

Genotipos de *Campylobacter jejuni* y *C. coli* aislados de fetos porcinos abortados.

Giacoboni G.¹, Perfumo C.², Echeverría M.³

1. Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas. Calle 60 y 118 CC296 (B1900AVW) La Plata, Argentina. E-mail: giacoboni@fcv.unlp.edu.ar
2 Cátedra de Patología Especial.

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

Palabras clave: *Campylobacter jejuni/coli*, aborto, cerdos, genotipos.

Keywords: *Campylobacter jejuni/coli*, abortion, pig, genotypes.

RESUMEN

Se estudiaron 11 cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de fetos porcinos identificadas y biotipificadas por pruebas bioquímicas: 8 como *Campylobacter jejuni* biotipo II (*C. jejuni*), 2 *C. jejuni* biotipo I y 1 *Campylobacter coli* (*C. coli*). Las cepas aisladas se diferenciaron por 2 técnicas de biología molecular: corte con enzimas de restricción del ADN genómico total (REA) utilizando las enzimas HaeIII y HindIII y corte del PCR gen *fla-A* utilizando la enzima DdeI. El REA mostró siete patrones de restricción diferentes en las 11 cepas estudiadas y se pudieron observar mínimas diferencias entre *C. jejuni* y *C. coli*. Con PCR-RFLP se pudieron diferenciar 6 patrones dentro de la especie *C. jejuni* biotipo II de Lior y no se pudo distinguir entre ambas especies. PCR-RFLP resultó ser una herramienta adecuada para diferenciar entre las cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de algunos establecimientos.

SUMMARY

Genotypical diversity of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from aborted pig fetuses.

Eleven *Campylobacter* strains isolated from three different farms were studied. Eight strains were identified as *Campylobacter jejuni* biotype II of Lior, 2 as *C. jejuni* biotype I and 1 as *C. coli* biotype I. Two molecular methods were applied in order to differentiate these strains: genomic DNA restriction enzyme analysis (REA) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) of PCR *fla-A* gene. Seven different patterns were shown for the 11 strains studied by means of REA and minimal differences between *C. coli* and *C. jejuni* were observed. By means of PCR-RFLP 6 restriction patterns were found among Lior's *C. jejuni* biotype II strains. Digestion of the PCR *fla-A* gene with DdeI enzyme could not discriminate between *C. jejuni* and *C. coli*. However, the PCR-RFLP method provides a suitable tool for epidemiological purposes to differentiate *Campylobacter* strains, even among strains isolated from same farms.

Introducción

Campylobacter jejuni es uno de los agentes etiológicos que causan diarrea en el hombre y que se encuentran como comensales en pollos, cerdos, ovejas, vacas, perros, gatos y aves silvestres (Blaser, Taylor, Feldman, 1983). Como causa de aborto se lo asocia a mujeres embarazadas que han tenido enteritis (Sarah, McDonald, Gruslin, 2001) y en ovejas durante el último período de preñez. Aunque los cerdos pueden albergar en el tracto intestinal diversas especies de *Campylobacter*, el aborto se lo atribuye al género *Arcobacter* de la Familia *Campylobacteraceae*. En el Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones de la FCV-UNLP se aislaron *C. jejuni* y *C. coli* de fetos abortados y se consideró que estos aislamientos podrían haber sido los agentes etiológicos de los mencionados abortos porcinos (Giacoboni, Echeverría, Perfumo, 2002 a y b). Las especies de *Campylobacter* son difíciles de diferenciar por pruebas bioquímicas y hay escasos métodos estandarizados para su caracte-

rización. Para su estudio se pueden aplicar métodos fenotípicos y perfiles proteicos y moleculares, aunque aún no se ha establecido una técnica de biología molecular de referencia. En este trabajo se estudiaron 11 cepas de *Campylobacter* spp. aisladas de un total de 75 muestras procesadas de fetos porcinos provenientes de 8 granjas diferentes. Las mismas fueron identificadas y biotipificadas por pruebas bioquímicas (Lior, 1984). Para comparar las diferencias entre las mismas se empleó el corte con enzimas de restricción del ADN genómico total (REA) y del gen *fla-A* obtenido por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR-RFLP).

Materiales y métodos

Origen de las cepas: Se utilizaron 10 cepas de *Campylobacter* caracterizándose 8 como *C. jejuni* biotipo II de Lior, 2 como *C. jejuni* biotipo I y 1 como *C. coli*. (Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas, FCV-UNLP) y la cepa control de referencia ATCC 29488.

Extracción de ADN: Las cepas de *Campylobacter* se sembraron en placas de agar sangre incubadas en condiciones microaerófilas a 42°C. A las 48 horas se tomó una ansada del crecimiento, se lavó en 1ml de CINA 0,9% y se centrifugó 5 minutos a 1.000 g. El paquete celular se resuspendió en 540µl de buffer Tris-EDTA (TE) 0,001M pH 8, con el agregado de 50µl de lisozima (10mg/ml) y 60µl de SDS (10%) y se lo incubó a 37°C por 15 minutos. Luego se le agregó 3µl de proteinasa K (20 mg/ml) y se lo incubó toda la noche a 37°C. Se centrifugó a 20.000 g y 700µl del sobrenadante se transfirieron a un tubo Eppendorf agregándole 700µl de TE fenol-saturado. El ADN se extrajo con una mezcla de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1) y se precipitó con 2 volúmenes de etanol absoluto (1200µl) y 60µl de acetato de sodio 3M. Después de la centrifugación el ADN fue lavado con etanol 70° desecado y resuspendido en 100µl de TE. Finalmente, el ADN fue tratado con 3µl de RNasa (5µg/ml) por 45 minutos a 37°C.

Corte con enzimas de restricción del ADN genómico: Aproximadamente unos 5µg de ADN purificado fueron digeridos con 20U de HaeIII y HindIII en un volumen final de 20µl e incubados a 37°C durante toda la noche. Después fueron corridos 20µl en gel de agarosa al 0,7% (140 x 150 x 5 mm) en solución de Tris-acetato – TAE- (40 mM Tris-acetato, 1 mM EDTA, pH 8.0) a 20V durante 16 horas se tiñeron con bromuro de etidio (1µg/ml) y se visualizaron con luz UV.

Corte con enzimas de restricción del gen fla-A: Para obtener la secuencia nucleotídica del gen fla-A se utilizó el protocolo de Nachamkin (2001). El ADN se utilizó en una concentración final de 20 ng/µl. Para amplificar el gen fla-A, un amplicón de 1700 bp se utilizó un par de cebadores con la siguiente secuencia: Cebador 1: 5' GGA TTT CGT ATT AAC ACA AAT CGT GC 3', cebador 2: 5' CTG TAG TAA TCT TAA AAC ATT TTG 3'. La reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen final de 100µl conteniendo 8µl de ADN diluido y los siguientes reactivos: buffer PCR (1X), MgCl2 (1,5mM), cebadores (1µM de cada uno), mezcla de dNTPs (200µM de cada uno) y 2.5 U de Taq polimerasa. La mezcla se procesó utilizando un termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient. La desnaturación se efectuó a 94°C durante 1

min. Luego se realizaron 45 ciclos, constando cada uno de las siguientes etapas: 94°C 59 segundos, hibridación a 52°C 59 segundos y extensión a 72°C durante 1 minuto y 45 segundos. Después de los 45 ciclos las muestras se mantuvieron a 72°C durante 5 minutos. Posteriormente, 5µl de cada una de las muestras se corrieron en gel de agarosa al 0,7% en buffer TAE y se tiñeron con bromuro de etidio. Para examinar los productos de PCR con la enzima de restricción Ddel, los mismos fueron precipitados agregando 2 volúmenes de etanol absoluto, se lavaron con etanol 70° y se resuspendieron en 20 µl de buffer TE. Estos productos así purificados se digirieron con 10U de la enzima Ddel durante toda la noche a 37°C. Posteriormente se corrieron en gel de agarosa Scakem al 2% a 90V durante 4 horas utilizando como marcador de 100bp el Molecular Ruler 170-8002 Bio Rad que se sembró cada 4 calles del gel.

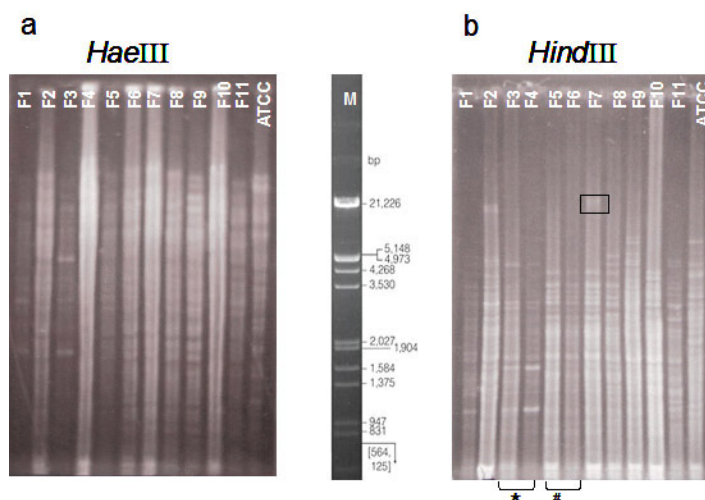
Análisis de los productos con la enzima de restricción Ddel: El análisis de las bandas obtenidas mediante el corte con la enzima de restricción Ddel fue realizado con el programa Bionumerics versión 3.0 (Applied Maths BVBA, Belgium). La posición de cada una de las bandas se asignó manualmente y el análisis del agrupamiento se realizó según el coeficiente de Dice y método UPGMA. Las imágenes fueron capta-

das empleando un transiluminador de luz UV, se fotografiaron con una cámara Kodak Digital Science® y se analizaron con el Software Análisis ID Image.

Resultados

Digestión del ADN genómico: Ambas enzimas, HaeIII y HindIII, cortaron el ADN de las cepas estudiadas y se obtuvieron fragmentos de más de 10 kb (fotografía 1 a y b). De las 11 cepas procesadas se pudieron identificar 9 patrones diferentes con HindIII y ninguna de las cepas mostró un patrón similar a la cepa de referencia ATCC 29488. Las cepas F1, F2, F5, F6, F8 y F9 se aislaron de la misma granja y pertenecieron al biotipo II de Lior pero mostraron diferentes patrones de restricción (cuadro 1) y de éstas, sólo F5 y F6 tuvieron patrones de ADN idénticos (patrón 4). Los aislamientos F3 y F4, pertenecientes a la misma granja fueron identificados por pruebas bioquímicas como *C. jejuni* biotipo I de Lior y fueron similares en su patrón de corte (patrón 3). La cepa F7 (*C. coli*) mostró patrón 4, idéntico a F5 y F6 en bandas menores a 10 kb, pero con la particularidad de una doble banda de 22 kb. Las cepas F10 y F11 exhibieron diferentes patrones (7 y 8) a pesar de haber sido aisladas de la misma granja y presentar el mismo fenotipo (*C. jejuni* II).

Fotografía 1 (a y b)



Patrones de restricción obtenidos con las enzimas HaeIII (a) y HindIII (b) del ADN genómico de las 11 cepas aisladas (F1 a F11) de *Campylobacter* y la cepa patrón ATCC29488. M: Marcador de pares de bases. (*) y (#) indican idénticos perfiles entre sí (F3 con F4) (F5 con F6) respectivamente.

Cuadro 1.

CEPAS	GRANJA	ESPECIES Y BIOTIPOS DE LIOR	Patrones ADN	SUBTIPOS PCR/RFLP
F1	A	<i>C. jejuni</i> II	1	A
F2	A	<i>C. jejuni</i> II	2	B
F3	B	<i>C. jejuni</i> I	3	C
F4	B	<i>C. jejuni</i> I	3	C
F5	A	<i>C. jejuni</i> II	4	D
F6	A	<i>C. jejuni</i> II	4	D
F7	A	<i>C. coli</i>	*	D
F8	A	<i>C. jejuni</i> II	5	E
F9	A	<i>C. jejuni</i> II	6	D
F10	C	<i>C. jejuni</i> II	7	F
F11	C	<i>C. jejuni</i> II	8	G

Se indica la procedencia de cada una de las cepas, sus especies y biotipos de Lior, sus patrones de ADN genómico de acuerdo al corte con HindIII y sus subtipos obtenidos luego de la digestión con Ddel de los productos de PCR del gen fla-A de las 11 cepas de *Campylobacter* aisladas. (*) Indica patrón idéntico a F5 y F6 (patrón 4) en bandas menores a 10 kb, con presencia de doble banda de 22 kb.

PCR-RFLP: A partir de las 11 cepas procesadas (F1 a F11) se obtuvieron productos de PCR de 1700 bp. La digestión con la enzima Ddel generó entre 3 a 7 bandas comprendidas entre 100 y 1200 bp y se pudieron diferenciar 7 subtipos (A-G). El

método de agrupación UPGMA empleó el coeficiente de Dice y los patrones se definieron con 1% de optimización y 1% de tolerancia. Los datos se compararon con un rango de tamaño de 100-500 bp y una masa de ADN de 50ng. El

dendrograma de la Figura 1 muestra la relación entre los diferentes patrones de las 11 cepas estudiadas. El máximo agrupamiento (100%) se obtuvo entre F3 y F4 y entre F5, F6, F7 y F9.

Figura 1

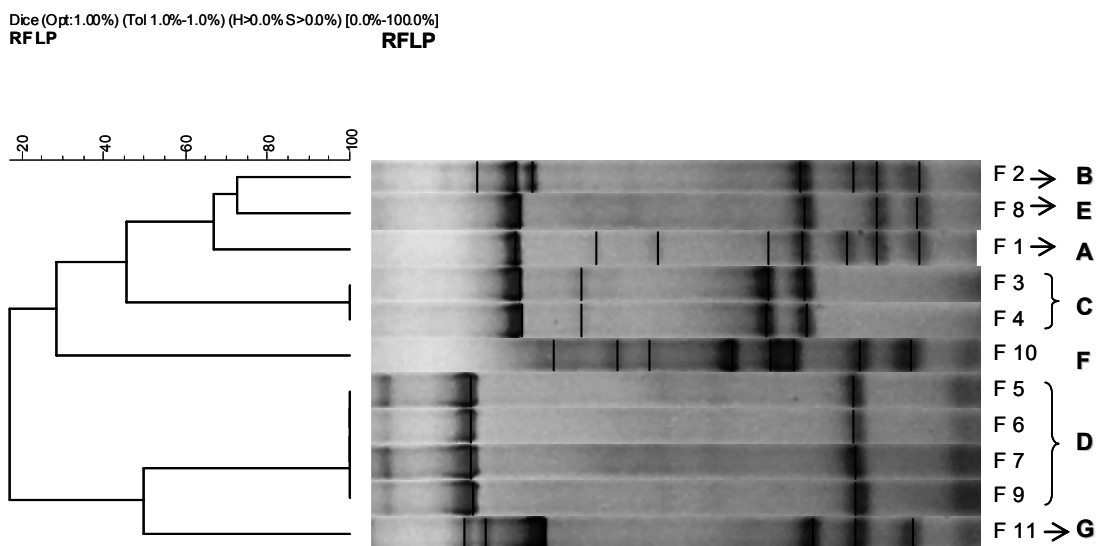


Figura 1: Dendrograma de la relación genética entre 7 patrones de PCR-RFLP-del gen fla-A de cepas de *Campylobacter jejuni* biotipo I y II de Lior, y *C. coli* (F7). A la izquierda se muestra el agrupamiento de las distintas cepas aisladas y a la derecha los subtipos. El máximo agrupamiento: 100% entre F3 y F4 y 100% entre F5, F6, F7 y F9. Dice (Opt:1.00%) (Tol 1.0%-1.0%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

Discusión

La digestión del ADN genómico con las enzimas HaeIII y HindIII de las cepas en estudio mostró modelos de bandas múltiples. Con la enzima HindIII se logró una mejor discriminación entre las cepas aisladas, obteniéndose bandas de más de 2 kb (Giacoboni, Echeverría, Perfumo, 2002 a y b). A partir de las 11 cepas analizadas se obtuvieron 9 patrones de ADN diferentes. Owen, Fernández y Bolton (1990) observaron resultados similares y concluyeron que el uso de estas endonucleasas es complejo para exponer el análisis detallado de los mismos. La inspección de los geles reveló mínimas diferencias entre *C. jejuni* y *C. coli* para el análisis del ADN genómico. Esta discriminación entre ambas especies también fue hallada por otros investigadores cuando utilizaron las enzimas de restricción HaeIII y ClaI (Korolik, Moorthy y Coloe, 1995; Smith, Olukova, Fox y Coker, 2000). Sobre el total de las cepas identificadas bioquímicamente como *C. jejuni* biotipo II de Lior se pudieron diferenciar 7 patrones diferentes independientemente del lugar de origen. Al realizar la reacción de PCR, si bien la misma se efectuó acorde con el protocolo de Nachamkin (2001), en primera instancia no se obtuvieron resultados. Debido a esto se modificaron las temperaturas de hibridación, elevándose de 44°C a 54,5°C mediante el termociclador de gradiente Perkim

Elmer. Se determinó que la temperatura óptima en la cual se encontraron resultados positivos fue 52°C. Estos resultados se diferenciaron de los que obtuvieron Harrington, Thomson y Carter (1976), quienes al reducir la temperatura de 55°C a 45°C incrementaron la resolución entre las bandas. El corte del gen fla-A con la enzima Ddel mostró mejores diferencias entre las cepas identificadas fenotípicamente como *C. jejuni*. A partir de 8 cepas (F1, F2, F5, F6, F7, F8, F9, F10) de *C. jejuni* biotipo II de Lior se obtuvieron 6 subtipos distintos. Las diferencias están indicadas entre paréntesis en la Figura 1 cerca del brazo del dendrograma respectivo. El porcentaje de similitud fue de 66,7% entre los grupos 2 y 5, sin embargo no se pudo diferenciar a *C. coli*.

La variabilidad entre las especies de *Campylobacter* también la observaron varios autores usando diferentes métodos de biología molecular. Weijtens, Reinders, Urlings, Van der Plas (1999) mostraron más de una diferencia utilizando el método de ERIC-PCR proveniente de campilobacterias de la misma muestra de materia fecal y utilizando otras enzimas de restricción como BgeIII, ClaI, PstI y PvuII. Moore, Lanser, Heuzenroeder, Ratcliff, Millar y Madden (2002) demostraron diferencias entre cepas de *C. jejuni* y *C. coli* aisladas de frigoríficos utilizando la técnica de PCR-RFLP con el gen fla-A. En su trabajo, amplificaron una sola región del gen fla-A (región

variable SVR) que fue cortada con las enzimas PstI y HaeIII. El resultado fue una amplia variabilidad en los genotipos hallados. Se demostró que la variabilidad del gen fla-A está localizada en 2 regiones (Meinemann, Helsel, Fields y Hiett, 1997), una de ellas es la SVR (450-600bp) que tiene el mismo grado de discriminación que se observa al analizar toda la secuencia del amplicón fla-A. En este estudio nosotros obtuvimos diferencias genéticas entre las cepas aisladas e identificadas fenotípicamente como *C. jejuni* provenientes de fetos abortados de la misma granja así como de granjas diferentes. De este modo pudimos diferenciar genotípicamente las mismas. La evaluación interlaboratorial de PCR-RFLP realizada por Harrington, Moran, Ridley, Newell y Madden (2003) con el gen de la flagelina concluyó que es necesario estandarizar este procedimiento (cebadores, enzimas de restricción, etc.) para poder reproducirlo en todos los laboratorios, aunque dichos autores afirmaron que la técnica tiene buena discriminación intraespecie similar a la obtenida por electroforesis de campo pulsado (PFGE), AFLP y RAPD. Aunque hay una gran variedad de técnicas disponibles para aplicar en el estudio epidemiológico de *Campylobacter*, la técnica de PCR-RFLP para el gen de la flagelina utilizando la enzima de restricción Ddel, demostró ser simple y accesible para diferenciar las especies fenotípicamente idénticas.

Agradecimientos: A la Dra. Viviana Ritacco y Dr. Gerardo Leotta, Instituto de Salud Dr. Carlos Malbrán y al Lic. Germán Metz, Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP.

Bibliografía

1. **Blaser, M.J.; Taylor, D.N; Feldman, R.A. 1983.** Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. Epidemiol. Rev. 5:157-176.
2. **Giacoboni, G.; Echeverría, M.G.; Perfumo, C.** Utilización de enzimas de restricción para la identificación de especies de *Campylobacter* aislados de abortos suinos. XIV Reunión Científico Técnica. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico. Villa General Belgrano, Córdoba. 13-15 de noviembre de 2002^a.
3. **Giacoboni, G.; Echeverría M.G.; Perfumo, C. 2002b.** *Campylobacter jejuni* y *C. coli* en suinos abortados: comparación entre la identificación fenotípica y los perfiles proteicos en geles de poliacrilamida. Rev. Arg. Microbiol. 34: 199-204.
4. **Harrington, C.S.; Thomson-Carter, F. M.; Carter, P. E. 1976.** Evidence for recombination in flagellin locus of *Campylobacter jejuni*; implications for the flagellin gene typing scheme. J. Clin. Microbiol. 35: 2836-2892.
5. **Harrington, C.S.; Moran, L.; Ridley, A.M.; Newell, D.G.; Madden, R.H. 2003.** Inter-laboratory evaluation of three flagellin PCR/RFLP methods for typing *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: the CAMPYNET experience. J. Appl. Microbiol. 95: 1321-1333.
6. **Korolik, V.; Moorthy, L.; Coloe, P. 1995.** Differentiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains by using restriction endonuclease DNA profiles and DNA fragment polymorphisms. J. Clinical Microbiol 33: 1136-1140.

