabilidad como individuo y como miembro de una comunidad[9]. La universidad pública, a través de sus docentes y estudiantes, tiene la misión de recibir las iniciativas y demandas que lleguen de diversos ámbitos y unir esfuerzos con los organismos gubernamentales para poner en práctica las medidas que resulten necesarias para mejorar la calidad de vida de las personas. El grado de participación, el nivel de aceptación y las expectativas que se crean por la implementación de este tipo de intervenciones educativo-sanitarias, indican que la aplicación de estos proyectos coincide con necesidades reales de las comunidades[10]. Los Médicos Veterinarios pueden hacer numerosas intervenciones prácticas para establecer hábitos de vida saludables en la sociedad. Y en ese intento de aplicación de conocimientos teóricos a situaciones socio-económicas y culturales concretas, en realidad generan un intercambio que les permite no solo transmitir saberes, sino que además los participantes sean permeables a enriquecedores aportes.

Conclusión

Como análisis posterior a la finalización del proyecto, podemos concluir que el conocimiento que tienen los niños acerca de las ETAs y zoonosis es insuficiente. La aplicación de estrategias educativas de abordaje logró el compromiso de todos los actores involucrados y motivó a los estudiantes para que participen activamente en instancias o programas de prevención y control de los problemas sanitarios que le afectan en forma directa o indirecta en su comunidad. Sin embargo, para que las acciones sean sostenidas y multiplicadas en el tiempo, es importante que desde la educación formal se incorporen aspectos vinculados con la responsabilidad ciudadana en materia de salud pública.

Agradecimientos

La realización de este Proyecto de Interés Social ha sido posible gracias al financiamiento otorgado por la Universidad Nacional del Litoral.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Mercado CE. Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral. *Agroalimentaria* 2007; 24:119-131.
2. Organización Mundial de la Salud. The global burden of disease: 2004 update. WHO, Ginebra, Suiza, 2008.
3. Di Pietro S, Haritchabalet K, Cantoni G. y col. Vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos en la provincia de Río Negro, Argentina, 1993-2001. *Medicina* 2004; 64: 120-24.
4. Organización Mundial de la Salud/Organización para la Alimentación y la Agricultura. Información estadística sobre enfermedades transmitidas por los alimentos en Europa peligros microbiológicos y químicos. Conferencia paneuropea sobre calidad e inocuidad de los alimentos. Hungría. [consulta el 18 de junio de 2015]. 2002. Disponible en: http://www.fao.org
5. Gil AD y Sanmartino L. Zoonosis en los sistemas de producción animal en las áreas urbanas y periurbanas de América Latina. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. [consulta el 18 de junio de 2015]. 2000. Disponible en: http://www.fao.org
6. Brown C. Emerging zoonoses and pathogens of public health significance-an overview. *Rev sci tech Off int Epiz.* 2004; 23 (2): 435-42.
7. Broglia A y Capel C. Changing dietary habits in a changing world: emerging drivers for the transmission of foodborne parasitic zoonoses. *Vet Parasitol* 2014; 182(1): 2-13.
8. Martí LE, Sequeira GJ, Rosmini MR y col. Food Safety. La seguridad alimentaria como política pública. Buenos Aires, Argentina. OPS Argentina. 2012.
9. Vaquero J. Vigilancia sanitaria individual y educación sanitaria. En: Salud Pública. Madrid, España. 1982, p. 92-102.
10. Alessandrini P, Bofill S, Bolocco S y col. Educación para la promoción de la salud en zoonosis y una mejor relación persona-animal. *Rev Med Vet* 1998; 80(5):371-76.

Artículo especial

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2015; 10(3): 25-29

La Novena Reunión de la Sociedad Argentina de Patología Regional en Mendoza: a 80 años de su inauguración

Sergio Bontti[1]

Resumen
La 9° reunión de la Sociedad Argentina de Patología Regional del Norte (SAPRN) celebrada en Mendoza en 1935, fue en su momento un reflejo de lo más elaborado del conocimiento científico en el ámbito federal, por el grado de participación de trece de las catorce provincias que componían el estado nacional en esa época, y por el intenso uso de técnicas diagnósticas como imágenes, electrocardiográficas y de laboratorio en conjunto con detalladas historias clínicas y trabajos experimentales. Como resultado de esta reunión se contaba con un actualizado mapa de distribución de patologías regionales, un objetivo que seguimos persiguiendo aún en la actualidad, cuando contamos con importantes recursos informáticos y comunicacionales.

Palabras clave: Chagas, Mazza, patología regional, sociedad de patología regional, Mendoza.

The Ninth Meeting of the Argentine Society of Pathology Regional in Mendoza: at 80 years after its inauguration

Abstracts
The 9th meeting of the Argentina Society of Northern Regional Pathology (SAPRN) held in Mendoza in 1935, was once more a reflection of what scientific knowledge developed at the federal level, the degree of participation of thirteen of the fourteen provinces making up the national state at the time, and the heavy use of diagnostic techniques such as images, electrocardiographic and laboratory together with detailed case histories and experimental work. As a result of this meeting we had an updated map of regional distribution of diseases, a goal that we are still pursuing today, when we have significant computing and communication resources.

Key Words: Chagas Disease, Mazza, pathology regional, regional society of pathology, Mendoza.

El 1 de octubre de 2015 se cumplieron ochenta años de la inauguración de la Novena Reunión de la Sociedad Argentina de Patología Regional en la ciudad de Mendoza. Para la época este evento fue de gran importancia para la medicina argentina, por lo que cabe hacer un recordatorio que al mismo tiempo represente un homenaje para todos los hombres de ciencia que contribuyeron con su esfuerzo a cimentar el conocimiento que hoy tenemos sobre patologías regionales como la enfermedad de Chagas-Mazza por ejemplo.

Para contar los hechos acaecidos hace ya tantos años, repasemos algunos hechos que provean un contexto histórico.

En febrero de 1926 el Dr. Salvador Mazza impulsa la institución de la Sociedad Argentina de Patología Regional del Norte (SAPRN) en la ciudad de San Salvador de Jujuy, bajo la presidencia del Dr. Guillermo Cleland Paterson, por aquel entonces director del hospital del Ingenio La Esperanza. La SAPRN realiza su primera reunión en Jujuy ese mismo año. El 16 de abril de 1926 se crea la Misión de Estudio de Patología Regional Argentina con sede en Jujuy. Mazza y sus colaboradores de las provincias de Jujuy, Salta, Tucumán y Santiago del Estero, se dedicaran a estudiar casos de enfermedades denominadas tropicales entre escolares, trabajadores de ingenios, hacheros y peones rurales, al tiempo que recolectaban materiales y muestras para remitirlas al laboratorio que se encontraba en Buenos Aires.

Mazza estaba especialmente interesado en un protozoario flagelado descripto por el eminente in-

1. Laboratorio de Referencia de Enfermedades Transmisibles - Centro Sanitario "Dr. Emilio Coni".
sabonti@gmail.com

vestigador Carlos Chagas en 1905 en el intestino de un insecto reduvido brasileño denominado *barbeiro*, el cual posteriormente encontró en la sangre de individuos enfermos. Este parásito fue denominado posteriormente *Trypanosoma cruzi*.

El interés de Mazza en esta parasitosis y en otras patologías regionales, la terminación del edificio de la MEPRA en Jujuy y la puesta en marcha del laboratorio montado en un vagón ferroviario que le permitió recorrer toda la geografía argentina, impulsó la investigación de las patologías regionales a niveles que excedieron los límites del país. Las reuniones de la SAPRN convocaban a los especialistas más destacados nacionales y extranjeros en estos temas. Las ocho primeras reuniones se habían realizado en el ámbito del Norte argentino, alternándose entre las provincias de Jujuy (1926 y 1929), Salta (1926 y 1930), Tucumán (1927 y 1931) y Santiago del Estero (1928 y 1933).

En 1933 comienzan a participar activamente en la SAPRN un grupo de médicos mendocinos que enviaban sus casos clínicos a Mazza para que este confirme sus diagnósticos. Esta estrecha relación permite concretar el 6° curso de postgrado de la SAPRN en Mendoza gracias a la colaboración de la Sociedad Médica y el Círculo Médico de Mendoza. Este es un año triste para los estudiosos de la enfermedad de Chagas porque el 8 de noviembre fallece Carlos Chagas, el descubridor del agente causal. Hasta este momento la provincia de Mendoza se consideraba libre de la enfermedad pero los notables aportes de los médicos mendocinos permitieron confirmar para mayo de 1935 la presencia de casos propios del ámbito provincial. Esto motivó intensas gestiones de las sociedades médicas de la provincia de Mendoza solicitando que la próxima reunión de la SAPRN se llevara a cabo en este territorio. Los importantes hallazgos, la dedicada colaboración brindada y la

Fotografía del agasajo del gobierno mendocino a los delegados extranjeros a la novena reunión de la SAPR. En el centro de la imagen con copas en la mano, de izquierda a derecha, el vicegobernador de la provincia de Mendoza Dr. Cruz Vera, el Dr. Salvador Mazza y el Dr. Carlos Evandro Chagas, hijo del Dr. Carlos Chagas, descubridor del T*rypanosoma cruzi*. (Foto: *La Quincena Social* N° 391/392, 30 Sep. a 15 Oct. 1935)

posibilidad de concretar un homenaje al Dr. Carlos Chagas volcaron la decisión de Mazza hacia la realización de la novena reunión de la SAPRN en la cuna del Ejército de los Andes.

Difícil era la situación del país y del mundo por aquellas fechas. Benito Mussolini invadía Abisinia mientras el resto del mundo no hacía nada. Hacía poco que habían cesado las hostilidades entre Bolivia y Paraguay donde tuvo destacada participación nuestro compatriota Carlos Saavedra Lamas, a punto tal que le valió el galardón del premio Nobel de la Paz. La clase política argentina, en un ejemplo de acción cívica cuestionaba el poder aéreo de la aviación del Ejército para defender la nación. La salud pública atravesaba una importante crisis económica, que se reflejaba en las por entonces 14 provincias que constituían el país.

Sin embargo la SAPRN continuaba bregando por entender que pasaba con la salud de los pobladores de las distintas regiones del país, asolados por enfermedades de las que recién se comenzaba a conocer.

Un caso particular era la enfermedad de Chagas. Hasta Octubre de 1935 la MEPRA llevaba reseñados más de medio centenar de casos agudos de la enfermedad de Chagas en la República Argentina. El reconocimiento de esta situación sanitaria en la Argentina hace también de este primer encuentro uno de los primeros congresos interamericanos sobre enfermedades tropicales, o mejor expresado, como le gustaba definirlas a Salvador Mazza, de enfermedades regionales que se llevara a cabo en el país.

Los aporte del dedicado grupo de médicos mendocinos, entre los que se encontraban Redento y Germinal Basso y Salomón Miyara, que habían estudiado casos agudos los cuales habían sido confirmados por el Dr. Mazza, demostraban que la enfermedad de Chagas dejaba de ser una patología circunscripta al norte geográfico del país para convertirse en un patología más diseminada y dependiente de condiciones socioeconómicas específicas unidas a los aspectos geográficos conocidos. Tal es así que en la 9° Reunión fueron expuestos 35 nuevos casos agudos de enfermedad de Chagas comprobados por la MEPRA aportados por médicos de 11 provincias argentinas: Mendoza, San Juan, Córdoba, Catamarca, La Rioja, Entre Ríos, Santiago del Estero, Santa Fe, Salta, Jujuy y Chaco.

El reconocimiento de esta situación sanitaria en la Argentina hace también de este primer encuentro uno de los primeros congresos interamericanos sobre enfermedades tropicales, o mejor expresado, como le gustaba definirlas a Salvador Mazza, de enfermedades regionales que se llevara a cabo en el país.

Visto en retrospectiva la 9° reunión de la SAPRN fue en su momento un reflejo de lo más elaborado del conocimiento científico en el ámbito federal, por el grado de participación de trece de las catorce provincias que componían el estado nacional en esa época, y por el intenso uso de técnicas diagnósticas como imágenes, electrocardiográficas y de laboratorio en conjunto con detalladas historias clínicas y trabajos experimentales. Como resultado de esta reunión se contaba con un actualizado mapa de distribución de patologías regionales, un objetivo que seguimos persiguiendo aún en la actualidad, cuando contamos con importantes recursos informáticos y comunicacionales.

La reunión contó con apoyo de la gobernación de Mendoza, particularmente en la persona de su gobernador el Dr. Guillermo B. Cano, de cuya obra de gobierno aún hoy los mendocinos podemos ver en pie una de sus obras más importantes: las Casas Colectivas, hoy conocidas como Barrio Cano a la entrada del Hospital "Luis Lagomaggiore".

La sociedad médica provincial era presidida por el Dr. Juan Eseverry Gainza y el Dr. Humberto J. Notti era su secretario. Las sesiones de llevaron a cabo en la sala de Juicios Orales de la Cámara de Apelaciones en lo Civil y Criminal de la Suprema Corte de Justicia de Mendoza, en los altos del Banco de Mendoza, en la esquina de Gutiérrez y 9 de Julio, frente a la plaza San Martín.

La reunión tenía por objeto honrar la memoria del eminente sabio brasileño Carlos Chagas que había fallecido el 8 de noviembre del año anterior, 1934. Durante la misma los delegados de Brasil le otorgaron el título de miembro honorario de la Academia de Medicina de Rio de Janeiro al Dr. Salvador Mazza.

El lunes 30 de septiembre a las 16:20 horas se habían hecho presentes en el andén de la Estación del Ferrocarril Pacífico para recibir a los delegados visitantes que llegaron a la provincia por tren. De allí partieron en caravana hacia el céntrico Plaza Hotel donde se alojaron durante el desarrollo del congreso.

El martes 1° de octubre a las 10 horas de la mañana se dio inicio al acto inaugural. En la mesa académica estaban presentes el vicegobernador de la provincia a cargo del poder ejecutivo Dr. Cruz Vera, el ministro de gobierno Dr. Enrique L. Day, el ministro de Industrias y Obras Públicas Ing. Frank Romero Day y el presidente de la Suprema Corte de Justicia Dr. Ramón F O'Donell como representantes del gobierno, el Dr. Salvador Mazza, presidente de la SAPRN y el Dr. Eseverry Gainza, presidente de la Sociedad Médica de Mendoza. Como parte de los actos

se leyó un mensaje del primer mandatario auspiciando éxitos a la reunión científica. Era presidente de la república el general Agustín P. Justo, que había reemplazado al presidente de facto general José Félix Uriburu que a su vez había derrocado al presidente constitucional Hipólito Yrigoyen

Participaron del evento el Dr. Evandro Serafin Lobo Chagas por el Instituto Oswaldo Cruz de Rio do Janeiro (Brasil), Dr. Emmanuel Dias del Instituto Exequiel Dias de Bello Horizonte (Brasil), Carlos T. de Rivas (Panamá), Carlos M. Johnson (Panamá), Eurico Villela, J.A. Lemos Monteiro, Henrique Beaurepaire Aragão, Magarinos Torres, P. Regendans, Molina R. Rodríguez, Juan A. Pons (Puerto Rico), Juan Boggino, Gustavo González y C. Gatti delegados por Paraguay, Juan B. Rivarola, Félix Veintemillas (Bolivia), el Dr. Gabriel Delarme como ex director del Instituto de Constantinopla y profesor en Asunción, el Dr. Salvador Mazza como presidente de la SAPRN, jefe de la MEPRA de la UBA y delegado de la Comisión Asesora de Hospitales y Asilos, el Dr. Miguel Eduardo Jörg por el Instituto de Clínica Quirúrgica de la UBA, el Dr. Cecilio Félix Romaña por el gobierno de Santa Fe, la Facultad de Medicina de Rosario y por la Sociedad Médica del Norte Santafecino, Rogelio Chacón, Ernesto Herzog por la Universidad de Concepción (Chile), Estenio Hormaechea, Ciro Peluffo y Juan E. Mackinnon, los tres por la Facultad de Medicina de Montevideo (Uruguay), Enrique Onetto Aguilar, F. Chaves y J. Palacios por el Instituto de Bacteriología de Chile, Teofilo Monie, el Dr. Héctor Dasso como decano de la facultad de Medicina de La Plata, Alois Bachmann, Daniel Greenway y Andrés E. Bianchi como delegados de la Facultad de Medicina de La Plata, Hernán D. González delegado de la facultad de Medicina de Buenos Aires, José Yepes y Venancio Deviofen como delegados de la Facultad de Ciencias Físicas y naturales de Buenos Aires, la Sociedad Entomológica Argentina y la sociedad de Ciencias Naturales Physis, Salomón Pavé por la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires, Andrés Cornejo delegado por el gobierno provincial de Salta y la SAPRN seccional Salta, Enrique Canal Feijoo delegado por el gobierno provincial de Santiago del Estero, de la Seccional Santiago del Estero de la SAPRN y del Centro Médico de Santiago del Estero, Roberto Catalán delegado por el gobierno provincial de La Rioja y la SAPRN, Luis Ontaneda delegados de la sanidad militar nacional y José Opizzi delegados de la sanidad militar de Buenos Aires, Abelardo Izaguirre, Flavio L. Niño por el Instituto de Clínica Quirúrgica de la Universidad de Buenos Aires, Francisco Schreiber como presidente de la Sociedad Médica del Norte de Santa Fe, Carlos Alberto Videla y Juan E. Rey por la Sociedad de Patología Infecciosa del Hospital Muñiz, Dr. Juan Eseverry Gainza presidente de la Sociedad Médica de Mendoza, Rafael Villagrán, Max Biraben Losson, A. Notti, Alberto Ruchelli, J. Romero Cereijo, Francisco Rosenbusch, Ricardo Chaminaud, Eduardo Solá, Carlos A. Videla, Pablo Bosq, José A. de Carlo, Ricardo N. Orfila, Antonio Scaravelli, Salomón Miyara, Germinal Basso, Redento Basso, Humberto Notti, José Luis Minoprio, Abelardo Piovano, Indalecio Carmona Rios (San Juan), Rogelio Driollet (San Juan), José María Borkoski, Enrique Dominguez, Vicente Gallastegui, Miguel Dobladez, J.M. González Buelsa, Carlos A. Suizer, Armando Sizer, Eric Lund, Héctor González, Luis M. Rodríguez, Antonio Carelli.

Simon Flexner de EEUU, un especialista en Polio y tratamiento de meningitis que dirigía el Instituto de Investigación Médica de la Universidad Rockefeller, se excusó por medio de una misiva de septiembre de 1935 donde indicaban que no podía asistir a la 9° Reunión de la SAPRN. Flexner, que fue homenajeado dando su nombre a la bacteria *Shigella flexneri*, murió el mismo año que salvador Mazza, 1946. La calidad de los investigadores con los que Mazza se relacionaba da un indicio del nivel científico que alcanzaba el trabajo de Mazza y su emprendimiento.

Ese mismo nivel de relación se vio reflejado en la organización de la reunión de Mendoza. Investigadores extranjeros buscaron participar en el evento. Tal es el caso del Dr. W.H. Stefko de la sección de Anatomía del Instituto Central de la Tuberculosis de Moscú, quien al no poder viajar envió un trabajo de su especialidad desde la Unión Soviética.

También es recordada esta reunión porque en ella el Dr. Cecilio Romaña dio a conocer un trabajo donde describe la conjuntivitis esquisotripanózica unilateral, destacando su alto valor patognomónico en la fase aguda de la enfermedad de Chagas-Mazza. A raíz de este trabajo, los delegados brasileños Dres. Emmanuel Dias y Evandro Chagas propusieron que a esta lesión tan característica se la reconociera como Signo de Romaña. Estos hechos provocaron la desaprobación de Salvador Mazza y condujo a la separación de Cecilio Romaña de la MEPRA y al distanciamiento entre Mazza y Romaña hasta sus últimos días. La controversia acerca de la importancia del signo de Romaña continuó por algún tiempo hasta que fue plenamente reconocido por la comunidad médica.

El martes 1° de octubre a las 21:30 horas el Dr. Evandro Chagas dictó una conferencia sobre Momento Actual de la Enfermedad de Chagas, abierta al público en el mismo recinto donde se desarrollaba la reunión.

Las sesiones se fueron sucediendo según el orden establecido con excepción de algunos delegados que vieron retrasada su llegada a Mendoza. Se presentaron 156 trabajos, de los cuales 41 correspondían a investigaciones sobre la enfermedad de Chagas, y 34 de ellos se debían a Mazza y sus colaboradores.

Finalizadas las sesiones ordinarias los delegados participaron de variadas actividades que incluyeron visitas al Hospital Militar de Mendoza, excursiones al Hotel de Villavicencio, al recientemente inaugurado Matadero Municipal, y otros sitios de recreo del Gran Mendoza. Tras estas manifestaciones de los anfitriones los delegados regresaron a sus lugares de origen, quedando a cargo de la MEPRA la tarea de compilar y publicar las ponencias y conclusiones de la Reunión en tres tomos de Publicaciones de la MEPRA.

