



ASOCIACIÓN ARGENTINA DE VETERINARIOS DE LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO

XXII Reunión Científico Técnica



Carmen Maffrand, Anabela Benzoni y Gabriel Magnano

Coordinadores

Actas

15, 16 y 17 de noviembre de 2018

Río Cuarto, Córdoba, Argentina

***Asociación Argentina
de Veterinarios de
Laboratorios de Diagnóstico***

XXII Reunión Científico Técnica

Resúmenes

Carmen Maffrand
Anabela Benzoni
Gabriel Magnano
(Coordinadores)



Universidad Nacional de Río Cuarto
Río Cuarto – Córdoba - Argentina

Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico : XXII Reunión Científica Técnica : resúmenes / Diego Fernando Eiras ... [et al.] ; coordinación general de Carmen Maffrand ; Anabela Benzoni ; Gabriel Gustavo Magnano. - 1a ed. - Río Cuarto : UniRío Editora, 2018.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-688-310-8

1. Medicina Veterinaria. 2. Diagnostico de laboratorio . 3. Actas de Congresos. I. Eiras, Diego Fernando II. Maffrand, Carmen, coord. III. Benzoni, Anabela, coord. IV. Magnano, Gabriel Gustavo, coord.

CDD 636.089

*Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. XXII Reunión Científica Técnica
Resúmenes*

Carmen Maffrand, Anabela Benzoni y Gabriel Magnano (*Coordinadores*)

2018 © by UniRío editora. Universidad Nacional de Río Cuarto
Ruta Nacional 36 km 601 – (X5804) Río Cuarto – Argentina
Tel: 54 (358) 467 6309. editorial@rec.unrc.edu.ar. www.unirioeditora.com.ar

Primera Edición: *noviembre de 2018*

ISBN 978-987-688-310-8



Este obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 2.5 Argentina.

http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/ar/deed.es_AR



Uni. Tres primeras letras de "Universidad". Uso popular muy nuestro; la Uni.
Universidad del latín "universitas" (personas dedicadas al ocio del saber),
se contextualiza para nosotros en nuestro anclaje territorial y en la concepción
de conocimientos y saberes construidos y compartidos socialmente.
El río. Celeste y Naranja. El agua y la arena de nuestro Río Cuarto
en constante confluencia y devenir.
La gota. El acento y el impacto visual: agua en un movimiento
de vuelo libre de un "nosotros".
Conocimiento que circula y calma la sed.

Consejo Editorial

Facultad de Agronomía y Veterinaria
Prof. Laura Ugnia y Prof. Mercedes Ibañez

Facultad de Ciencias Económicas
Prof. Nancy Scattolini y Prof. Silvia Cabrera

Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas
y Naturales
Prof. Sandra Miskoski

Facultad de Ciencias Humanas
Prof. Gabriel Carini

Facultad de Ingeniería
Prof. Marcelo Alcoba

Biblioteca Central Juan Filloy
Bibl. Claudia Rodríguez y Prof. Mónica Torreta

Secretaría Académica
Prof. Ana Vogliotti y Prof. José Di Marco

Equipo Editorial

Secretaria Académica: *Ana Vogliotti*
Director: *José Di Marco*
Equipo: *José Luis Ammann, Daila Prado, Maximiliano Brito,
Ana Carolina Savino, Soledad Zanatta, Lara Oviedo,
Roberto Guardia y Daniel Ferniot*

XXII REUNIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA DE LA ASOCIACIÓN ARGENTINA DE VETERINARIOS DE LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO

FUNDADA EL 21 DE NOVIEMBRE DE 1984

PERSONERÍA JURÍDICA 439/96

**AFILIADA A LA WORLD ASSOCIATION OF VETERINARY
LABORATORY DIAGNOSTICIANS (WAVLD)**



14, 15, 16 Y 17 DE NOVIEMBRE

RÍO CUARTO – CÓRDOBA

2018

P2- PRIMERA DETECCIÓN MOLECULAR DE *EIMERIA* SPP. Y *E. TENELLA* EN POLLOS INFECTADOS DE ARGENTINA

M. L. Tomazic^{1,2}; E. Redondo¹; J. Schapiro¹; M. Fernandez Miyakawa^{1,2}; A. E. Rodriguez¹

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Autor responsable: tomazic.mariela@inta.gob.ar