7. **Lior, H. 1984.** New extended biotyping scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter lariidis*. J. Clin. Microbiol. 20: 636-640.
8. **Meinesmann, R.J.; Hesel, L.O.; Fields, P.I.; Hielt, K.L. 1997.** Discrimination of *Campylobacter jejuni* isolated by fla gene sequencing. J. Clin. Microbiol. 35: 2810-2814.
9. **Moore, J.E.; Lanser, J.; Heuzenroeder, M.; Ratcliff R.M.; Millar, B.C.; Madden, R.H. 2002.** Molecular diversity of *Campylobacter coli* and *C. jejuni* isolated from pigs at slaughter by flaA-RFLP analysis and ribotyping. J Vet B Infect Dis Vet Public Health 49: 388-393.
10. **Nachamkin I. 2001.** flaA typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: Protocols and notes on protocols CAMPYNET subgroup 3. CAMPYNET Website. <http://www.svs.dk/campynet/>
11. **Owen, R.J.; Fernández, J.; F. Bolton. 1990.** DNA restriction digest and ribosomal RNA gene patterns of *Campylobacter jejuni*: a comparison with bio-, sero-, and Bacteriophage types of United Kingdom outbreak strains. Epidemiol. Infect. 105: 265-275.
12. **Sarah D.; Mcdonald, Ba; Md, And Andrée Gruslin, Md, Fracs. 2001.** A review of *Campylobacter* infection during pregnancy: a focus on *C. jejuni*. Elsevier 2001. 8: 253- 257
13. **Smith Si; Olukoya Dk; Fox Aj; Coker Ao. 2000.** Deoxyribonucleic acid restriction digest patterns in *Campylobacter* species: a comparison with Penner serotype. British J of Biomedical Science, 57:137-141.
14. **Weijtens, M.J., Reinders, R.D., Urlings, H. A., Van Der Plas, J. 1999.** *Campylobacter* infections in fattening pigs: excretion pattern and genetic diversity. J. Appl. Microbiol. 86: 63-70.

Evaluación toxicológica de *Pithomyces chartarum* en Argentina.

Licoff, N.¹; Khalloub, P.¹; Diab, S.¹; Cantón, G.²; Odeón, A.² y Odriozola, E.²

1. Residencia Interna en Salud Animal

2. INTA Balcarce. CC 276 Ruta Nacional 226 Km 73,5 - (7620) Balcarce. eodriozola@balcarce.inta.gov.ar

Palabras clave: *Pithomyces chartarum*, esporidesmina, Argentina.

Keywords: *Pithomyces chartarum*, sporidesmin, Argentina.

RESUMEN

La capacidad de *Pithomyces chartarum* de producir esporidesmina ha sido comprobada en diferentes países con sistemas pastoriles. Este hongo también ha sido identificado en Argentina y se lo ha relacionado con cuadros de fotosensibilización secundaria. El diagnóstico se ha basado en el alto conteo de esporas, análisis sanguíneos e histopatológicos, pero no se ha realizado la determinación de esporidesmina en muestras de forraje o en aislamientos del hongo. El objetivo de este estudio es determinar la presencia de cepas de *P. chartarum* productoras de esporidesmina en muestras de pasturas de Argentina. Para el conteo de esporas se usó la técnica descrita por di Menna y para la determinación de cepas productoras de esporidesmina un test de ELISA directo de competición. Se aislaron 101 cepas de *P. chartarum* de muestras de pasturas con cantidades de 5.000 y 1.475.000 esporas por gramo de forraje. La producción de esporas en los cultivos en placa varió entre $1,7 \times 10^6$ y $8,5 \times 10^6$. El 30,7 % de las cepas aisladas evaluadas (31), resultaron positivas a la producción de esporidesmina respuestas.

SUMMARY

Toxicologic analysis of *Pithomyces chartarum* in Argentina.

The capacity of the fungus *Pithomyces chartarum* of producing sporidesmin has been proven in different countries. This fungus has also been identified in Argentina, being related to cases of photosensibilization. The diagnosis was made through spore counts, blood analysis and histopathology, but never by sporidesmin determination. The aims of this study were to determine *P. chartarum* strains which could produce sporidesmin in fodder samples in Argentina. For spore counting the di Menna technique was applied and also a direct c-ELISA test to detect strains producing sporidesmin. Strains of *P. chartarum* (101) were isolated from grass samples; the spore counts from these samples were 5,000 to 1,475,000 spores per gram of forage. The production of spores in plate cultures was between 1.7×10^6 and 8.5×10^6 . Of the isolated strains, 30.7% (31) resulted positive in sporidesmin production.

Introducción

Pithomyces chartarum (Berk & M.A. Curtis) M.B. Ellis, es un hongo saprófito que puede producir la micotoxina esporidesmina A, responsable de causar cuadros de eczema facial en ganado alimentado sobre pasturas.

Es de distribución mundial y ha sido encontrado en Europa, África, Asia, Oceanía y en América³⁻¹³. Determinadas medidas de manejo, tales como el pastoreo intensivo aumentan la posibilidad de ingestión de esporas del *P. chartarum* que desarrollan en el material muerto de la pastura y, con determinadas condiciones climáticas, se multiplican rápidamente aumentando su peligrosidad. Para el desarrollo del hongo se deben producir temperaturas mínimas a nivel del pasto por encima de 12-13°C durante dos, tres o más días, coincidiendo con suficiente humedad (3-4 mm. de lluvia, rocíos fuertes) para mantener la base de la pastura continuamente húmeda. Con la intensificación del pastoreo los animales consumen el

estrato más bajo de la pastura, donde el hongo desarrolla y se intoxican^{2,8}. La esporidesmina A causa daño hepático primario el cual se manifiesta como una fotosensibilización hepatógena (Kelly 1985). En casos severos esto puede llevar a la muerte de animales. La exposición a bajas dosis de la micotoxina produce pérdidas productivas con disminución en la ganancia de peso, mermas en la producción de leche o lana y en los índices reproductivos. Éstas son las razones por las que el eczema facial tiene un impacto económico importante en la industria ganadera en Nueva Zelanda, al igual que en otros países como Australia y Sudáfrica, aunque en menor medida. Estudios realizados por Collin et al.⁴⁻⁵, Collin y Towers⁷, di Menna et al¹⁰ y Halder et al¹² demostraron que la producción de esporidesmina puede variar entre cepas de *P. chartarum* aisladas en la misma región o país. En Nueva Zelanda, Collin et al⁴ analizaron la capacidad de producir esporidesmina de 676 cepas aisladas; a pesar de que esporulaban

masivamente, 2 de ellas no produjeron la toxina. Tres años después el mismo autor analizó cepas provenientes de países de Oceanía (Australia y Nueva Zelanda) y de Sudamérica (Brasil y Uruguay). En el caso de las cepas de Australia y Nueva Zelanda estudiadas, la producción de esporidesmina fue del 67 y 86%, respectivamente, mientras que las cepas provenientes de Brasil y Uruguay demostraron que sólo el 2 y 28% produjeron la toxina⁵. Algunos trabajos previos indicaban que todas las cepas analizadas provenientes de Nueva Zelanda producían toxina⁷⁻¹⁰. Halder et al¹² examinaron 12 cepas aisladas de pasturas de Texas (EE.UU.) mientras que Collin y Towers⁷ evaluaron 57 cepas de Norte y Sudamérica; ninguno de los estudios encontró cepas productoras de esporidesmina a pesar de que demostraron capacidad de esporular. Un estudio de Sudáfrica indicó que, al menos, el 25% de las 167 cepas aisladas producían cantidades moderadas de toxinas bajo condiciones de laboratorio, mientras que otro estudio

indicó que 3 de cada 10 cepas aisladas de Francia producían niveles detectables de toxina⁷.

El conocimiento de la capacidad de *P. chartarum* de producir esporidesmina en diferentes regiones geográficas, especialmente en países que utilizan grandes áreas pastoriles como recurso forrajero, resulta de gran interés para estimar el impacto económico que esta afección pudiese ocasionar en la producción de leche y carne.

P. chartarum también está presente en Argentina y se lo ha relacionado con fotosensibilización secundaria³. En estos casos, el diagnóstico se basó en el alto conteo de esporas por gramo de materia seca de forraje (epg), determinaciones de bioquímica clínica (enzimas hepáticas) y análisis histopatológico. Sin embargo la determinación de esporidesmina en muestras de forrajes o sobre cepas aisladas no ha sido estudiada localmente hasta ahora.

El propósito de éste estudio fue determinar la presencia de cepas de *P. chartarum* productoras de esporidesmina en pasturas de la región pampeana y mesopotámica de la Argentina.

Materiales y métodos

Las muestras de forraje analizadas fueron tomadas de pastizales naturales y pasturas cultivadas. Se seleccionó material muerto que se encontraba en el estrato bajo de forraje, sobre el suelo. Las muestras fueron obtenidas de diferentes establecimientos de la provincia de Buenos Aires, Córdoba, Entre Ríos y Santa Fe, según colaboración de productores y profesionales de cada zona. Para determinar la cantidad de esporas de *P. chartarum* en la pastura las muestras fueron lavadas empleando la técnica descrita por

Collin et al (1998), utilizando diez gramos de forraje seco dentro de una bolsa plástica donde se agregan cien mililitros de agua de red con una gota de detergente común. La muestra de pasto es macerada mediante suaves y repetidos masajes. Para realizar el conteo de esporas propiamente dicho se usó la técnica desarrollada por di Menna⁹, en la cual se toma una alícuota de la suspensión resultante anteriormente, cuantificando en una cámara hemocitométrica de Neubauer.

Luego se realizó el aislamiento de *P. chartarum* por la técnica de cultivo monospórico (Fitzgerald et al¹¹). A tal fin, con el uso de microscopio óptico a 450 aumentos, se eligieron esporas viables. Estas fueron transferidas a uno de los 24 hoyuelos de placas de cultivo celular, conteniendo 1 ml de RCA (Rabbit Chow Agar) con antibióticos (estreptomocina 100 ppm y tetraciclina 50 ppm). Las placas así sembradas fueron incubadas durante 15 días a 22°C bajo luz ultravioleta cercana (350 nm).

Terminada la incubación, las colonias obtenidas fueron utilizadas en la evaluación de la producción de esporidesmina. Para la extracción de dicha micotoxina se agregaron 425 µl de una solución acuosa de Tween-20 (0.05% v/v) a cada hoyuelo y las colonias fueron "lavadas" usando un agitador de placas Titer Plate Shaker (Lab-Line Instruments, Inc.) durante 5 minutos a 700 rpm. Una alícuota de 50 µl del lavado de cada aislamiento fue analizada por medio de la técnica de ELISA directa de competición descrita por Collin et al (1998) para determinar la presencia de esporidesmina. La sensibilidad del test de ELISA utilizado permitió detectar concentraciones de esporidesmina de 1,6 ng/ml o mayores.

Luego del lavado de las colonias el contenido de los hoyuelos (micelio,

esporas y medio de cultivo) fue vaciado dentro del vaso de un mixer "Sorvall Ovni-Mixer Homogenizer" (Du Pont Company, Newton Conn. 06470) al cual se le agregó 10 ml de etanol 50% y 90 ml de agua corriente. El material fue mezclado durante 15 segundos a 4000 rpm y la suspensión resultante fue usada para contar las esporas con la cámara hemocitométrica de Neubauer.

Resultados

El conteo obtenido de las 170 muestras de pastura analizadas varió entre 5.000 y 1.475.000 esporas de *P. chartarum* por gramo de materia seca de forraje.

Se aislaron 101 cepas de *P. chartarum* de las muestras de pasturas de diferentes áreas de las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Santa Fe y Entre Ríos.

Las cepas analizadas mostraron diferencias tanto en crecimiento como en su habilidad para esporular. La producción de esporas en los cultivos en placa varió entre 1,7 x 10⁶ y 8,5 x 10⁶.

La esporulación de las cepas aisladas fue evaluada para determinar que la cantidad de esporas presentes superara la cantidad mínima requerida para la detección de esporidesmina. Estaba reportado que la producción de esporidesmina podía variar entre 0,6 y 3,5 µg cada 10-6 esporas⁶. Teniendo en cuenta este antecedente se consideró que el test de ELISA empleado detectaría la producción mínima de 2,7 x 10³ esporas.

De las 101 cepas aisladas evaluadas, 31 resultaron positivas a la producción de esporidesmina (30.7% de las muestras).

Cuadro 1. Capacidad de producción de esporidesmina de cepas de *P. chartarum* aisladas en Argentina

Provincia	Partido	Número de Muestras	Número de aislamientos	Esporidesmina A	
				No. de +	% de +
Buenos Aires	9 de Julio	1	3	0	0,0
	Balcarce	4	17	7	41,2
	Bolívar	1	4	0	0,0
	Castelli	1	2	0	0,0
	Chascomús	4	9	9	100,0
	Chivilcoy	1	4	0	0,0
	Coronel Dorrego	1	6	0	0,0
	Maipú	2	8	3	37,5
	General Alvarado	1	3	1	33,3
	Pehuajó	1	4	2	50,0
	Pila	1	1	1	100,0
	Rivadavia	1	1	0	0,0
	Saladillo	1	7	3	42,9
	Tres Arroyos	4	17	5	29,4
Córdoba	Santa María	1	1	0	0,0
	Unión	1	4	0	0,0
E. Ríos	Federación	1	6	0	0,0
Santa Fe	General López	1	4	0	0,0
Total			101	31	30,7

Discusión

Al igual que en el trabajo de Collin et al⁵ se encontraron valores similares a los descritos en Uruguay. En este estudio se observó que sólo el 30,7% de las cepas fueron capaces de producir esporidesmina. También se detectó una gran variabilidad en la proporción de cepas aisladas productoras de esporidesmina entre las zonas muestreadas, desde un 0% hasta un 100% de cepas positivas.

Teniendo en cuenta que los sistemas productivos de Argentina están basados en el uso de pasturas naturales y cultivadas, la presencia de cepas toxigénicas de éste hongo en las muestras analizadas podría ocasionar importantes cuadros subclínicos con mermas en la producción, además de las pérdidas ya conocidas causadas por casos clínicos de intoxicación.

La proporción de cepas tóxicas encontradas en este trabajo es similar a la reportada por Collin et al⁵ en Uruguay, pero más alta a la

reportada en Brasil, donde la proporción de cepas tóxicas sólo alcanza el 2%. Aunque los porcentajes son mucho más bajos que los reportados en Australia (67%) y Nueva Zelanda (86%), donde esta enfermedad tiene un gran impacto económico.

Previo a este trabajo sólo existía la suposición de la existencia de cepas tóxicas de *P. chartarum* en Argentina. Por primera vez se obtienen evidencias de la presencia de cepas toxigénicas de *P. chartarum* en el país.

La información generada en cuanto a la variabilidad zonal de cepas productoras de esporidesmina deberá ser avalada por futuros trabajos con mayor número de muestras que permitan corroborar estos resultados.

La toxicidad de las pasturas ha sido estimada tradicionalmente a través del conteo de esporas producidas por *P. chartarum*⁸. Esta estimación disminuye su validez teniendo en cuenta la variación de las diferentes

cepas para producir toxina y, además, se debe tener en cuenta que el número de esporas puede variar rápidamente por la lluvia o por la radiación ultravioleta¹⁶.

En Nueva Zelanda, donde el porcentaje de cepas productoras de esporidesmina llega al 90%⁶, las pasturas contaminadas con niveles de 50.000 a 100.000 epg son consideradas peligrosas^{4,13}. De acuerdo con esto, considerando que el porcentaje de cepas tóxicas detectadas en este ensayo llega al 30%, los niveles de riesgo de las pasturas deberían ser superiores a los de esos países para ser consideradas peligrosas.

No obstante si evaluamos la toxicidad de una pastura en base al conteo de esporas se deberá tener presente la gran variación en el porcentaje de cepas tóxicas observadas entre las diferentes zonas. Esta situación hace imprescindible un análisis regional más exhaustivo para disponer de información más segura en cada área geográfica.

Conclusiones

Los aislamientos de *P. chartarum* y su evaluación por medio de un test de ELISA fue empleado por primera vez en el país, generando información sobre la existencia de cepas

productoras de esporidesmina en Argentina, y que el 30% aproximadamente de las cepas analizadas fueron capaces de producir la toxina. Esto toma importancia en la evaluación de la potencial toxicidad de forrajes a la

hora de confirmar un diagnóstico. Los datos generados en este trabajo no pretenden ser concluyentes, ya que esta información deberá ser confirmada mediante la realización de futuros estudios.

Bibliografía

1. **Briggs, L.R.; Towers, N.R.; Molan, P.C.** Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for analysis of Sporidesmin A and its metabolites in ovine urine and bile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1994; 42: 2769-2777.
2. **Brook, P.J.** Ecology of the fungus *Pithomyces chartarum* (Berk. & Curt.) M. B. Ellis in pasture in relation to facial eczema disease of sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 1963; 6: 147-228.
3. **Carrillo, B.J.; Carcagno, C.; Corbellini, C.N.; Duffy, S.J.; Miquel, J.M.; de Miguel, M.S.** Fotosensibilización por *Pithomyces chartarum* en bovinos en la República Argentina. Primera comunicación. *Revista Investigación Agropecuaria* 1980; 15: 527-538.
4. **Collin, R.G.; Briggs, L.R.; Towers, N.R.** Development and evaluation of an enzyme immunoassay for sporidesmin in pasture. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 1995; 38: 297-302.
5. **Collin, R.G.; Odriozola, E.; Towers, N.R.** Sporidesmin production by *Pithomyces chartarum* isolates from Australia, Brazil, New Zealand and Uruguay. *Mycology Research* 1998; 102 (2): 163-166.
6. **Collin, R.G.; Schneider, E.; Briggs, L.; Towers, N.** Development of Immunodiagnostic Field Test for the Detection of the Mycotoxin, Sporidesmin A. *Food and Agricultural Immunology* 1998; 10: 91-104.
7. **Collin, R.G.; Towers, N.R.** First reported isolation from New Zealand pasture of *Pithomyces chartarum* unable to produce sporidesmin. *Mycopathologia* 1995; 130: 37-40.
8. **di Menna, M.E.** *Pithomyces chartarum* spore counts in pasture. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 1973; 16: 343-351.
9. **di Menna, M.E.** The wash method of counting *Pithomyces chartarum* spores in pasture. *Proceedings of the Ruakura Farmers Conference* 1-8, 1977.
10. **di Menna, M.E.; Campbell, J.; Mortimer, P.H.** Sporidesmin production and sporulation in *Pithomyces chartarum*. *Journal of General Microbiology* 1970; 61: 87-96.
11. **Fitzgerald, J.M.; Collin, R.G.; Towers, N.R.** Biological control of sporidesmin producing strains of *Pithomyces chartarum* by biocompetitive exclusion. *Letters in Applied Microbiology* 1998; 26: 17-21.
12. **Halder, C.A.; Taber, R.A. ; Camp, B.J.** Absence of Sporidesmin Production by Twelve Texas Isolates of *Pithomyces spp.* *Applied and Environmental Microbiology* 1981; 41: 212-215.
13. **Hansen, D.E.; McCoy, R.D.; Hedstrom, O.R.; Snyder, S.P.; Ballerstedt, P.B.** Photosensitization associated with exposure to *Pithomyces chartarum* in lambs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1994; 204: 1668-1671.
14. **Nelly, W.R.** The liver and biliary system. In: Jubb K. V. F., Kennedy P.C, Palmer N, eds. *Pathology of domestic animals*. New York: Academic Press Inc. 3rd ed. Vol 2. 288-303. 1985.
15. **Marbrook, J.; Matthews. R.E.F.** Loss of sporidesmin from spores of *Pithomyces chartarum* (Berk. & Curt.) M. B. Ellis. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 1962; 5: 223-236.

Dinámicas de oviposición y de disponibilidad en pasto de nematodos gastrointestinales bovinos en invernada sobre triticale en el sudoeste de Córdoba, Argentina.

Lovera, H.¹; Descarga, CO.²; Raviolo, J.¹

1. Médico Veterinario. Depto. Patología Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Rutas 8 y 36 Km 601, Río Cuarto (Córdoba).

2. Médico Veterinario. Area Producción Animal. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Marcos Juárez, Córdoba.

Palabras clave: parasitismo gastrointestinal, epidemiología, bovinos, verdeos anuales de invierno.

Keywords: Gastrointestinal parasitism, epidemiology, cattle, winter annual pastures.