Salvador Mazza regresó a Mendoza en varias oportunidades. Citando como ejemplo, cuatro años después de la 9ª Reunión de la SAPRN, el miércoles 11 de octubre de 1939 a las 13:40 aterrizaba en el aeropuerto Los Tamarindos de la ciudad de Mendoza el avión Douglas DC- 3-229 NC18936 (msn 2011) perteneciente a la flota de la empresa Pan American Grace Airways, más conocida como PANAGRA, cumpliendo el vuelo regular Buenos Aires-Mendoza. Mazza había sido invitado a participar de una Reunión de la Sociedad Argentina de Oftalmología, organizada por los profesionales de la filial cuyana. En esta reunión habló sobre las manifestaciones oculares de la enfermedad de Chagas, reiterando su posición respecto al signo de Romaña como un signo poco específico y poco significativo. La aeronave que trasladó a Mazza tenía un historial interesante para su breve existencia. Se había registrado el 19 de octubre de 1937 a nombre de la empresa Pan Am Airways, que lo asignó a prestar servicios con la PANAGRA en Sudamérica. Un año después participó en la búsqueda del avión Douglas DC-2-118A NC14272 (msn 1305) número de flota P-30 y bautizado "Santa Lucia" que se perdió en vuelo el 19 de junio de 1938, y cuyos restos fueron encontrados en febrero de 1940 en la ladera del cerro Mercedario, en la vecina república de Chile.

Los destinos de otros dos estudiosos de la enfermedad de Chagas que participaron de la 9ª Reunión de la MEPRA estuvieron también ligados a los aviones. El caso más dramático fue el de Evandro Chagas. El viernes 8 de noviembre de 1940 el avión de transporte trimotor Junkers Ju-52/3mg3e PP-SPF (msn 5689) de la aerolíneas brasileña VASP bautizado "Cidade do Santos" cumpliendo el vuelo 4752 que había despegado del aeropuerto Santos Dumont de Rio Do Janeiro con destino al aeropuerto Congonhas de Sao Paulo con cuatro tripulantes y catorce pasajeros, colisionó a media altura con el biplano bimotor argentino de Havilland D.H.89 Dragonfly LV-KAB perteneciente la Shell Mex Argentina Limitada piloteado por Collin Abbott, sobre la bahía de Botafogo, provocando la caída del Junkers a las aguas de la bahía, provocando el fallecimiento de todos los involucrados en la colisión. Entre el pasaje del Junkers se encontraba el Dr. Evandro Chagas.

Por su parte uno de los colaboradores mendocinos sufrió un buen susto en cumplimiento de su abnegada misión de médico. El miércoles 15 de septiembre de 1943 se accidentó el avión Focke Wulf Fw-44J Stieglitz matricula E.e.157 perteneciente a la base aérea El Plumerillo, cuando era tripulado por el teniente primero Roberto Borton. Sufrió un capotaje al enterrar las ruedas en el suelo salitroso cuando se encontraba aterrizando en la localidad de 25 de Mayo, provincia de San Juan, a 15 kilómetros al norte de la localidad de Los Sauces, en el noroeste mendocino. El avión transportaba al jefe de la Dirección General de Salubridad doctor Salomón Miyara, uno de los estrechos colaboradores de Salvador Mazza, con destino a la localidad de Los Sauces, en el departamento de Lavalle, donde se había originado un brote de escarlatina tóxica, pero no pudo aterrizar por las precarias condiciones del terreno por lo que el piloto decidió buscar otra alternativa. El avión capotó sufriendo severos daños pero Borton y Miyara resultaron ilesos. Miyara completó su misión merced a los buenos oficios del Aeroclub Mendoza que puso a disposición del funcionario un biplano del aeroclub.

Vaya este modesto artículo a modo de homenaje para todos aquellos profesionales mendocinos que contribuyeron con su dedicación y esfuerzo al esclarecimiento de la enfermedad que descubriera Chagas y que redescubriera Mazza en la Argentina, que actualmente recibe la denominación de enfermedad de Chagas-Mazza, que hace honor a los dos investigadores más notables de esta patología de cual seguimos aprendiendo cada uno de nosotros desde nuestro lugar de trabajo.

Bibliografía consultada:

1. Diario *Los Andes*, Mendoza, ediciones del mes de septiembre y octubre de 1935.
2. Diario *La Palabra*, Mendoza, ediciones del mes de septiembre y octubre de 1935.
3. Diario *La Libertad*, Mendoza, ediciones del mes de septiembre y octubre de 1935.
4. Pinto Dias JC. Fato Histórico. Cecilio Romaña, o Sinal de Romaña e a Doenca de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 1997;30: 407-13.
5. Sánchez NI, Pérgola F, Di Vietro MT. Salvador Mazza y el archivo "perdido" de la MEPRA. – 1ª ed. Bs. As.: El Guión Ediciones, 2010.

Comunicaciones breves

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2015; 10(3): 30-56

Comunicaciones breves presentadas en el
III Congreso Panamericano de Zoonosis y VIII Congreso Argentino de Zoonosis

Evaluación de la cinética de muerte bacteriana de *Escherichia coli* frente a distintos antimicrobianos en asociación con un inhibidor de bombas de eflujo

Evaluation of the bacterial kill kinetic of *Escherichia coli* against several antibiotics in combination with an efflux pump inhibitor

Laura Marchetti; Valeria Vedovato; Andrea Buchamer; Juan Chiarizi; Yanina Cabril; Nora Mestorino

La sobreexpresión de bombas de eflujo activo en bacterias gramnegativas es un mecanismo de resistencia ubicuo que interviene en el bombeo de numerosos antimicrobianos, ocasionando la creciente aparición de bacterias con fenotipo de resistencia múltiple. Existe creciente evidencia que la sobreexpresión de bombas de la familia RND, juega también un importante rol en la manifestación de virulencia por parte de patógenos gramnegativos, incluyendo la colonización, la evasión de los mecanismos de defensa del hospedador, y la formación de biopelículas[1]. Estos hechos convierten a dichos microorganismos en una amenaza para la salud pública. El diseño de nuevas estrategias terapéuticas como la inactivación de sistemas de eflujo activo por medio de fármacos inhibidores de bombas, es una posible alternativa para enfrentar la problemática[2]. El objetivo central de nuestro trabajo es evaluar el efecto del inhibidor de bombas 1-(1-naphthylmethylpiperazine) o NMP en asociación con florfenicol (FLF), tetraciclina (TET) y ciprofloxacina (CIP) frente a bacterias de la especie *Escherichia coli* con fenotipo multirresistente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron curvas de letalidad o muerte bacteriana (CLB) utilizando dos bacterias isogénicas de *E. coli* con genotipo conocido: la cepa AG112 con sobreexpresión de bombas de eflujo tipo RND, y AG100 con fenotipo "wild type". Los antimicrobianos evaluados fueron FLF, TET, CIP. El método para la CLB se realizó empleando tres baterías de tubos con caldo LB por cada cepa analizada[3]. En la primera, se determinó la CLB frente al antimicrobiano solo. En la segunda, se combinó el antibiótico con 50 µg/mL del inhibidor de bombas de eflujo (NMP) y en la tercera con 100 µg/mL del mismo. Las concentraciones del antimicrobiano evaluadas fueron la CIM, 2, 4 y 8 veces la CIM; y un quinto tubo sin antimicrobiano como control de crecimiento bacteriano. Se realizaron lecturas a las 0, 2, 4, 8, 24 y 48 hs.

RESULTADOS

Al comparar el descenso de las UFC/mL entre las curvas obtenidas con el antimicrobiano solo y las que resultaron de la incorporación de 50 µg/mL y de 100 µg/mL de NMP, no se observaron diferencias importantes. Es decir, que existió una "cinética de muerte" muy semejante entre las baterías para los tres antimicrobianos. Sin embargo, es primordial destacar que las concentraciones antimicrobianas iniciales (CIMs) a las cuales se expuso el inóculo bacteriano en cada batería (sin NMP, con 50 µg/mL y con 100 µg/mL), fueron diferentes.

CONCLUSIONES

Esto demostró claramente que existió efecto sinérgico, pues la incorporación de NMP en concentraciones crecientes permitió que los antimicrobianos mantengan similar eficacia a pesar de estar presente en concentraciones inferiores.

Estos resultados se corroboraron al realizar el análisis estadístico, puesto que al aplicar ANOVA, no se hallaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el porcentaje de eficacia del antimicrobiano solo o con NMP (50 µg/mL o 100 µg/mL). Podemos concluir que el uso de NMP resulta prometedor, pues puede ser factible no solo modificar la susceptibilidad bacteriana, sino también inferir en las habilidades de la bacteria para infectar exitosamente al hospedador.

BIBLIOGRAFíA

1. Dinesh M. & Ayush K. Resistance-Nodulation-Division multidrug efflux pumps in gram-negative bacteria: role in virulence. Antibiotics 2013, 2, 163-181.
2. Kern W. et al. Effect of 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine, a novel putative efflux pump inhibitor, on antimicrobial drug susceptibility in clinical isolates of *Escherichia coli.* J Antimicrob Chemother 2006; 57: 339-43.
3. **NCCLS.** Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents M26-A; Approved Guideline. Wayne, Pennsylvania, USA: 1999.

Palabras clave: multirresistencia, bombas de eflujo, *Escherichia coli.*

(1) Laboratorio de Estudios Farmacológicos y Toxicológicos (LEFyT), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP.
60 y 118 S/N (1900). Teléfono: 0221 423-6663

Abordaje interdisciplinar de zoonosis en caninos del Centro de Reinserción Municipal

Interdisciplinary approach of zoonoses in dogs of Municipal Reintegration Center

Mariana Fiorimanti[1], Melina Richardet[1], Leticia Espinosa[1], Yoana Scrivanti[1], Analía Bosque[1], Natalia Epulef[1], Maria Cremaschi[1], Mariana Benavent[1], Stefani Gregori[1], Carlos Motta[1], Verónica Nuesch[3], Claudina Vissio[1], Nancy Espósito[2], Sebastián Elena[4], Vivian Martin[1]

La participación de estudiantes universitarios de la Facultad de Agronomía y Veterinaria en ámbitos comunitarios con estrategias didácticas innovadoras, permite la aplicación de conocimientos adquiridos en forma teórica y posibilita al joven involucrarse en problemáticas de profunda repercusión social como es la tenencia de mascotas y la responsabilidad del municipio sobre animales abandonados en la vía pública. El Centro de Reinserción Municipal (CRM) alberga caninos en situación de abandono, tiene como objetivo la reeducación de los mismos con agresión territorial y la reinserción en la sociedad de perros vagabundos. Los alumnos de la carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC) participan en actividades de diagnóstico y tratamiento de los animales alojados en el predio del CRM. El objetivo del presente trabajo fue realizar un aporte al conocimiento epidemiológico y relevamiento de algunas enfermedades zoonóticas en el CRM a fin de aportar herramientas para el control estratégico y prevención de las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La estrategia de intervención consistió en muestrear todos los caninos que se encontraban alojados en el predio (n= 36) en el mes de marzo del 2014. Los animales estaban distribuidos en 12 caniles separados, con un total de 3 perros cada uno. Se obtuvieron muestras por punción de la vena cefálica antebraquial para realizar, a partir de 1 ml de sangre, hemocultivos en medio líquido (tripticasa-soja + citrato) con intención de confirmar por aislamiento, infecciones producidas por *Brucella spp*. Posteriormente, los sueros obtenidos por centrifugación fueron conservados a -20°C hasta su procesamiento. Para el diagnóstico de Leptospirosis se realizó la técnica de Martin y Petit, utilizando los siguientes serovares: *L. canicola, L. grippotyphosa, L. pomona, L. pyrogenes, L. tarassovi y L. wolffi.* Además se realizaron técnicas serológicas de antígeno buferado en placa (BPA) y aglutinación rápida en portaobjeto (RSAT) para detectar anticuerpos contra brucelas lisas y rugosas, respectivamente. Para realizar el diagnóstico coproparasitológico se recolectaron muestras de materia fecal de cada canil y se realizó la técnica de flotación con solución sobresaturada de Benbrooks.

RESULTADOS

Los resultados del diagnóstico de Leptospirosis revelaron que del total de animales muestreados, el 50% de los sueros resultaron positivos reaccionando al menos a un serovar (*L. canicola*) y las coaglutinaciones más frecuentes se presentaron entre *L. canicola* y *L. pomona* con 38.9% (7/18) y entre *L. canicola*, *L. pomona* y *L. pyrogenes* con igual porcentaje.

Por otro lado, las técnicas diagnósticas de Brucelosis resultaron positivas a RSAT en el 13.8% (5/36) de los casos. De éstas, hubo aislamiento de *Brucella spp.* a partir del hemocultivo en dos hembras y un macho, contrariamente a su condición de animales castrados. Las cepas fueron enviadas al Laboratorio de Brucelosis del SENASA, donde fueron identificadas como *Brucella canis*.

Los resultados del análisis coprológico evidenciaron que el 75% de los caniles resultaron positivos al menos a una estructura parasitaria. *Ancylostoma caninum* fue el parásito más frecuente (75%), seguido por *Trichuris vulpis* (25%) y *Toxocara canis* (16.67%). Dos pools de muestras fueron positivas para huevos de *Capillaria*.

DISCUSIÓN

Los protocolos de tratamiento para Brucelosis canina proponen castración y administración combinando gentamicina y doxiciclina durante 30 días. Sin embargo, en los animales infectados que venían siendo muestreados semestralmente se confirmó el aislamiento de *Brucella canis* por segunda vez mediante hemocultivo. Estos hallazgos difieren con los resultados de otros autores y condicionan un pronóstico más desfavorable para la recuperación infectológica de los perros afectados ya que la bacteriemia debería desaparecer después del tratamiento y castración.

Si bien en número de animales bajo estudio no es representativo de la población canina abandonada en la vía pública, el elevado porcentaje de animales reaccionantes a Leptospirosis, Brucelosis y con presencia de estructuras parasitarias zoonóticas, revela el riesgo potencial que conlleva la adopción de perros callejeros.

El abordaje interdisciplinario de ambas instituciones permitirá no sólo proponer mejoras edilicias para facilitar el manejo y limpieza de las mismas, sino también la urgencia de medidas más efectivas de prevención y control al ingresar y durante la permanencia de los animales en el predio, para garantizar la sanidad de los caninos entregados a familias o instituciones en adopción. Los estudiantes de medicina veterinaria como multiplicadores de experiencias son el nexo entre el CRM y el contexto educativo universitario y social. De esta manera, los conocimientos que los mismos abordan en el ámbito comunitario, y mediante la capacitación permanente a los cuidadores del predio, contribuyen a difundir entre sus pares y la comunidad en general, la incorporación de prácticas saludables, relacionadas a la prevención de zoonosis que están presentes hoy en su propio contexto socio-ambiental.

BIBLIOGRAFÍA

- Greene, C. 2008. Brucelosis canina. En: Enfermedades infecciosas del perro y el gato. Green 3ªEd. pp 411-424.
- Lucero N.E, Escobar GI, Ayala SM, Hasan DB. (2008). Manual de Procedimientos. Técnicas para el Diagnóstico de Brucelosis Humana.
- Lucero, N.E. & Siñeriz, F. (2005). The Argentine experience in enhancing biosafety through good laboratory practices. Asian Biotech and Develop Rev 8, 99-120.

Palabras clave: Zoonosis, tenencia responsable, Leptospirosis. Brucelosis.

(1) Departamento de Patología Animal. (2) Departamento de Salud Pública. Facultad de Agronomía y Veterinaria.
Universidad Nacional de Río Cuarto. Enlace Ruta 8 Km 601. 5800. Río Cuarto. Argentina.
(3) Servicio de Emergentología. Municipalidad de Río Cuarto.
(4) Laboratorio de Referencia de la OIE para Brucelosis, DILAB- SENASA.
vmartin@ayv.unrc.edu.ar

Araneismo en la Provincia de Catamarca

Araneism at Catamarca province

Raúl Alfredo López[1], María Constanza Martínez Bombelli[1], Cristian Marcelo Marquetti, Adolfo Rafael de Roodt[2], Ramón Eugenio Moreno[1], María Laura Sosa Balessio[1]

El "araneismo" en la región del noroeste de la República Argentina, y en particular en la provincia de Catamarca, se presenta como una de las patologías con una alta frecuencia en amplios sectores comunitarios. Dentro de las arañas de importancia médica pueden encontrarse *Loxosceles sp*, *Lycosa sp* y *Latrodectus diaguita*, *L. Antheratus,*(foto N° 1 y 2) Como también *L. geometricus,* si bien esta especie hasta el presente no ha presentado evidencia de ser de importancia médica en Argentina. La especie *Latrodectus diaguita* se encuentra distribuida amplias zonas del territorio mientras que la *Latrodectus antheratus* puede ser ubicada en zonas geográficas específicas y *L. geometricus,* tiene una amplia difusión en la jurisdicción catamarqueña. Por otra parte, se debe precisar que en el denominado desierto de altura, o zonas de la Puna, por sobre los 3.000 msnm, no se registraron casos de "araneismo". El araneismo en Catamarca se presenta en todas las edades y sectores sociales, según los registros oficiales del área de Salud de los últimos años. En dicho sentido, el 93.90% de los accidentes fueron de *"Latrodectus"*, el 4.8% de *Loxosces* y el 0.6% de *Lycosa* durante el período 2007/2013 en la provincia de Catamarca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron 163 planillas de denuncia y de aplicación de suero específico de los accidentes causados por las diferentes especies de arañas araenomorfas en la provincia de Catamarca, comprendidas entre los años 2007– 2013, y se consideraron también datos provenientes del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud.

RESULTADOS

Se registraron 154 casos de latrodectismo, 8 casos de loxoscelismo y 1 caso de picadura de *Lycosa*. (Figura N° 2)
Respecto a la vía de aplicación del antiveneno, se registró que 84 tratamientos fueron realizados por vía endovenosa y 79 fueron por la vía intramuscular. De los 154 casos de latrodectismo se administró como tratamiento 1 ampolla a 132 pacientes y 2 ampollas a 22 pacientes. En cuanto al sexo se distribuyó en 55 casos femeninos y 108 casos masculinos (M/F= 1.96). Las edades mínimas y máximas de accidentados fueron de 11 meses (1 caso) y 83 años (1 caso) respectivamente. Se registraron 13 accidentes en niños menores de 15 años y 19 en adultos de 50 años o más. (Gráfico N° 1) El promedio de edad de los accidentados fue de 32.3 años La mediana fue 2, la media 2,58 y la moda 9 casos.
El Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica registró 384 casos en el mismo periodo, arrojando un promedio anual de 55 casos anuales en la provincia (Gráfico N° 3).
La mortalidad fue cero en el periodo analizado.

Respecto a la evolución del cuadro clínico, la remisión de los síntomas clínicos tras la aplicación del antiveneno es rápida en los casos de latrodectismo y más lenta en los casos de loxoscelismo.
Del análisis de los datos de sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica se observa que de los 16 departamentos 3 no han denunciado casos de araneismo en los últimos 7 años, ellos son Antofagasta de la Sierra, Belén y Ancasti.
La línea de tendencia muestra una leve tendencia decreciente, siendo el promedio de casos anuales de 54.86 dando una tasa cada cien mil habitantes de 14.47 casos.
Respecto a los datos clínicos y las circunstancias epidemiológicas de la ocurrencia de los envenenamientos por picadura de *Latrodectus*, estos son coincidentes a la descripta en la bibliografía disponible Los accidentes ocurrieron en niños que jugaba en el pasto y adultos que desarrollaban tareas rurales.
No se pudieron definir las especies responsables del envenenamiento en los 8 casos de Loxoscelismo pues no se capturó el animal agresor, en el caso de *Lycosa sp* si se capturó, por lo que se pudo confirmar la especie agresora.
Un punto a considerar para ampliar las investigaciones es la identificación de la especie agresora a fin de poder encontrar diferencias (o no) en el cuadro de envenenamiento y respuesta al tratamiento causado por las diferentes especies de arañas de la provincia.