Introducción

La coccidiosis es causada por los parásitos protozoos de los géneros *Eimeria* e *Isospora* y es una enfermedad de relevancia para los sistemas productivos intensivos como lo es la producción aviar (Constable 2016). En los pollos para carne los daños que produce son de mayor trascendencia cuanto mayor sea el animal, no sólo por las lesiones intestinales que ocasiona - las cuales varían según las especies infectantes y van desde exudados mucosos a hemorragias en distintos sectores del intestino delgado, ciegos y recto- sino porque el período de recuperación necesario no da lugar a que lleguen a la edad de sacrificio. Los síntomas varían según la especie infectante y pueden abarcar desde infecciones sub-clínicas y diarreas leves hasta severas, debido a la destrucción de la mucosa, a veces con sangre y coágulos (Dauguschies 2005). La rápida propagación del parásito y la alta replicación produce severa contaminación ambiental y suele ser el foco de infección para los animales. Además, los ooquistes persisten en el ambiente por largos períodos y su eliminación es difícil (Fanatico 2006). En nuestro país el diagnóstico se realiza por examinación de materia fecal y observación de ooquistes de *Eimeria* sp. al microscopio y la determinación de la especie se realiza por morfometría del ooquiste, se considera el período de prepatencia de la enfermedad y se determina un puntaje a la lesión en las necropsias, ya que especies como *E. tenella* producen tiflitis hemorrágica y una notable dilatación de ambos ciegos de las aves afectadas. Si bien es una técnica económica y sencilla, es laboriosa y requiere de personal capacitado. Otra importante desventaja es la imposibilidad de detectar infecciones mixtas y de distinguir algunas especies de *Eimeria*, especialmente aquellas especies sub-clínicas, siendo las que ocasionan el mayor porcentaje del costo de producción dado que impactan en la ganancia de peso y en el índice de conversión alimenticia (De Gussem 2007).

Por todo lo expuesto, la detección molecular de *Eimeria* contribuiría al control de la enfermedad, aportando a un diagnóstico más sensible y específico.

Materiales y métodos

A partir de los ciegos de pollos infectados, diagnosticados por microscopía, se realizó el aislamiento, esporulación y ruptura de ooquistes de *E. tenella*. La técnica se puso a punto utilizándose bolillas de vidrio y agitando vigorosamente en pulsos de 3 minutos a velocidad máxima, previo blanqueo con hipoclorito de sodio y lavado de los mismos. Se determinó el punto de corte mediante el cálculo del porcentaje de ruptura realizado por recuento directo de los ooquistes enteros, remanentes, al microscopio en cámara de Neubauer. Luego, para la puesta a punto de la extracción de ADN, se ensayaron 2 métodos: extracción con fenol/cloroformo/alcohol isomálico (FCA) y resina Chelex 100 (Ch). Como control positivo se realizó la extracción de ADN mediante la utilización de un kit comercial a partir de una vacuna viva Livacox -utilizada en la producción aviar- que contiene las especies *E. tenella*, *E. máxima* y *E. acervulina*. PCR: Para la amplificación del ADN de *Eimeria* spp. se utilizaron cebadores de una región del gen de ARNr 18S de ~1800 pb y para *E. tenella* se

usaron cebadores específicos de una secuencia caracterizada de una región amplificada (SCAR) de ~ 540 pb.

Resultados

Se pusieron a punto las condiciones de amplificación tanto para la PCR del género *Eimeria* como para la específica de la especie *E. tenella*. A partir del recuento de ooquistes totales, de los cuales se extrajo el ADN y tomando en cuenta el volumen de elución del mismo, se calculó la cantidad de ooquistes agregados a cada reacción de PCR observándose reacción positiva con al menos 4 ooquistes/ul de reacción en ambos métodos de extracción.

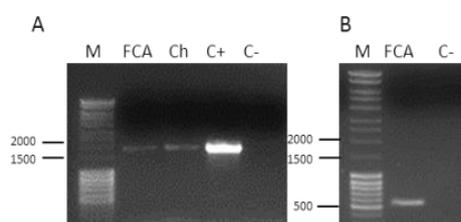


Fig. 1. Caracterización molecular de *Eimeria*. A. Amplificación por PCR del género *Eimeria*, a partir de muestras aisladas del ciego de pollos infectados extraídas con FCA y Ch. B. Amplificación de *E. tenella* a partir de muestra extraída con FCA. (C+) Control positivo de ADN extraído a partir de la vacuna viva. (C-) Control negativo de reactivos.

Discusión y conclusión

En este trabajo, implementamos por primera vez en la Argentina el uso de técnicas moleculares para la detección del género *Eimeria* con una elevada sensibilidad. También se logró la detección de la especie *E. tenella* mediante la PCR específica. La introducción de estas técnicas permitirá mejorar el diagnóstico sobre todo en casos de coccidiosis sub-clínicas, y también el estudio de las diferentes especies incluso en muestras con baja cantidad de parásitos sin la necesidad de realizar la necropsia de los animales. Esto contribuye al desarrollo de estrategias de control y prevención. Asimismo, la utilización de estas técnicas posibilitará el estudio de la epidemiología molecular de las especies circulantes, ayudando a complementar el estudio de la enfermedad para el desarrollo a futuro de nuevas vacunas.

Bibliografía

- Constable P. 2016. Overview of Coccidiosis. Veterinary Manual. Merck Sharp & Dhome.
- Dauguschies A, Najdrowski M. 2005. Eimeriosis in cattle: Current understanding. J Vet Med Ser B Infect Dis Vet Public Heal 52:417-427.
- De Gussem M. 2007. 16th European Symposium on Poultry Nutrition
- Fanatico A 2006. Parasite Management for Natural and Organic Poultry: Coccidiosis. In: A Publ. ATTRA - Natl. Sustain. Agric. Inf. Serv. www.attra.ncat.org

Subsidiado por: INTA- PNSA 1115056.