RESUMEN

La resistencia antihelmíntica en bovinos está transformándose en una preocupación en los sistemas de producción de Argentina, razón por la cuál la racionalidad del control debe cambiar. En éste sentido, un intento de control integrado usando cultivos anuales puede contribuir a revertir este problema. El objetivo del presente estudio es caracterizar los niveles y la composición de géneros parasitarios de las dinámicas de oviposición y de disponibilidad de larvas de tercer estadio en pasto durante el período de utilización de los verdeos, y determinar si el control de la carga parasitaria durante el uso del verdeo brinda un beneficio productivo final de significación. Entre julio y noviembre de 2004, 2005 y 2006 se evaluó la oviposición y disponibilidad de larvas en pasto de nematodos gastrointestinales durante la utilización de un triticale. Los promedios de hpg al ingreso fueron: 35 ± 35 (2004), 22 ± 23 (2005) y 19 ± 17 (2006). En el 2004 y 2006, los hpg aumentaron en setiembre (86 ± 53) y octubre (67 ± 43), respectivamente; en tanto que, en noviembre apenas estuvieron por encima de los citados (2004: 106 ± 41 hpg; 2006: 76 ± 40 hpg). Por el contrario, en el 2005 recién hubo un ascenso de hpg en noviembre (63 ± 30). En los coprocultivos, prevaleció *Cooperia* spp. (2004: 55-68 %; 2005: 51-65 %; 2006: 42-57 %). Los promedios mínimos y máximos de L3KgMS fueron: 184 ± 41 y 357 ± 109 (2004), 77 ± 100 y 611 ± 106 (2005); 141 ± 169 y 422 ± 80 (2006), respectivamente. El género de mayor prevalencia en pasto fue *Ostertagia* spp. (2004: 39-61%; 2005: 36-62 %; 2006: 50-65 %). El intervalo MF/L3 fue de 29, 28 y 35 días en el 2004, 2005 y 2006, respectivamente. El perfil epidemiológico se considera de mediano a bajo riesgo productivo. Sin embargo, la alta prevalencia de *Ostertagia* spp. en pasto, puede provocar alteraciones productivas en la próxima etapa de invernada. Lluvias en agosto o setiembre pueden aumentar el perfil de riesgo inmediato y mediato considerado. Los resultados contribuyen al desarrollo de un control integrado de base epidemiológica que favorezca la generación de poblaciones de parásitos susceptibles para mantener la eficacia de los antihelmínticos.

SUMMARY

Egg output and grass availability dynamics of bovine gastrointestinal nematodes in fattening cattle on triticale at the southwest of Córdoba, Argentina.

Bovine anthelmintic resistance is becoming a concern in the Argentine production systems, reason why the control must change. In this sense, an integrated control approach using winter annual crops may contribute to overcome such problem. The objective of the present study is to characterize the levels and the composition of parasitic genera, the dynamics of egg output and the availability of third stage larvae in grass during the period of use of the winter pastures, and to determine if the control of the parasitic level during the use of the winter pastures offers a final production benefit.

*Oviposition of gastrointestinal nematodes and grass larval availability in cattle grazing triticale were evaluated monthly, between July and November during three consecutive years. At the beginning of the study the egg-count means were: 35 ± 35 (2004), 22 ± 23 (2005) y 19 ± 17 (2006). The number of eggs per gram (epg) were by September of 2004 (86 ± 53) and October of 2006 (67 ± 43). The epg showed the highest values by November (2004: 106 ± 41 epg; 2006: 76 ± 40 epg). In contrast, during 2005 the epg showed a peak just in November (63 ± 30). *Cooperia* spp. was the most prevalent genus cultured in feces (2004: 55-68 %; 2005: 51-65 %; 2006: 42-57 %). The minimum and maximum means of the L3/KgDM were: 184 ± 41 and 357 ± 109 (2004), 77 ± 100 and 611 ± 106 (2005); 141 ± 169 and 422 ± 80 (2006). *Ostertagia* spp. was the prevalent genus in grass (2004: 39-61%; 2005: 36-62 %; 2006: 50-65 %). The FM/L3 intervals were 29, 28 and 35 days in 2004, 2005 and 2006, respectively. The host infestation risk was characterized as medium to low. Nevertheless, the high prevalence of *Ostertagia* spp. in grass may represent a risk for the incoming calves of the next production season. The short and long term risk observed during August and September may have been related to the rainfall (rate). The present findings help to design an integrated control scheme which may improve the drug efficacy.*

Introducción

Los sistemas pastoriles de invernada de las regiones subhúmeda y semiárida pampeana se caracterizan por utilizar pasturas en base a alfalfa durante la mayor parte del año y

verdeos en el invierno (Amigone, Kloster, Cagnolo, Domínguez y Resch, 1991). La producción de avena, centeno y triticale es altamente dependiente de las condiciones climáticas, principalmente la escasez de precipitaciones y las

bajas temperaturas (Pagliaricci, Ohanian, Gonzalez y Pereyra., 1997). Los verdeos de invierno han ocupado un lugar secundario en la consideración parasitológica, con escasos estudios específicos (Suárez y Busetti, 1989; Rossanigo y Avila,

1988; Rossanigo, 1999; Descarga y Urbani, 2004; Lovera, Descarga, Tolosa, Bagnis y Raviolo, 2006). La limitación en el conocimiento epidemiológico impide por ahora recomendar cambios en la habitual práctica de desparasitar a los animales antes del ingreso, aunque favorecería el desarrollo de resistencia antihelmíntica por la condición de bajo o nulo "refugio parasitario" existente en el verdeo (Fiel, Anziani, Suárez, Vázquez, Eddi, Romero, Caracostantógo, Saumell, Costa y Steffan, 2001; Anziani y Fiel, 2004). Precisamente, la importancia del refugio helmíntico en la generación de resistencia (Coles, 2005; Van Wyk, 2001), hace imprescindible su consideración en todo planteo de control sustentable.

La magnitud e importancia de la resistencia antihelmíntica en bovinos en el país (Anziani y Fiel, 2004; Caracostantógo, Castaño, Cutullé, Cetrá, Lamberti, Olaechea, Plorutti, Ruiz, Schapiro, Martínez, Balbiani, Castro y Morici, 2005), hacen necesario incluir el manejo integrado en el control y los verdes son claramente una alternativa potencial para avanzar en la prevención o postergación de esta problemática. En este contexto el estudio tuvo el propósito de estimar el riesgo parasitario generado durante el uso de un verdeo, mediante la caracterización de las dinámicas de oviposición y de disponibilidad de larvas en pasto a partir de bajos niveles iniciales de huevos de nematodos en la materia fecal.

Materiales y métodos

El estudio se desarrolló en el Campo Experimental de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto, ubicado en el paraje La Aguada, 18 Km al sudoeste de Río Cuarto. Los períodos fueron los siguientes: 22/7 al 4/11 (2004), 28/7 al 10/11 (2005) y 6/7 al 19/10 (2006).

Se utilizó un potrero de Triticale (xTriticosecale Wittmack) de 6 ha dividido en 4 unidades de 1.5 ha cada uno, fraccionado en 8 parcelas de 0.19 ha. En el 2004 se utilizaron 20 terneros de destete de biotipo británico de la zona; en tanto que en el 2005 y 2006 el total fue de 16 terneros de las mismas características por año.

Cada año, el verdeo se utilizó durante 110 días con un sistema de pastoreo de una semana de uso y retorno a los 49 días, por lo que se completaron dos ciclos de aprovechamiento. Las fechas de ingreso a la primera parcela para el segundo pastoreo fueron las siguientes: 16/9 (2004), 22/9 (2005) y 31/8 (2006). Cada unidad experimental (1.5 ha) tuvo 4 repeticiones y alojó a 5 animales en el 2004 y a 4 animales en el 2005 y 2006. El peso promedio inicial de los terneros fue de 176.7 ± 17.4 kg (2004), 212 ± 29.7 Kg (2005) y 177 ± 17.4 Kg (2006). Semanalmente se determinó: a) larvas de nematodos en pasto (L3/Kg/MS) en el circuito de pastoreo mediante la técnica de lavado mecánico y migración en agar

(Mwegoha y Jorgensen, 1977) y los géneros parasitarios; b) intervalo entre la siembra fecal y la obtención de larvas (MF/L3KgMS) en la primera parcela a partir de su utilización inicial y hasta su segundo ciclo de pastoreo si antes registraba evaluaciones positivas. Mensualmente se evaluó: huevos de nematodos por gramo de materia fecal (hpg) por la técnica de McMaster modificada (Roberts O' Sullivan, 1949) y géneros parasitarios por coprocultivo (Henriksen y Korsholm, 1983). Los promedios de hpg al ingreso fueron: 35 ± 35 (2004), 22 ± 23 (2005) y 19 ± 17 (2006). Los registros de temperatura y pluviométricos históricos y de los períodos experimentales fueron proporcionados por el Área de Agrometeorología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

Resultados

En general el perfil climático de los tres años respondió a las características históricas de la región, principalmente el desplazamiento de lluvias de magnitud considerable hacia octubre. Como extremos pluviométricos, se destacan el registro de julio de 2004, las reducidas precipitaciones de septiembre durante los tres años y el aumento de las lluvias en octubre de 2004 y 2006. Ver cuadro 1.

Cuadro 1/Table 1.
Temperaturas y lluvias históricas (1993-2003) de los períodos en estudio.
Temperatures and historic rainfall (1993-2003) of the assays periods.

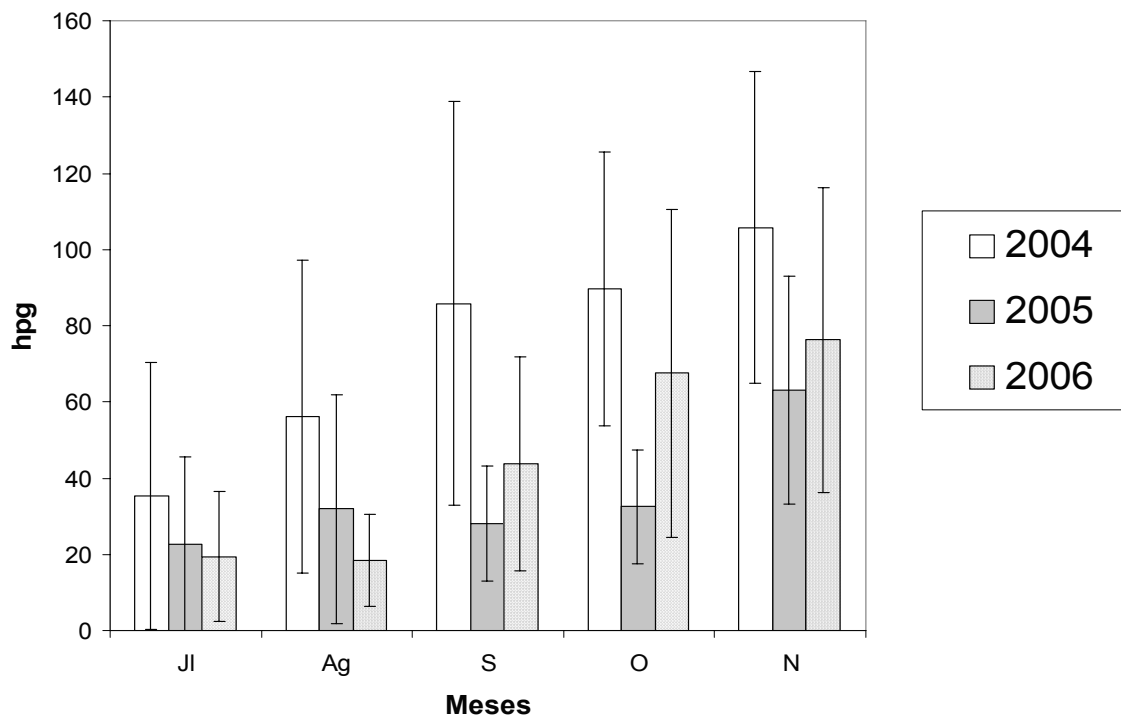
	Junio	Julio	Agosto	Setiembre	Octubre	Noviembre
T° media 1993-2003 (°C)	9.3	8,4	10,9	13,0	16,5	19,1
Lluvia media 1993-2003 (mm)	9.4	10,5	11,2	26,3	58,6	113,5
2004						
T° media (°C)	17.5	9.2	10.7	14.4	16.6	18.7
Total lluvias (mm)	0	43	14	0	98	65
2005						
T° media (°C)	9.6	9.3	10.4	12.2	16.2	20.6
Total lluvias(mm)	5	0	10.0	10.0	68	117
2006						
T° media (°C)	10.6	10.9	11.0	11.2	18.5	19.4
Total lluvias (mm)	4	0	0	7	102	86

En los años 2004 y 2006 hubo un considerable incremento en la oviposición en setiembre (86 ± 36 hpg) y octubre (67 ± 43 hpg),

respectivamente; en tanto que los niveles alcanzados al final del estudio se ubicaron apenas por encima de los citados (2004: 106 ± 41 hpg;

2006: 76 ± 40 hpg). Por el contrario, en el 2005 recién hubo una marcada elevación de los hpg en noviembre (63 ± 30). Ver Figura 1.

Figura 1
Promedios de hpg en 2004, 2005 y 2006.
Means of epg in 2004, 2005 and 2006.



Si se considera el perfil anual de los coprocultivos, los géneros de mayor prevalencia fueron *Cooperia* spp. (2004: 55-68 %; 2005: 51-65 %; 2006: 42-57 %), *Haemonchus* spp. (2004: 15-24%; 2005: 16-24 %;

2006:16-29 %) y *Ostertagia* spp. (2004: 7-17%; 2005: 8-21 %; 2006: 6-32 %). En términos generales, *Cooperia* spp. tuvo mayor presentación entre julio y setiembre; en tanto que la distribución de

Haemonchus spp. fue uniforme y *Ostertagia* spp. creció a partir de setiembre. En el género *Cooperia* prevaleció *Cooperia oncophora* (2004: 81 %; 2005: 89 %; 2006: 83 %). Ver Cuadro 2.

Cuadro 2 / Table 2.
Porcentajes de géneros en coprocultivos de 2004, 2005 y 2006.
Genus percentages in 2004, 2005 and 2006 coprocultures.

	<i>Haemonchus</i> spp.	<i>Ostertagia</i> spp.	<i>Trichostrongylus</i> spp.	<i>Cooperia</i> <i>oncophora</i>	<i>Cooperia</i> <i>punctata/pectinata</i>	<i>Nematodirus</i> spp..
2004						
Julio	24	8	3	55	8	2
Agosto	19	8	2	61	7	3
Setiembre	17	14	3	51	13	2
Octubre	15	17	3	43	20	2
Noviembre	23	17	3	44	11	2
2005						
Julio	24	8	3	54	8	3
Agosto	16	13	7	54	10	0
Setiembre	20	15	4	58	1	2
Octubre	21	21	3	49	5	1
Noviembre	24	19	6	44	7	0
2006						
Julio	29	6	5	41	11	8
Agosto	17	25	7	44	6	1
Setiembre	17	30	4	43	5	1
Octubre	19	27	4	39	11	0
Noviembre	26	20	5	40	9	0

La característica más destacada de la dinámica de larvas en pasto del circuito de pastoreo fue que a partir del segundo ciclo de utilización del verdeo (56 días post-ingreso) todas las evaluaciones fueron positivas y

de niveles bajos a medianos (Figuras 2, 3 y 4). Los promedios mínimos y máximos de L3KgMS fueron: 184 ± 41 y 357 ± 109 (2004); 188 ± 49 y 511 ± 54 (2005); 230 ± 26 y 503 ± 97 (2006), respectivamente. A su vez, es

remarcable el contraste entre el descenso a aproximadamente la mitad de los registros iniciales en los dos primeros años y la evolución ascendente de la última quincena de 2006 que duplicó los valores iniciales.

Figura 2.
Promedios y desvíos estándar de L3KgMS en 2004.
Means and standard deviations of the L3KgDM in 2004.

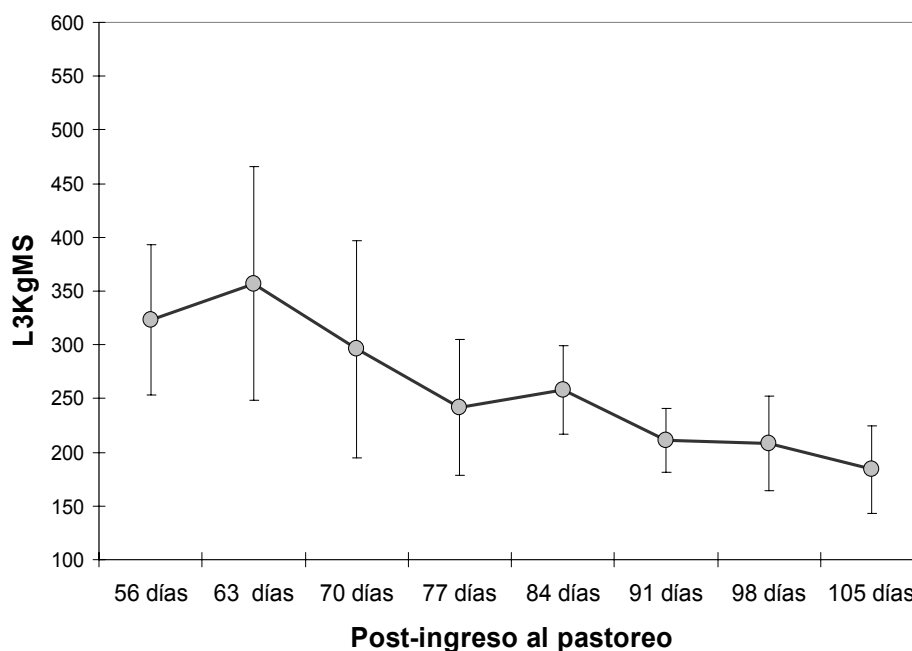


Figura 3.
Promedios y desvíos estandar de L3KgMS en 2005.
Means and standard deviations of the L3KgDM in 2005.

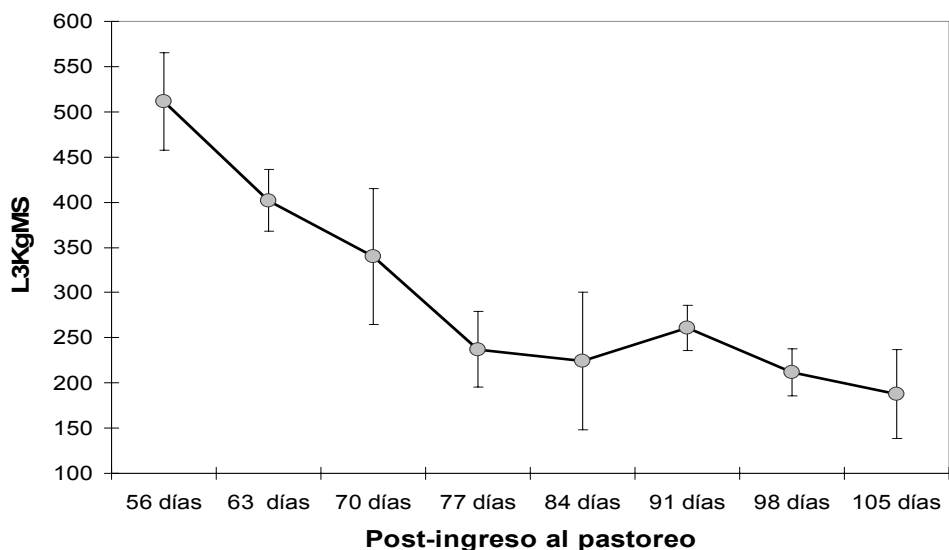
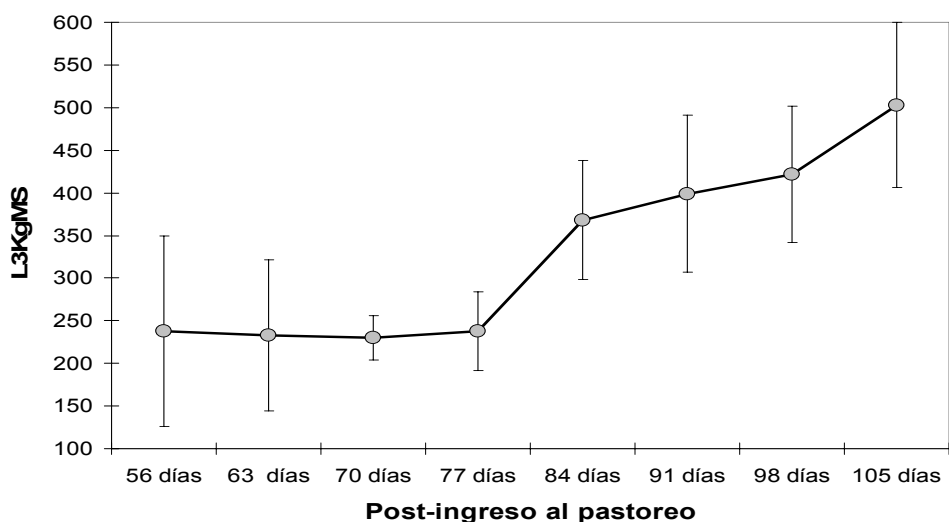


Figura 4.
Promedios y desvíos estandar de L3KgMS en 2006.
Means and standard deviations of the L3KgDM in 2006.