Foto 1. *Latrodectus antheratus* adulta y *Latrodectus diaguita*

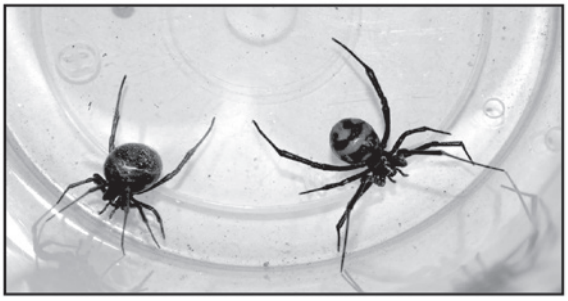


Foto 2. *Latrodectus antheratus* juvenil, con líneas blancas en el abdomen

Gráfico 1. Distribución de casos de aracneismos según grupos de edades

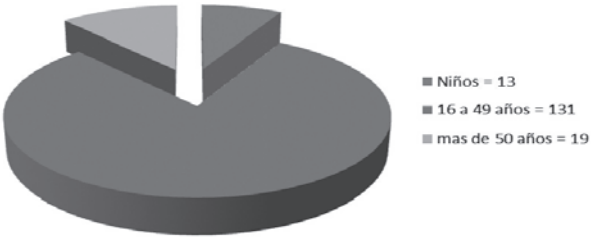


Gráfico 2. Distribución según especie

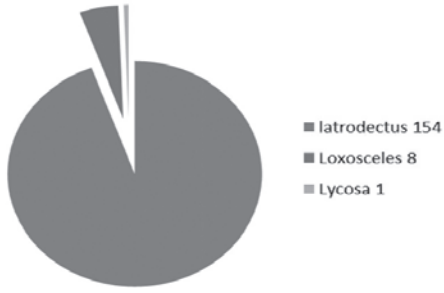
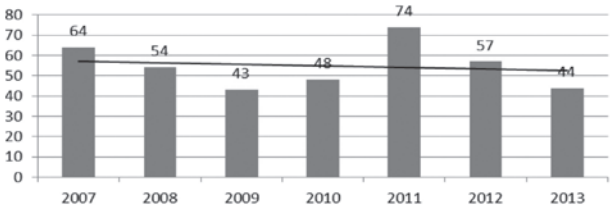


Gráfico 3. Distribución de casos de aracneismos por año según SNVS en la Provincia de Catamarca. (Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud)



DISCUSIÓN

De acuerdo a los investigadores, el araneismo en Argentina está distribuido en todo el territorio del país. En el caso particular de la zona de la Puna Catamarqueña no se han registrado casos de araneismo. Es coincidente la información que el Latrodectismo es más común en trabajadores de campo aunque se han observado casos en mujeres y niños.

Palabras clave: Arañas, planillas, Catamarca.

(1) Departamento de Zoonosis, Direccion de Epidemiología, S.S. de Medicina Preventiva y Promoción en Salud, Ministerio de Salud del Gobierno de la provincia de Catamarca.
(2) INPB- ANLIS "Dr. Carlos Malbrán"
zoonosis_cat@yahoo.com.ar

Brucelose humana: doença das mil faces

Human brucellosis: disease of thousand faces

Marcos Vinicius da Silva

A brucelose humana é doença com manifestações clínicas de amplo espectro, polimórficas, de difícil diagnóstico clínico e laboratorial, com diversificada eco epidemiologia. O tratamento também é difícil necessitando associações de antibióticos por período de tempo prolongado e longo acompanhamento ambulatorial visto que, as recidivas ocorrem em 5% a 23% casos, geralmente nos primeiros seis meses pós-tratamento, mas também em períodos mais prolongados. O objetivo deste é relatar o atendimento dessa doença no Ambulatório de Doenças Tropicais e Zoonoses do Instituto de Infectologia Emílio Ribas da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo, apresentando cinco casos clínicos selecionados, distintos tanto nas manifestações clínicas como na eco epidemiologia.

CASUÍSTICA

Paciente 1: masculino, branco, idade 41 anos, balconista de farmácia, sem antecedentes epidemiológicos referidos para a doença. Apresentou febre prolongada evoluindo por 5 meses com sepse e abscesso esplênico de 2,5 cm, cujo diagnóstico foi sorológico. O paciente teve recidiva da doença após o primeiro tratamento com doxiciclina e rifampicina por 6 semanas sendo retratado com mesmos medicamentos por 6 meses.

Paciente 2: masculino, branco, idade 62 anos, comerciante, que ao retornar de viagem da região de Trás os Montes – Portugal, onde ingeriu queijo de cabra produzido artesanalmente, apresentou febre, acompanhada de sudorese noturna, adinamia e emagrecimento. Foi isolada *Brucella melitensis* em três amostras de hemocultura. Tratado com doxiciclina e rifampicina por 6 semanas.

Paciente 3: masculino, branco, idade 29 anos, médico veterinário, com antecedentes epidemiológicos de contato direto com gado bovino com brucelose. Apresentou febre prolongada por 3 meses, sudorese noturna e perda de peso nesse período, evoluindo com a formação de abscesso perivertebral e do canal medular, acometendo as vértebras de T7 a T12, com diagnóstico sorológico e anatomopatológico. Tratado com doxiciclina por 6 semanas associada à gentamicina por 7 dias apresentou melhora clínica, sendo acompanhado por 3 anos, com persistência de alteração de transaminases e sorologia não reagente. Nesse momento foi disponibilizada a PCR na urina, que foi positiva em duas amostras e a urocultura negativa. O paciente foi retratado com doxiciclina e rifampicina por 6 meses.

Paciente 4: masculino, branco, idade 48 anos, engenheiro agrônomo, que se acidentou durante a vacinação bovina com a vacina B19, desenvolvendo lesão importante no local da inoculação e quadro

febril, alteração do sono, lentificação mental, irritabilidade e sudorese noturna, cujo diagnóstico foi sorológico. Tratado com doxiciclina e rifampicina por 6 semanas.
Paciente 4: masculino, branco, idade 22 anos, chefe de cozinha internacional, residente em Londres há 18 meses, onde manipulou carne e vísceras cruas de distintos animais domésticos e silvestres, ingeriu carne mal passada de veado, alce, bovina de diferentes países, queijos artesanais de cabra e de ovelha, não pasteurizados, procedentes de Portugal e da Espanha e iogurte do Irã. Retornou ao Brasil com queixa de febre e adenomegalia cervical, mediastinal, e hilar há 6 meses evoluindo com insuficiência respiratória aguda. O diagnóstico sorológico foi negativo e a PCR na urina positiva. Tratado com doxiciclina e rifampicina por 6 meses.

DISCUSSÃO

Com esses cinco relatos de caso mostramos os diferentes antecedentes eco epidemiológicos e quadros clínicos da brucelose humana nos pacientes atendidos no Ambulatório de Doenças Tropicais e Zoonoses do Instituto de Infectologia Emílio Ribas. O desconhecimento da doença por grande parte dos médicos, o polimorfismo clínico e a dificuldade no diagnóstico laboratorial fazem da brucelose humana uma zoonose negligenciada. A falta de diagnóstico e tratamento dos pacientes, que muitas vezes evoluem para formas crônicas, obriga os mesmos a procurarem assistência médica em diferentes especialidades sem resolução. Portanto, há necessidade de maior divulgação da doença e de métodos laboratoriais diagnósticos específicos e sensíveis para passarmos a conhecer melhor a brucelose humana no Brasil e também a sua real incidência.

BIBLIOGRAFA

1. Lopes LB, Nicolino R, Haddad JPA. Brucellosis Risk factors and prevalence: a review. Open Vet Scien J. 2010, 4: 72-84.
2. Lucero NE, Ayala SM, Escobar GI, Jacob NR. The value od serologic tests for diagnosis and fllow up of patients having Brucellosis. Am J Infect Dis. 2007; 3: 27-35.
3. Galinska EM, Zagórski J. Brucellosis in humans –etiology, diagnostic, clinical forms. Ann Agric Environ Med. 2013; 20:233-8.
4. Pappas G, Akritidis N, Bolilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. N Engl J Med. 2005; 352:2325-36.

Palavra chave: Brucelose, zoonose, brucela.

Instituto de Infectologia Emílio Ribas e Faculdade de Medicina da PUC-SP, São Paulo, SP, Brasil.
mvsilva@pucsp.br

Brucelosis en cabras abortadas en majadas de los Llanos de La Rioja

Brucellosis in aborted goats in flocks located in the Llanos of La Rioja

Tomás Aníbal Vera[1], Ernesto J. A. Späth[2], Rosana Claudia Malena[2], Elena Raquel Brizuela[3], Eliana Villagrán[1], Ramón Armando Ricarte[1], Elias Bazan[4], Dante Díaz[4]

La cría extensiva de cabras criollas es la segunda actividad ganadera en importancia a nivel regional, su producto final es el cabrito mamón o lechal. El manejo tradicional se caracteriza por la permanencia en la majada de chivos, cabras y otras categorías, por lo tanto las pariciones ocurren durante el otoño-invierno (60-65%) y fines de primavera (35-40%). La provincia de La Rioja cuenta con 8.116 explotaciones agropecuarias (EAP´s), de estas, 3152 desarrollan actividades ganaderas con bovinos y caprinos. La región denominada Llanos de La Rioja está ubicada al sureste de la provincia, comprende 9 departamentos y concentra el 84% de las existencias caprinas provinciales que ascienden a 226.987 cabezas.
Una de las principales preocupaciones de productores y técnicos que los asesoran, son los abortos que ocurren en las cabras, tanto por las pérdidas de producción que producen como por el posible efecto sobre la salud humana dado que muchas de las enfermedades capaces de producir abortos, son zoonóticas. Se mencionan en la bibliografía varias causas de aborto en caprinos: a.-infecciosas: Clamidiosis (*Chlamidophila abortus*), Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*), Campylobacteriosis (*Campylobacter jejuni y fetus*), Mycoplasmosis (*Mycoplasma mycoides y agalactia*), Leptospirosis (*Leptospira interrogans, icterohemorrhageae, gripotiphosa y pomona*) y Brucelosis (*B. melitensis*) entre otras y b.-no infecciosas: como hipoglucemia, estrés, plantas tóxicas, administración de fármacos y deficiencias minerales. El aborto espontaneo en las cabras es parte de un mecanismo protector, adaptativo y evolutivo que se desencadena bajo situaciones extremas para proteger prioritariamente a la madre.

Los primeros antecedentes de presencia de brucelosis en Los Llanos de La Rioja datan de 1939, donde se observó que el 88,5% de las majadas estudiadas, el 12% de los animales sangrados y el 63% de las personas en contacto con las majadas dieron positivo a la prueba de Huddleson. El 14% de las cabras abortadas en ese estudio fueron positivas a Huddleson. En Argentina, en el periodo 1994-2006, se reportaron 367 casos de brucelosis en humanos, 5 de ellos ocurrieron en La Rioja y 4 de estos se correspondieron con *Brucella melitensis*.
El objetivo del presente trabajo fue evaluar si la ocurrencia de abortos está asociada a la infección con brucelosis en majadas caprinas del departamento Chamical de la provincia de La Rioja.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio comprendió a 11 productores del departamento Chamical, de las localidades de Chulo (6), Esquina del Norte (1), Santa Lucia (1) y Bajito Hondo (3) (Cuadro 1) que realizaron consultas a la AER Chamical por abortos ocurridos en sus majadas. *Muestreo:* Consistió en sangrar las cabras que los productores identificaron como abortadas en las semanas previas al sangrado, además se realizó un inventario de cada una de las majadas. *Toma de muestras:* Las muestras de sangre se obtuvieron de cada animal por venipunción yugular, posteriormente se obtuvo suero en tubos Eppendorf, el que se conservó a -15ºC hasta su procesamiento. En Noviembre de 2004, se obtuvieron sueros de 232 cabras que habían abortado de una población de 1337 cabras (Cuadro 1)
Análisis de laboratorio: Los sueros fueron analizados por la prueba de BPA (Buffered plate antigen) y los positivos, confirmados por las técnica de Fijación del Complemento (FC, microtécnica al 50% de hemólisis) en el Laboratorio de Sanidad Animal del INTA Balcarce, utilizándose antígenos comerciales aprobados por SENASA, ambas pruebas se interpretaron de acuerdo a los criterios del SENASA.

Cuadro 1. Descripción de las majadas estudiadas y resultados de brucelosis.

Localidad (establecimiento Nº)	Total majada	Total Adultas	Total Abortadas	FC+	% de reactoras en abortadas	% abortos
Chulo (1)	94	86	18	0	0	20,9
Chulo (2)	81	62	38	0	0	61,3
Chulo (3)	127	75	23	0	0	30,7
Chulo (4)	81	75	10	9	90	13,3
Chulo (5)	73	49	14	11	78,6	28,6
Chulo (6)	53	32	7	1	14,3	21,9
Esquina del Norte (7)	345	258	10	0	0,0	3,9
Santa Lucia (8)	187	82	14	0	0,0	17,1
Bajito Hondo (9)	169	121	30	21	70,0	24,8
Bajito Hondo (10)	90	62	52	0	0,0	83,9
Bajito Hondo (11)	37	18	16	0	0,0	88,9
Total	**1337**	**920**	**232**	**42**	**18,1**	**25,2**

RESULTADOS

Un 25,2% de las cabras abortaron (rango entre majadas 3,9 a 89%), de ellas un 18,1% fueron reactores a brucelosis. En las 4 majadas con cabras abortadas positivas a brucelosis ocurrió un 22% de abortos, mientras que en las 7 majadas restantes hubo un 26,6% de abortos sin diagnostico de brucelosis en las cabras que abortaron, aunque no es posible descartar que entre las no abortadas hubiera reactores.

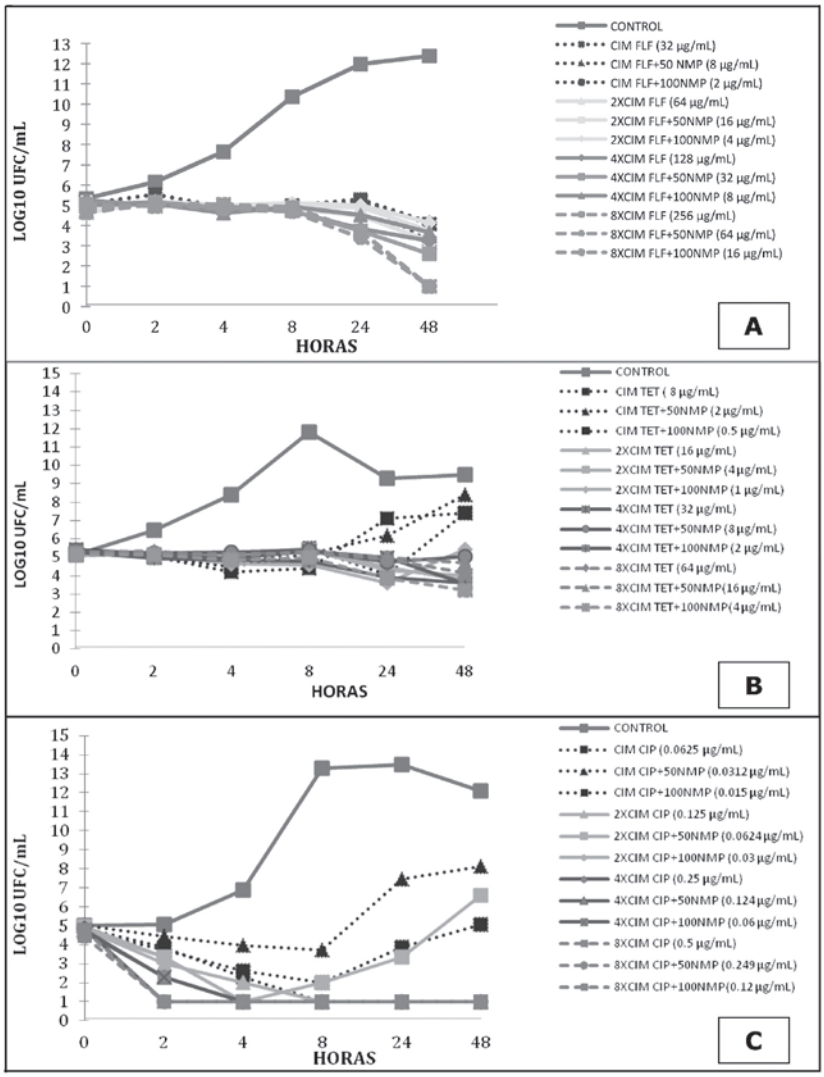
DISCUSIÓN

Los datos indican una alta ocurrencia de abortos en todas las majadas con una gran variación entre establecimientos y dentro de cada comunidad (3,9 a 89%). Aun cuando los sueros provenían de cabras que habían abortado, solo se encontró un 18,1% de reactores a brucelosis, dentro de las 4 majadas con brucelosis se observó el porcentaje de reactores varió del 14,3 al 90%., indicando posiblemente infección reciente y activa dentro de estas majadas. Debido a que el 63,6% de las majadas con el 82,9% de cabras que abortaron resultaron negativas a brucelosis, se concluye que se hace necesario profundizar el diagnóstico para determinar otros agentes infecciosos o causas de aborto en majadas caprinas de Los Llanos de La Rioja.

BIBLIOGRAFÍA

- INDEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos). 2002. Censo Nacional Agropecuario (CNA). http://www.indec.mecon.ar.
- Fitte, O. 1941. "La Brucelosis Caprina en Los Llanos de La Rioja" Rev. Med. Vet. (Bs. As).23: 503-536.
- Lucero, N.E.; Ayala, S.M., Escobar, G.I. and Jacob, N.R. 2007. Brucella isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. Epidemiol. Infect. Pages: 1-8.
- Diab, S.S. y Uzal, F. A. 2010. Diagnóstico de las causas más comunes de abortos infeccioso en ovinos y caprinos. www.produccion-animal.com.ar, 4 p.

Figura 1. Comparación del efecto del uso de NMP en la CLB de la cepa AG112 frente A) FLF; B) TET y C) CIP. Las concentraciones evaluadas en todos los casos fueron la CIM, 2xCIM, 4xCIM, 8xCIM



Palabras clave: Cabras, abortos, brucelosis.

(1) INTA EEA La Rioja – Ruta Nac. Nº 38 Km 267 (5380) Chamical – La Rioja
vera.tomas@inta.gob.ar ; villagran.eliana@inta.gob.ar y ricarte.ramon@inta.gob.ar
(2) INTA EEA Balcarce - Ruta 226 Km 73,5 (7620) Balcarce – Prov. de Buenos Aires
Spath.ernesto@inta.gob.ar y malena.rosana@inta.gob.ar
(3) Cátedra de bases biológicas de la producción animal, Carrera de Ingeniería Agronómica, Depto. Ciencias Aplicadas. UNLAR – Sede Capital - Av. Luis M. de la Fuente S/N - Ciudad Universitaria de la Ciencia y de la Técnica, (5300) La Rioja -
raquelbrizuela@gmail.com
(4) Actividad privada
elias.g.bazan@hotmail.com y dantediaz1666@hotmail.com

Brucelosis: estudio de prevalencia en veintiséis hatos caprinos del sur del Departamento Rosario Vera Peñaloza, La Rioja

Brucellosis: An study of the prevalence in twenty goats herds, in Rosario Vera Peñaloza department, La Rioja

Carla Mendez[1], Daniel Cabral Ortiz[1], Juan Pablo Alberghini[2], Diego Bonelli[3], Gabriel Lezcano[3], Anabel Lucero[4]

La presencia de brucelosis en la especie caprina adquiere gran relevancia teniendo en cuenta no sólo las pérdidas económicas que ocasiona sino también su potencial transmisión a la población humana.
En la provincia de La Rioja no se conoce con precisión la distribución de la enfermedad por departamentos aunque se estima, a partir de un muestreo provincial realizado en el año 2008, una prevalencia caprina cercana al 1%. En la región riojana llanos sur en el periodo 2009-2013 se registraron 57 casos de Brucelosis en humanos, de un total provincial de 207[1]. En el Departamento Rosario Vera Peñaloza, durante los años 2012-2013, se muestrearon 231 caprinos, para participar en una exposición local. Los animales pertenecientes a 78 productores, fueron negativos a la prueba de Antígeno Baferado en Placa (BPA).
En este contexto desarrolla sus actividades, la Asociación de Mujeres Rurales "Unión y Trabajo" (A.M.R.) que articula su labor social y agropecuaria con diferentes organizaciones y organismos del estado. Las integrantes de la agrupación, junto a técnicos de la Subsecretaria de Agricultura Familiar y del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), vienen trabajando en las principales problemáticas relacionadas con la producción caprina. A partir del abordaje de problemas sanitarios de las majadas caprinas, surge la inquietud, por parte de las productoras, de conocer las enfermedades que causan abortos en sus animales. En el año 2013 se inicia un estudio de prevalencia de brucelosis en las majadas pertenecientes a las integrantes de la A.M.R. y la de aquellos productores que, no siendo miembros de la organización, poseen caprinos que forman parte de la misma unidad epidemiológica.[2]

OBJETIVOS

Estudiar la prevalencia de brucelosis caprina en las majadas pertenecientes a la Asociación de Mujeres Rurales "Unión y Trabajo" aplicando una estrategia de intervención comunitaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el sur del Departamento Rosario Vera Peñaloza, provincia de La Rioja. Esta zona, perteneciente al Chaco Árido, se caracteriza por suelos pobres, alta evapotranspiración y precipitaciones de tipo monzónicas de unos 300 mm. anuales. El estrato agrario del distrito está conformado por 87% de pequeños productores quienes realizan ganadería extensiva mixta de bovinos y caprinos. La alimentación de los animales es a base de forraje natural. Debido a la presencia de cierres perimetrales precarios y a la escasa superficie de pastoreo, las cabras se alimentan durante el día en tierras que exceden los límites de sus propietarios, ocupando campos de distintos dueños.
El diseño utilizado en el estudio ha sido observacional, descriptivo de corte transversal.
Se decidió realizar un muestreo del total de los animales de la majada ya que se tomó un número bajo de productores que deseaban eliminar los animales positivos, para lograr, en una segunda etapa, el reconocimiento de majadas saneadas o libres de Brucelosis.
En un primer momento, la selección de los establecimientos para el relevamiento se limitó a las integrantes de la A.M.R. con antecedentes en la atención sanitaria caprina a través de botiquines comunitarios. En un segundo momento, se incorporan al muestreo aquellos establecimientos cuyos animales comparten los sitios de pastoreo con las majadas analizadas. Se definieron a través de entrevistas informales y talleres 14 unidades epidemiológicas.
Los animales se identificaron con caravanas y la totalidad de los caprinos en estudio fueron examinados clínicamente. Esta labor se realizó de forma articulada entre profesionales de la Municipalidad del Departamento Rosario V. Peñaloza, de la Subsecretaría de Agricultura Familiar y del INTA.
Por punción de la vena yugular, utilizando agujas y tubos estériles, se obtuvo 10 ml. de sangre de cada

1. Fuente: Departamento zoonosis, Ministerio de Salud Provincia de La Rioja, 2013.
2. La unidad epidemiológica es un grupo de animales con determinada relación epidemiológica y la misma probabilidad de exposición a un agente patógeno, sea porque comparten el mismo espacio o porque pertenecen a la misma explotación.

animal mayor a seis meses. Los análisis serológicos para determinar la presencia de anticuerpos contra cepas lisas de *Brucella* sp., mediante las pruebas de BPA se realizaron en el laboratorio de la AER INTA Portezuelo.