El perfil anual de prevalencia de los géneros en pasto fue: *Ostertagia spp.* (2004: 39-61%; 2005: 36-62 %; 2006: 50-65 %); *Cooperia spp.* (2004: 13-31%; 2005: 13-34 %; 2006: 16-31 %), *Trichostrongylus spp.* (2004:14-32 %; 2005: 7-34 %; 2006: 5-32 %) y

Haemonchus spp. (2004: 1-15 %; 2005: 3-16 %; 2006: 1-2 %). Todos los años *Ostertagia spp.* tuvo niveles de participación superiores al 50 % hasta octubre; en tanto que *Cooperia spp.* constituyó una base mensual constante de entre un cuarto y un

tercio de los géneros recuperados. *Trichostrongylus spp.* también tuvo una distribución mensual equilibrada con un leve incremento desde mediados de octubre, momento en el que comenzaron las recuperaciones de *Haemonchus spp.* Ver Cuadro 3.

Cuadro 3 / Table 3.

Promedios y valores extremos de porcentajes de géneros en el circuito de pastoreo durante 2004, 2005 y 2006.
Means and extreme values of the genus percentages at grassland circuit during 2004, 2005 and 2006.

	<i>Haemonchus</i> <i>spp.</i>	<i>Ostertagia</i> <i>spp.</i>	<i>Trichostrongylus</i> <i>spp.</i>	<i>Cooperia</i> <i>spp.</i>
2004				
16/9	0	51 (48-79)	19 (17-25)	30 (6-42)
23/9	0	58 (64-99)	18 (17-37)	24 (3-30)
30/9	1 (0-2)	61 (25-62)	14 (3-13)	24 (3-21)
7/10	1 (0-2)	57 (22-36)	24 (9-17)	18 (1-8)
14/10	7 (0-6)	57 (20-36)	17 (4-11)	19 (0-10)
21/10	12 (3-8)	42 (14-19)	15 (4-8)	31 (2-11)
28/10	7 (3-4)	42 (12-19)	32 (9-15)	19 (2-7)
4/11	15 (4-11)	39 (11-20)	32 (10-16)	14 (1-4)
2005				
22/9	0	50 (54-86)	19 (17-28)	31 (6-46)
29/9	0	60 (55-65)	19 (14-26)	22 (2-22)
6/10	0	58 (34-61)	24 (10-23)	18 (1-16)
13/10	4 (1-4)	62 (26-35)	13 (2-10)	21 (2-9)
20/10	4 (1-3)	59 (18-44)	20 (6-14)	17 (0-9)
27/10	5 (2-4)	57 (25-37)	25 (12-14)	13 (1-7)
3/11	13 (4-8)	41 (15-18)	16 (4-8)	30 (2-10)
10/11	16 (4-8)	36 (9-22)	33 (10-16)	15 (1-5)
2006				
31/8	0	59 (11-40)	20 (3-12)	21 (1-14)
7/9	0	57 (16-37)	18 (0-9)	25 (2-11)
14/9	0	58 (23-34)	20 (6-11)	22 (0-11)
21/9	0	66 (27-40)	13 (4-10)	21 (0-14)
28/9	1 (0-3)	63 (37-58)	16 (7-17)	20 (1-15)
5/10	1 (0-4)	56 (22-36)	20 (6-14)	23 (3-25)
12/10	2 (0-4)	54 (32-57)	18 (12-15)	26 (3-19)
19/10	3 (0-7)	50 (45-66)	22 (19-27)	25 (3-27)

Los intervalos entre la siembra de materia fecal y la recuperación de larvas infestantes en pasto en la primera parcela fueron de 29 días (2004), 28 días (2005) y 35 días (2006). Los tres años todas las evaluaciones semanales posteriores a la primera recuperación hasta el

inicio del segundo pastoreo fueron positivas con los siguientes rangos de magnitud: 210 ± 154 a 385 ± 55 L3KgMS (2004); 77 ± 100 a 611 ± 106 L3KgMS (2005) y 141 ± 169 a 270 ± 180 L3KgMS (2006). En los tres años prevaleció *Ostertagia spp.* con más de la mitad de las

recuperaciones (2004: 58 %; 2005: 59 %; 2006: 58 %), seguido por los géneros *Cooperia spp.* (2004: 26 %; 2005: 28 %; 2006: 25 %) y *Trichostrongylus spp.* (2004: 16 %; 2005: 13 %; 2006: 17 %).

Discusión

Las dinámicas de hpg del 2005 y 2006, son esperables por los niveles de oviposición inicial y la disponibilidad de nematodos en pasto a partir de la octava semana de pastoreo. El ascenso hacia el final del estudio concuerda con lo observado por Lovera y otros (2006) en verdeos de la región con condiciones parasitológicas y de manejo similares. En cambio, la elevación de setiembre de 2004, probablemente se deba a la expresión de una parasitosis prepatente en julio, ya que el perfil inicial de géneros en los tres años fue parecido. De todos modos, a pesar de las limitaciones para asociar umbrales de hpg y efectos productivos (Vercruyssen y Claerebout, 2001), los registros mayoritariamente inferiores a 100 hpg, son un elemento importante para estimar el riesgo parasitario.

La alta prevalencia de *Cooperia spp.* en los coprocultivos tiene antecedentes en el sur de Córdoba (Descarga, 2001; Lovera y otros, 2006) y el nivel de predominio de *Cooperia oncophora*, coincide con lo obtenido por Suárez (1990) mediante trazadores en la región semiárida pampeana. Del mismo modo, hay correspondencia con otros estudios en las participaciones mensuales de los géneros *Haemonchus spp.*, *Ostertagia spp.* y *Trichostrongylus spp.* (Descarga y Urbani, 2004; Lovera y otros, 2006).

Los niveles de larvas en pasto del circuito de pastoreo son similares a los obtenidos por Lovera y otros (2006) en verdeos de la misma zona y hay concordancia tanto con los hpg del primer ciclo de pastoreo como con los antecedentes sobre el reducido porcentaje de larvas transferido desde la materia fecal de fines de otoño-invierno durante los primeros dos meses post-depósito (Suárez, 2002) y su escasa supervivencia en pasto en la región

semiárida (Rossanigo, 1999). En cambio, contrastan con la elevada disponibilidad de nematodos comprobada en el sudeste de Córdoba con altos hpg iniciales y lluvias a mediados del invierno (Descarga y Urbani, 2004). El ascenso de L3KgMS hacia fines de 2006 podría estar parcialmente dado por el abrupto cambio en el régimen de lluvias ocurrido a partir de octubre. De todos modos, la recuperación está condicionada por diversos factores (Couvillion, 1993), por lo que se considera que el comportamiento del 2006 no distorsiona significativamente el perfil general comprobado.

La continuidad de las recuperaciones de larvas en pasto luego de la primera evaluación positiva coincide con los resultados de Lovera y otros (2006) en la zona. La alta prevalencia de *Ostertagia spp.* es otra característica comprobada en verdeos (Descarga y Urbani, 2004; Lovera y otros, 2006) y pasturas perennes (Descarga, 2001) del sur de Córdoba, que concuerda con la alta tasa de sobrevida obtenida por Rossanigo (1999) y la prevalencia comprobada por Suárez (2002), aunque la variabilidad de su desarrollo en la materia fecal para la región semiárida no está satisfactoriamente explicada (Rossanigo y Gruner, 2004). A su vez, también se corresponden con los antecedentes, la considerable base de participación de *Cooperia spp.* (Suárez, 2002; Descarga y Urbani, 2004; Lovera y otros, 2006) y el incremento de *Trichostrongylus spp.* comparado con su baja prevalencia en materia fecal (Lovera y otros, 2006; Descarga y Urbani, 2004). Con respecto a *Haemonchus spp.*, Lovera y otros (2006) han descrito en la zona una dinámica similar, cuya presentación a partir de octubre estaría principalmente dada por el aumento de la temperatura media (Rossanigo y Gruner, 1994) y las lluvias que limitan la migración al pasto, aunque haya alta tasa de

sobrevida en la materia fecal (Rossanigo, 1999).

Los intervalos MF/L3KgMS coinciden con los obtenidos por Lovera y otros (2006) en la zona y con los estudios de ecología de Suárez (2002) en la región semiárida pampeana, aunque se ha comunicado uno menor con lluvias de magnitud considerable en el primer mes de pastoreo y altos hpg al ingreso (Descarga y Urbani, 2004). Es probable que, a pesar de las precipitaciones de julio de 2004, los reducidos hpg hayan limitado la detección de larvas antes de los 29 días. De todos modos, los intervalos comprobados respaldan el similar comportamiento en cuanto a la disponibilidad de nematodos infestantes a partir de la octava semana de pastoreo y sustentan que en la práctica la contaminación de los animales ocurra a partir del inicio del segundo ciclo de pastoreo.

Conclusiones

En las condiciones del estudio el perfil epidemiológico se considera de mediano a bajo riesgo. Los niveles de larvas en pasto no derivarían en cargas que deterioren la productividad durante el uso del verdeo. Sin embargo, la alta prevalencia de *Ostertagia spp.* en pasto puede afectar la próxima etapa de invernada y lluvias de magnitud considerable en agosto o setiembre aumentarían el riesgo.

Si bien es necesario aumentar la información epidemiológica y determinar el impacto productivo, es probable que en algunos casos no se justifique desparasitar al ingreso a los verdeos y deba considerárselo luego de unos días de pastoreo o a la salida de los mismos. Los resultados contribuyen al desarrollo de estrategias de control integradas de base epidemiológica que generen determinados niveles de poblaciones de parásitos susceptibles para mantener la eficacia de los actuales anti-helmínticos.

Agradecimientos: Al Grupo de Producción de Forrajes y Área de Agrometeorología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria UNRC y a la Srta. Sigrid Pierotto por las respectivas colaboraciones.

Bibliografía

1. **Amigone, M.A.; Kloster, A.M.; Cagnolo, O.; Dominguez, M.; Resch, G. 1991.** Evaluación de cereales forrajeros invernales en condiciones de pastoreo. Hoja informativa N° 21. EEA INTA Marcos Juárez. 8 p.
2. **Anziani, O.S.; Fiel, C.A. 2004.** Resistencia de los nematodos gastrointestinales a los antihelmínticos: un problema emergente y relevante para la producción bovina nacional. Documento de trabajo 040-04. Serie Cs. Agropecuarias. Facultad Cs. Agropecuarias Univ. Católica Córdoba. 19 p.
3. **Caracostantogolo, J.; Castano, R; Cutulle, Ch.; Cetra, B.; Lamberti, R.; Olaechea, F.; Plorutti, F.; Ruiz, M.; Schapiro, J.; Martinez, M.; Balbiani, G.; Castro, M.; Morici, G. 2005.** Evaluación de la resistencia a los antihelmínticos en rumiantes en Argentina. En: Resistencia a los parásitos internos en Argentina. FAO Producción y Sanidad Animal. pp. 7-34.
4. **Coles, G.C. 2005.** Anthelmintic resistance-looking to the future: a UK perspective. Res. Vet. Sci., 78(2):99-108.
5. **Couvillion, C.E. 1993.** Estimation of the numbers of *trichostrongylid* larvae on pastures. Vet. Parasitol., 46:197-203.
6. **Descarga, C.O. 2001.** Efectos epidemiológicos y productivos de una estrategia antihelmíntica durante tres ciclos de invernada pastoril. Rev. Med. Vet., 82(3):139-150.
7. **Descarga, C. O. ; Urbani, L. A. 2004.** Efecto del tratamiento antiparasitario sobre la oviposición y disponibilidad de larvas en pasto de nematodos gastrointestinales en invernada sobre raigrás anual. Resúmenes 27° Congreso Argentino Producción Animal. pp. 369-370.
8. **Fiel, C.A.; Anziani, O.; Suarez, V.; Vazquez, R.; Eddi, C.; Romero, J.; Caracostantogolo, J.; Saumell, C.; Costa, J.; Steffan, P.. 2001.** Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. Vet. Arg., 18(171):21-33.
9. **Henriksen, Sv. Aa.; Korsholm, H. 1983.** A method for culture and recovery of gastrointestinal strongyle larvae. Nord. Vet. Med., 35:429-430.
10. **Lovera, H.; Descarga, C.O.; Tolosa, J.S.; Bagnis, G.; Raviolo, J. 2006.** Parasitosis gastrointestinal bovina en invernada en verdeos de invierno en el sur de Córdoba. Rev. Med. Vet., 87(1):16-20.
11. **Mwegoha, W.M.; Jorgensen, R.J. 1977.** Recovery of infective third stage larvae of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia* by migration in agar gel. Acta Vet. Scand., 18:293-299.
12. **Pagliaricci, H.; Ohanian, A.; Gonzalez, S.; Pereyra, T. 1997.** Producción de verdeos de invierno en Río Cuarto en 1995. Información para Extensión N° 43. EEA INTA Marcos Juárez, 16 p.
13. **Roberts, F. H.; O' Sullivan, P.J. 1949.** Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. Aust. J. Agric. Res., 1:99-103.
14. **Rossanigo, C.E. 1999.** Estudio de validación de un sistema de bajo riesgo parasitario en la invernada de compra. Proyecto AMCPAG INTA EEA M. Juárez. Boletín Informativo N° 28, 15 pp.
15. **Rossanigo, C.E. 1999.** Sobrevida de larvas infestantes de nematodos gastrointestinales del bovino en condiciones naturales. Therios, 28(147):104-113.
16. **Rossanigo, C.E.; Avila, J.D. 1988.** Evaluación de una estrategia de control antihelmíntico en un sistema de invernada del sur de la Pcia. de Córdoba. Vet. Arg., 5(47):564-571.
17. **Rossanigo, C.E.; Gruner, L. 1994.** Relative effect of temperature and moisture on the development of strongyle eggs to infective larvae in bovine pats in Argentina. Vet. Parasitol., 55:317-325.
18. **Suarez, V.H. 1990.** Inhibition patterns and seasonal availability of nematodes for beef cattle grazing on Argentina's western pampas. Int. J. Parasitol., 20(8):1031-1036.
19. **Suarez, V.H. 2002.** Ecología de los estadios de vida libre de los nematodos bovinos durante la contaminación otoño invernal en la región semiárida pampeana. Rev. Med. Vet., 82(6):316-323.
20. **Suarez, V.H.; Busetti, M.R. 1989.** Epizootiología y efecto de los nematodos gastrointestinales en la recría de terneras en la región semiárida pampeana. Reg. Arg. Prod. Anim., 9(2):149-158.
21. **Van Wyk, J.A. 2001.** Refugia-overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. Ond. J. Vet. Res., 68:55-67.
22. **Vercruysse, J.; Claerebout, E. 2001.** Treatment vs non-treatment of helminth infections in cattle: defining the threshold. Vet. Parasitol., 98:195-214.

Vacunas a ADN.

Langellotti, C. A¹; Zamorano, P. I.^{1,2}

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

2. Instituto de Virología, CICVyA, INTA Castelar, Argentina

Palabras clave: vacunas, ADN, respuesta inmune.

Keywords: vaccines, DNA, immune response.

RESUMEN

Numerosas investigaciones se realizan en torno a la búsqueda de vacunas alternativas que aseguren el desarrollo de estrategias de vacunación más seguras y eficientes, vacunas que induzcan tanto inmunidad humoral como celular sin replicación viral, que lleven a una adecuada protección o posible disminución de signos clínicos de la población susceptible y reduzcan los riesgos y costos que implican la producción y utilización de vacunas convencionales. Las vacunas basadas en ADN son una nueva y atractiva estrategia en la profilaxis y tratamiento de infecciones causadas por patógenos tanto extracelulares como intracelulares, ya que éstas tienen la capacidad de ser fáciles de producir, de bajo costo, estables, no presentan riesgos de infección y dan respuestas inmunes duraderas.

SUMMARY

DNA vaccines.

Numerous research efforts have been focused on the development of more efficient and safer vaccines. The ideal immunogens should be capable of inducing both humoral and cellular responses, avoiding the use of replicative agents. They should be able to afford protection against the field pathogens - or reduction of the clinical signs in the susceptible population - and reduce the risks and costs associated with conventional vaccine manufacturing. In this context, DNA-based vaccines represent an interesting alternative for prevention and treatment of infectious diseases caused by intracellular and extracellular pathogens since they are not infectious and they present low production costs and high stability, being able to induce long lasting immune responses.

Introducción

Existen en la actualidad distintos tipos de vacunas contra virus y bacterias que están siendo utilizadas tanto en la práctica diaria como en el ámbito de la investigación, ya que las vacunas convencionales tienen ciertas desventajas que están tratando de ser superadas por nuevas tecnologías.

A modo de resumen se explica a continuación las características principales de cada una:

Vacunas con virus vivo atenuado: éstas se basan en cepas con mutaciones generadas por sucesivos pasajes en cultivos de tejidos o bien aislamientos naturales. Al tratarse de mutaciones puntuales o de regiones cortas del genoma estas cepas poseen un alto riesgo de reversión además de efectos indeseables sobre los huéspedes como fiebre, inmunosupresión, aumentando así la susceptibilidad de los animales vacunados a infecciones bacterianas^{36, 57, 67}. Por otra parte, esta clase de vacunas no permiten distinguir entre animales vacunados e infectados ya que los anticuerpos inducidos por la vacunación son similares a los producidos, en el hospedador, por el virus circulante en el campo. Sin embargo, en lo que se

refiere a seguridad, la posible reversión y patogenicidad de los inmunógenos en individuos inmunocomprometidos limita el desarrollo de nuevas vacunas basadas en vectores vivos y replicativos mostrando la necesidad de buscar otros horizontes en cuanto a vacunaciones.

Por otro lado, en **las vacunas que utilizan virus inactivados** la cepa vacunal se multiplica en células hasta obtener alta masa viral y luego se inactiva por tratamiento químico. Los antígenos obtenidos de este modo se caracterizan por ser pobres inmunogénicamente, ya que pueden perder epitopes importantes durante la inactivación y generalmente son débiles inductores de inmunidad celular³⁷, además se requieren repetidas dosis de la vacuna para lograr niveles efectivos de inmunidad, con el consiguiente aumento de costos^{49, 50}. Se ha mencionado que pueden causar síntomas clínicos o enfermedad si son inactivadas insuficientemente^{16, 57} además del riesgo de escape viral de la planta productora de vacunas. Este tipo de formulaciones tampoco permite distinguir entre animales infectados y vacunados.

Actualmente, gracias a las técnicas de ingeniería genética existen estrategias alternativas de vacunación

desarrolladas en base a subunidades - porciones de la partícula viral -, moléculas sintéticas, péptidos y ADN para inducir una respuesta inmune protectora que están siendo exploradas para salvar estos inconvenientes. Entre las vacunas de nueva generación podemos enumerar:

Vacunas a virus deletado: Se utilizan cepas virales en las cuales se extrajo parte del genoma y se lo reemplazó con genes foráneos, logrando así la atenuación del virus. La respuesta inmune obtenida con estas vacunas es diferencial a la inducida por la infección con las cepas salvajes por lo cual se las utiliza como vacunas marcadoras, sin embargo uno de los mayores inconvenientes es que presentan riesgo de reversión.

Vacunas a subunidad: En este tipo de vacunas se utiliza/n la/s proteína/s de interés inmunológico, se trabaja con el fragmento de ADN que codifica para la mencionada proteína y se inserta en un plásmido que funciona como vector de transferencia (el tipo de plásmido utilizado dependerá del tipo de vector de expresión) y este a su vez en el vector de expresión (los más utilizados son las bacterias, fundamentalmente *Escherichia coli*, las levaduras y los baculovirus). De esta

manera se obtienen grandes cantidades de una o varias proteínas del agente infeccioso que luego son utilizadas para formular la vacuna.

Vacunas a péptido: se utilizan epitopes inmunogénicos sintetizados químicamente.

Tanto las vacunas a subunidad como a péptido inducen generalmente sólo inmunidad humoral y dado que son inmunogénicamente pobres es necesario vacunar con una gran cantidad de antígeno para conseguir una buena respuesta.

Vacunas a ADN: En esta clase de vacunas se inserta el gen de una proteína de interés en un plásmido con un promotor eucariota.

Vacunas recombinantes vivas: En este tipo de vacunas se utiliza un microorganismo (virus o bacteria) que actúa como vector de genes foráneos pertenecientes a otro microorganismo.

Vacunas a ADN

Las vacunas a ADN combinan las cualidades más deseadas de las vacunas tradicionales con el propósito de alcanzar un desarrollo funcional adecuado de las células inmunes antígeno-específicas. Estas han generado un interés mundial para variadas aplicaciones luego de que en 1990 Wolff⁶³ y colaboradores reportaran por primera vez que la administración de un plásmido de ADN codificando un gen reportero en una solución salina, resultó en la expresión in vivo de la proteína codificada luego de una simple vacunación intramuscular. Esta observación sugirió que el plásmido podía ser utilizado para expresar proteínas exógenas dentro de una célula y tener el potencial de inducir una respuesta inmune contra las proteínas expresadas. Luego Ulmer y colaboradores⁵⁶ demostraron que el ADN plasmídico codificando una proteína viral pudo generar una inmunidad protectora contra el desafío viral en un modelo murino con virus influenza.

Como ya se mencionó, las vacunas génicas utilizan una fracción de ADN purificado que contiene el gen de una proteína capaz de inducir una respuesta inmune protectora, que se inserta en un plásmido con un promotor eucariota. El plásmido actúa como un vector permitiendo la expresión del gen foráneo y la producción de la correspondiente proteína en el interior de las células que son transfectadas como

resultado de la inmunización, sin integrarse al genoma celular del huésped. Esta proteína se expresa en la superficie de la célula o es liberada al medio, por lo que el sistema inmune la puede reconocer en su forma nativa, de la misma manera que durante una infección natural con el agente completo^{32, 48}. Las proteínas heterólogas expresadas en el hospedador a causa de la inmunización con vacunas a ADN, a diferencia de lo que sucede con las proteínas heterólogas sintetizadas en bacterias o levaduras, son idénticas a las expresadas por el patógeno, ya que se sintetizan con las modificaciones post-transcripcionales de las células eucariotas. Por otro lado, las vacunas génicas poseen ventajas respecto de las vacunas atenuadas en cuanto a los problemas asociados con replicación in vivo y la posible reversión de la virulencia. Pueden inducir respuestas humorales, incluyendo anticuerpos neutralizantes contra epitopes conformacionales y respuestas mediadas por células⁴⁸, dado que el plásmido recombinante, al llegar al núcleo de la célula inicia la síntesis de novo del antígeno codificado en el mismo.

Las proteínas expresadas pueden ser presentadas tanto en el contexto del Complejo Principal de Histo-compatibilidad (CPH) clase I como clase II, sin necesidad de producir una infección viral. Se encuentra bien establecido que este tipo de vacunas puede inducir anticuerpos, respuestas de células T colaboradoras, respuesta de células T citotóxicas (LTC), e inmunidad protectora en varios modelos animales. En resumen: varias características de las vacunas a ADN hacen de ellas una alternativa atractiva con respecto a los métodos convencionales de vacunación, esto incluye la habilidad de las vacunas a ADN para: 1) expresar proteínas antigénicas in situ para ser reconocidos por las células B y su presentación en el contexto de las moléculas del CPH de clase I y II para estimular a las células T colaboradoras y LTC, 2) desarrollar una respuesta inmune apropiada en variadas especies animales y 3) ser eficientemente producido y bien caracterizado.

Además las construcciones genéticas pueden ser modificadas permitiendo la remoción o inserción de dominios de transmembrana, secuencias señal, u otros residuos que afecten el tráfico intracelular y subsiguiente

procesamiento del antígeno. Otro punto importante es que el ADN plasmídico puede ser construido y producido en gran escala con un alto grado de pureza y estabilidad, y una buena relación costo-beneficio³².

Mucho está siendo aún estudiado sobre el modo de acción de las vacunas a ADN en animales y humanos. Sin embargo, una hipótesis razonable involucra una combinación de una presentación cruzada, vía transferencia del antígeno desde una célula muscular y una transfección directa de las células presentadoras de antígenos (CPA). Elucidar el mecanismo preciso de inmunización es muy importante para desarrollar vacunas a ADN más efectivas, como así también el diseño racional son requerimientos para mejorar este tipo de vacunas.

Las vacunas a ADN han sido utilizadas experimentalmente con éxito contra numerosos agentes patógenos y en diversas especies animales. Por ejemplo se ha publicado que truchas que recibieron tan sólo nanogramos de ADN contra la proteína G del virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa estuvieron protegidos frente al desafío contra un amplio rango de cepas virales de diferentes localizaciones geográficas, sugiriendo que la vacuna podría ser utilizada en distintas partes del mundo¹⁰.

En el año 2001, Yang y colaboradores describieron que la vacunación intramuscular con ADN que codifica para la proteína VP6 de rotavirus murino indujo altos niveles de IgG e IgA específicos en suero y una protección parcial caracterizada por disminución de excreción viral en el modelo murino, pero además describen niveles de protección similares cuando se utilizó una vacuna génica codificando VP6 de rotavirus bovino y se lo desafió con rotavirus murino, sugiriendo una protección heteróloga⁶⁶, por otro lado también se observó disminución en la excreción viral cuando la vacuna fue administrada en forma oral o intranasal¹⁸.

Se ha descrito que animales vacunados por vía intradérmica con el ADN que codifica para la glicoproteína E2 de la envoltura del Virus de la Diarrea Viral Bovina, luego del desafío viral presentaron reducción en la excreción viral y en la sintomatología de la enfermedad³⁹.

Zheng y colaboradores⁷¹ utilizaron en bovinos una vacuna génica que codifica para la proteína VP22 de

Herpesvirus Bovino tipo 1 unida a la versión secretada de la glicoproteína D del mismo virus y lograron un incremento y balanceo de la respuesta inmune celular y humoral, con linfoproliferación específica, secreción de Interferón gamma (IFN γ) y producción de anticuerpos neutralizantes aumentados y con predominio de IgA e IgG y una significativa reducción de excreción viral post desafío.

También se ha descrito que la inoculación con una vacuna a ADN codificando la glicoproteína 2 de Herpesvirus Equino 1 reduce la severidad de la infección con este virus²⁹.

Vacunas génicas contra el Virus de la Fiebre Aftosa han sido probadas con éxito como es el ejemplo de una serie de vacunas codificando diferentes combinaciones de epitopes B (de VP1, VP2 y VP3) y un epitope T (de VP1) del virus que fueron caracterizados por inoculación en ratones BALB/c, dando como resultado una fuerte respuesta inmune celular observada por un ensayo de proliferación de células T⁷⁰.

Las vacunas génicas se utilizan también contra bacterias: como en el caso de *Brucella abortus*, que es una bacteria intracelular. Cuando se utilizó un modelo murino, luego de la vacunación con ADN que codifica para los antígenos L7/L12-P39 o BLS se indujo protección frente al desafío^{33, 58}. Por otro lado, se probó que una vacuna codificando la proteína de membrana 31 (Omp31) de *Brucella* que indujo una protección parcial contra la infección por *Brucella ovis* y *Brucella melitensis*. Esta protección estuvo asociada con la estimulación de células T CD8+ específicas contra Omp31 que eliminó a las células infectadas con *Brucella* por la vía de las perforinas e indujo una débil respuesta humoral en ausencia de una respuesta de linfocitos T colaboradores 1 (Th1)⁷. En base a estos resultados y para mejorar la inmunidad protectora, se desarrolló una vacuna génica conteniendo la quimera BLS-Omp31. Con esta quimera se observó mejores niveles de protección contra *Brucella ovis*, que fueron significativamente mayores que los otorgados por la vacunación conjunta de dos plásmidos codificando cada antígeno por separado y mayores también que los provistos por la vacuna Rev 1 (que contiene *B. melitensis* atenuada) que está en estos momentos en el mercado. Además, la quimera indujo altos niveles de protección contra

Brucella melitensis, mayores que los producidos por la vacunación conjunta de dos plásmidos codificando cada antígeno por separado pero similares a los producidos por Rev 1. También, la quimera indujo una fuerte respuesta humoral y T citotóxica específica, ya que la inserción de BLS produjo un fuerte aumento de la respuesta Th1 específica⁸.

También se ha descrito la protección inducida por vacunas génicas dirigidas contra la listeriolisina O de *Listeria monocytogenes* (bacteria intracelular) en ratones y la estimulación de linfocitos T citotóxicos específicos¹¹.

Actualmente existen dos vacunas a ADN con licencia: una para el virus West Nile que afecta a los equinos⁴⁵ y otra de Aqua Health Ltd. de Canadá recientemente aprobada por la "Canadian Food Inspection Agency" que protege a salmones contra la infección producida por el virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa³¹.

Se estudian en la actualidad algunas estrategias que se emplean para mejorar las vacunas a ADN como: el microencapsulamiento del material genético para protegerlo de la degradación por nucleasas^{41, 61}; el uso de salmonella como portador de vacuna génica, ya que esta bacteria se dirige a células dendríticas y macrófagos para llevar el ADN⁶⁵; la incorporación de plásmidos codificando citoquinas^{22, 30, 68}; el direccionamiento del antígeno a las CPA con moléculas como CD154^{34, 35} o la adición de secuencias CpG inmunostimulatorias o el uso de adyuvantes^{26, 69}.

También se han usado como estrategia moléculas para facilitar la presentación efectiva en caminos del CPH clase I²⁸ y clase II²³ en patógenos humanos.

Entre los ejemplos que se pueden mencionar figuran el uso de un plásmido que codifica para la Interleukina 2 (IL-2) de pollo para incrementar la protección contra el Virus de la *Bursitis Infecciosa Aviar* (IBDV) homólogo y heterólogo en pollos con un aumento significativo de anticuerpos neutralizantes³⁰, también en el caso del Virus de la Fiebre Aftosa se ha probado utilizar un plásmido codificando la fusión de los genes de la proteína VP1 junto con IL-1 logrando un incremento de la respuesta de anticuerpos⁴³.

En el caso de enfermedades parasitarias como la producida por *Haemonchus contortus* se ha

probado la incorporación junto a la vacuna génica de plásmidos que codifican distintas citoquinas como es el caso del factor estimulador de colonias granulomonocitarias (GM-CSF) o IL-4 junto con GM-CSF los cuales incrementaron significativamente tanto la respuesta humoral como la proliferación de células T luego de dos inmunizaciones⁶⁸.

Vías de inmunización

La eficacia de la vacunación a ADN depende principalmente de la interacción del material genético, los linfocitos y las células presentadoras de antígeno²⁵.

Se han caracterizado numerosas rutas para la vacunación con plásmidos. Se lograron buenos resultados luego de la inoculación del plásmido por vía intramuscular^{1, 2, 12, 56, 59}, intradérmica^{46, 54}, intranasal⁶⁰, intravaginal² e intravenosa¹⁵ y también, intraesplénica¹⁹ e intrahepática⁶⁴. La mayoría de las vacunas a ADN estudiadas hasta ahora, sin embargo, han utilizado las vías intradérmica o intramuscular para la inmunización.

Posibles mecanismos involucrados durante la inoculación del ADN

Aunque el concepto de entregar un gen que codifica un antígeno es bastante simple, los mecanismos por el que las vacunas de ADN generan las respuestas inmunes han demostrado ser complejos. Por ejemplo, cuando se utiliza la vía intramuscular se cree que la mayor parte del plásmido transfecta células musculares, las cuales son poco efectivas para presentar antígenos y primar células inmunes vírgenes^{38, 62}, sin embargo se recurre al uso de productos que inflaman la zona de vacunación y así logran buenos resultados.

Por otro lado, se ha propuesto como un factor limitante para la eficacia de la vacunación a ADN el número de células dendríticas (CDs) presente en el sitio de expresión del antígeno. Esta hipótesis es apoyada por un número de estudios preclínicos que demuestran que el aumento de la respuesta inmune es exacerbado cuando se utilizan en el contexto de la vacunación a ADN, moléculas que favorecen la expansión y la diferenciación de las CDs^{3, 51}.

Existe evidencia que afirma que según la forma en que el ADN es

administrado se puede afectar el perfil de las células T colaboradoras que se induce en última instancia. Dependiendo de la activación, los linfocitos T colaboradores/CD4+ se diferencian de células Th0 precursoras en dos subpoblaciones funcionalmente distintas. Las células tipo 1 (Th1) activan macrófagos e inducen inmunidad mediada por células, incluyendo activación de linfocitos T citotóxicos, mientras que las células del tipo 2 (Th2) inducen mayormente inmunidad humoral.

La inoculación epidérmica utilizando la técnica de biolística o "gene-gun", que consiste en el bombardeo de los tejidos con partículas de oro que llevan adheridas a ellas el ADN mediante una descarga con helio, generalmente induce en el modelo de ratón un fenotipo Th2 luego de sucesivas inmunizaciones, en el cual se generan predominantemente anticuerpos IgG1, poco IFN γ , y más IL-4^{14, 17, 44}. Otros autores reportaron que inyecciones intradérmicas de ADN inducen perfiles tanto Th1^{14, 47} como Th2⁴⁴.

Fenómenos inmunológicos involucrados en la vacunación con ADN

Tratando de explicar que fenómenos suceden cuando se vacuna con ADN, Pardoll y Beckerleg⁴² propusieron dos mecanismos que involucran CPA como las CDs o monocitos / macrófagos. El primer mecanismo propuesto es que un pequeño número de estas CPA profesionales son directamente transfectadas cuando se inyecta el ADN. Estas células luego viajan a las regiones de los tejidos linfoides, donde pueden activar células T CD4+, B y T CD8+. Este mecanismo es concebible en inmunizaciones intradérmicas, dado que la piel contiene relativamente altas proporciones de células de Langerhans, pero aparenta ser menos probable en inmunizaciones intramusculares, donde CDs y macrófagos son menos frecuentes en músculo²⁰.

El segundo mecanismo propone que en el caso de inoculaciones intramusculares el antígeno producido por los miocitos transfectados es transferido a CPA que se han infiltrado al músculo como parte de la

respuesta inflamatoria provocada por el procedimiento de inmunización. En el caso de la inmunización intradérmica se transfectarían queratinocitos que luego producirían el antígeno y lo transferirían a las CDs localizadas en la piel. La proteína transferida puede luego, mediante una presentación cruzada, pasar al camino de procesamiento del CPH restringido a clase I, permitiendo a las CPA primar LTC. Si bien esto parece contradecir el dogma de que sólo proteínas producidas en forma endógena pueden entrar al camino del CPH clase I, puede ser consistente con los reportes de varios autores^{5, 21, 24, 42, 53} quienes han descrito que proteínas producidas exógenamente, particularmente en forma de partícula, pueden ser tomadas por las CPA y luego ser presentadas en el contexto de las moléculas del CPH de clase I.

Una evidencia a favor de la segunda hipótesis proviene de investigaciones realizadas por Casares y col.⁶, quienes describieron que el ADN plasmídico pudo ser aislado del linfonódulo y de CDs derivadas de piel, luego de inmunizaciones intramusculares e intradérmicas, respectivamente, demostrando que la transfección directa de las CPA puede ocurrir. Ellos también demostraron que luego de una inmunización intramuscular o intradérmica en ratones, solamente CDs derivadas de los linfonódulos regionales fueron capaces de presentar epitopes antígenicos a células T antígeno-específicas.

De modo que no podría descartarse la posibilidad de que ambos mecanismos jueguen un rol en la generación de inmunidad luego de una inmunización génica.

En general, la vía intradérmica es seleccionada para la inoculación por dos razones; la primera es porque la eficacia de transfección de células de la piel es mayor que la de células musculares. Esto se debe a que en muchas especies hay mucho tejido conectivo en el músculo, lo cual puede impedir la difusión y transfección por parte del ADN. La segunda razón es la relativamente baja cantidad de células inmunes en tejido muscular, mientras que la piel está asociada al tejido linfoide,

comprometiendo células de Langerhans, CDs, queratinocitos y otras células, que son altamente inmunocompetentes^{4, 9, 46, 55}.

Las células de Langerhans constituyen aproximadamente el 5% de las células epidérmicas, éstas como los macrófagos están especializadas en captar antígenos extraños para transportarlos a los nódulos linfoides, donde la respuesta inmune primaria se inicia^{27, 52}.

Conclusiones

En conclusión, las vacunas a ADN representan un método novedoso y prometedor en la investigación y desarrollo de vacunas para utilizar como profilaxis en las infecciones que necesitan inmunidad celular o en tratamientos anti tumorales. Numerosos estudios han demostrado que luego de la inmunización con vacuna a ADN, el antígeno es procesado naturalmente y presentado en el CPH de clase I, incluyendo linfocitos T citotóxicos CD8+, y linfocitos CD4+ del tipo Th1^{13, 14, 40}. Además, las vacunas a ADN pueden ser administradas en forma segura en distintos modelos animales e incluso en humanos. El objetivo en el futuro es el de optimizar las vacunas a ADN para que induzcan fuertes respuestas humorales y/o celulares. Una de las estrategias para optimizar estas vacunas es incrementar la inmunogenicidad pudiendo promover o exacerbar una respuesta pro inflamatoria.

Las vacunas a ADN muestran varias ventajas, como la de no presentar riesgo de reversión, inducción de una respuesta inmune duradera, mayor estabilidad que las vacunas a virus atenuado, son sencillas de preparar y a bajo costo¹³.

La posibilidad de construir fácilmente plásmidos codificando antígenos de patógenos tan diversos como bacterias, virus, y parásitos, como también antígenos tumorales e inmunomoduladores con eficacia preventiva o terapéutica en una amplia gama de enfermedades, nos alienta en un rápido desarrollo de productos para ser utilizados tanto en vacunas profilácticas como inmuno-terapia.

Agradecimientos: Agradecemos al Veterinario Sebastián Di Giacomo por la corrección del manuscrito.

Bibliografía

1. **Agadjanyan MG, Trivedi NN, Kudchodkar S, Bennett M, Levine W, Lin A, Boyer J, Levy D, Ugen KE, Kim JJ, Weiner DB. 1997.** An HIV type 2 DNA vaccine induces cross-reactive immune responses against HIV type 2 and SIV. *AIDS Res. Hum. Retrov.* 13: 1561–1572.
2. **Bagarazzi ML, Boyer JD, Javadian MA, Chattergoon M, Dang K, Kim G, Shah J, Wang B, Weiner DB. 1997.** Safety and immunogenicity of intramuscular and intravaginal delivery of HIV-1 DNA constructs to infant chimpanzees. *J. Med. Primatol.* 26: 27–33.
3. **Barouch DH, Santra S, Tenner-Racz K, Racz P, Kuroda MJ, Schmitz JE, Jackson SS, Lifton MA, Freed DC, Perry HC, Davies ME, Shiver JW, Letvin NL. 2002.** Potent CD4⁺ T cell responses elicited by a bicistronic HIV-1 DNA vaccine expressing gp120 and GM-CSF. *J. Immunol.* 168: 562–568.
4. **Bos JD, Kapsenberg ML. 1993.** The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunology Today* 14: 75-78.
5. **Carbone FR, Abd Bevan MJ. 1990.** Class I-restricted processing and presentation of exogenous cell-associated antigen in vivo. *J. Exp. Med.* 171: 377–387.
6. **Casares S, Inaba K, Brumeanu T, Steinman RM, Bona CA. 1997.** Antigen presentation by dendritic cells after immunization with DNA encoding a major histocompatibility complex class II-restricted viral epitope. *J. Exp. Med.* 186: 1481–1486.
7. **Cassataro J, Velikovskiy CA, de la Barrera S, Estein SM, Bruno L, Bowden R, Pasquevich KA, Fossati CA, Giambartolomei GH. 2005.** A DNA vaccine coding for the Brucella outer membrane protein 31 confers protection against *B. melitensis* and *B. ovis* infection by eliciting a specific cytotoxic response. *Infect Immun* 73(10): 6537–6546.
8. **Cassataro J, Pasquevich KA, Estein SM, Laplagne DA, Zwerdling A, de la Barrera S, Bowden R, Fossati CA, Giambartolomei GH, Goldbaum FA. 2007.** A DNA vaccine coding for the quimera BLSOmp31 induced a better degree of protection against *B. ovis* and a similar degree of protection against *B. melitensis* than Rev.1 vaccination. *Vaccine* 25: 5958-5967.
9. **Condon C, Watkins SC, Celluzzi CM, Thompson K, Falo LD. 1996.** DNA-based immunization by in vivo transfection of dendritic cells. *Nat. Med.* 2: 1122-1128.
10. **Corbeil S, LaPatra SE, Anderson ED, Kurath G. 2000.** Nanogram quantities of a DNA vaccine protect rainbow trout fry against heterologous strains of infectious hematopoietic necrosis virus. *Vaccine* 18: 2817-2824.
11. **Cornell KA, Bouwer HGA, Hinrichs DJ, Barry RA. 1999.** Genetic Immunization of Mice Against *Listeria monocytogenes* Using Plasmid DNA Encoding Listeriolysin O1. *The Journal of Immunology* 163: 322-329.
12. **Davis HL, Michel ML, Mancini M, Schleef M, Whalen RG. 1994.** Direct gene transfer in skeletal muscle: plasmid DNA based immunization against the hepatitis B virus surface antigen. *Vaccine* 12: 1503–1509.
13. **Donnelly JJ, Ulmer JB, Shiver JW, Liu MA. 1997.** DNA vaccines. *Annu Rev Immunol* 15: 617-648.
14. **Feltquate DM, Heaney S, Webster RG, Robinson HL. 1997.** Different T helper cell types and antibody isotypes generated by saline and gene gun DNA immunization. *J. Immunol.* 158: 2278–2284.
15. **Fynan E, Webster R, Fuller D, Haynes J, Santoro J, Robinson H. 1993.** DNA vaccines: protective immunizations by parenteral, mucosal, and gene-gun inoculations. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 11478–11482.
16. **Frerichs GN, Woods SB, Lucas MH, Sands JJ. 1982.** Safety and efficacy of live and inactivated infectious bovine rhinotracheitis vaccines. *Vet. Rec.* 111: 116–122.
17. **Fuller DH, Haynes JR. 1994.** A qualitative progression in HIV type 1 glycoprotein 120-specific cytotoxic cellular and humoral immune responses in mice receiving a DNA-based glycoprotein 120 vaccine. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10: 1433–1441.
18. **García-Díaz A, López-Andújar P, Rodríguez Díaz J, Montava R, Torres Barceló C, Ribes JM, Buesa J. 2004.** Nasal immunization of mice with a rotavirus ADN vaccine that induces protective intestinal IgA antibodies. *Vaccine* 23: 489–498.
19. **Gerloni M, Baliou WR, Billetta R, Zanetti M. 1997.** Immunity to *Plasmodium falciparum* malaria sporozoites by somatic transgene immunization. *Nat. Biotechnol.* 15: 876–881.
20. **Hohlfeld R, Engel AG. 1994.** The immunobiology of muscle. *Immunol. Today* 15: 269–274.
21. **Huang AY, Golumbek P, Ahmadzadeh M, Jaffee E, Pardoll D, Levitsky H. 1994.** Role of bone marrow-derived cells in presenting MHC class I-mediated tumor antigens. *Science* 264: 961–965.
22. **Jimenez N, Coll J, Salguero FJ, Tafalla C. 2006.** Co-injection of interleukin 8 with the glycoprotein gene from viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) modulates the cytokine response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vaccine* 24(27-28): 5615-5626.
23. **Koch N, van Driel IR, Gleeson PA. 2000.** Hijacking a chaperone: manipulation of the MHC class II presentation pathway. *Immunol Today* 21: 546-550.
24. **Kovacovics-Bankowski M, Rock KL. 1995.** A phagosome-to-cytosol pathway for exogenous antigens presented on MHC class I molecules. *Science* 267: 243–246.
25. **Kutzler MA, Weiner DB. 2004.** Developing DNA vaccines that call to dendritic cells. *J Clin Invest.* 114(9):1241-1244.
26. **Langellotti C, Pappalardo JS, Mongini C, Quattrocchi V, Cebrian I, Taboga O, Zamorano P. 2007.** Modulation of the immune response induced by a genetic vaccine against Bovine Herpes Virus (BoHV-1) using different adjuvants. *Miami Winter Symposium Short Report, Innate Immunity and Novel Vaccines* 18: 72.
27. **Larsen CP, Steinman RM, Witmer-Pack M, Hankins DF, Morris PJ, Austyn JM. 1990.** Migration and maturation of Langerhans cells in skin transplants and explants. *J. Exp. Med.* 172: 1483-1493.