RESULTADOS

Se logró una eficiencia de muestreo de 0,94, sangrando 1890 animales de un total de 1972. Además, de las muestras obtenidas se registró una pérdida de 39 por falta de identificación, numeración incorrecta de los tubos o hemólisis de la sangre.
El 100% de las muestras analizadas mediante la técnica de BPA fueron negativas.

DISCUSIÓN

La ausencia de anticuerpos contra cepas lisas de *Brucella* sp. en las majadas sangradas descarta una de las posibles causas de aborto caprino. Para sostener esta condición sanitaria en las unidades epidemiológicas en estudio, es indispensable un adecuado control tendiente a evitar el ingreso de animales portadores de *Brucella* sp., tarea a realizar conjuntamente entre los responsables de los animales y profesionales a cargo de la sanidad de los hatos.
La alta eficiencia de muestreo está íntimamente relacionada al compromiso comunitario de los caprineros asentados en las unidades epidemiológicas en estudio. En parte, ello también es producto de los trabajos previos con los técnicos, lo que permite una interrelación positiva que redunda en la salud humana y la producción animal.
Los resultados de este tipo de estudios son importantes al momento de definir acciones sanitarias, a pesar que su implementación puede ser onerosa en algunos casos. Sin embargo, la relación costo-beneficio no debería ser un obstáculo al considerar la salud de las personas como un objetivo prioritario.
La articulación interinstitucional permitire disminuir costos y una mayor eficiencia en el uso de los recursos.

BIBLIOGRAFÍA

- Mancebo, O.A.; Russo, A.M.; Giménez, J.N.; Gait, J.J Monzón, C.M. Enfermedades más Frecuentes en Caprinos de la Provincia de Formosa (Argentina) Vet. Arg. Vol. XXVIII - Nº 274. Febrero 2011.
- Código sanitario para animales terrestres. Organización Internacional de Sanidad Animal, 2010. Web.oie.inta.

Palabras clave: brucelosis caprina, abordaje comunitario, organización civil.

(1) Agencia de Extensión Rural. INTA Chepes. Bernardino Rivadavia s/n, Chepes La Rioja.
aerintachepes@correo.inta.gov.ar;
(2) INTA-IPAF Reg. Cuyo. Salta 1393 (n), San Juan.
alberghini.juan@inta.gob.ar ;
(3) Subsecretaría de Agricultura Familiar. Belgrano (s) s/n.
dr_bonelli@hotmail.com;
(4) Secretaría de Producción. Municipalidad Rosario V. Peñaloza. 9 de julio y Sarmiento, Chepes La Rioja.
adul11@hotmail.com

Búsqueda bioinformática de secuencias específicas en *Campylobacter fetus*

Bioinformatics searching of specific *Campylobacter fetus* gene sequences

Andrea Gioffré[1], María Paula Passina[2], Paolicchi Fernando[3], Silvio Cravero[1]

Las campilobacterias son patógenos bacterianos zoonóticos. *C. fetus*, es conocido como un agente comensal o patógeno del ganado y es considerado un patógeno emergente, siendo la especie de *Campylobacter* más frecuentemente aislada de sangre en los casos de bacteremia en humanos. La especie comprende varias subespecies con alta identidad a nivel genómico, pero que difieren en cuanto a preferencia de hospedador y nicho. *C. fetus* subsp. *fetus* y *C. fetus* subsp. *venerealis*, están adaptados a la mucosa digestiva o tracto urogenital de animales (principalmente bovinos, ovejas), provocando abortos e infertilidad. *C. fetus* subsp. *testudinum* subsp. nov. es una nueva subspecie de *C. fetus* con marcadores moleculares que sugieren su origen en reptiles. La diferenciación entre *C. fetus fetus* y *C. fetus venerealis* mediante técnicas microbiológicas es difícultosa. La necesidad de ensayos más confiables ha derivado en la aplicación de los métodos moleculares como la PCR (reacción en cadena de la polimerasa). El protocolo de PCR más acepta-

do actualmente identifica a la subespecie *fetus* por ausencia de amplificación y no por amplificación de un gen específico, lo que muestra la necesidad de nuevas secuencias que mejoren la tipificación del patógeno tanto en el ámbito veterinario como en salud pública. El objetivo de este trabajo fue identificar nuevas secuencias diferenciales de *C. fetus fetus* mediante el análisis comparativo de sus genomas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un análisis comparativo de secuencias genómicas mediante el visualizador gráfico *Artemis Comparison Tool* (www.sanger.ac.uk/resources/software/act). En esta primera fase del estudio se priorizó la identificación de aquellas secuencias presentes en *C. fetus fetus*. Se seleccionaron como genomas representativos los de las cepas *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* 82-40 (NC_008599) y *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* NCTC 10354 (NZ_CM001228) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome). La presencia e identidad de las secuencias génicas seleccionadas fueron analizadas mediante BLAST en los distintos genomas de *Campylobacter* (Microbial Nucleotide BLAST).

RESULTADOS

Se identificaron 13 secuencias presentes en *C. fetus fetus* y ausentes en *C. fetus venerealis*. La mayoría de estas (n=10) codifican proteínas hipotéticas. De éstas, un gen que se encuentra presente en dos copias y codificaría para una proteína hipotética de 164 aminoácidos, también se encuentra presente en el genoma recientemente publicado de *Campylobacter* sp. 03-427 (propuesto como subespecie *testudinum*). Ninguno de los otros genes identificados tuvo identidad significativa con otras especies del género ni con otros géneros. De los genes con función asociada, se encuentran 3 metiltransferasas, una de ellas anotada con función de caffeoyl-CoA O-metiltransferasa.

DISCUSIÓN

La secuenciación de los genomas representa una plataforma valiosa para la identificación de nuevas secuencias que puedan ser explotadas en la tipificación de *C. fetus*. Algunas de las secuencias derivadas de nuestro análisis fueron coincidentes con las publicadas posteriormente a la realización de este trabajo. Sin embargo, pudimos identificar dos genes (1419pb y 492pb) que codifican para proteínas hipotéticas que son novedosos. Las diferencias entre los genomas empleados para el análisis y en la estrategia utilizada en los distintos trabajos pueden originar estas diferencias. Es interesante resaltar la presencia de una probable caffeoyl-CoA O-metiltransferasa en *C. fetus fetus*, enzima principalmente asociada a la síntesis de lignina en plantas. El rol de las O-metil transferasas en microorganismos es poco conocido, pudiendo estar asociado a la biosíntesis de antibióticos o metilación de compuestos como los flavonoides.

Es importante mencionar la necesidad de la validación experimental de estos resultados evaluando la presencia de los genes en un panel representativo de cepas de *Campylobacter*. Esto nos permitirá evaluar la utilidad de estas secuencias en la tipificación molecular de la bacteria. Asimismo, la identificación de genes diferenciales puede constituir un aporte valioso en torno a la patogenia de estas bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

- 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 Nov;75 (11):827-31.
- Kienesberger S, Sprenger H, Wolfgruber S, Halwachs B, Thallinger GG, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Zechner EL, Gorkiewicz G. Comparative Genome analysis of *Campylobacter fetus* subspecies revealed horizontally acquired genetic elements important for virulence and niche specificity. PLoS ONE 2014; 9(1): e85491. doi:10.1371/journal.pone.0085491.

Palabras clave: Bioinformática, tipificación molecular, *Campylobacter.*

(1) Instituto de Biotecnología Centro de Investigaciones Veterinarias y Agronómicas -INTA-Castelar, Buenos Aires, Argentina. Dr. Nicolás Repetto y De Los Reseros S/Nº (B1686IGC).
gioffre.andrea@inta.gob.ar. cravero.silvio@inta.gob.ar
(2) Facultad de Farmacia y Bioquímica-Universidad de Buenos Aires. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Argentina.
mppassina@hotmail.com
(3) Laboratorio de Bacteriología EEA-INTA Balcarce, Argentina. Ruta 226 Km 73,5 (7620)
paolicchi.fernando@inta.gob.ar

Caracterización de la respuesta inmune innata pulmonar a la infección intratraqueal con *Brucella abortus* 2308

Characterization of pulmonary innate immune response to intratracheal infection with *Brucella abortus* 2308

Soledad Hielpos[1], Mariana Ferrero[1], Josefina Bonetto[1], Andrea Fernández[1], Diego Comerci[2], Pablo Baldi[1]

La brucelosis puede ser transmitida al hombre por la inhalación de aerosoles contaminados. La importancia de la vía respiratoria de transmisión ha quedado de manifiesto ante la aparición de brotes epidémicos de brucelosis en ámbitos laborales por inhalación (frigoríficos, laboratorios productores de vacunas, etc.). La elevada infectividad de *Brucella* por vía respiratoria ha sido una de las características determinantes para que los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) incluyeran a esta bacteria en el listado de agentes de posible uso en bioterrorismo. A pesar de ello, la ruta respiratoria de infección por *Brucella* sólo ha sido evaluada en modelos animales sobre vacunas. Si bien es conocido que *Brucella* disemina sistémicamente luego de ser inhalada, actualmente se desconoce la respuesta inmune temprana del pulmón a la infección aerógena por *Brucella*. Los objetivos de este trabajo fueron evaluar en el modelo murino la cinética de diseminación sistémica de *Brucella abortus* 2308 luego de la infección intratraqueal y caracterizar la respuesta inmune innata desencadenada en el pulmón en respuesta a la infección.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se inocularon por vía intratraqueal ratones Balb/c (N= 5 por grupo) de 8 semanas con $1x10^6$ UFC de *B. abortus* 2308 en 20 ul de buffer fosfato salino. Como control se inocularon otros animales con 20 ul de buffer fosfato salino. A distintos tiempos post-infección (p.i.: 0, 1, 2, 3 y 7 días) se realizaron recuentos bacterianos en diferentes órganos. Para ello algunos ratones se sacrificaron por sobredosis de ketamina y xilazina. Luego se extrajeron quirúrgicamente y en esterilidad los pulmones, el hígado y el bazo. Estos órganos se homogeneizaron en 2 ml de buffer fosfato salino y luego se sembraron diluciones seriadas de los homogenatos en placas de agar tripteína de soja para recuento de unidades formadoras de colonias. Mientras que los homogenatos del pulmón fueron conservados a -70°C para posteriormente determinar el nivel de las citoquinas IL-1β, TNF-α, y de las quemoquinas KC y MCP-1 mediante ELISAS comerciales.

RESULTADOS

El recuento bacteriano en los homogenatos de pulmón mostró que a 2 horas p.i. el 77% del inóculo inicial estaba en pulmón. Durante los 2 primeros días p.i. el número de bacterias se redujo ($7,8 \times 10^5$ UFC/órgano 2 horas p.i. versus $1,7 \times 10^5$ UFC/órgano a los 2 días p.i.); pero aumentó a partir del 3 día p.i. alcanzando valores similares a las obtenidas 2 horas p.i. y estos valores se mantuvieron estables hasta finalizado el estudio. En los homogenatos de hígado y bazo la bacteria fue detectada en todos los animales al día 1 p.i. y el número de bacterias disminuyó gradualmente hasta los 3 días p.i. Sin embargo, a los 7 días p.i. el número de bacteria aumentó más de 100 veces en hígado y bazo comparado con el día 3 p.i.. Para evaluar la respuesta innata pulmonar se cuantificaron IL-1β, TNF-α, KC y MCP-1 en los homogenatos de los pulmones infectados o inoculados con buffer fosfato (Controles). En los 2 primeros días post-infección solo se observó un leve aumento en la secreción de TNF-α comparado con los controles ($p < 0.5$). Mientras que en los días 3 y 7 p.i. los niveles de TNF-α en los pulmones de los animales infectados no fueron diferentes a los controles. Por el contrario las citoquinas MCP-1 e IL-1β aumentaron significativamente al día 3 p.i. ($p<0.05$) con respecto al control, y al día 7 p.i. los niveles de KC, IL-1β y MCP-1 mostraron su mayor incremento en comparación con los controles (656,8 ± 230 pg/ml versus 194,4 ± 36 pg/ml del control para IL-1β; 530,7± 95 pg/ml versus 230 ± 30 pg/ml del control para MCP-1 y 274,9± 99 pg/ml vs. 97,6 ± 30 pg/ml del control para KC).

DISCUSIÓN

La defensa antibacteriana eficaz requiere la generación de una vigorosa respuesta inflamatoria, ello implica la producción de citoquinas y quemoquinas así como el reclutamiento y activación de neutrófilos y macrófagos en los sitios primarios de infección. En este estudio, se analiza por primera vez la respuesta inmune innata pulmonar durante la infección por vía aerógena por *Brucella abortus*. Nuestros resultados muestran un claro retraso en la secreción de citoquinas y quemoquinas. Durante los primeros dos días de infección solo se detecta un leve incremento en la producción de TNF-α, pero no de quemoquinas o IL-1β. La presencia de TNF-α coincide con la disminución en el número de bacterias viables observada durante los 2 primeros días p.i. en el pulmón. En este órgano los macrófagos alveolares son las primeras células en contactar a las brucelas inhaladas. Recientemente demostramos que los macrófagos alveolares responden a la in-

fección por *Brucella abortus* secretando de manera tardía y leve IL-1β y TNF-α. La presencia de IL-1β es clave para activar en el epitelio alveolar la secreción de quemoquinas que atraerán fagocitos al sitio de infección y permitirán controlar la infección. A los 3 días p.i. *Brucella* replica en el pulmón y el número de bacterias viables se mantiene constante hasta el fin de este estudio. Recién a los 7 días p.i. IL-1β y las quemoquinas KC y MCP-1 encargadas de reclutar neutrófilos y monocitos respectivamente al sitio de infección, alcanzan sus valores máximos. Estos resultado indican que *Brucella abortus* induce una respuesta inmune innata tardía en el pulmón en los primeros días después de la infección intratraqueal, esto le permitiría evadir la respuesta inmunológica pulmonar, diseminarse sistémicamente y persistir por tiempos prolongados en el pulmón del ratón.

BIBLIOGRAFÍA

- Archambaud C, Salcedo SP, Lelouard H, Devilard E, de Bovis B, Van Rooijen N, Gorvel JP, Malissen B. 2010. Contrasting roles of macrophages and dendritic cells in controlling initial pulmonary *Brucella* infection. Eur. J. Immunol. 40:3458–3471.
- Ferrero MC, Hielpos MS, Carvalho NB, Barrionuevo P, Corsetti PP, Giambartolomei GH, Oliveira SC, Baldi PC. Key role of Toll –like receptor 2 in inflammatory response and major histocompatibility complex class II downregulation in *Brucella abortus* infected-alveolar macrophages. Infect. Immun. 2014, 82(2):626.
- Kahl-McDonagh MM, Arenas-Gamboa AM, Ficht TA. 2007. Aerosol infection of BALB/c mice with *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* and protective efficacy against aerosol challenge. Infect. Immun.75:4923– 4932.

Palabras clave: Inmunidad innata, *Brucella*, pulmón.

(1) Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral, IDEHU, CONICET, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Junín 956. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
(2) Instituto de Investigaciones Biotecnológicas "Dr. Rodolfo A. Ugalde", IIB, CONICET, Universidad Nacional de San Martín, San Martín, Buenos Aires, Argentina.

Caracterización genética de cepas de virus Coriomeningitis Linfocitaria de Argentina

Genetic characterization of Limphocytic Choriomengitis virus strains from Argentina.

Julia Brignone, Jorge García, Carina Sen, Carmen Saavedra, Gladys Calderón, Silvana Levis.

El virus de la coriomeningitis linfocitaria (vLCM) es el prototipo de la familia *Arenaviridae* por ser el primer miembro de este grupo reconocido como patógeno para humanos. Los arenavirus son partículas envueltas que contienen un genoma bisegmentado ARN de cadena simple que codifica 4 proteínas virales en un modo ambisense. El segmento S (~3,4 kb) codifica el precursor de la glicoproteína (GPC) y la nucleoproteína (NP), separados por una región intergénica no codificante. El segmento L (~7,2 kb) codifica una pequeña proteína (Z) y la proteína L que es una RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp); también separadas por una región intergénica no codificante. El vLCM es el único arenavirus que tiene una amplia distribución geográfica, comprendiendo América, Europa, Asia, África y Oceanía, debido al carácter cosmopolita de los roedores múridos (*Mus musculus* y *Mus domesticus*) a los que se encuentra principalmente asociado, o roedores de la familia *Cricetidae.*

En Argentina, existe una limitada información de la actividad del vLCM, la cual fue documentada por serología en seres humanos y roedores de las provincias de Santa Fe y Buenos Aires. El objetivo del presente trabajo fue realizar la caracterización genética de dos cepas del vLCM, una aislada de humanos y la otra de *Mus musculus.*

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron dos cepas: una cepa aislada de un caso humano de coriomeningitis linfocitaria ocurrido en Fighera, provincia de Santa Fe, en 2001 (cepa 44416), y otra cepa aislada de roedor *Mus musculus* de la localidad de Hughes, Santa Fe, en 2004 (cepa 4949). Se realizó la extracción de ARN de los sobrenadantes de los cultivos celulares in-

fectados con las cepas seleccionadas. El mismo fue utilizado en la técnica de RT-PCR anidada empleando inicialmente un set de oligonucleótidos diagnóstico que amplifica un fragmento de 359 nucleótidos del segmento genómico S. Los productos de PCR fueron purificados utilizando QIAquick Extration kit (QIAGEN). Para la secuenciación de un fragmento mayor se utilizaron oligonucleótidos que fueron diseñándose a medida que se obtenían secuencias específicas del virus. La secuenciación de los productos amplificados se realizaron en un equipo *ABI PRISM 3100 DNA Analyzer (Applied Biosystems).* Y los análisis filogenéticos se realizaron empleando los métodos de Neighbour Joining y Análisis Bayesiano.

RESULTADOS

Se amplificó y secuenció un fragmento de 1342 nucleótidos correspondiente a la región codificable de la nucleoproteína viral del segmento genómico S. El análisis bayesiano de las secuencias confirmó que las 2 cepas argentinas se agrupan dentro del linaje I de vLCM junto a otras cepas americanas y europeas. El análisis por Neighbour Joining mostró árboles de topología similar. La divergencia nucleotídica observada entre las 2 cepas argentinas fue de un 11.5%, y la divergencia a nivel aminoacídico fue de un 2.3%. Las divergencias observadas entre las cepas de vLCM argentinas y otras cepas del linaje I variaron entre 13.4%-16.5% (nt) y 3,1%-10.6% (aa).

DISCUSIÓN

El vLCM fue reconocido por primera vez en Argentina en 1970, mediante la detección de anticuerpos específicos en casos humanos clínicamente compatibles con Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA). Posteriormente fue aislado de roedores *Mus musculus* y casos humanos del área endémica de FHA. El presente estudio constituye la primera caracterización genética de cepas argentinas de vLCM que confirman que las mismas pertenecen al linaje I de vLCM. La secuenciación del genoma completo de las cepas argentinas de vLCM permitirá una mejor y más completa clasificación de las mismas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Salvato, M.S., Clegg, J.C.S., Buchmeier, M.J., Charrel, R.N., Gonzalez, J.P., Lukashevich, I.S., Peters, C.J., Rico-Hesse, R., Romanowski, V., 2005, Family Arenaviridae. In: Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U., Ball, L.A., (Eds), Virus Taxonomy, Eighth report of the Internacional Committee on Taxonomy of Armstrong, C., Lillie, R.D. Experimental lymphocytic choriomeningitis of monkeys and mice produced by a virus encountered in studies of the 1933 St. Louis encephalitis epidemic. Public Health Rep 1934; 49: 1019-27.
2. Childs JE, Peters CJ. Ecology and epidemiology of arenaviruses and their hosts. In: Salvato MS, editor. The *Arenaviridae.* New York: Plenum Press; 1993. P.331-84.
3. Skinner H.H., Knight E.H. The potencial role of Syrian hamsters and other small as reservoirs of lymphocytic choriomeningitis virus. J Small Anim Pract. 1979;20:145-61. DOI:10.1111/j.1748-5827.1979.tb07023.x
4. Barrera Oro, J.G., Maiztegui, J.I., Sabattini, M.S., Garre, M.E., Evidencias serológicas preliminares de la actividad de un arenavirus relacionado con el de la coriomeningitis liofocítica (LCM) en presuntos enfermos de Fiebre Hemorrágica Argentina (FHA). *Rev Asoc Arg Microbiol* 1970; 2: 184.

Palabras clave: Arenavirus, LCM, Mus musculus.

Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui".
Pergamino. Buenos Aires. Argentina. Monteagudo 2510.
jubrignone@yahoo.com.ar

Coincidencia de perfiles genéticos de *Leptospira borgpetersenii* en animales silvestres y domésticos de Argentina

Matching *Leptospira borgpetersenii* genetic profiles in wild and domestic animals of Argentina

Sylvia Grune Loffler, Mara Martinez, Luis Samartino, Graciela Romero, Bibiana Brihuega

La leptospirosis es una enfermedad infecto contagiosa de relevante importancia en la salud pública y es considerada la zoonosis de mayor distribución mundial. Esta enfermedad puede ser trasmitida al hombre a través del contacto con animales de producción, silvestres y mascotas y/o contaminación de efluentes por desechos animales. El punto de partida para la diseminación de la leptospirosis es la presencia de un portador. Estos, ya sean animales domésticos o silvestres, eliminan leptospiras con la orina en forma discontinua

y por períodos de tiempo variables. De esta manera se efectiviza la infección directa a otros animales, de la misma u otras especies, como así también al hombre. En Argentina durante el año 2013 se diagnosticaron 1692 casos en humanos, siendo esta enfermedad endémica en nuestro país. Se estima que el 10% de los abortos en bovinos son causados por leptospiras patógenas, significando una pérdida económica relevante para el rubro ganadero. Dada la plasticidad génica presente en este grupo de espiroquetas es relevante la tipificación de las cepas patógenas circulantes en el país para poder determinar estrategias de prevención y control e implementarlas. El objetivo de este trabajo fue caracterizar molecularmente cepas de *Leptospira borgpetersenii* provenientes de animales silvestres y domésticos de Argentina mediante la técnica de repeticiones en tándem de número variable en múltiples locus (MLVA).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas de leptospiras patógenas incluidas en este estudio provenían de aislamientos a partir de la siembra de órganos de ratas, ratones, comadreja, jabalí, guanaco y un ovino. La técnica empleada para la caracterización molecular de las cepas fue el análisis de repeticiones en tándem de número variable en múltiples locus (MLVA), esta técnica se basa en el uso de 5 VNTR: 4,7, 10, Lb4 y Lb5 para la especie *Leptospira borgpetersenii*. Luego de obtener las amplificaciones se calcularon las repeticiones de cada VNTR flanqueado y se compararon las repeticiones con el perfil genético de la cepa referencial *Leptospira borgpetersenii* Ballum serovar Castellonis Castelon 3.

RESULTADOS

En este estudio se genotipificaron un total de 21 cepas pertenecientes a la especie *L. borgpetersenii*, compuestas por las siguientes especies animales: 7 cepas provenientes de ratas (*Rattus rattus*), 10 cepas de ratones (9 de *Mus musculus* y 1 de *Oligoryzomys flavescens*), 1 cepa de comadreja (*Lutreolina crassicaudata*), 1 cepa de jabalí (*Sos scrofa*), 1 cepa de guanaco (*Lama guanicoe*) y 1 cepa aislada de un ovino (*Ovis aries*). Los perfiles genéticos obtenidos de 20 de las 21 cepas presentaron un perfil idéntico a la cepa referencial *Leptospira borgpetersenii* Ballum serovar Castellonis Castellon 3 (1,-1,4,6). La cepa aislada a partir de una muestra de riñón de Guanaco proveniente de la Patagonia, presentó un perfil genético distinto a las cepas referenciales de la especie *L. borgpetersenii*. Se secuenciaron los VNTR obtenidos y se calcularon las repeticiones mediante el programa tandem repeats finder, confirmando las repeticiones (0,-,0,3,3) obtenidas mediante la corrida electroforética. Este nuevo genotipo será analizado utilizando otras técnicas de tipificación molecular como 16S rRNA y gen secY.

DISCUSIÓN

La especie *L. borgpetersenii* fue aislada previamente en Argentina de roedores y fue serotipificada como perteneciente al serogrupo Ballum serovar Arborea. En este estudio aislamos y tipificamos esta especie y la pudimos caracterizar molecularmente como serovar Castellonis Castellon 3. Este genotipo fue encontrado en cepas provenientes de ratones de aislamientos de Santa Fé y Paraná y una cepa proveniente de un aislamiento de un feto de jabalí.

También pudimos tipificar este genotipo en aislamientos recientes en poblaciones de animales silvestres de zonas urbanas, rurales y desérticas, como fue el caso del Guanaco. En este estudio se logró aislar una cepa de Guanaco en la ecoregión Patagonia y se determinó como un nuevo genotipo. Hasta el momento se ha aislado de animales domésticos y silvestres y también de fuentes de agua de la provincia de Santa Fé. Pudimos confirmar la presencia de este genotipo tanto en animales silvestres como animales domésticos o de producción.

BIBLIOGRAFÍA

- François S., Brihuega B., Grune S., Gattarello V., Correa D., Petrakovsky J., Gualtieri C., Arestegui M. 2013. Aislamiento de *Leptospira borgpetersenii* de fuentes de agua en Argentina. Revista Cubana de Medicina Tropical. Nr. 2.
- Salaün L., Mérien F., Gurianova S., Baranton G., Picardeau M. 2006. Application of Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis for Molecular Typing of the Agent of Leptospirosis. J Clin Microbiol, 44, 3954-3962.
- Grune S., Pavan M., Vanasco B., Samartino L., Suarez O., Auteri C., Romero G., Brihuega B. 2014. Genotypes of pathogenic *Leptospira* spp isolated from rodents in Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2014 Feb 1-5.

Palabras clave: Leptospirosis, MLVA, genotipos.

INTA Castelar, CICVyA, Instituto de Patobiología, Laboratorio de Leptospirosis,
de los Reseros y Dr. Nicolás Repetto S/N,CC77 (1708) Hurligham, Buenos Aires, Argentina.
bbrihuega@cnia.inta.gov.ar

Condiciones y escenarios de contagio de Síndrome Pulmonar por Hantavirus en la zona andina de la provincia de Río Negro

Terms and scenarios spread of Hantavirus Pulmonary Syndrome in the Andean region of the Rio Negro province

Gabriel Talmon[1], Eduardo Herrero[1], Marcos Arezzo[1], Gustavo Cantoni[1], Edmundo Larrieu[1,2]

El Síndrome Pulmonar por Hantavirus (SPH) es una enfermedad zoonótica de etiología viral que causa frecuentemente en el hombre un cuadro respiratorio severo, provocando la muerte de aproximadamente el 40% de los casos confirmados en Patagonia. En esta región, la enfermedad es causada por el virus Andes Sur (AND) incluido taxonómicamente en el género *Hantavirus* de la familia *Bunyaviridae,* transmitido por el roedor *Oligoryzomys longicaudatus*. La transmisión al hombre ocurre principalmente por la inhalación o ingestión de aerosoles contaminados y también de persona a persona. El objetivo del presente trabajo fue identificar las actividades del hombre que favorecen su exposición a roedores (escenarios).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo a partir de información recolectada en investigaciones de casos, ocurridos en la comarca andina de Rio Negro, mediante Fichas Clínico-Epidemiológica e informes de evaluación ecológico/ambiental. Se definieron como variables a ser consideradas: edad, sexo, época del año, grado de urbanización, localización geográfica, integración del hombre al hábitat de roedores, fuente probable de exposición, actividad del hombre y nivel de saneamiento.

RESULTADOS

En El Bolsón la época del año con mayor número de casos fue la primavera con 7 (39%), 5 (29%) ocurrieron en el verano, 4 (21%) en el invierno y 2 (21%) en el otoño. En relación al área de exposición 12 (67%) de los casos tuvieron sitio de exposición rural, 4 (22%) peri urbano y 2 (11%) paraje rural. En relación al ambiente antropogénico, por su parte, 14 (78%) de los casos tuvieron como sitio de exposición a ambientes modificados por el hombre o interface y 4 (22%) a áreas poco modificadas. En relación a la fuente de exposición, en el interior de edificaciones humanas se produjeron 8 (44,5%) casos (siendo el de mayor importancia el galpón), en ambientes de exterior 3 (16,5%) casos, en ámbitos con ambas características, tal como una obra en construcción o un obrador, 2 (11%) casos y por contacto directo con el roedor 3 (16,5%). La actividad general de riesgo fue laboral en 13 (72%) de los casos y recreacional en 3 (17%). Las principales actividades específicas que estuvieron asociadas a contagio de SPH fueron remociones varias en 10 (55,5%) de los casos y manipulación de roedores en 3 (17%), identificándose también convivencia con roedores, protección en matorrales y actividades de construcción. En relación a las medidas de saneamiento, en 11 (61%) de los casos no existían medidas de saneamiento del sitio, en 4 (22%) era parcial y solo en 3 (17%) se habían cumplido medidas adecuadas para evitar infección.

DISCUSIÓN

La mayoría de los casos estudiados ocurrieron en algún ambiente totalmente modificado a las necesidades de vivienda o trabajo del hombre y en situaciones relacionadas a actividades laborales y en ámbitos cerrados tal como galpones. Determinar los escenarios de contagio a nivel local aporta información para aplicar de forma más efectiva todos los recursos disponibles en materia de prevención y educación sanitara.

BIBLIOGRAFÍA

- Cantoni G, Lazaro M, Resa A, Arellano O, Amestoy AM, De Bunder S, Herrero E, Perez A, Larrieu E. Hantavirus pulmonary syndrome in the Province of Rio Negro, Argentina, 1993-1996. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1997; 39:191-6.
- Cantoni G, Padula P, Calderón G, Mills J, Herrero E, Sandoval P, Martinez V, Pini N, Larrieu E. Seasonal variation in prevalence of antibody to hantaviruses in rodents from southern Argentina. Trop Med Int Health 2001; 6:811–846
- Larrieu E, Cantoni G, Herrero E, Pérez A, Talmon G, Vázquez G. Hantavirus antibodies in rodents and human cases with pulmonary syndrome, Río Negro, Argentina. Medicina (Buenos Aires) 2008; 68:373–379.
- Lázaro M, Resa A, Barclay C, Calanni L, Samengo L, Martínez L, Padula P, Pini N, Lasala M, Elsner B, Enría D. Síndrome pulmonar por hantavirus en el sur andino argentino. Medicina (Buenos Aires) 2000; 60: 289-301.

Palabras clave: Hantavirus, epidemiologia, El Bolsón.

(1) Ministerio de Salud, Provincia de Río Negro, Laprida 240 (8500) Viedma, Argentina.
(2) Facultad de Ciencias Veterinarias, UNRN.
elarrieu@salud.riionegro.gov.ar

Conhecimento de gestantes e puérperas sobre medidas preventivas da toxoplasmose

Knowlegde of pregnant and postpartum women about preventive measures of toxoplasmosis

Liz Lehmann[1], Paula Santos[1], Gabriela Soares[1], Gabriela Mattos[1], Carlos Scaini[1]

A toxoplasmose é uma zoonose parasitária com distribuição mundial e de importante reconhecimento na gestação[1], estimando-se a prevalência em 1/3 da população mundial. O protozoário *Toxoplasma gondii*, cujo hospedeiro definitivo são os felinos, infecta os humanos acidentalmente por meio da ingestão de oocistos esporulados presentes na água ou alimentos contaminados, pelo consumo de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais ou por transmissão vertical.
Na transmissão transplacentária, as gestantes soronegativas apresentam importante relevância para o quadro agravante da doença, visto que nos casos de infecção pode haver desde a má formação fetal até ao aborto. A prevenção da toxoplasmose é uma estratégia importante a ser utilizada no controle do agravo dessa parasitose[2]. Medidas profiláticas e alimentação adequada das gestantes são capazes de prevenir a toxoplasmose congênita. Diante do contexto, este estudo teve o objetivo de analisar o conhecimento de gestantes e puérperas sobre medidas preventivas da toxoplasmose.

MATERIAIS E MÉTODOS

No período de outubro a dezembro de 2013, foi realizado um estudo transversal quantitativo em 97 gestantes/puérperas internadas na Maternidade do Hospital Universitário Miguel Riet Corrêa Júnior (HU/FURG), da cidade de Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil. As pacientes foram questionadas quanto ao conhecimento sobre as medidas profiláticas para toxoplasmose. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Área da Saúde (CEPAS/FURG/parecer n°159/2013).

RESULTADOS

Dentre as 97 entrevistadas, 50.5% das pacientes que realizaram o pré-natal não tinham conhecimento das medidas profiláticas da toxoplasmose. Das 49,5% que demonstravam conhecimento sobre o assunto, afirmaram que evitar gatos de rua e descartar/doar os animais ao confirmar a gravidez, lavar frutas e verduras, cozinhar bem a carne, entre outras variáveis, fazem parte da profilaxia (Tabela 1).

DISCUSSÃO

Este estudo revelou um importante resultado quanto ao desconhecimento das práticas preventivas sobre a toxoplasmose, visto que continham informações equivocada sobre como evitar a doença. No entanto, é necessário ressaltar que a maioria das gestantes/puérperas respondeu corretamente quanto ao cozimento adequado da carne e higienização de hortaliças serem medidas profiláticas importantes. É relevante o conhecimento

Tabela 1. Conhecimento de gestantes e puérperas sobre medidas preventivas da toxoplasmose (n= 97)

Variável	Pacientes que realizaram o pré natal n= 97	
Modos de prevenção	**N**	**%**
Descartar/doar gato ao descobrir a gravidez	16	16.5
Alimentar o gato com ração	5	5.2
Não deixar o gato comer roedores	7	7.2
Evitar gatos de rua	16	16.5
Evitar cães de rua	3	3.1
Deixar outra pessoa trocar a caixa de areia do gato	9	9.3
Não ter animais em casa	11	11.3
Cozinhar bem a carne	16	16.5
Lavar frutas, verduras	19	19.6
Limpar utensílios e tábuas de corte após a utilização no preparo dos alimentos	10	10.3
Não souberam responder	49	50.5

da população, principalmente entre as gestantes/puérperas soronegativas, quanto a profilaxia desta parasitose, tendo em vista que existem outras fontes de infecção além do contato com os felinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Branco, B.H.M, Araújo, S.M, Falvigna-Guilherme, A.L. Prevenção primária da toxoplasmose: conhecimento e atitudes de profissionais de saúde e gestantes do serviço público de Maringá, estado do Paraná. Scientia Medica, v. 22, n. 4, p.185-190, 2012.
- Hill, D.E; Chirukandoth S; Dubey J.P. Biology and epidemiology of Toxoplasma gondii in man and animals. Animal Health Research Reviews, v.6, p. 41-61, 2005

Palavras-chave: toxoplasmose, gestantes, profilaxia

(1) Laboratório de Parasitologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande, General Osório, S/N, CEP 96200-190, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.
gabriela.soares@furg.br

Conocimiento sobre síndrome urémico hemolítico y su prevención asociado a la presencia de anticuerpos anti-VT2 en pobladores rurales y urbanos de la región sur de la provincia de Buenos Aires (Agosto 2010-noviembre 2012)

Hemolytic uremic syndrome and prevention knowledge associated with the presence of anti-VT2 antibodies in rural and urban dwellers in the southern region of Buenos Aires province (August 2010-November 2012)

Mariana Rivero[1], Paula Lucchesi[1], Juan Passucci[1], Alejandra Krüger[1], Laura Alconcher[2], Cecilia Martínez[2], Matías Tringler[3], Ileana Mastropierro[4],Yanil Parma[5], Edgardo Rodríguez[1] y Grupo de Trabajo de SUH

Escherichia coli verotoxigénico (VTEC) es uno de los más importantes patógenos emergentes y la principal causa de síndrome urémico hemolítico (SUH) Su factor de virulencia más importante es la verotoxina 2 (VT2). En la Argentina, el país con mayor incidencia de SUH, éste representa la primera causa de insuficiencia renal aguda y la segunda de insuficiencia renal crónica y de transplante renal en pediatría. La prevención es fundamental para disminuir su impacto sanitario.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar los conocimientos sobre SUH y su prevención en pobladores rurales y urbanos de la región sur de la provincia de Buenos Aires, y analizar la asociación entre conocimiento sobre SUH y la presencia de anticuerpos anti-VT2 en pobladores rurales y urbanos de la región sur de la provincia de Buenos Aires.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio de tipo observacional, prospectivo y analítico. El muestreo fue no probabilístico, por conveniencia. Se incluyeron pacientes que asistieron por demanda espontánea a instituciones de salud de las Regiones Sanitarias VIII y I durante el periodo agosto de 2010-noviembre de 2012, y tenían indicación de toma de muestra de sangre para análisis por patologías no relacionadas con el SUH. Se explicaron individualmente los alcances del estudio y, previa obtención del consentimiento informado, se realizó una encuesta diseñada *ad-hoc* y se separó una alícuota de sangre para evaluar la presencia de anticuerpos anti-VT2 en suero mediante Western Inmunoblotting. Se excluyeron a los pacientes inmunosuprimidos y a los que no dieron su consentimiento. Las variables en estudio fueron: tipo de población (rural/urbana); acceso a información previa sobre SUH, conocimiento de la enfermedad (signos y síntomas); conocimiento sobre la forma de prevenir el SUH; cantidad de medidas correctas que conoce para prevenir el SUH y serología positiva para VT2. En el caso de los menores de edad la encuesta sobre conocimiento y prevención se realizó al tutor. Las asociaciones entre las variables cualitativas fueron evaluadas mediante el Test de $\chi 2$ (α 0.05). El analisis de los datos se realizó con el Programa estadístico SAS v9.3. Se contó con el Aval del Comité de Ética e Investigación del Hospital Municipal Ramón Santamarina de la ciudad de Tandil.

RESULTADOS

Se incluyeron 470 pacientes sin síntomas ni signos clínicos de SUH, de los cuales 158 (34%) pertenecieron a la población rural (<2000 hab.). La edad media del total de los pacientes fue de 35 años (rango 1 mes a 92 años). El 66.8% refirió haber recibido información sobre el SUH. El 30.2% refería que podía describir la enfermedad, aunque el 23% hacía una descripción correcta. El 55.5% refería saber prevenir el SUH, logrando al menos referir una medida correcta de prevención el 51.1% de los pacientes. De los que lograron describir medidas de prevención el 32.23% describió 1, el 60.74%, 2 o 3 y el 7.02% 4 o más. Resultaron positivos el 14.6% de los sueros. La proporción de sueros positivos siempre fue mayor en el caso de menor conocimiento siendo estadísticamente significativas (p= 0.0272) las diferencias entre la proporción de pacientes positivos que habían recibido información sobre SUH (11.1%) con respecto a la proporción de pacientes positivos que no la habían recibido (18.75%). Asimismo se encontraron diferencias (p= 0.047) con respecto a la cantidad de medidas que conocía y la proporción de pacientes positivos (0-1 medidas, 16% de positivos; 2-3 medidas, 10% de positividad; 4 o más medidas, 6% de sueros positivos). También, se analizó el conocimiento de acuerdo al tipo de población, encontrándose diferencias estadísticamente significativas (p<0.05) para todas las variables, resultando la población rural con menor grado de conocimiento de la enfermedad y medidas de prevención.

CONCLUSIONES

Se demostró una asociación inversa entre el conocimiento de medidas preventivas para el SUH y la presencia de anticuerpos anti-VT2. Además, la población rural presentó mayor desconocimiento de estas medidas que la urbana. Considerando también que en un análisis previo encontramos diferencias significativas entre el tipo de población y la presencia de Ac anti-VT2 (18.98% de los sueros de pobladores rurales y el 11.74% de los urbanos fueron positivos), podríamos inferir que la población rural estaría más expuesta a VTEC y que preocupantemente muestra un menor conocimiento de las medidas de prevención del SUH. Los resultados obtenidos enfatizan la necesidad de realizar actividades tendientes a brindar conocimiento sobre la problemática, sus causas, consecuencias y modo de evitar su contagio y propagación, poniendo un mayor énfasis en las poblaciones rurales.