28. **Leachman SA, Shylankevich M, Slade MD, Levine D, Sundaram RK, Xiao W, Bryan M, Zelterman D, Tiegelaar RE, Brandsma JL. 2002.** Ubiquitin fused and/or multiple early genes from cottontail rabbit papillomavirus as DNA vaccines. *J Virol* 76: 7616-7624.
29. **Learmonth GS, Love DN, Gilkerson JR, Wellington JE, Whalley JM. 2003.** Inoculation with DNA encoding the glycoprotein gp2 reduces severity of equine herpesvirus 1 infection in a mouse respiratory model. *Arch Virol.* 148(9): 1805-1813.
30. **Li J, Liang X, Huang Y, Meng S, Xie R, Deng R, Yu L. 2004.** Enhancement of the immunogenicity of DNA vaccine against infectious bursal disease virus by co-delivery with plasmid encoding chicken interleukin 2. *Virology* 329: 89– 100.
31. **Lorenzen N, Lapatra SE. 2005.** DNA vaccines for aquacultures fish. *Rev. Sci. Tech.* 24: 201–213.
32. **Lowrie DB and Whalen RG. 2000.** Methods in molecular medicine, DNA Vaccines: Methods and protocols. Humana Press Inc., Totowa, NJ. Vol. 29.
33. **Luo DY, Li P, Xing L, Zhao GY, Shi W, Zhang SL, Wang XL. 2006.** DNA vaccine encoding L7/L12-P39 of *Brucella abortus* induces protective immunity in BALB/c mice. *Chin Med J (Engl).* 119(4):331-334.
34. **Manoj S, Griebel PJ, Babiuk LA, Van Drunen Littelvan den Hurk S. 2003.** Targeting with bovine CD154 enhances humoral immune responses induced by a DNA vaccine in sheep. *J Immunol* 170: 989-996.
35. **Manoj S, Griebel P, Babiuk LA, Van Drunen Littelvan den Hurk S. 2004.** Modulation of immune responses to bovine herpesvirus-1 in cattle by immunization with a DNA vaccine encoding glycoprotein D as a fusion protein with bovine CD154. *Immunology* 112: 328-338.
36. **McKee KT Jr, Bancroft WH Jr, Eckels HK, Redfield RR, Summers PL, Rusell PK. 1987.** Lack of attenuation of a candidate dengue 1 vaccine (45AZ5) in human volunteers. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 36: 435-442.
37. **Mónaco JJ. 1992.** A molecular model of MHC class I-restricted antigen processing. *Immunology Today* 13: 173-179.
38. **Nagaraju, K. 2001.** Immunological capabilities of skeletal muscle cells. *Acta Physiol. Scand.* 171: 215–223.
39. **Nobiron I, Thompson I, Brownlie J, Collins ME. 2003.** DNA vaccination against bovine viral diarrhoea virus induces humoral and cellular responses in cattle with evidence for protection against viral challenge. *Vaccine* 21(17–18): 2082–2092.
40. **Oñate AA, Céspedes S, Cabrera A, Rivers R, Gonzalez A, Munoz C, Folch H, Andrews E. 2003.** A DNA vaccine encoding Cu,Zn superoxide dismutase of *Brucella abortus* induces protective immunity in BALB/c mice. *Infect Immun* 71(9): 4857-4861.
41. **Pappalardo JS, Levchenko TS, Torchilin VP, Langellotti C, Calamante G, Taboga O, Quattrocchi V, Zamorano P. 2007.** Evaluation of the transfection efficiency of rationally designed liposomes as candidates for vehicles of genetic vaccines against bovine herpes virus 1 (BoHV-1). Miami Winter Symposium Short Report, Innate Immunity and Novel Vaccines 18: 72.
42. **Pardoll DM, Beckerleg AM. 1995.** Exposing the immunology of naked DNA vaccines. *Immunity* 3(2): 165–169.
43. **Park JH, Kim SJ, Oem JK, Lee KN, Kim YJ, Kye SJ, Park JY, Joo YS. 2006.** Enhanced immune response with foot and mouth disease virus VP1 and interleukin-1 fusion genes. *J. Vet. Sci.* 7(3): 257–262.
44. **Pertmer TM, Roberts TR, Haynes JR. 1996.** Influenza virus nucleoprotein-specific immunoglobulin G subclass and cytokine responses elicited by DNA vaccination are dependent on the route of vector DNA delivery. *J. Virol.* 70(9): 6119–6125.
45. **Powell K. 2004.** DNA vaccines: Back in the saddle again? *Nat. Biotechnol.* 22(7): 799–801.
46. **Raz E, Carson D, Parker S, Parr T, Abai A, Aichinger G, Gromkowski S, Singh D, Lew D, Yankaukas M, Bard S, Rhodes G. 1994.** Intradermal gene immunization: the possible role of DNA uptake in the induction of cellular immunity to viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 9519-9523.
47. **Raz E, Tighe H, Sato Y, Corr M, Dudler JA, Roman M, Swain SL, Spiegelberg HL, Carson DA. 1996.** Preferential induction of a Th1 immune response and inhibition of specific IgE antibody formation by plasmid DNA immunization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 5141–5145.
48. **Reyes-Sandoval A., Ertl Hildegund C.J. 2001.** DNA Vaccines. *Current Molecular Medicine* 1: 217-243.
49. **Romera SA, Th. Hilgers LA, Puntel M, Zamorano PI, Alcon VL, Dus Santos MJ, Blanco Viera J, Borca MV, Sadir AM. 2000.** Adjuvants effects of sulfolipocyclodextrin in a squalane-in water and water–in-mineral oil emulsions for BHV-1 vaccines in cattle. *Vaccine* 19: 132-141.
50. **Sadir AM, Zamorano PI, Romera A, Wigdorovitz A, Smitsart E, Marangunich L, Schiappacassi C, Borca MV. 1999.** Improvement of the immune response to the foot and mouth disease virus vaccine in calves by using Avridine as adjuvant. *Vet Immunol Immunopathol* 69: 11-22.
51. **Sailaja G, Husain S, Nayak BP, Jabbar AM. 2003.** Long-term maintenance of gp120-specific immune responses by genetic vaccination with the HIV-1 envelope genes linked to the gene encoding Flt-3 ligand. *J. Immunol.* 170: 2496–2507.
52. **Steinman RM. 1991.** The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.* 9: 271-296.
53. **Suto R, Srivastava PK. 1995.** A mechanism for the specific immunogenicity of heat shock protein-chaperoned peptides. *Science* 269: 1585–1588.
54. **Tang DC, Devit M, Johnston SA. 1992.** Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. *Nature (London)* 356: 152-154.
55. **Torres CA, Iwasaki A, Barber BH and Robinson HL. 1997.** Differential dependence on target site tissue for gene gun and intramuscular DNA immunizations. *J. Immunol.* 158: 4529-4532.
56. **Ulmer JB, Donnelly JJ, Parker SE, Rhodes GH, Felgner PL, Dworki VJ, Gromkowski SH, Deck RR, DeWitt CM, Friedman A, Howe LA, Leander KR, Martinez D, Perry HC, Shiver JW, Montgomery DL,**

- Liu MA. 1993.** Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein. *Science* 259: 1745–1749.
57. **Van Drunen Littel-van den Hurk, S.; Tikoo, S. K.; Liang, X. & Babiuk, L. A. 1993.** Bovine herpesvirus vaccines. *Immunol Cell Biol* 71: 405-420.
 58. **Velikovsy CA, Cassataro J, Giambartolomei G, Goldbaum F, Estein S, Bowden R, Bruno L, Fossati C, Spitz M. 2002.** A DNA Vaccine Encoding Lumazine Synthase from *Brucella abortus* Induces Protective Immunity in BALB/c Mice. *Infection and Immunity* 70(5): 2507-2511.
 59. **Wang B, Ugen KE, Srikantan V, Agadjanyan MG., Dang K, Refaeli Y, Sato AI, Boyer J, Williams WV, Weiner DB. 1993.** Gene inoculation generates immune responses against HIV-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 4156–4160.
 60. **Wang B, Dang K, Agadjanyan MG, Srikantan V, Li F, Ugen KE, Boyer J, Merva M, Williams WV, Weiner DB. 1997.** Mucosal immunization with a DNA vaccine induces immune responses against HIV-1 at a mucosal site. *Vaccine* 15: 821–825.
 61. **Wang F, He XW, Jiang L, Ren D, He Y, Li DA, Sun SH. 2006.** Enhanced immunogenicity of microencapsulated multi-epitope DNA vaccine encoding T and B cell epitopes of foot-and-mouth disease virus in mice. *Vaccine* 24(12): 2017-2026.
 62. **Wiendl H, Hohlfeld R, Kieseier BC. 2005.** Immunobiology of muscle: Advances in understanding an immunological microenvironment. *Trends Immunol.* 26(7): 373–380.
 63. **Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Acsadi G, Jani A, Felgner PL. 1990.** Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* 247: 1465-1468.
 64. **Wolff JA. 1997.** Naked DNA transport and expression in mammalian cells. *Neuromusc. Disorders* 7: 314–318.
 65. **Xie C, He J, Zhang M, Xue S, Wu Q, Ding X, Song W, Yuan Y, Li D, Zheng X, Lu Y, Shang Z. 2007.** Oral Respiratory Syncytial Virus (RSV) DNA Vaccine Expressing RSV F Protein Delivered by Attenuated *Salmonella typhimurium* *Human Gene Therapy* 18(8): 746-752.
 66. **Yang K, Wang S, Chang KO, Lu S, Saif LJ, Greenberg HB, Brinker JP, Herrmann JE. 2001.** Immune responses and protection obtained with rotavirus VP6 DNA vaccines given by intramuscular injection. *Vaccine* 19(23-24): 3285-3291.
 67. **Yates WD. 1982.** A review of infectious bovine rhinotracheitis, shipping fever pneumonia and viral-bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Can. J. Comp. Med.* 46(3): 225–263.
 68. **Yen H, Scheerlinck J. 2007.** Co-delivery of plasmid-encoded cytokines modulates the immune response to a DNA vaccine delivered by in vivo electroporation. *Vaccine* 25(14): 2575–2582.
 69. **Zamorano P, Taboga O, Domínguez M, Romera A, Puntel M, Tami M, Mongini C, Waldner C, Palma E, Sadir A. 2002.** BHV-1 DNA vaccination: effect of the adjuvant RN-205 on the modulation of the immune response in mice. *Vaccine* 20 (21-22): 2656-64.
 70. **Zhang H, Sun S, Guo Y, Zhou F, Chen Z, Lin Y, Shi K. 2003.** Immune response in mice inoculated with plasmid DNAs containing multiple-epitopes of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* 21: 4704–4707.
 71. **Zheng C, Babiuk LA, van Drunen Littel-van den Hurk S. 2005.** Bovine herpesvirus 1 VP22 enhances the efficacy of a DNA vaccine in cattle. *J Virol.* 79(3): 1948-1953.

Actores de la cadena de carne vacuna.

De la Orden, J.L.¹; Demarco, D.G.²

1. Med. Vet y 2. Ing. Agr.

Docentes del Área de Producción Bovinos de Carne. Dto. Producción Animal.
F.C.V. – U.B.A. Chorroarín 280 - Buenos Aires.
delaord@fvvet.uba.ar - demarco@fvvet.uba.ar

Palabras clave: Cría, invernada, consignatarios, mataderos, frigoríficos, bocas de expendio.

RESUMEN

A través del tiempo la estructura de la comercialización ganadera en la Argentina se ha articulado de modo complejo con una amplia variedad de actores que interactúan para que los productos lleguen al consumidor. Se pasa revista y se describen, con análisis somero de sus fortalezas y debilidades, los principales eslabones de la cadena: criadores y productores de terneros, engordadores, productores de genética vacuna, generadores de conocimiento y tecnología, proveedores de servicios e insumos, intermediarios comerciales, procesadores e industriales, vendedores al público como también organismo e instituciones estatales y no gubernamentales. A pesar que algunos de estos actores tiene intereses contrapuestos, a nivel mundial se pronostica un escenario favorable para el futuro del negocio de la carne vacuna. A nivel nacional se considera que el planeamiento a futuro del sector tendrá que apuntalar con medidas de política activa el incremento de la productividad y de la competitividad del sector primario, debiendo considerar, también, a todos los eslabones de la cadena de valor agregado de la carne.

Introducción

La ganadería vacuna es una de las actividades económicas más antiguas del país. A través del tiempo la estructura de la comercialización ganadera en la Argentina se ha articulado de modo complejo, con una amplia variedad de actores que interactúan para que los productos lleguen a los consumidores⁵. Paralelamente cuenta con una superficie productiva muy extendida, no encontrándose concentrada, tanto la oferta como la demanda.

A continuación en el presente texto se intentará describir a los representantes con sus características más importantes:

1) Criadores productores de terneros.

Desde el punto de vista de la oferta puede ser considerado el primer eslabón en la cadena de producción de carne, ya que su objetivo básico es la producción de terneros²⁻⁸.

2) Engordadores.

Los engordadores o invernadores son los encargados de llevar a los terneros a un peso o grado de engrasamiento o terminación que busca el mercado. Esto se logra, tanto en planteos netamente pastoriles - proceso conocido como invernada - o en sistemas a corral (feedlots) e inclusive sus formas intermedias. Además se debe sumar el engorde de los rechazos o refugos de los

tambos y de los campos de cría que contribuyen a aumentar la oferta²⁻⁸.

En nuestro país existen cerca de 200.000 productores ganaderos, que presentan una gran diversidad de escalas, tipo y calidades de hacienda. Se calcula que aproximadamente 100.000 son productores de cría, 24.000 están dedicados a la actividad de invernada y alrededor de 71.000 corresponden a planteos mixtos.

A ellos se suman unos 15.000 productores tamberos que deben ser considerados por su aporte a la producción de carne. Algo más del 95% de las explotaciones agropecuarias tienen rodeos de menos de 1000 vacunos, quedando en el 4,6% los rodeos con más de 1000 vacunos. Asimismo se observa que ese 95,5% de productores es propietario del 65,3% de las existencias de vacunos, mientras que el 4,5% restante de los productores posee el 34,7%¹.

3) Productores de genética vacuna.

Los cabañeros también forman parte del grupo que conforma la cadena de valor. Estos actores producen y ofrecen genética al mercado. En general los criadores están agrupados en asociaciones. Existen en la Argentina asociaciones de las razas británicas tradicionales, tales como Aberdeen Angus o Hereford, como así también de razas cebuinas, continentales y las denominadas razas sintéticas, entre ellas, por ejemplo, Bradford y Brangus.

4) Generadores de conocimiento y tecnología.

Se encuentran comprendidos entre otros, las Universidades, el INTA, la Secretaría de Ciencia y Técnica, el CONICET, el INTI y los departamentos de investigación y desarrollo de las empresas proveedoras de insumos, cuyos trabajos se han orientado principalmente a tecnologías de procesos y de insumos para la producción a campo, a cuestiones sanitarias y de calidad de carnes⁴.

5) Proveedores de servicios e insumos.

Existe una amplia gama de empresas que ofrecen insumos y servicios para la actividad ganadera. Semillas forrajeras, maquinaria agrícola, tecnología para el procesamiento y almacenamiento de forrajes, maquinaria e instalaciones (mangas, corrales, balanzas, bebederos, comederos, etc.) y productos veterinarios, entre otros, son algunos de los rubros que se manejan en el sector. Constituyen un soporte esencial y en algunos casos hasta indispensables por la importancia estratégica que representa disponer en tiempo y forma de aquellos elementos necesarios para llevar a cabo con éxito un proceso productivo.

El transporte y la logística están presentes en todas las etapas de la cadena y en torno a su actividad giran algunos temas clave como costos, cadena de frío y continuidad

del abastecimiento. El transporte de hacienda e insumos para la producción se realiza en la Argentina a través de camiones, siendo actualmente prácticamente nulo el transporte por vía ferroviaria⁴.

6) Intermediarios comerciales (consignatarios, matarifes).

Es posible reconocer la existencia de intermediarios comerciales de diversa índole. Desde los consignatarios de ganado hasta los matarifes.

En la mayoría de los casos, el trabajo del consignatario consiste en reunir a las partes vendedoras y compradoras en un lugar físico, o sea construir el denominado "mercado". Otra función - de hecho - es la de desempeñarse como entidades financieras, para la que se cobra un "spread" o monto para garantizar el monto o plazo de pago.

Según la Oficina Nacional de Control Comercial Agropecuario (ONCCA)⁶, entidad que regula la actividad, la cantidad de firmas consignatarias se ha reducido a unas 400, de las 600 que existían en la década de 1980.

Los matarifes intermedian en la comercialización de la media res a las carnicerías y supermercados, pudiendo ofrecer el servicio de faena a la industria. Existen aproximadamente 800, de los cuales un número cercano a cien concentraría el 60-70% de las operaciones registradas. La mayoría de ellos operan en el mercado de hacienda de Liniers, por comodidad, cercanías, etc. La excepción a esta regla puede ser la compra de animales provenientes de feed-lot, donde a menudo el matarife compra sin intermediarios. Los matarifes tendrían hoy una participación del 50% en el abastecimiento de la carne del Gran Buenos Aires. El resto sería provisto por los consignatarios de reses, los supermercados y los frigoríficos con faena propia².

7) Procesadores e industriales.

La industria frigorífica abastece al consumo interno y/o a la exportación a través de unas 500 plantas, de las cuales hay establecimientos que llegan sólo a la obtención de la media res y otros que realizan el despostado en cortes. La industria exportadora puede añadir a estas dos etapas el termoprocesado de la carne y la elaboración de productos con valor agregado. A esta industria se suma la de la curtiembre, que procesa un subproducto también susceptible de un importante valor agregado posterior⁸.

8) Vendedores al público.

El consumidor toma contacto con el producto a través de carnicerías, supermercados, hipermercados, restaurantes y empresas de catering. En el país, casi la mitad de la carne que se vende en el mostrador o en la góndola se comercializa por carnicerías, un cuarto en hipermercados y otro tanto en supermercados.

9) Organismos e instituciones estatales y no gubernamentales.

Asimismo, el Estado participa en la regulación de la actividad ganadera a través de los organismos específicos de control de los gobiernos: nacional, provinciales y municipales.

Al respecto existe un Sistema Nacional de Control de Alimentos, reglamentado por el decreto 815/9910 cuyo objetivo es asegurar el cumplimiento del Código Alimentario Argentino.

El Sistema Nacional de Control de Alimentos está integrado por la Comisión Nacional de Alimentos, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), las autoridades sanitarias provinciales y del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires (GCBA).

A nivel nacional, organismos tales como el SENASA se encargan de habilitar plantas frigoríficas y controlar movimientos de hacienda y carnes, entre otras funciones.

Las organizaciones no gubernamentales (ONG) relacionadas con la cadena de la carne vacuna son muy numerosas e incluyen las de índole gremial, comercial, empresarial y tecnológica, entre otras⁸.