Palabras clave: Sindrome urémico hemolítico, prevención, conocimiento.

(1) Universidad Nacional Centro Provincia Buenos Aires. Pinto 399. Tandil, Buenos Aires, Argentina.
mrivero@vet.unicen.edu.ar.
(2) Hospital Interzonal José Penna. Avda. Lainez 2401. Bahía Blanca,Buenos Aires, Argentina.
alconcher@speedy.com.ar.
(3) Hospital Enrique Larreta, María Ignacia, Vela, Buenos Aires, Argentina. Tandil, Buenos Aires, Argentina.
matiastringler@hotmail.com.
(4) Hospital de niños Bebilio Blanco Villegas. Alem 1355.
ilemas@gmail.com.
(5) Instituto de Patobiología, CNIA, INTA Castelar, Calle Las Cabañas y Los Reseros s/n. Castelar, Buenos Aires, Argentina
yanilparma@gmail.com

Contaminación del pelaje corporal de los perros domésticos con huevos de *Echinococcus granulosus*

Contamination of body coat of domestic dogs with *Echinococcus granulosus* eggs

Gustavo Diego[1], Rocío García[1], Osvaldo Germán Astudillo[1], Ignacio Velázquez[1], Marta Cabrera[1]

El Parásito *Echinococcus granulosus* es un Cestode ciclofilídeo que se desarrolla en el intestino del perro doméstico (*Canis familiares*). A partir del momento que se produce la deposición canina se liberan, junto con sus heces, proglótides grávidos, huevos, formas adultas juveniles o seniles muertas que, dispersos, inician desde el suelo el proceso de contaminación biológica del medio ambiente; aumentando así el tamaño de las áreas contaminadas y el riesgo de infección.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de huevos de *E. granulosus* en el pelaje corporal de los perros domésticos y evaluar su rol como indicador de la contaminación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 116 perros de áreas endémicas y 20 perros de un área urbana sin transmisión como grupo de control. 136 muestras totales.
Se analizaron 94 muestras, solamente, del pelaje corporal de los canes; 74 de áreas endémicas y 20 del área urbana. A los 42 perros restantes, además de estudiarle el pelaje corporal, se les administró Bromhidrato de arecolina para comparar la carga intestinal de ejemplares adultos con la carga externa de huevos.
Las muestras fueron tomadas por frotación con gasas, humedecidas con agua corriente. En el laboratorio, las muestras, fueron concentradas y analizadas por métodos parasitológicos y moleculares (PCR).

RESULTADOS

Del pelaje de los 116 perros, de las áreas de riesgo, 44 dieron microscopia óptica positiva, para huevos de Taeniidae. De las cuales, 31 fueron positivas por PCR para *E. granulosus.* Mientras que de los 72 negativos por microscopía, 18 se positivizaron por PCR. De los 42 perros que se estudiaron, simultáneamente por B. de arecolina y frotado corporal, 9 eliminaron ejemplares adultos de *E. granulosus,* 16 tuvieron huevos de Taeniidae en el pelaje, pero 18 totales dieron señales positivas por PCR.
Los perros de control fueron negativos a los dos métodos de diagnóstico.

CONCLUSIÓN

La diferencia entre los perros que eliminaron ejemplares adultos con los perros que tenían oncosferas en el pelaje, sugiere que no todos los huevos adheridos son propios, algunos serían removidos del suelo.
De acuerdo con este concepto, el perro le confiere a las oncosferas movilidad pasiva y mayor capacidad de dispersión y transmisión.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cabrera M, Canova S, Rosenzvit M, Guarnera E. Identification of Echinococcus granulosus eggs. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 44 2002; 29-34.
2. Schantz P. Guía para el empleo de bromhidrato de arecolina en el diagnóstico de la infección por Echinococcus granulosus. Bol Chilen Parasitol 1973; 28:81-90.
3. Gemmell MA, Johnstone PD. Factors regulating tapeworm populations: dispersion of eggs of Taenia hydatigena on pasture. Ann Trop Med Parasitol 1976; 70(4):431-4.
4. Wolfe A, Wright IP. Human Toxocariasis and direct contact with dogs. Vet. Rec. 2003; 5:152(14):419-422.

Palabras clave: pelaje, *Echinococcus,* oncospheras.

(1) Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán".
Av. Vélez Sarsfield 563. CABA. CP: C1282AFF.
rjgarcia@anlis.gov.ar

Datos preliminares sobre serovares de *Leptospira* spp. predominantes en bovinos de la región insular del partido de Campana, delta inferior bonaerense del río Paraná, Argentina

Preliminary data on predominant *Leptospira* spp. serovars in cattle in the insular region of Campana, lower delta of Buenos Aires at the Paraná river, Argentina.

Ignacio José Gamietea[1], Mara Martinez[2], Sylvia Grune Loffler[2], Graciela Romero[2], Bibiana Brihuega[2]

Leptospirosis es una zoonosis bacteriana, en Argentina su presentación es endémica con brotes epidémicos siendo esta de vigilancia y notificación obligatoria. En ganadería su importancia radica en las pérdidas que produce, especialmente por afectar la reproducción, donde pueden aparecer natimortos, abortos y/o nacimientos de animales débiles e infertilidad. El Delta del Río Paraná, se encuentra conformando parte de

un gran Humedal, en la cuenca inferior del Río Paraná y es integrante de la denominada Cuenca del Plata. El sistema de humedales de la región genera un efecto de modificación sobre las principales variables climáticas que modera tanto las temperaturas extremas como las deficiencias hídricas temporarias, lo que origina condiciones más parecidas a las subtropicales húmedas que a las templado subhúmedas de la zona circundante. Las características particulares del Delta del Paraná, como son las condiciones edafoclimáticas de suelos anegados y humedad relativa alta, favorecen las elevadas prevalencias de *Leptospira* spp. en hospederos, sin embargo no hay estudios sobre seroprevalencia a leptospirosis en bovinos de la región. Con este trabajo se pretende contribuir con información de leptospirosis en la región, mediante la determinación de los serovares predominantes en bovinos, su frecuencia y distribución de manera de generar conocimientos que faciliten el establecimiento de medidas de control efectivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio: este se desarrolla en la región insular del partido de Campana, Prov. de Buenos Aires. Dicha área forma parte de la denominada Unidad I de Malvárez (1999), esta es la única porción deltaica en sentido estricto, con un régimen hidrológico bidireccional diferenciado, lo que determina condiciones de mayor humedad y mayor permanencia de agua en los suelos. El período analizado bajo estudio comprendió desde el 09/2012 al 09/2013.

Muestreo de suero bovino: a partir de muestras de sangre obtenidas mediante venopunción coccígea. Se determinó la presencia o ausencia de anticuerpos antileptospiras y se tituló mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT), técnica serovar específica. Se muestreó únicamente aquellos animales nacidos y criados en la zona bajo estudio, mayores al año y medio de vida (dos dientes), y que no hayan recibido vacunación contra Leptospirosis.

El tamaño de muestra necesario para estimar la prevalencia de bovinos con anticuerpos séricos se calculó con el programa ProMESA 1.3. Dada la distribución de los bovinos en el territorio bajo estudio, se optó por el diseño aleatorio en dos etapas (selección de predios y posterior selección de animales). Los parámetros y supuestos utilizados fueron los siguientes: nivel de confianza: 95%, error relativo: 25%, prevalencia esperada: 50%, número de muestras a tomar por predio: 10 y tasa de homogeneidad media, dado que no hay datos previos en el país y en un estudio publicado por Otte y Gumm (1997) la tasa de homogeneidad en un muestreo de leptospirosis fue baja. El resultado arrojo que deberán tomarse muestras de 250 bovinos distribuidos en 15 predios. Estos predios fueron seleccionados de manera aleatoria, con probabilidad proporcional al número de bovinos presentes.

RESULTADOS

Sobre un total de 199 muestras pertenecientes a 6 establecimientos se encontró un 33,67% de seroreactivos a Leptospira, con títulos de 1/200 a 1/800. Predominó *Leptospira interrogans* serovar Pomona con 32,66%, siguieron *L.i.*serovar Wolfii 27,64%, *L.i.* serovar *Castellonis* del serogrupo Ballum*, L.i.*serovar Icterohaemorrhagiae 5,53%.

DISCUSIÓN

La prevalencia real de la enfermedad, en la región, es desconocida, este estudio pretende realizar un aporte para su determinación. La identificación de las serovariedades más frecuentes puede servir de base para conformar la batería de antígenos vacunales y de diagnóstico que sean más adecuado para la región. Resulta un hallazgo importante la proporción de bovinos positivos a Icterohaemorrhagiae lo que pondría de manifiesto el rol de los animales silvestres, en particular el de los roedores, en la cadena epidemiológica de la leptospirosis en la región, como también que se trata de un serovar no adaptado al bovino.

BIBLIOGRAFÍA

1. Malvárez A. I. El Delta del Río Paraná como mosaico de humedales. En Malvárez A.I. (Ed.): Tópicos sobre humedales subtropicales y templados de Sudamérica, MAB/UNESCO/ORCyT, Montevideo, Uruguay. 1999. P. 35-53.
2. León, E. A., Duffy, S. J. Programa de Muestreo Estadístico en Sanidad Animal (ProMESA). Anales 39º Jornadas Argentinas de Informática: Congreso Argentino de Agroinformática. 2010; pp. 807-817.
3. Brihuega, B. Leptospirosis: Diagnóstico y Tipificación de leptospiras. En: Cacchione, R., Durlach, R. y Martino, P. (ed), Temas de Zoonosis IV. Asociación Argentina de Zoonosis, Buenos Aires, Argentina. 2008.p. 221-227.

Palabras claves: *Leptospira* spp., bovinos, delta bonaerense.

(1) Oficina de Desarrollo Baradero-Estación Experimental Agropecuaria Delta del Paraná.
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-Araoz 993 1er piso, (2942) Baradero, Prov. Bs As. Argentina.
gamietea.ignacio@inta.gob.ar
(2) Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas-Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
brihuega.bibiana@inta.gob.ar

Detección de *Mycobacterium bovis* en bovinos a partir de muestras de hisopado nasal y leche

Detection of *Mycobacterium bovis* from samples of nasal swab and milk in dairy cattle

Sergio G. Garbaccio[1], Fernando O. Delgado[1], Pablo S. Huertas[1], Martín J. Zumárraga[2], Carlos J. Garro[1]

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad infecto-contagiosa de importancia mundial, zoonótica, cuyo agente causal es *Mycobacterium bovis*. El diagnóstico a campo se basa en la prueba tuberculina o intradérmica (IDR), mientras que en laboratorio se realiza el aislamiento, seguido de caracterización fenotípica y genotípica del agente etiológico, como prueba de referencia. Las principales vías de transmisión son la respiratoria y en menor medida la vía digestiva. Existe escasa información en nuestro país, acerca de la detección de *Mycobacterium bovis* en secreciones nasales y leche, a través la bacteriología.
El objetivo de este estudio fue detectar, mediante bacteriología, la presencia de *Mycobacterium bovis* en muestras de hisopado nasal y leche provenientes de bovinos reaccionantes positivos a la IDR.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron analizadas muestras de hisopado nasal y leche pertenecientes a 254 y 214 bovinos respectivamente. Todas provenientes de bovinos raza Holando Argentino, reactores positivos a la IDR, que fueron posteriormente enviados a matadero de acuerdo a la normativa vigente.
La muestra de hisopado nasal consistió en colectar de cada bovino, secreción de ambos ollares. Por otro lado, la muestra de leche se extrajo manualmente de cada uno de los cuartos mamarios, de manera aséptica, luego de la higiene de los pezones, colectando 50 ml totales. Todas las muestras fueron acondicionadas a 4ºC hasta su arribo al laboratorio. Las mismas fueron decontaminaron a través del método Petroff, sembradas por duplicado en medios Stonebrink y Lowestein Jensen, e incubadas durante 60 días a 37ºC. Los desarrollos sospechados de micobacterias fueron teñidos mediante la coloración de Ziehl Neelsen (ZN). Todo cultivo ZN positivo, fue analizado a través de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando como blanco la secuencia de inserción IS6110 (propia del c*omplejo Mycobacterium tuberculosis*); seguido de la técnica de Spoligotyping, con el fin identificar y genotipificar *M. bovis*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró aislar y tipificar *M. bovis* en 3.9% (10/254) de las muestras de hisopados nasales. Esta proporción fue inferior a lo previamente reportado por otros autores (Rempt y col. 1954 y Nelly y col. 1988). Las diferencias podría deberse a una baja frecuencia de excreción de *M. bovis* en los bovinos estudiados. Si bien es posible que, a través del análisis bacteriológico, se encuentre subestimada la excreción de *M. bovis* a través de secreciones nasales, cabe mencionar el riesgo potencial para bovinos susceptibles como así también para el personal que trabaja en estrecha relación con bovinos IDR positivos.
En el caso de la leche se obtuvieron aislamientos en 10.7% (23/214) de las muestras procesadas. Estos hallazgos resultaron superiores a 0.7% descripto por Perez y col. (2002) en bovinos lecheros; mientras que Romero y col. (1999), no obtuvieron aislamientos tras procesar 200 muestras de leches de bovinos IDR positivos. Las variaciones en las proporciones mencionadas podrían estar relacionadas a la metodología de decontaminación utiliza (ácido oxálico en el caso de Perez y col.), o bien al inferior volumen de leche procesado en ambos trabajos previos. Futuros estudios serán necesarios para esclarecer la importancia de estos dos aspectos metodológicos en el aislamiento de *M. bovis* de muestra de leche.
Así mismo, la detección del microorganismo en leche refuerza la necesidad de llevar a cabo el proceso de pasteurización para asegurar la inocuidad de este producto destinado al consumo humano. Por otro lado, indica el potencial riesgo de transmisión de TBB en aquellos sistemas productivos que alimentan a sus terneros con leche cruda.
Resultaría de importancia adicionar en futuros estudios, el análisis post mortem (inspección de lesiones o la bacteriología partir de tejidos), con el fin de complementar y fortalecer estos hallazgo.Los resultados aquí presentados permiten conocer más acerca de la excreción y el potencial rol que tienen ambos materiales biológicos en la transmisión de *Mycobacterium bovis*, tanto en bovinos como en el hombre.

BIBLIOGRAFÍA

- Rempt, D. Veterinary work in the Netherlands 1953. Netherland Veterinary Service, 1954:80.
- Neill S D, O'Brien J J, McCracken R M. *Mycobacterium bovis* in the anterior respiratory tracts in the heads of tuberculin-reacting cattle, Vet Rec 1988; 122: 184}186.
- Perez A., Reiniero A., Forteis A., Meregalli S., Lopez B., Ritacco V. Estudio de Mycobacterium bovis en leche mediante mètodos bacteriològicos y reacción en cadena de la polimerasa. Rev. Arg. Microbiol. 2002 34:45-51.
- Romero RE, Garzón DL, Mejía GA, Monroy W, Patarroyo ME, Murillo LA. 1999. Identification of *Mycobacterium bovis* in Bovine Clinical Samples by PCR Species-Specific

Primers. Can J Vet Res. 63: 101-106.
- Kantor IN, Roswurm JD. Am J Vet Res. Mycobacteria isolated from nasal secretions of tuberculin test reactor cattle. 1978 Jul;39(7):1233-4.

Palabras clave: *Mycobacterium bovis*, hisopado nasal, leche.

(1) Instituto de Patobiología, CICVyA - INTA, Buenos Aires, Argentina - CC 25 (CP 1712).
(2) Instituto de Biotecnología, CICVyA - INTA, Buenos Aires, Argentina - CC 25 (CP 1712).

Diagnóstico de brucelosis canina mediante un ELISA-indirecto utilizando LPS-*r* de *Brucella abortus* RB51

Canine brucellosis diagnosis by an indirect-ELISA using LPS-r from *Brucella abortus* RB51

María Ignacia Meza[1], Patricio Retamal[1,2], Consuelo Borie[1,2], Alicia Valdés[1], Pedro Abalos[1,2]

El diagnóstico definitivo de la infección de caninos por *Brucella canis* se obtiene por aislamiento del agente desde tejidos o fluidos, sean estos productos del aborto, sangre o semen. Esta tarea resulta compleja, ya sea por la obtención de una muestra precisa y el acceso a un laboratorio especializado.
Por ello la detección de anticuerpos resulta útil para corroborar signos compatibles con la enfermedad, para estudios epidemiológicos en criaderos caninos, certificación pre-encaste y determinación del éxito de tratamientos. Existen diversas pruebas serológicas, siendo algunas de ellas de baja eficiencia diagnóstica, laboriosas y cuyos resultados se obtienen hasta en 72 horas. Los antígenos más utilizados corresponden a preparados solubles de *B. ovis* o *B. canis*, que contienen preferentemente lipopolisacárido rugoso (LPS-*r*) y algunas proteínas, dependiendo de su métodos de extracción, lo que incide en la especificidad de la prueba. *Brucella abortus* RB51, es una cepa rugosa de fácil acceso, estable, que presenta menores problemas para su cultivo en gran escala, permitiendo una extracción más eficiente de antígenos purificados. Por otro lado un ELISA-indirecto permite una mejor estandarización, realizar un diagnóstico masivo, rápido y cuantitativo.
El objetivo de este trabajo fue desarrollar un ELISA-indirecto, utilizando un antígeno altamente purificado obtenido de *B. abortus* RB51, para diagnóstico de brucelosis canina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se cultivó *B. abortus* RB51 en caldo tripticasa soya a 37ºC por 48 hr, obteniéndose las células bacterianas, luego de tres lavados en agua destilada, mediante centrifugación. El paquete bacteriano fue desecado en acetona a 37ºC hasta peso constante. Las bacterias secas fueron sometidas a una extracción química del LPS-*r* mediante el método de Galanos modificado con etapas de sonicación. Finalmente se evaporaron los solventes, se suspendió el preparado en agua destilada, se dializó para eliminar el fenol y liofilizó. El antígeno se disolvió para su uso en una proporción de 1mg/mL en agua destilada.
El estudio incluyó 156 sueros de caninos sometidos a diagnóstico rutinario de brucelosis canina mediante la prueba de contrainmunoelectroforesis (CIEF) que utiliza un antígeno soluble obtenido mediante extracción salina-caliente desde *B. ovis*. Ochenta y un sueros fueron positivos a CIEF, mientras que 75 fueron negativos a la prueba.
Se montó un ELISA-indirecto en el que se probaron tres tipos de placas de poliestireno, dos tampones de sensibilización del antígeno y dos temperaturas de sensibilización. Las diluciones de sueros y conjugado anti-IgG canina-peroxidasa (A9042 Sigma), en PBS 0,1M pH 7,2, fueron determinadas por titulaciones tipo *checkerboard* con sueros controles para la prueba de CIEF. Antes del ELISA las placas se bloquearon con seroalbúmina bovina al 2% en PBS y entre cada etapa se realizó tres lavados con mismo PBS más Tween 20 (0,5%). El volumen de trabajo fue de 100 uL. La reacción se reveló con ABTS 1mM y H_2O_2 4,4 mM en tampón citrato 0,05M, pH 4,5 +/- 0,05. La reacción se detuvo con SDS 4% y se leyeron las absorbancias con un filtro de 405 nm.
Las densidades ópticas (OD) fueron expresadas como porcentajes de positividad (PP) del control positivo para cada placa. Se consideró como mejor alternativa a aquella que entregó una diferencia entre sueros controles positivos/negativos (RA) mayor o igual a 4. Con esta alternativa de ELISA seleccionada se probaron los sueros caninos positivos y negativos a CIEF. La línea de corte o *cut-off* fue obtenida mediante el método ROC, estableciéndose la sensibilidad y especificidad respecto de CIEF. Mediante la prueba de McNemar se determinó asociación entre ELISA y CIEF y mediante el Índice *Kappa* de Cohen (*K*) el grado de concordancia entre ellas.

RESULTADOS

Se obtuvieron 117 mg de antígeno LPS-*r* de *B. abortus* RB51 purificado, el que fue diluido en una proporción de 1 mg/mL, conteniendo 0.45 ug de KDO.
El ELISA seleccionado se realizó con placa NUNC Polysorp, antígeno 1/100 diluido en tampón carbonato/bicarbonato pH 9,6, dilución de sueros 1/100, dilución de conjugado 1/9.000, la cual entregó un RA de 8,7.
El promedio de PP de los sueros positivos a CIEF fue de 93,4%, mientras que el de los negativos a CIEF fue de 30,2%. El *cut-off* fue de 65%, determinándose una sensibilidad de 97,5% y una especificidad de 97,3% para el ELISA desarrollado. Se demostró asociación entre ambas pruebas diagnósticas (p>0,05) y con un alto nivel de concordancia (*K*= 0,961).

DISCUSIÓN

El ELISA desarrollado con LPS-*r* altamente purificado alcanzó excelentes niveles de sensibilidad y especificidad. Como la eficiencia de una prueba diagnóstica depende en gran medida del tipo de antígeno y su calidad pensamos que nuestro ELISA sería más sensible y específico que CIEF, que se corrobora validando ambas pruebas con un número adecuado de sueros de animales infectados y no infectados. El ELISA propuesto es una buena alternativa a pruebas ya existentes.

BIBLIOGRAFÍA

- Abalos P, Pinochet L, Fábrega F. Desarrollo de una prueba de ELISA para descartar respuestas postvacunales con Cepa 19, utilizando un antígeno soluble polisacárido de *Brucella abortus* 1119-3. Av Cs Vet 1993, 8: 138-43.
- Barrouin-Melo SM, Poester FP, Ribeiro MB, De Alcantara AC, Aguiar PH, Nascimento IL, Schaer RE, Nascimento RM, Freire SM. Diagnosis of canine brucelosis by ELISA using an antigen obtained from wild *Brucella canis*. Res Vet Sci 2007 83: 340-6.
- De Oliveira MZ, Vale V, Keid L, Freire SM, Meyer R, Portela RW, Barrouin-Melo SM. Validation of an ELISA method for serological diagnosis of canine brucelosis due to *Brucella canis*. Res Vet Sci 2010 90:425-31.
- Escobar GI, Boeri EJ, Ayala SM, Lucero NE. The feasibility of using antigens prepared with rough *Brucella* strains for diagnosis of canine brucelosis. Rev Argent Microbiol 2010 42: 35-40.

Palabras clave: Brucelosis canina, RB51, ELISA.

(1) Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Av. Santa Rosa 11735, La Pintana. Santiago, Chile.
pabalos@uchile.cl
(2) Red de Investigación en Zoonosis Emergentes y Re-emergentes

Diagnóstico serológico de la brucelosis canina: aglutinación rápida en placa e inmunodifusión en gel de agar

Serological diagnosis of canine brucellosis: rapid agglutination plate test and agar gel immunodifussion

Silvia M. Estein[1,4], María Clausse[1,4], Alejandra G. Díaz[1,4], Hilda M. Echevarría[2], Enrique Lucchesi[3], Pedro Soto[2, 3]

La brucelosis canina es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico causada por *Brucella canis* (*B. canis*) que provoca principalmente patologías de tipo reproductivo y osteoarticular. Está ampliamente distribuida a nivel mundial, ocasiona pérdidas económicas importantes en criaderos y además, constituye una zoonosis urbana emergente. El aislamiento de la bacteria a partir de diferentes fluidos no siempre es factible ya que está sujeto a la bacteriemia intermitente y a muestreos repetidos. Además, los tiempos de cultivo son extensos y un cultivo negativo no asegura la ausencia de infección. Por este motivo, las técnicas serológicas constituyen la herramienta más importante para el diagnóstico de esta enfermedad. Pueden citarse la prueba de aglutinación, la inmunodifusión en gel de agar (IDGA) y el enzimoinmunoensayo cuyas diferencias en el valor diagnóstico radican en las características de cada técnica y en el tipo de antígeno empleado. Sin embargo, debido a su sensibilidad elevada, la prueba tamiz que se utiliza frecuentemente es la microaglutinación rápida en placa (RSAT) con o sin el agregado de 2 mercaptoetanol (RSAT-2ME). El antígeno para RSAT se elabora a partir de una suspensión de la cepa de *B. canis* menos mucoide (M-) y permite detectar los anticuerpos dirigidos contra los antígenos de superficie de la bacteria.
El objetivo del presente trabajo fue comparar las cualidades técnicas de un antígeno RSAT experimental respecto de la prueba de IDGA a través del empleo de sueros provenientes de perros con diferentes perfiles de infección definidos como positivos o negativos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron sueros de caninos machos (n=85) y hembras (n=137) procedentes de diferentes clínicas y hospitales veterinarios y criaderos. Los sueros positivos (n= 99) provinieron de caninos con hemocultivo positivo, con sintomatología (trastornos reproductivos u osteoarticulares) o asintomáticos, mientras que los sueros negativos (n= 123) fueron obtenidos de animales sin antecedentes de la enfermedad o sin historias clínicas compatibles con brucelosis remitidos al Laboratorio de Inmunología (FCV-UNCPBA) para el diagnóstico pre-servicio. El antígeno RSAT fue elaborado con modificaciones del protocolo original a partir de la cepa *B. canis* (M-) por BIOTANDIL (Laboratorio Biológico de Tandil). La prueba de IDGA se realizó utilizando el extracto HS ("Hot Saline") obtenido de la cepa *B. ovis* REO 198 (Laboratorio de SENASA).

Para la prueba de RSAT se mezclaron en una placa de aglutinoscopio 10 µl de suero + 10 µl del antígeno RSAT, se imprimieron movimientos de rotación y la lectura se efectuó a los 2 minutos. Para RSAT-2ME, los sueros se trataron con igual volumen de 2 ME (0.2 M) y se agregaron 20 µl del antígeno respetando los mismo tiempos de incubación entre etapas.

La observación de los resultados de todas las pruebas se realizó a simple vista. Una reacción se consideró positiva cuando se observó presencia de grumos (RSAT o RSAT-2ME) o una banda de precipitación entre los pocillos con antígeno y suero problema (IDGA).

RESULTADOS

Se detectaron anticuerpos anti-*B. canis* mediante RSAT-2ME en los 99 caninos positivos a hemocultivo mientras que 96 fueron positivos a la técnica de IDGA. Los 123 sueros de animales clínicamente sanos fueron negativos en ambas pruebas.

DISCUSIÓN

La prueba de RSAT-2ME desarrollada con el antígeno experimental elaborado por BIOTANDIL tiene una sensibilidad superior y especificidad similar respecto de la IDGA para la detección de anticuerpos anti- *B. canis*. La técnica resultó sencilla, rápida y de fácil lectura. Si bien el número de sueros ensayados no es suficiente para su validación, los resultados presentados indican que el antígeno RSAT evaluado representa una muy buena alternativa para el diagnóstico de la brucelosis canina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carmichael L.E. Canine brucellosis: Isolation diagnosis, transmission. Proc US Livest SanitAssoc, 1968. 71:517-527.
2. Carmichael, L. E., Flores-Castro, R., Zoha, S. Brucellosis caused by *Brucella canis*: an Update of Infection in Animals and in Humans. Geneva: World Health Organization. Document WHO/BRUC./80.361 WHO/ZOON./80.135. 1980.
3. Carmichael, L. E., Joubert, J. C. A rapid slide agglutination test for the serodiagnosis of *Brucella canis* infection that employs a variant (M-) organism as antigen. Cornell Veterinary, 77: 3-12. 1987.
4. Wanke M.M. Canine brucellosis. Anim Reprod Sci. 195-207. 2004.

Palabras clave: Brucelosis canina, diagnóstico, serología.

(1) Laboratorio de Inmunología,
(2) Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Centro SAMP-CIVETAN-CONICET. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro.
Campus Universitario, Tandil, Buenos Aires. Argentina.
(3) BIOTANDIL.
(4) CONICET
silmares@vet.unicen.edu.ar

Diagnóstico socioambiental participativo en 3 microcuencas del Área Metropolitana, Ciudad de Barros Blancos (Canelones), en un contexto de alta vulnerabilidad social

Participatory socio-environmental diagnostic in 3 micro-watersheds of the Area Metropolitana, city of Barros Blancos (Canelones), in a context of high social vulnerability

Mª Soledad Valledor[1], Nicolas Marinof[2], Ana Acuña[3], Simón Centurión[4], Ismael Diaz[5], Claudia Toro[2], Mª José Cabrera[3], Cecilia Tort[3], Cristina Desiderio[4], Laura Décia[1], Mauricio Ceroni[5].

Las geohelmintiasis, constituyen un problema de salud pública endémico en vastas zonas del Uruguay. La falta de acceso a saneamiento adecuado, hábitos de higiene deficientes, carencias nutricionales, vivienda

precaria o insalubre y el hacinamiento son factores que influyen sobre la prevalencia de estas enfermedades. Se transmiten por vía fecal oral, generalmente por contacto de persona a persona o ingestión de agua, alimentos o tierra contaminados por materias fecales. Sin embargo y aunque se conocen los ciclos biológicos de esos parásitos, no se habían investigado en Uruguay sus rutas de transmisión medioambiental en una zona endémica. Esto se logró en una investigación con un diagnóstico participativo que permitió identificar los focos de contaminación fecal y hábitos de riesgo poblacionales que propician el contacto con agua, tierra u objetos contaminados, facilitando la identificación de las medidas de prevención o barreras más idóneas para interrumpir los ciclos de transmisión parasitarios contribuyendo a su control o erradicación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron análisis coproparasitarios por método de concentración por sedimentación, Ritchie (formoléter) y espátula adhesiva a los alumnos de la Escuela Nº 187. Paralelamente se realizaron análisis coproparasitarios a los perros de los hogares de los escolares con la técnica de concentración por flotación, Willis. El objetivo del diagnóstico socioambiental participativo fue determinar las posibles rutas de contaminación fecal-oral de los géneros parasitarios identificados en los escolares. Se aplicó, con diferentes grupos de niños y vecinos un instrumento PHAST (Participatory Hygiene and Sanitation Transformation) modificado: Rutas y Barreras. Se realizó muestreo y análisis de tierras y lodos provenientes de lugares públicos, peri-domiciliaros de alumnos y lugares identificados como posibles focos de contaminación fecal durante el diagnóstico socioambiental, para corroborar la existencia de las rutas de contaminación asociadas. Se realizó la Georreferenciación de los resultados copro parasitológicos mediante un SIG (Sistema de Información Geográfico) para estudiar su variabilidad espacial y temporal. Se socializaron los resultados a nivel local y nacional mediante talleres, producción gráfica y diferentes medios de comunicación (prensa, radio y televisión).

RESULTADOS

Se estudió el 47% (175/370) de los escolares, los resultados mostraron 118 niños (67%) positivos, 91 niños (52%) parasitados por protozoarios, 44 (25%) por *Enterobius vermicularis* y 18 (10%) por geohelmintos (*Ascaris lumbricoides, Trichuris trichiura*) e *Hymenolepis nana*. Se diagnosticaron positivos con géneros con riesgo zoonótico en 79% (100/127) de los caninos estudiados. *Ancylostoma caninum* en 72 perros (57%), *Toxocara* spp. en 29 perros (23%), *Trichuris* spp. en 20 (16%) y *Taeniidae* en 2 (1.6%). El diagnóstico participativo demostró que las principales fuentes de contaminación fecal son efluentes de pozos negros que circulan en cunetas y disposición directa de excretas humanas alrededor de viviendas sin baño, propagando la contaminación por la red de drenaje natural y cunetas pluviales, pudiendo transportar la contaminación a zonas inundables en episodios de lluvias intensas. El estudió de tierras y lodos se realizó de lugares frecuentados por la población y susceptibles de ser focos de contaminación ambiental: cunetas, basurales, hondonadas en caminos, canchas de juegos y predios domiciliares. Los resultados indicaron la presencia de huevos de geohelmintos en todos esos ámbitos, fueron positivas el 21% (32/152) de tierras, mientras que fueron positivas un 66% (21/32) de lodos. Mostrando que zonas regularmente anegadas (orillas de cunetas y cañadas), pueden ser contaminadas por huevos de geohelmintos incluso a cierta distancia aguas abajo de las zonas pobladas. El SIG mostró que no existe correlación entre la distribución espacial de los casos positivos de escolares y/o perros con la distribución de tierras y/o lodos positivos, en ambos casos no se reveló la existencia de focos concentrados de parasitosis sino una dispersión de los casos positivos en todo el territorio.

CONCLUSIONES

Estos resultados muestran que los niños están expuestos a un ambiente con altos niveles de contaminación fecal. Las familias sin acceso a saneamiento mejorado están en situación de mayor riesgo por la probable existencia de focos peridomiciliarios muy localizados con una alta concentración de geohelmintos en la tierra asociada a los lugares de disposición de excretas o de desbordamiento de pozos negros. Los lugares más contaminados y frecuentados por la población son cunetas, zonas inundables cercanas y lugares de baños cuya microcuenca tiene una alta densidad de población. Por lo que estas rutas de transmisión deben ser tomadas en cuenta para la prevención de las parasitosis intestinales. Esta experiencia mostró que la población –niños y adultos– es capaz de comprender la naturaleza de los diferentes géneros de parásitos presentes en su territorio, sus efectos sobre la salud y las maneras de prevenirlos o eliminarlos. La campaña de educación sanitaria y ambiental resultó en una mayor conciencia de la relación entre salud, higiene, saneamiento y un medio ambiente limpio, promocionando comportamientos responsables que reducen la prevalencia parasitaria. Se concluye que para mayor efectividad, una estrategia de control de las parasitosis intestinales –principalmente geohelmintiasis– se requiere un abordaje integral, enfatizando en la educación sanitaria y ambiental, mejoramiento de las condiciones de saneamiento, diagnóstico y tratamiento de los escolares y grupos de riesgo. Esta investigación permitió colocar esta problemática en la agenda pública local.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña AM, Da Rosa D, Colombo H, Saúl S, Alfonso A, Combol A, Castelló R, Zanetta E. Parasitosis intestinales en guarderías comunitarias de Montevideo. Rev Med Uruguay 1999; 15: 24-33.
- OMS. La iniciativa PHAST: Transformación Participativa para la Higiene y el Saneamiento, un nuevo enfoque para el trabajo comunitario. OMS, Ginebra, 1996. [Consultado el día 15 de julio de 2014]. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/1996/WHO_EOS_96.11_spa.pdf.
- Quinn R, Smith H, Bruce R, Gierdwood R.. On the incidence of *Toxocara* and *Toxascaris* spp ova in the environment. A comparison of flotation procedures for recovering *Toxocara* spp ova from soil. J Hyg 1980; 84: 83-89.
- Valledor MS. Nematodosis más importantes en carnívoros en un refugio canino. Libro de resúmenes de las Jornadas de Parasitología Veterinaria, Depto. de Parasitología, Facultad de Veterinaria, UdelaR, 19 y 20 de setiembre 2002, Montevideo, pp. 26-28.

Palabras clave: Parasitosis, geohelmintos, saneamiento.

(1) Dpto. de Parasitología, Facultad Veterinaria, UdelaR; Alberto Lasplaces 1550-1620, Montevideo. Uruguay.
solevalledor@gmail.com.
(2) Centro Uruguayo de Tecnologías Apropiadas. Santiago de Chile 1183. Montevideo – Uruguay.
(3) Dpto. de Parasitología y Micología, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR. Montevideo. Uruguay. Avda. Alfredo Navarro 3051.
(4) Dpto. de Medicina Familiar y Comunitaria, Centro Cívico Salvador Allende, Facultad de Medicina, UdelaR. Ruta 8 Km 23.200. Canelones, Uruguay.
(5) Lab. de Desarrollo Sustentable y Gestión Ambiental del Territorio, Facultad de Ciencias, UdelaR; Iguá 4225. Montevideo - Uruguay.

Asistencia Pública

Vehículo ambulancia utilizado por la Asistencia Pública de la Ciudad de Buenos Aires, cuyo logo era una cruz roja enmarcada en un círculo donde se leía "Asistencia Pública". Hasta fines del siglo XIX, la ciudad de Buenos Aires no contaba con un servicio que asistiera las urgencias de la población. Si bien existen antecedentes previos como el Servicio de Primeros Auxilios, 1883, limitado al centro de la ciudad, el crecimiento de la misma debido a la gran corriente inmigratoria procedente de Europa, hizo necesario un modelo que asistiera las urgencias en los nuevos barrios de la ciudad. En 1897, Telémaco Susini, siendo funcionario de la ciudad, organizó el Servicio Público Permanente que estaba compuesto por una dependencia central en la calle Esmeralda 665 (actualmente Plaza Roberto Arlt) y hospitales vecinales con guardias, en los barrios de Belgrano, La Boca, Floresta, Flores, Barracas y Corrales (Parque de los Patricios), dando origen al denominado "practicantado" con estudiantes avanzados (practicantes mayores y menores). A partir de la gestión de José María Penna, se conoció al sistema como "Asistencia Pública", hasta que fuera desactivada en 1969 (origen del CIPEC y luego del actual SAME). La incorporación de automóviles ambulancias fue novedoso y parte de la modernidad a la que entraba la ciudad. Sin embargo en los primeros años, no dieron el resultado esperado por las condiciones de las calles de Buenos Aires, y era frecuente que el "auxilio" lo terminara una ambulancia a tracción a sangre.

Caso clínico

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2015; 10(3): 57-58

Respuesta inmunológica rápida e hipersensibilidad tipo III, con vacuna antirrábica originada en cerebro de ratón lactante (CRL)

Jorge Correa[1], Alfredo Seijo

RESUMEN
La vacuna antirrábica producida en cerebro de ratón lactante (CRL), también conocida como Fuenzalida Palacios, fue y es utilizada con éxito para la profilaxis postexposición y en los programas de control de la enfermedad en Latinoamérica. Presentamos un caso clínico donde a las 6 días de iniciada la serie consecutiva de 7 dosis, la paciente tenía un título de anticuerpos de 3.7 U/L (nivel protectivo igual o mayor a 0.5 U/L), sin registrar antecedentes de vacunación antirrábica previa. La última dosis debió ser suspendida por la aparición de reacciones adversas, leves a moderadas, en la región glútea de aplicación, que corresponden a un mecanismo de hipersensibilidad III, caracterizadas por placas eritematosas, induradas y pruriginosas.

Palabras clave: rabia, vacuna antirrábica, profilaxis posexposición, vacuna CRL, Fuenzalida Palacios, reacciones adversas, hipersensibilidad.

Rapid immune response and type III hypersensitivity, with rabies vaccine originated in suckling mouse brain (CRL)

ABSTRACT:
The anti-rabies vaccine produced in suckling mouse brain (CRL), also known as Fuenzalida Palacios, was and is used with success for postexposure prophylaxis and in disease-control programs in Latin America. We present a clinical case where at 6 days after the start of the consecutive series of 7 doses, the patient had an antibody titer of 3.7 U/L (protective level equal to or greater than 0.5 U/L), without registering a history of previous rabies vaccination. The last dose had to be suspended by the occurrence of adverse reactions, mild to moderate, in the gluteal region of application, which correspond to a mechanism of hypersensitivity III, characterized by erythematous plaques, indurated on and itchy.

Key Words: rabies, rabies vaccine, post-exposure prophylaxis, vaccine CRL, Fuenzalida Palacios, adverse reactions, hypersensitivity.

Caso clínico:

Paciente femenina de 66 años, sin antecedentes previos patológicos, que refirió presentar mordedura de perro en agosto de 2015, en la vía pública, veinte días previos a la consulta, en el conurbano bonaerense. Se desconocía información sobre el animal, por lo cual concurrió al centro de zoonosis de su municipio y se le indicó profilaxis antirrábica post exposición con la vacuna CRL también conocida como Fuenzalida-Palacios (FP), con el esquema de 7 dosis más dos refuerzos a los 10 y 20 días. A la consulta en nuestro servicio, la paciente había recibido 6 dosis en distintos sectores del muslo. Se observaban en los sitios de aplicación placas eritematosas, induradas y urticarianas (Figura 1). No se constataron otras anormalidades tanto a nivel local como sistémico. Se consideró que las lesiones eran secundarias a una reacción de hipersensibilidad y debido a su intensidad y que faltaba una sola dosis para completar el esquema de dosis consecutivas, se decidió el dosaje urgente de anticuerpos para virus antirrábico, y suspender la vacuna. El nivel de anticuerpos luego de las 6 dosis fue de 3.7 U/L (Técnica: Elisa *PlateliaII Bio Rad,* realizada en el Instituto Malbrán, INEI-ANLIS). Este valor estaba por encima del mínimo protectivo (>0,5 U/L). La paciente fue medicada con antihistamínicos sistémicos y locales. Las lesiones retrogradaron en 5 días (Figura 2). La paciente no registraba antecedentes previos de vacunación antirrábica. Fue citada para nueva consulta con el fin de hacer seguimiento del nivel de persistencia de anticuerpos.

Discusión

Las reacciones adversas observadas fueron de carácter moderado y corresponderían a fenómenos de hipersensibilidad. En general estos son de hipersensibilidad de tipo III (donde está incluido el fenómeno de Arthus). Estas apreciaciones sobre la patogenia de las lesiones locales derivan de la observación clínica, tiempo de aparición luego de la exposición al antígeno, y

1. Servicio de Zoonosis.
jercorrea@gmail.com

otros, con lo cual no son muy precisas. Podría también especularse con un mecanismo de hipersensibilidad de tipo IV. La experiencia acumulada en la Argentina con vacunas CRL, en especial entre las décadas de 1970 y 1980, donde se logró el control de la rabia urbana, hecho inédito en el mundo, por la eficacia y eficiencia del programa implementado, mostró que las reacciones adversas más frecuentes y en todos los casos no graves, fueron debidas a un mecanismo de hipersensibilidad. Uno de los diagnósticos diferenciales es el absceso, en general estafilocócico, que se diferencia por fluctuar y rápidamente formar pus.