Con respecto a estos organismos es un hecho relevante la creación, el 11 de diciembre de 2001, del Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina I.P.C.V.A. (ente de derecho público no estatal) por medio de la Ley N° 25.507, con el objetivo de promover el consumo local de carne vacuna, el fomento de las exportaciones y la actividad industrial.

Conociendo un poco más la cadena y sus integrantes

En Argentina en el año 2006⁶ las existencias bovinas eran de 55,5 millones de cabezas, de las cuales se faenaron 13,42 millones. La tasa de extracción registrada - es decir la relación expresada en porcentaje entre ambos conceptos - fue del 24,18 %.

El stock vacuno se encontraba distribuido en 209 mil establecimientos ganaderos (incluyendo tambos), de los cuales el 42,5% eran predios que poseían entre 1 y 50 cabezas de hacienda vacuna y sólo el 4% contaba con más de mil cabezas¹.

Aunque los productores de ganado vacuno se encuentran distribuidos por todo el país, existen zonas diferenciadas en lo que hace a la densidad ganadera y a características agroecológicas para la producción de carne.

Principalmente los establecimientos ganaderos se distribuyen en un 42% en la Región Pampeana siendo la provincia de Buenos Aires la que concentra una mayor cantidad de hacienda, con un 34% y también en la cantidad de predios, 20% a nivel total. Con respecto a las existencias totales de hacienda vacuna, el 57% se concentra en la Región Pampeana¹¹.

Un comentario especial merece la Región del Noreste Argentino (NEA) que en los últimos 10 años aumentó su participación desde un 21% del total de existencias de animales al 25% actual, siendo por ello la zona que más creció en existencia de animales¹¹.

En cuanto a la composición por raza del rodeo argentino, los datos no son muy precisos, pero puede estimarse que un 60% del rodeo nacional agrupa animales de razas británicas puras o sus cruza entre sí. El Aberdeen Angus tiene un claro predominio en el país, sobre todo en la zona pampeana, siendo el segundo lugar ocupado por la raza Hereford.

El ganado cruza cebú comprendería el 25%. En la Argentina quedan muy pocos rodeos de razas índicas puras tales como Nelore o Brahman. Sólo un 10-15% de los rodeos "cruza cebú" corresponderían a razas sintéticas definidas, tales como Braford o Brangus. El 13 -14% corresponde a ganado lechero, en su mayoría de raza Holando Argentino y en menor proporción Jersey, que aporta los descartes y los terneros machos al sistema y menos del 1% está representado por razas continentales y sus cruza².

La **cría** es la actividad pecuaria inicial, que tiene como finalidad principal la producción y venta de terneros, pero también es de importancia económica el descarte* -retiro- de los reproductores machos y hembras (toros, vaquillonas y vacas) que

(*) En todo rodeo de cría existe la necesidad de reemplazar todos los años aquellos animales que han llegado al límite de su vida útil productiva. Diversas causas, atribuibles a enfermedades, envejecimiento, muertes etc. configuran la necesidad de realizar todos los años el descarte y paralelamente la reposición de aquellos animales que deben ser sustituidos.

son vendidos para invernada. La dinámica de esta actividad se inicia con el servicio de las vacas por los toros y termina con el destete o desmadre de los terneros. El destete puede efectuarse a diferentes edades y pesos de acuerdo a distintas variables tales como el nivel de tecnología disponible, la región geográfica, la disponibilidad de forraje, estado corporal de las vacas, etc.

Los productores de cría concentran el 51% de los establecimientos ganaderos, poniendo de manifiesto su importancia como eslabón principal en la cadena de producción de carne vacuna.

Entre los actores principales del sector primario de la cadena de producción de carne vacuna en nuestro país se encuentran los productores dedicados a la actividad de **cabaña**, quienes proveen a los ganaderos de reproductores con un nivel de calidad genética certificada. Participan a través de la venta de, fundamentalmente, reproductores machos, pero también hembras, semen congelado, embriones o mediante la posibilidad del alquiler de toros, a los rodeos de cría.

Luego, en el proceso de producción de carne es posible identificar a los productores **engordadores o invernadores** cuya tarea consiste en llevar al animal a un estado corporal de engrasamiento - determinado por el mercado y conocido con el nombre de terminación - tal que le permita estar apto para su faena. La actividad se basa, fundamentalmente, en el engorde de terneros, machos y hembras, provenientes de los rodeos de cría y los terneros machos de tambo. También se pueden engordar reproductores de descarte, tanto del sector de la cría como del lechero, para que puedan ser comercializados para consumo.

La duración de la invernada puede variar según la categoría de hacienda a invernar y el grado de intensificación del sistema. El proceso se acelera (mayores aumentos diarios de peso) con la utilización de praderas implantadas y el uso intensivo de concentrados energéticos. A su vez la cría y la invernada pueden unirse conformando un Ciclo Completo en el que los productores producen, crían e invernán sus propios terneros. El total de predios dedicados a ambas funciones ascienden a 71.000 establecimientos²⁻⁸.

Una variante de la invernada es el sistema de engorde a corral o feedlot,

que basa su alimentación en concentrados energéticos, como por ejemplo granos de maíz, sorgo y subproductos de la industria (afrecho-pellets), entre otros. A diferencia de una invernada extensiva tradicional, donde la alimentación es básicamente pastoril, con aporte de granos solamente cuando se pretende lograr un grado óptimo de gordura y terminación. Los sistemas intensivos en los últimos años, en la Argentina, han tenido un crecimiento paulatino, pero sostenido, favorecidos por el proceso de agriculturización ocurrido. Como muestra de ello, en el año 2005 se estimaba que la provisión a la industria de animales salidos de este sistema ascendía al 21-25%² del total de los animales faenados. En el 2006, con 3,4 millones de cabezas terminadas, el aporte de este sector se ubicó entre el 24 - 25%, aproximadamente, de la faena total. Mientras que en el 2007, según datos provenientes de la Cámara Argentina de Engordadores de Hacienda Vacuna (CAEHV), el mercado contó con cuatro millones de cabezas provenientes desde feedlots o establecimientos de engorde a corral. Esa cifra representó entre el 28 - 30% de la faena nacional.

El **consignatario** es la figura encargada de conectar al productor con la industria, si bien aquél puede operar directamente sin la intermediación del consignatario. Esta modalidad de venta directa del productor se ha ido incrementando en los últimos años. En general, la utilizan aquellos productores que tienen la posibilidad de ofrecer cantidad y uniformidad al demandante. La labor del consignatario de relacionar al productor con el frigorífico la puede realizar conectándolos directamente (venta directa con consignatario) o hacerlo a través de mercados concentradores o remates-feria. Otra modalidad en la que este agente interviene es en la venta de la res (consignatario de reses).

Para los actores de poco volumen a intermedio - tanto del lado de la oferta como de la demanda -, la actividad de la consignación se constituye en un servicio de utilidad, ya que les permite tercerizar la comercialización poniéndola en manos de especialistas, quienes por ser conocedores de las necesidades del mercado, ubican a la demanda de acuerdo con la categoría, la calidad y el destino de las haciendas ofrecidas. Por otra parte, las concentraciones como los remates-feria y mercados

de hacienda permiten al vendedor obtener un precio referencial y que también guarde relación con la categoría, calidad y estado de su producción y no con el volumen ofrecido.

Un párrafo aparte merece el mercado concentrador de Liniers. Este mercado es el más importante centro de comercialización de hacienda vacuna de la Argentina y, por sus particulares características, único en el mundo. A la vez, la magnitud de los volúmenes allí comercializados lo constituye en un factor fundamental en la formación de los precios ganaderos. Con más de un siglo de vida, en él desarrollan su actividad 57 empresas consignatarias. Posee un ingreso diario promedio de alrededor de 10.000 cabezas².

Es importante resaltar que durante el año 2006 el 53,3 % de la hacienda faenada se comercializó sin intervención de las casas consignatarias, representando la mayor participación. En sentido inverso, la hacienda proveniente de mercados concentradores, tales como el de Liniers, fue el canal que registró la mayor pérdida de participación, llegando al 16,7%. El resto de la comercialización se distribuyó en venta directa con consignatario que presentó una participación del 18,4%, los remates-feria representaron un 8,2% y finalmente el mercado de reses fue alrededor de 3,4%⁶.

Continuando con la descripción de la cadena, aquí comenzaría el proceso de la industrialización. Por ello se considera relevante remitirse al decreto 4238/687, el cual establece o define - entre otros aspectos -, qué actores estarían aquí representados. Se entiende por **matadero - frigorífico** el establecimiento donde se sacrifican animales y posee cámara frigorífica, pudiendo o no efectuarse tareas de elaboración y/o industrialización.

Siempre de acuerdo a los términos expresados en el decreto mencionado precedentemente, los establecimientos se clasifican en:

Matadero - Frigorífico "A": Se entiende por matadero - frigorífico Tipo "A" al establecimiento donde se sacrifican animales y posee cámara frigorífica, pudiendo o no efectuarse tareas de elaboración y/o industrialización. Su habilitación corresponde al SENASA e incluye el tráfico federal y la exportación de los productos y subproductos derivados de la faena y las carnes industrializadas.

Las habilitaciones de frigoríficos y mataderos se acuerdan en base a una estimación del régimen "animal-hora". Se entiende por régimen "animal-hora" el máximo de sacrificio de cabezas en relación con la capacidad útil de las instalaciones de faena, dependencias anexas y provisión de agua con su correspondiente evacuación en el mismo lapso. Para este concepto se tiene en cuenta la receptividad de corrales, provisión de agua, aprovechamiento de superficie de playa, metros de rieles, evacuación de efluentes, capacidad de cámaras frías, servicios sanitarios y dependencias complementarias⁷.

Se puede estimar que el 30% - 33% de la faena se produce en los Mataderos - Frigoríficos Tipo "A"⁸.

Matadero - Frigorífico "B": Se entiende por matadero - frigorífico de tipo "B" al establecimiento autorizado para faenar bovinos, ovinos, porcinos y/o caprinos, en número diario máximo de ciento cincuenta (150) bovinos, cien (100) porcinos y trescientos (300) ovinos y/o caprinos. Las carnes y menudencias de los animales faenados en estos establecimientos deberán expendirse y consumirse, exclusivamente dentro del territorio de la provincia en la que están establecidos⁷.

Matadero - Frigorífico "C": Se entiende por matadero - frigorífico de tipo "C" al establecimiento autorizado para faenar bovinos, porcinos, ovinos y/o caprinos en número diario máximo de ochenta (80) bovinos, cincuenta (50) porcinos y ciento sesenta (160) ovinos y/o caprinos. Las carnes y menudencias de los animales faenados en estos establecimientos, deberán expendirse y consumirse exclusivamente dentro del territorio de la Provincia donde están establecidos. Los establecimientos tipo "B" y "C" podrán solicitar la habilitación del SENASA para poder realizar el tráfico federal previa verificación de las condiciones de construcción, operativas y administrativas que establezca dicho servicio para satisfacer los requisitos mínimos que exija dicho tráfico federal⁷.

Matadero Rural "D": Se entiende por matadero rural al establecimiento autorizado para faenar bovinos, ovinos y/o caprinos en número diario máximo de quince (15) bovinos y treinta (30) ovinos y/o caprinos. Las

carnes y menudencias de los animales faenados en estos establecimientos deberán expedirse y consumirse exclusivamente dentro de la localidad para la que expresamente fuese autorizado. Serán habilitados excepcionalmente cuando razones de abastecimiento lo justifiquen⁷. Faenan en ellos los matarifes y carniceros para la comercialización dentro del ámbito de cada municipio. Se considera que se encuentra en esta categoría el 20% de la faena⁸.

A su vez las plantas industriales pueden ser clasificadas según el tipo de actividad, de la siguiente manera:

Plantas de Ciclo I; son aquellas que cuentan con instalaciones para la faena y cámara de frío. Su actividad consta de matar al animal y dividirlo en dos medias reses, obteniendo también los principales subproductos, denominado el recuperó*.

Plantas de Ciclo II: sus actividades comienzan con medias reses, producidas en el Ciclo I y a partir de ellas despostan y continúan con el proceso posterior de industrialización realizando el cuarteo del animal (se lo divide en cuatro trozos) para luego obtener cortes comerciales del mismo. De este proceso se obtienen como subproductos el hueso y la grasa comestible.

Plantas de Ciclo completo: realizan tanto las actividades de matanza como las de posterior despostado e incluso otros procesos industriales (como por ejemplo el termo-procesado)⁹.

La cantidad de plantas que realizan la tarea de faena llegaba en el año 2004⁹ a 500 establecimientos (24 plantas no registraron cabezas faenadas), con una capacidad instalada de faena estimada en 20 millones de cabezas anuales. Debe tenerse en cuenta que la faena anual media de los últimos 10 años no ha superado los 13 millones, con lo cual se observa un alto grado de capacidad ociosa calculada en la actualidad en 32%.

La cantidad de plantas industriales de Ciclo Completo y Ciclo I que cuentan con habilitación sanitaria del SENASA ascienden a 226, es decir el 45% de los establecimientos inscriptos. En éstos se efectúa el 82 - 84% de la faena registrada del país⁸. Sobre el total de establecimientos faenadores el 45,4% se encuentran

en la Región Pampeana, registrando el 85% de las cabezas faenadas⁸.

A modo de ejemplo se puede decir que la faena durante el 2006 alcanzó los 13,42 millones de cabezas, impulsado por un consumo interno per cápita que alcanzó ese año los 63,4 Kg./hab./año, valor que fue superado en el 2007, con un valor de 68,5 Kg./hab./año. La producción total de carne vacuna, durante el 2006, fue alrededor de 3,04 millones de tn./res con hueso. El destino principal - en aproximadamente un 81% - fue el mercado interno, destinándose el resto a la exportación, que registró un valor de 565.065 tn./res con hueso⁹.

Con respecto a la proporción de categorías faenadas, los novillos presentaron el mayor número de cabezas: 3.774.350 animales (el 28,1% del total), seguidos de cerca por los novillitos con 3.527.245 cabezas (el 26,3% de los envíos). En un segundo nivel se encuentran las vacas con 2.299.761 animales y las vaquillonas con 2.274.789 cabezas faenadas (con una participación del 17,1% y 17%, respectivamente). Los terneros sumaron un total de 1.335.022 cabezas (9,9% del total), de los cuales el 76,4% fueron hembras y el 23,6% restante machos. Finalmente, los toros completaron el total de la faena con 207.658 cabezas (1,5%)⁶⁻¹².

Es interesante resaltar que el nivel de empleo utilizado por el sector fue cercano al 25% del total de trabajadores del sector agroindustrial. A modo de comparación y considerando algunos datos de nivel nacional, la cadena que mayor empleo generaba por entonces (2005), estaba representada por la de frutas y verduras, en tanto que la de la carne vacuna alcanzaba el segundo lugar con 550 mil empleos totales. Dicho de otro modo, esta cadena constituía a nivel país un capital de casi \$25 mil millones de pesos corrientes (2005) y se ubicaba por su valor económico en segundo lugar detrás del complejo sojero⁴⁻⁸.

En cuanto a las bocas de expendio, **los supermercados, los auto-servicios y las carnicerías** representan los eslabones finales destinados a hacer llegar la carne vacuna al consumidor.

En los últimos años se observa una tendencia a la apertura de nuevas bocas, especialmente de grandes superficies (super e hipermercados), si bien las principales cadenas han debido enfrentar no sólo la crisis

(*) Recuperó: El recuperó bruto o crédito de matanza es la sumatoria del valor económico de todos los despojos del animal que quedan en poder del frigorífico que se obtienen al faenar el animal, tales como cuero, sangre, menudencias, huesos de patas y cabeza, entre otros².

económica, sino también la competencia por parte de carnicerías, almacenes de barrio y autoservicios, entre otros².

La carne es esencial en el negocio del supermercadismo y participa en el 12-15% de la facturación. En cambio, en los hipermercados la carne baja en participación a un 7-8% de las ventas. En todos los casos se la considera un producto esencial. Tanto los super como los hipermercados gestionan comprar en forma directa (con y sin intervención de consignatarios) entre el 75 y el 80% de sus provisión.

En el interior del país, la cobertura de los supermercados es menor. De todos modos, puede estimarse que en el total del país la participación de los super e hipermercados en el consumo de carne no supera el 18-20%². En cuanto a los autoservicios, las principales consultoras en el tema calculan en unas 6500 las bocas que responden a esta denominación y se estima que alrededor del 90% de estas venden carne vacuna². El límite entre autoservicios y super-mercados se ubica en general en un máximo de 2 cajas y 300 metros cuadrados para los primeros, considerándose por lo tanto supermercados a los comercios que superan el referido número de cajas y superficie. La presencia de carnicerías dentro de autoservicios predomina más en la Capital que en el Gran Buenos Aires. En los últimos años ha habido un incremento muy importante -especialmente en la Capital - de la participación de inmigrantes orientales (chinos, coreanos) en este tipo de comercio². En lo referente a las carnicerías puede estimarse que en la Argentina hay unas 35 mil carnicerías. En Capital y Gran Buenos Aires la venta de carne vacuna a través de carnicerías sería del orden de las 46 mil toneladas mensuales, en unas 14 a 16 mil carnicerías. De éstas, unas 2.500 estarían en Capital Federal. La preferencia del público por la carne cortada y a la vista, por la atención personalizada y el nivel similar de precios entre carnicerías y supermercados, puede contribuir a explicar aunque parcialmente, la supervivencia de un número tan elevado de bocas².

De acuerdo al volumen de carne vendida y en promedio, se puede

estimar que un hipermercado equivale a dos super, y un super representa unas 20-25 carnicerías tradicionales. De este modo, cada hiper equivaldría a unas 50-60 carnicerías aproximadamente².

Consideraciones finales.

Si bien la cadena de producción de carne vacuna presenta aspectos intrincados, en los que, inclusive, algunos de los actores tienen intereses contrapuestos, muchos especialistas del sector pronostican, al analizar el futuro del negocio de la carne vacuna a nivel mundial, un escenario favorable, caracterizado por:

-Aumento en la demanda global de carne vacuna, tanto para destino industrial, como de la demanda de cortes de calidad y de productos diferenciados.

-Caída de la producción en países que implementan subsidios directos e indirectos.

-Aumento - al menos moderado - de los precios.

-Segmentación de los mercados, con mayores exigencias en materia de calidad, trazabilidad y de inocuidad.

Por ello es posible deducir que el sector agroindustrial nacional de las carnes bovinas - con experiencia exportadora desde fines del siglo XIX - tendría que ocupar un lugar destacado como proveedor del mercado internacional, tanto de commodities como de productos diferenciados y subproductos.

La producción nacional de carne deberá ser incrementada si se pretende aumentar la exportación al mismo tiempo que satisfacer el consumo interno. Ello es posible por ejemplo si se mejora la tasa de extracción de nuestra ganadería llevándola del 24-25% actual a no menos del 30%³, tal como registran los países más eficientes en producción de carne. Esto no implica desconocer la importancia que tiene para el sector incrementar el rodeo nacional, sólo que en las actuales circunstancias donde la agricultura está avanzando sobre la superficie

tradicionalmente ganadera, es posible visualizar un incremento de la producción a través de la tasa de procreo más que por el incremento de vientres.

Para poder aumentar la tasa de extracción es indispensable aumentar la eficiencia productiva de nuestros rodeos.

La baja productividad ganadera especialmente de la actividad cría hace que las posibilidades de inorementar la producción de terneros a corto plazo sean reales. Es interesante destacar que el avance del cultivo de la soja en el país si bien restó superficie ganadera no afectó en igual magnitud al stock ganadero. Por el contrario, éste no se redujo¹¹ sino que en varias regiones se vio incrementado como consecuencia de la tendencia del productor a no desprenderse de hacienda. En conclusión no son vacas las que faltan sino sus terneros.

Pero el aumento de la producción de carne se podrá lograr por ejemplo también, aumentando el peso de faena de los animales ya producidos. Este cambio se alcanzará cuando el mercado compense el mayor costo de producción que tiene un novillo pesado. Mientras ello no ocurra el productor seguirá haciendo lo que más le conviene económicamente o sea el animal liviano destinado para satisfacer, principalmente, la demanda del consumidor local.

El aumento de la productividad dependerá, como ocurre con el resto de las actividades agropecuarias, de la rentabilidad que presente dicha actividad.

Esto sería posible a través de políticas claras orientadas hacia el sector y sostenidas en el tiempo.

Si bien el planeamiento del sector a futuro tendrá que apuntalar con medidas de política activa el incremento de la productividad y la competitividad del sector primario, también deberá considerar a todos los eslabones de la cadena de valor agregado de la carne.

Por lo tanto, sobre dichos parámetros habrá que trabajar para resolver el problema e iniciar el sostenido despegue que el sector ganadero requiere y que el futuro del país necesita.