Fue llamativa la rápida respuesta inmunológica obtenida, hecho ya observado hace varios años, lo cual llevó a pensar en su momento en reducir el esquema a 5 dosis consecutivas. El disponer de un centro de referencia para dosar el nivel de anticuerpos, hizo que pudiéramos suspender el esquema. A esto debe sumarse la situación favorable de la rabia urbana en el Área Metropolitana Buenos Aires, lo cual no significa que no se deban seguir las normas nacionales de profilaxis posexposición, ante una enfermedad, que sigue siendo mortal.

Hasta la implementación de las vacunas producidas en cultivo celular, el éxito en el control y prevención de la rabia humana y animal en Latinoamérica y particularmente en la Argentina se basó en la utilización de la vacuna CRL. El protocolo de fabricación de Fuenzalida y Palacios, utiliza cerebro de ratón lactante de un día de vida, donde se reproducen las cepas de virus antirrábico CVS 91 y 51, virus denominado "fijo" o "vacunal", en contraposición al virus "calle", que es el que produce la enfermedad natural. Tanto el "fijo" o el "calle" corresponden al genotipo I, que es causante de la gran mayoría de los casos de rabia humana y animal en el mundo. La vacuna CRL es inactivada con luz ultravioleta o propiolactona. La utilización de estos animales que carecen de desarrollo de mielina evitó la reacciones adversas desmielinizantes que se producían con las anteriores vacunas originadas en tejido nervioso. La vacuna CRL es de bajo costo, calculado 50 veces menor a las nuevas vacunas originadas en cultivos celulares (VCC), y producida por laboratorios estatales. Se estima una tasa de reacciones adversas de tipo local y de carácter leve a moderado del 0.09%. En los últimos 25 años no se han detectado reacciones adversas graves, de tipo neurológicas, en la Argentina. Actualmente la recomendación de la Organización Mundial de la Salud es discontinuar la producción de CRL, y su reemplazo con las nuevas vacunas, recomendación que debería analizarse de acuerdo a la situación económica de cada país. Uno de los inconvenientes con las nuevas vacunas es el costo significativamente alto respecto de la CRL, que no todos los servicios de salud podrían afrontar. Por eso suponemos que la discontinuidad en la provisión VCC, llevó a la decisión de utilizar CRL en ésta paciente, ya que la profilaxis postexposición se apoya en un pilar fundamental: la no demora en iniciar el mismo.

Bibliografía

1. Amasino C. Importancia de la producción de vacuna antirrábica CRL en la región centro y sud americana. La experiencia en la Argentina. Temas de Zoonosis III. Buenos Aires, Asociación Argentina de Zoonosis 2006, pp: 81-6.
2. WHO Expert Consultation on Rabies: second report. (WHO technical report series; no. 982) 2013, 139pp.
3. OPS/OMS. Reunión de los directores de programas nacionales de control de rabia en América Latina (REDIPRA). Informe final. Brasilia 2006, 81pp.
4. Ministerio de Salud de la Nación. Manual de normas y procedimientos para la vigilancia, prevención y control de la rabia. República Argentina 2007. 52pp.

Figura 1. Placa eritematosa e indurada en sitio de aplicación de vacuna CRL, sexta dosis.

Figura 2. lesión en involución con tratamiento sintomático.

Imágenes en zoonosis y enfermedades infecciosas emergentes

ISSN 1851-3638
RAZyEIE 2015; 10(3): 59

Leishmaniosis visceral canina

Lilian Tartaglino[1], Rossana Gacek[1]

Figura 1

Figura 2

Figura 3

Figura 4

Los primeros casos en la Argentina, de leishmaniosis visceral humana confirmados, aparecieron en la provincia de Misiones, en 2006. Previamente había sido reconocido su vector *Lutzomya longipalpis*, distribuido en la actualidad en las provincias de Misiones, Salta, Corrientes y Entre Ríos. Esta enfermedad grave es endémica en varias regiones de América, África, Asia y Europa. El perro es el huésped principal de su agente etiológico: *Leishmania infantum (chagasi)*. La enfermedad canina, es como en el hombre, sistémica y de variada sintomatología. Siempre grave, produce alteraciones cutáneas mucosas y viscerales. Dentro de las manifestaciones cutáneas, son habituales la alopecia y pérdida de vigor del pelo, la descamación junto con hiperqueratosis (Figuras 1 y 2), los nódulos cutáneos con necrosis dermoepidérmica y formación de "callos" en zonas de apoyo. La onicogrifosis es frecuente y consiste en un aumento del grosor de las uñas con incurvación de las mismas (Figuras 3 y 4).

La enfermedad en los perros, sin tratamiento, es mortal, debido a la insuficiencia multiorgánica, caquexia, anemia y distintos síntomas, que remedan la leishmaniosis visceral humana. El diagnóstico confirmatorio se realiza con la detección en el suero de la proteína r-K39.

1. Secretaría de Salud, Municipio de Posadas, Misiones.
lilitartaglino@hotmail.com

ravcor.com.ar

LABORATORIOS AZUL

- Diagnóstico Veterinario
- Diagnóstico Humano
- Producción de reactivos para diagnóstico veterinario
- Animales para laboratorio
- Evaluación de productos biológicos

LaboratorioAzul
@LaboratorioAzul

Tel. 02281.431771 *rotativas*
Av. 25 de Mayo 479, B7300FXE
Azul, Buenos Aires, Argentina

www.laboratorioazul.com.ar

GESTION DE LA CALIDAD
R.I. 9000-1385
Sistema de Gestión de Calidad Certificado Por IRAM
Norma IRAM ISO 9001:2008

Grupo Laboratorios Azul
más de 30 años liderando el diagnóstico

Reglamento de Publicación

Reglamento de publicación
Revista de la Asociacion Argentina de Zoonosis

> Instrucciones para la preparación de los manuscritos

La *Revista Argentina de Zoonosis y Enfermedades Infecciosas Emergentes* (RAZ y EIE) es una publicación científica de la **Asociación Argentina de Zoonosis** (AAZ), de edición cuatrimestral, para la difusión de artículos científicos y documentos provenientes de diferentes disciplinas: medicina humana y veterinaria, bioquímica, biología, entomología sanitaria, microbiología: bacteriología, virología, parasitología, micología; epidemiología, salud pública, aspectos legales, educacionales, económicos, sociales y de investigación histórica relacionadas con las zoonosis y enfermedades emergentes.

1. Tipos de trabajos aceptados para la publicación

• Originales

Trabajos de investigación inéditos, cuya estructura se especifica mas abajo.

• Casuística

Se refiere a series de casos clínicos, hallazgos de laboratorio, de trabajos de campo etc., de tipo descriptivo, de un bajo número de observaciones o bien cuyos resultados son esperados, pero que aportan al conocimiento del tema y de la situación nacional o regional.

• Comunicaciones breves

Presentación de resultados preliminares, que por el momento en que se halla el curso de la investigación, no es posible presentar como trabajo original, pero que los autores consideran importante dar a conocer a la comunidad científica.

• Casos Clínicos

Descripción de uno o más casos clínicos cuya observación suponga un aporte valioso al conocimiento de la enfermedad. La extensión aconsejada del texto es de 2.000 palabras, con un máximo de 4 figuras o tablas.

• Imágenes en Zoonosis y Enfermedades Emergentes

Distintos tipos de imágenes, tanto de animales como de pacientes humanos (en estos casos, reservando su identidad), aquellas provenientes de estudios radiográficos, por ultrasonografía, tomografía computarizada, resonancia magnética o cualquier otro tipo de técnica, estudios histopatológicos, de situaciones ambientales, y todo tipo de imágenes que puedan ilustrar un aspecto novedoso, no habitual o con repercusión sanitaria. La imagen debe tener calidad para poder ser reproducida y estar acompañada por un resumen que introduzca al tema y luego una breve actualización del mismo.

Comentarios editoriales y "Estado del Arte"

Textos encargados por el Comité de Redacción de la Revista. Los autores que, espontáneamente deseen colaborar en esta Sección, deberán dirigirse a dicho Comité.

• Cartas al Editor

Comentarios de trabajos de reciente publicación, de avances en investigaciones recientes o de situaciones de emergencia. La extensión máxima será de 800 palabras.

• Artículos especiales

Se trata de textos de interés particular para las zoonosis y que, por sus características, no se adecúen al formato de artículos convencionales de la literatura médica.

Las revisiones y actualizaciones bibliográficas, análisis de trabajos, notas de carácter institucional, crítica de libros, resúmenes de trabajos presentados a Congresos, resúmenes de tesis, información terapéutica, informes técnicos de las instituciones, información institucional de la AAZ, y los calendarios de congresos, jornadas, y todo tipo de eventos en general, son todos del interés de la Revista y no deberán superar la extensión de 2.500 palabras.

2. Presentación de los trabajos

Los trabajos aceptados serán propiedad de la RAZ y no podrán reproducirse, en parte o totalmente, sin el acuerdo del Comité Editor.

Los trabajos deberán enviarse en formato digital y únicamente por vía electrónica al correo de la Secretaria de la AAZ, Lic. Karina Véliz: *karina.veliz1@gmail.com,* o en su defecto a los miembros del Comité Editor: *ceijo@intramed.net, pemartino@fcv.unlp.edu.ar*.

Todo manuscrito deberá estar acompañado por una carta de presentación firmada por todos los autores en la que se especifique que el trabajo se encuadra en el Reglamento de Publicaciones de la RAZyEIE y donde se asume la responsabilidad de las opiniones vertidas

Para una presentación conveniente del manuscrito, se aconseja prestar atención al diagramado de los artículos correspondientes al último número impreso de la revista.

El cuerpo principal del trabajo (texto con tablas, gráficos y figuras), debe ser remitido en un único archivo rotulado con el Apellido del autor de referencia seguido de la palabra "Texto" (i.e.: González. Texto).

Los idiomas aceptados son español, el portugués y el inglés.

Los trabajos originales y casos clínicos deben ser preparados en el procesador de texto Microsoft Word, en hoja tamaño carta (21,5 X 27,9 cm) a dos espacios, con margen "normal" de 3 cm izquierdo y derecho y de 2,5 cm superior e inferior, sin justificación, con letra Arial, tamaño 14 para el título, 12 para el texto y referencias, y tamaño 10 para los nombres de los autores, instituciones y Resumen. Dicho Resumen se enviará escrito en español o portugués e inglés con sus correspondientes títulos. Cada hoja estará numerada secuencialmente en la parte superior derecha.

La primera página deberá incluir:

• **Título**: estará centrado y será breve y preciso (15 palabras o 120 caracteres en Arial 14), con una clara indicación del tema inmediatamente después del título los nombres de los autores y las afiliaciones (Arial 10).

Se incluirá nombre(s) y apellido(s) del/los autor(es) (i.e. Valentín Aquino, Inés B Maluta, Ángela de Ávila) y con un número en superíndice que permita individualizar al pie la(s) institución(es) de pertenencia de los autores. Luego la dirección postal y electrónica del autor principal o de aquel a quien deba dirigirse la correspondencia

En la segunda página se presentarán los **Resúmenes** en castellano/portugués y en inglés con sus correspondientes títulos, de hasta 250 palabras. Resumen/Resumo y Abstract en negrita y margen izquierdo. Texto a continuación.

Al pie de cada Resumen se pondrán 3 a 5 **palabras claves** en el idioma correspondiente.

En la tercera página, se comenzará el texto propiamente dicho, el cual constará de las siguientes secciones, cuyos títulos estarán sobre margen izquierda y en negrita. Con cada sección se inicia una nueva página.

• **Introducción:** donde se establecerá el problema y el propósito específico del estudio. Podrá incluir una breve revisión de la bibliografía, la que se tratará con mayor amplitud en la "Discusión".

• **Materiales y Métodos:** donde se establecerán en forma precisa los detalles de técnica y metodología utilizados, definición de áreas y período de estudio, tipo de diseño (prospectivos o retrospectivo; descriptivo o comparativo; observacional o experimental), la identificación de la población o muestra, el criterio de inclusión y exclusión, los métodos de muestreo, las consideraciones éticas si correspondiera, el tamaño de la muestra, la definición operativa de variables de estudio y el plan de análisis estadístico de los datos. El análisis estadístico describirá las pruebas estadísticas empleadas, con suficien-

te detalle como para poder ser verificado por otros investigadores. Proporcionar el nombre del programa estadístico empleado para el procesamiento de datos

• **Resultados:** expresados en forma detallada. Deben ser una consecuencia de lo planteado en Materiales y Métodos y responder a los objetivos. Su interpretación debe ser correcta. Deben informarse como medidas sumarias (porcentajes, medias, rangos, incidencia o prevalencia, riesgos relativos etc.), además de ser expresados en tablas o gráficos. Cuando correspondiera, expresar intervalos de confianza o significación estadística (valor de *p*). Deberá evitarse la repetición en el texto de lo expresado en las tablas y gráficos.

• **Discusión:** aquí se resaltarán los aspectos nuevos e importantes del estudio, además de expresar especulaciones y formular nuevas hipótesis surgidas de la investigación. No repetir con pormenores los datos presentados en la sección de resultados. Podrá incluir recomendaciones.

• **Conclusiones:** son opcionales y no debe haber contradicciones, deben estar avaladas por los resultados, no deben ser repeticiones de los resultados y siempre guardarán relación con el objetivo.

En el manuscrito no se mencionarán los nombres completos o iniciales de los autores ni la institución donde fue realizado el estudio. Asimismo, debe evitarse cualquier identificación de las personas (i.e., nombres, iniciales), tanto en las ilustraciones como en el escrito.

• **Bibliografía**: Se numerará con superíndice en forma consecutiva a la inserción en el texto y en ese orden aparecerá en el listado. Se incluirán todos los autores cuando sean seis o menos; si fueran más, se escriben los tres primeros y luego "y col, e col o et al según el idioma empleado en la cita bibliográfica.

Las Referencias se describirán según las "Normas de Vancouver" y de acuerdo a los siguientes ejemplos:

- *Publicaciones periódicas:*

Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart trasplantation is associated with an increased risk form pancreatobiliar y disease. *Ann Intern Med* 2011; 124 (11): 980-3.

- *Libros:*

Rohen JW, Yokochi C, Lütjen-Drecoll E. Atlas de anatomía humana: estudio fotográfico del cuerpo humano. 6ªed. Buenos Aires: Elsevier Science, 2007, pp. 233-45. No es necesario aclarar las páginas si el libro fue utilizado en varias citas, excepto cuando se utilizan manuales o informes técnicos. Otra variante:

Tsai TF, Vaughn DW, Solomon T. Flavivirus (fiebre amarilla, dengue, fiebre del dengue hemorrágico, encefalitis japonesa, encefalitis del Nilo Occidental, encefalitis de San Luis, encefalitis transmitidas por garrapatas). En: Mandell Gl, Bennettt JE, Dolin R, eds. Enfermedades Infecciosas. 6ª edición. Madrid: Elsevier. 2006, V2, pp. 1926-50**.**

- *Actas de congresos:*

Vega KJ. Formación radiológica y mercado de trabajo. XXIII Congreso de Radiología de la Asociación Latinoamericana de Enfermería Docente. Buenos Aires, Argentina. Marzo 28-30, 2010; pp. 122-9.

- *Página web, sitio web, portal:*

Briggs J. Institute JBI España [Internet]. Madrid: Centre colaborador espanyol del JBI; 2008 [consulta el 22 de julio de 2008]. Disponible en: *http://es.jbiconnect.org/index.php.*

• Si correspondiera, se incluirá una sección de **"Agradecimientos"** al final de la bibliografía, en donde consten las fuentes de apoyo recibidas en forma de subvenciones, reconocimientos de apoyo técnico y contribuciones.

• Es requisito que se declaren si existen o no **"Conflictos de interés"** al final del artículo y a continuación de la Bibliografía. Si los hubiera, deberán ser aclarados.

• **Tablas y figuras** *(estas incluyen los gráficos e imágenes*): La presentación de estos elementos deberá ser la confirmación de lo redactado en el texto.

Las **tablas** y **figuras** se presentarán en hojas separadas dentro del mismo archivo principal del texto y al final de éste, deberán estar referenciadas en el texto y serán numeradas correlativamente con números arábigos, cada una con su título y con el epígrafe correspondiente en Arial 10. Los números, símbolos y siglas deberán ser claros y concisos. Las tablas serán confeccionadas en Arial 10, sin líneas verticales ni bordes. El diseño corresponde a "tablas sin formato", con borde superior, inferior y horizontal interno de la versión Office 2007 o similar, autoajustadas al contenido con las características que se muestran en el ejemplo.

Tabla 1. Sintomatología de los dos grupos de enfermos luego de utilizar

Síntomas y signos	Grupo 1 n y %	Grupo 2 n y %
Fiebre	60 100	30 50
Cefalea	15 25	30 50
Mialgias	50 25	7 11.6

Para separar los decimales se utilizará punto (11.6) y para separar números enteros igual o mayor a diez mil un espacio cada mil (10 000, 100 000).

Las figuras que son imágenes (*i.e.*, fotografías, radiografías, etc.), tanto en blanco y negro como en color, no tendrán cargo alguno para el autor, aunque se reservará el derecho de publicación al Comité Editorial; las mismas deberán ser enviadas en uno o varios archivos especiales adjuntos, los cuáles se rotularán con el apellido del autor seguido del "Imágenes" y si correspondiere, la numeración sucesiva *(i.e.: Smith. Figura 1).*

Cada imagen deberá presentarse, también, en hojas separadas, con la extensión *jpeg* y preferentemente a 300 dpi; deben ser nítidas y cada una llevará título y epígrafe correspondiente. Las flechas, símbolos o letras incluidas, deben presentar buen contraste en el fondo. Con las fotografías obtenidas de pacientes se deberán tomar las precauciones necesarias a fin de que éstos no puedan ser identificados. Las observaciones microscópicas llevarán el número de la ampliación efectuada y tinción empleada. Si se utilizara el material de otros autores, publicados o no, deberá adjuntarse el permiso de reproducción correspondiente.

El manuscrito deberá estar acompañado de una carta de presentación dirigida por vía electrónica al correo de la Secretaria de la AAZ, y que exprese: *El contenido del manuscrito "……" presentado a la revista Argentina de Zoonosis no ha sido publicado por ningún tipo de medio gráfico o electrónico, y los autores declaran la aceptación de los contenidos del mismo"*.

El Comité Editorial se reserva el derecho de rechazar trabajos que no se ajusten estrictamente al reglamento señalado, que no posean el nivel de calidad mínimo exigido acorde con la jerarquía de la revista, que hayan sido presentados en otras publicaciones nacionales e internacionales, o bien que contengan pasajes confusos o con groseros errores gramaticales o de redacción. A todos los efectos, los trabajos presentados serán sometidos a la evaluación de árbitros externos.

La decisión de aceptar o rechazar un trabajo se basa estrictamente en un proceso de revisión por pares o colegas (peer review), externo doble ciego.

Los árbitros (referees) o revisores (reviewers), en todos los casos, reciben los manuscritos con la primera página de título sin referencia a autores y/o institución para garantizar una revisión imparcial. Los autores seran informados del resultado de la evaluacion en un plazo no mayor a los 90 dias.

NUESTRO COMPROMISO CON LA SALUD ANIMAL ES CON LA SALUD DE TODOS

En Biogénesis Bagó sabemos que la salud animal y la salud de la gente están intrínsecamente ligadas, por ello, nuestro trabajo y entrega es constante para optimizar el bienestar de los animales y las personas.

ANIMAL PHARM
AWARD WINNER 2014
Mejor empresa Latinoamericana del Sector Veterinario

Biogénesis Bagó
La evolución de la salud animal

Mundo Sano, Puerto Iguazú, Misiones.

Cuidar a nuestros animales es promover la salud

En Mundo Sano desarrollamos un trabajo de sensibilización, prevención, diagnóstico y tratamiento para mejorar la salud de las personas expuestas a enfermedades desatendidas.

Mundo Sano

@fundmundosano
www.mundosano.org

CUIDADO

CON EL USO DE LOS MEDICAMENTOS

Los antiparasitarios
mal empleados
tienen un efecto perjudicial
en la cadena
de carne vacuna.
Sus residuos en la carne
nos restan mercados
y bajan el precio.
Por eso, a la hora de
administrar **ivermectina**
es importante consultar
con el veterinario,
respetar los periodos de carencia
y nunca mandar el ganado a faena
antes del plazo estipulado.

**ES TU RESPONSABILIDAD,
ES LA DE TODOS.**

SABER LO QUE CONSUMIMOS
ES VALORAR LO QUE PRODUCIMOS

CARNE ARGENTINA | IPCVA Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina

www.ipcva.com.ar

www.
senasa
.gob.ar

EL SENASA CONTROLA, INVESTIGA Y CERTIFICA PARA PREVENIR LAS ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES QUE SE TRANSMITEN A LOS HUMANOS.

senasa

Ministerio de
Agricultura, Ganadería y Pesca
Presidencia de la Nación