Bibliografía

1. **Bavera, G.A.** El comercio de ganado actual en Argentina, Australia, Brasil, E.E.U.U. y Uruguay. Sitio Argentino de Producción Animal. <http://www.produccion-animal.com.ar>. Consulta: 1 de Septiembre de 2008.
2. **Iriarte, I. 2005.** Comercialización de Ganados y Carnes. Cámara Argentina de Consignatarios de Hacienda. Buenos Aires, Argentina, 207 p.
3. **Josifovich, J.A. 1996.** Invernada en el Norte de la Pcia de Bs. As. Buenos Aires, Argentina, Hemisferio Sur, pp. 37.
4. **Llach, J.J.; Harriague, M. M.; O'Connor, E. 2004.** La generación de empleo en las cadenas agroindustriales. Estudio Encomía y Sociedad. Buenos Aires, Argentina, Fundación Producir Conservando, 73 p.
5. **Martinez Dougnac, G.; Gresores, G.; Azcuy Ameghino, E. 2006.** Pasado y presente de la cadena agroalimentaria de carne vacuna: disputas y conflictos. Instituto Argentino para el Desarrollo Económico (I.A.D.E.). Buenos Aires, Argentina, 17 p.
6. **Ministerio de Economía y Producción. 2006.** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos (S.A.G.P.y A.). Oficina Nacional de Control Comercial Agropecuario (O.N.C.C.A). Anuario Bovino. Buenos Aires, Argentina, 60 p.
7. **Ministerio de Economía y Trabajo. 1968.** Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería (S.E.A. y G.). Decreto N° 4.238. Reglamento de Inspección de Productos, Subproductos y Derivados de Origen Animal. Buenos Aires, Argentina, 357 p.
8. **Otaño, M. 2005.** Perfil Descriptivo de la Cadena de Carne Vacuna. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (S.A.G.P.y A.). Buenos Aires, Argentina, pp.9-16.
9. **Otaño, M. C.; Vacarezza, L. 2008.** Noticias en los Mercados de la Carne Vacuna. Buenos Aires, Argentina. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (S.A.G.P.y A.). 2da. Quincena de Enero 2008. pp.1-2.
10. **Presidencia de la Nación. 1999.** Decreto N° 815. Sistema Nacional de Control de Alimentos. Buenos Aires, Argentina, 15 p.
11. **Rearte, D.** La Producción de carne en Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). <http://www.inta.gov.ar/balcarce/carnes/prodcarne.htm>. Consulta: 12 de Marzo de 2008.
12. **Schiariti, M. A. 2007.** Informe Económico Mensual. Buenos Aires, Argentina, Cámara de la Industria y Comercio de Carnes y Derivados de la Republica Argentina. Documento N°89. 21 p.

Aproximación al problema de la sobrepoblación de perros vagabundos.

Koscinczuk, P.¹, Le Brech, S.¹

1. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Argentina

Palabras clave: *perros vagabundos, bienestar, control, educación, espacio público.*

Keywords: *free roaming dogs, stray, welfare, control, education, public space.*

RESUMEN

La sobrepoblación de perros vagabundos ocasiona inconvenientes sociales como la contaminación de los espacios públicos, transmisión de enfermedades zoonóticas, agresión dirigida hacia los humanos, peleas entre perros, accidentes de tránsito, etc. Por otra parte, afecta al bienestar animal ya que estos perros sufren de las inclemencias del tiempo, pasan hambre, padecen de enfermedades que pueden llevarlos a la muerte y son víctimas de la indiferencia y del maltrato. Las disposiciones utilizadas para el control de la población canina deberían focalizarse en dos áreas: una de ellas es prevenir que los perros lleguen a ser vagabundos y la otra es tomar medidas con los perros que ya están viviendo en la calle. En el primer caso las tareas de prevención deberían estar centradas en la educación, en los conceptos de tenencia responsable, en tanto que el control de los perros callejeros requeriría una combinación basada en actividades como captura, reubicación, castración, monitoreo del comportamiento de los animales de riesgo y de ser necesario, eutanasia. Por lo expuesto, se pone de manifiesto la necesidad de implementar programas multidisciplinarios de educación y prevención en los que la planificación estratégica del control se lleve a cabo teniendo en cuenta el bienestar de los perros. En el trabajo se discuten algunos de los métodos recomendados.

SUMMARY

Approach to the free roaming dogs' overpopulation problem.

The overpopulation of stray dogs can cause some social problems such as public space contamination, transmission of zoonotic diseases, human aggression, fights between dogs, traffic accidents, etc. Animal welfare is affected because these dogs are exposed to weather harshness, hunger, illnesses that could lead to death and are victims of indifference. The actions for the control of the dog population must focus on two areas: the first one is to prevent the free roaming of owned dogs; the other one is the control of stray dogs. In the first case the preventive activities must be done on responsible ownership education. Meanwhile control of free roaming dogs must be by a combination of several activities such as trapping, removing and relocating, neutering, monitoring and, when needed, euthanasia. Based on these facts, multidisciplinary educational and preventive programs are required which, when planned, should take into account the animal's welfare. Some recommended methods are discussed in this paper.

Análisis del problema

Se considera como perro callejero o vagabundo a todo aquél que, independientemente de tener propietario o no, se encuentra en los espacios públicos sin supervisión. De esta manera, la población de perros callejeros o vagabundos queda conformada por perros con dueño que han sido abandonados y perros sin dueño (de la comunidad), como así también por perros con dueño que accidentalmente se perdieron o perros con dueño a los que se les permite vagar libremente²⁹. Un subgrupo lo constituyen aquellos perros salvajes cuya baja socialización dificulta su manipulación o inserción en hogares²², problema que puede presentarse en áreas rurales. Siguiendo con la clasificación de la World Society for Protection of Animals (WSPA) se considerará por separado la situación que se genera en cada grupo de perros callejeros o vagabundos en las áreas urbanas.

Perros con dueño que han sido abandonados y perros sin dueño (de la comunidad).

Un número importante de abandonos es el resultado de un desfase entre el perro imaginado antes de la compra y el perro comprado, entre el perro soñado y el perro real¹⁴. En general esto ocurre por falta de asesoramiento y programación antes de la adopción. Muchas personas tienden a comprar cachorros sin tener en cuenta el espacio en el que van a vivir, si van a tener el tiempo suficiente para cuidarlos, si dispondrán del dinero suficiente para mantenerlos. El problema es aún más grave cuando las condiciones de crianza son inapropiadas como ocurre en las "fábricas de perros", en las tiendas de mascotas, en los refugios o cuando son abandonados desde muy pequeños o nacen y se crían en la calle. Estas condiciones ambientales afectarán negativamente al nuevo individuo, aumentando la posibilidad de presentar problemas

conductuales como miedo o agresión^{3, 11, 16} que favorecen la decisión de abandono.

Mestizos o de raza, grandes o chicos, la cantidad de animales que es abandonada en la vía pública supera ampliamente la capacidad de adopción. Con frecuencia, los vecinos les darán comida y refugio sin tener en cuenta que esto favorece la fertilidad tanto de las hembras como de los machos. De esta manera tendrán sus cachorros en la calle pasando a engrosar la fila de perros de la comunidad. Otra consecuencia de un acto tan noble como el alimentar a los animales sueltos en los espacios públicos es el aumento de las agresiones autoprotectoras; agresiones que afectan a los desprevenidos transeúntes cuando invaden lo que los perros consideran su espacio, el lugar donde comen y duermen. Por otra parte, estos animales juegan un papel destacado en el mantenimiento de endemias y epidemias. Moquillo, parvovirus, rabia, leishmaniasis,

sarna son sólo algunos ejemplos de la muchas enfermedades que pueden transmitir a otros animales y a los seres humanos.

Perros con dueño que accidentalmente se perdieron o perros con dueño a los que se les permite vagar libremente.

En muchas poblaciones la transición reciente de población predominantemente rural a sociedad industrial urbana ha creado una situación en la cual las actitudes fuertemente rurales hacia los perros han sido trasladadas al hábitat urbano en forma inapropiada. Ejemplo de esta situación es el de permitirles a los perros vagar libremente fuera de la casa, comportamiento que se ve favorecido por no estar castrados⁹.

En algunas ciudades existe la costumbre generalizada de dejar que los perros deambulen libremente por las calles considerando que es una actitud correcta. Al vagar libremente, estos animales pueden perderse, lastimarse en peleas con otros animales, sufrir accidentes de tránsito o pasar a aumentar la superpoblación canina con apareamientos innecesarios, así como también contaminar los espacios públicos con materia fecal y orina.

En lugar de dejarlos vagar libremente, los propietarios deberían sacar a los perros con correa y collar. Muchas personas consideran que la correa es algo que le quita libertad al animal, cuando en realidad la correa debería ser el elemento de juego que relaciona al propietario con su mascota y que evita que se escape y se pierda. Además, el solo hecho de ver que un perro está adecuadamente contenido hace que otras personas no tengan miedo de pasar cerca.

La mayoría de las mordeduras se producen en la vía pública y por perros que tienen dueño. Los accidentes por mordeduras suelen implicar serios daños: la herida en sí, la transmisión de enfermedades zoonóticas (como la rabia), el impacto psicológico que sufre el agredido y costo económico que ocasiona el tratamiento de paciente¹.

Diferentes estrategias utilizadas para el control de perros vagabundos

El problema de los perros vagabundos debería ser abordado desde dos niveles: medidas que deberían tomarse con los perros que ya están viviendo en la calle y, al mismo

tiempo, prevenir que más perros lleguen a ser vagabundos²³.

En el caso de los perros que ya están en la calle se reconocen cuatro métodos de control²²:

1. Captura, secuestro y eutanasia.
2. Captura, castración y reubicación.
3. Captura, castración y retorno.

No existe un método de control ideal de la sobreabundancia. La decisión debería tomarse en base al mejor bienestar esperado para las mascotas y considerando no sólo aquellas necesidades indispensables para la vida como el hambre y la sed, sino también aquellas que los animales desearían sean satisfechas como su confort y la expresión conductual. Es consenso general que, si bien no siempre se pueden poner en práctica todas las libertades, constituyen un indicador inicial de los estándares básicos o mínimos que se deberían otorgar a los animales.

A continuación describiremos ventajas y desventajas de los sistemas recomendados

Programas de captura de perros callejeros, secuestro y eutanasia

Los programas de matanza masiva generan una fuerte reacción en la población general, resultan no sólo un método cruel que afecta al bienestar de los animales desde el momento de la cacería a la que son sometidos, sino también por el método seleccionado para la eutanasia. Generalmente y por motivos económicos se seleccionan métodos que causan agonía y sufrimiento (cámara de gas, ahorcamiento).

Lo único que logran estos programas es bajar la densidad de población de perros por un corto período de tiempo. Un estudio de WSPA29 considera que un programa de matanza masiva que elimine el 75% de perros y gatos, mejorará la disponibilidad de alimento para los sobrevivientes favoreciendo la fertilidad y la supervivencia de los cachorros hasta la madurez, lo que, sumado a la migración de animales desde las zonas periféricas hacia el lugar donde se realizó el control poblacional, hace que en poco tiempo la población alcance el número inicial de perros.

Programas de captura de perros callejeros, castración y localización en perreras

A diferencia del programa anterior, en el que luego del secuestro se realiza la eutanasia, en estos programas luego de la captura se realiza un

control sanitario que incluye la vacunación contra la rabia y la castración, para luego permanecer en perreras hasta el momento en que son reubicados en casas de familia.

Uno de los inconvenientes de estos programas es la falta de infraestructura adecuada. Esto dificulta el control de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Por otro lado, el hacinamiento lleva a restricción social y espacial. Tuber²⁷ observó que durante la estancia en los refugios los perros están sujetos a una variedad de estrés psicológico, incluyendo circunstancias nuevas, aislamiento, exposición a ruidos impredecibles y frecuentes, interrupción de la rutina familiar y una pérdida general del control del ambiente. Dada la alta incidencia de problemas de conducta en perros de refugio, algunas instituciones realizan la evaluación conductual de los individuos antes de que sean destinados a grupos familiares. Esta modalidad es importante ya que la introducción de un perro agresivo en una familia puede resultar no sólo peligrosa, sino también traumática ya que puede aumentar la posibilidad de un nuevo abandono⁹.

En el caso de pacientes con trastornos irreversibles de conducta, muchos refugios consideran la posibilidad de realizar la eutanasia (muerte digna y sin sufrimiento), no sólo por el bien del individuo que está sufriendo una patología cuyo tratamiento es oneroso y difícil de implementar, sino también por el bienestar de los demás perros del refugio. Siempre que esté indicada, la eutanasia debería ser realizada por un personal correctamente entrenado y utilizando un método adecuado¹.

Programas de captura de perros callejeros, castración y retorno

Una alternativa es el sistema de castración y retorno al hábitat donde fue secuestrado el animal. Esta práctica ha sido ampliamente utilizada en Italia y en España para gatos salvajes¹⁵ y se ha implementado en menor escala en perros. En el año 1995, en un pueblo del sur de Italia, se realizó un plan donde se combinó esterilización, identificación, educación y adopción. En ese proyecto cooperaron las autoridades locales, veterinarios y propietarios de perros. Como resultado, tres años después, bajaron notablemente la frecuencia de perros enfermos en las calles y los problemas asociados con jaurías. Estos programas no resuelven todos los conflictos, menos aquellos rela-

cionados con las zoonosis, pero su aplicación resulta un punto de partida para resolver la situación en grandes poblaciones de perros vagabundos que siguen en aumento.

La castración quirúrgica de hembras y machos es uno de los métodos de control de población que cuando es efectuado con una práctica correcta (contención adecuada, analgesia y anestesia), menos afecta al bienestar de los animales. Los programas de castración se deberían llevar a cabo con perros que tienen propietarios y con perros sin dueño que se encuentran en los espacios públicos²².

Todo buen programa debería considerar la castración tanto de hembras como de machos²⁸. Mientras que una hembra puede tener no más de dos lechigadas por año, un macho puede ser el padre de más de una lechigada por mes. Además, la castración de machos representa un menor riesgo quirúrgico, con menor costo de realización.

Tradicionalmente, los perros y gatos que no son destinados a la cría son castrados después de los de 6 meses de edad, corriendo el riesgo de poder tener una cría no deseada. Howe propone la gonadectomía prepuberal como una buena opción para controlar la sobrepoblación aún teniendo en cuenta las complicaciones asociadas con esta práctica⁹.

Por otra parte, es necesario castrar tanto a los perros mestizos como a los de raza. En el caso de los perros de raza se debe tener en cuenta la posibilidad de transmisión de enfermedades hereditarias que afectarán también a los mestizos producto de los cruzamientos. Con frecuencia se observan mestizos de las más extrañas características: algunos de ellos heredan serios problemas físicos de sus ancestros de pedigree (displasias, sorderas, problemas respiratorios, atopías, demodeccia, etc).

Los programas de castración deberían ir acompañados de leyes de regulación de la crianza, con licencia especial para aquellos criadores avalados por los clubes especialistas de razas, para los propietarios de "tiendas de mascotas", para refugios o simplemente para los propietarios con mascotas que están en la vía pública¹⁰.

Educación

La castración sólo resuelve un aspecto del problema, pero no aborda una de las principales causas de sobrepoblación continua - la falta de res-

ponsabilidad frente a las mascotas y el abandono de los animales -. Así, la educación y la aplicación apropiada de la legislación constituyen requisitos para abordar el complejo problema desde sus raíces.

La educación sigue siendo el reto más grande². Todas las organizaciones tienen un papel que jugar: municipalidades, grupos comunitarios, escuelas, universidades, sociedades de protección animal, veterinarios en su práctica privada, agencias de aplicación de la legislación animal. La Convención para la Protección de Animales de Compañía de la WSAVA 2001 sostiene que toda persona que cuida o que se haya comprometido a cuidar a un animal de compañía debería ser responsable por su salud y bienestar. Consideraba como tenencia responsable a la obligación que tiene el dueño de cubrir las necesidades básicas del animal y hacerse cargo de los riesgos que pueden representar sus mascotas para el resto de la sociedad (anónimo). Dentro de los principios de tenencia responsable destacamos los siguientes:

_Proveer al animal de agua limpia y fresca y de alimento para que pueda satisfacer sus necesidades fisiológicas.

_Sacarlo con collar y correa. Esto impide que pueda morder a otras personas o animales, evita que se pierda y previene los accidentes de tránsito que podría ocasionar un perro suelto.

_Darle oportunidades para que haga ejercicio y juegue regularmente con sus dueños. Esto le permitirá gastar el exceso de energía y además le dará oportunidades de relacionarse con sus propietarios.

_Juntar la materia fecal para evitar la contaminación del ambiente y de prevenir enfermedades zoonóticas.

_Esterilizar machos y hembras con el fin de disminuir la superpoblación de animales sin dueño y, a su vez, para prevenir problemas médicos que son comunes en animales no castrados. Por otro lado, la castración evita que el animal presente conductas que pueden ser indeseables para el dueño, como la marcación urinaria propia de los machos enteros.

_Proveer a los perros de un adiestramiento básico. Esto es esencial para tener control sobre el animal y también ayuda a prevenir algunos problemas de conducta.

_Brindarle atención veterinaria para prevención y tratamiento de enfermedades que podrían atentarse contra la salud animal y humana en el caso de las zoonosis.

Consideraciones finales

Solucionar este problema no es sencillo y no hay una receta ideal. Cada ciudad, pueblo o municipio deberá encontrar la mejor manera de abordar el tema en dependencia de la idiosincrasia de sus ciudadanos, de los principios morales que rigen a la comunidad o de su propia historia. Más allá de las diferencias, en todos los casos se debería educar sobre el concepto de bienestar animal, aplicando políticas que reglamenten la tenencia responsable de mascotas. Bernard Rollin (2001) dice "La ley frecuentemente afecta a la moralidad pública, y la moralidad determina la ley". Por lo tanto, si bien los programas efectivos para el control de los perros callejeros deberían incluir una legislación adecuada, registro e identificación de los animales, castración de los perros con y sin dueño, control de los negocios que venden perros, de los criadores; es con EDUCACION que se lograrán cambios hacia actitudes perdurables. Los programas implantados sin un consenso y sin un trabajo de formación previo están destinados al fracaso.

El médico veterinario juega un papel destacado en los programas de educación, no sólo porque conoce cuáles son las necesidades de las mascotas, sino porque es interlocutor entre éstas y los propietarios. Las Facultades de Veterinaria deberían entender que entre sus objetivos curriculares no sólo está la formación de un profesional dispuesto a curar con la última y más compleja tecnología, sino también a un ser sensible dispuesto a mejorar el bienestar de sus pacientes: calidad de vida y no necesariamente cantidad.

Los programas de control de perros callejeros deberían, además, contar con el apoyo, no sólo de los Municipios, comuna y médicos veterinarios privados -avalados por los consejos profesionales correspondientes-, sino también de las asociaciones protectoras de animales, para que en conjunto se planifiquen y desarrollen las tareas. El sólo dictar normas o códigos de prácticas no garantiza el bienestar de los animales. Esos códigos son sólo lineamientos generales que nos permitirán ser más objetivos al momento de valorar el bienestar individual o de un grupo. También es necesario que las evidencias científicas y las consideraciones culturales deberían ser consideradas cuando se establecen aquéllos⁷.

Bibliografía

1. **American Veterinary Medical Association (AVMA). 2001.** A community approach to dog bite prevention. *JAVMA*, 218: 1732-1749.
2. **American Veterinary Medical Association (AVMA) 2007.** Companion animals, dog and cat population control. En: *The veterinarian's role in Animal Welfare*. pp.11-14.
3. **Beaver, B.V. 1999.** *Canine Behavior: A guide for veterinarians*. 1st ed., Saunders, Philadelphia, pp.43-105.
4. **Broom, D.M. 1991.** Animal Welfare: Concepts and measurement. *J. Anim.Sci.* 69:4167-4175.
5. **Broom, D.M. 2004.** Bienestar Animal. En: *Etología aplicada*. Ed F. Galindo Maldonado y A. Orihuela Trujillo. UNAM. México.pp. 51-87.
6. **Farm Animal Welfare Council. 1993.** Second report as priorities for research and development in farm animal welfare. Ministry of Agriculture. Fisheries and Food.
7. **Haupt, K.A.; Goodwin, D.; Uchida, Y.; Baranyiova, E.; Fatjo, J.; Kakuma, Y. 2007.** Proceedings of a workshop to identify dog welfare issues in the US; Japan, Czech Republic, Spain and de UK. *Applied Animal Behaviour Science*, 106 :221-233.
8. **Howe, L.M.; Olson, P.N. 2000.** Prepuberal gonadectomy- Early-Age Neutering of Dogs and cats En: *Recent advances in small animal reproduction*. Concannon PW, England E., Verstegen J. Eds.
9. **Hsu, Y.; Severinghaus, L.L.; Serpell, J.A. 2003.** Dog keeping in Taiwan: its contribution to the problem of free-roaming dogs. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 6:1-23.
10. **Kim Sturla, B.A. 1992.** Role of breeding regulation laws in solving the dog and cat overpopulation problem En: *AVMA Animal Welfare Forum: Overpopulation of unwanted dogs and cats*. Chicago.
11. **Manteca, X.V. 2002.** *Etología Clínica veterinaria del perro y del gato*. 3 Ed. Multimedica. Barcelona. p.9-87.
12. **Mentzel, R.E. 2004.** Origen y Evolución del vínculo humano-animal. *Revista de Medicina Veterinaria*, 85: 139-145.
13. **Miklosi, A.; Topál, J.; Csányi, V. 2004.** Comparativie social cognition: what can dogs teach us? *Animal Behaviour*. 67:995-1004.
14. **Muller, G. 2000.** Los trastornos de comportamiento durante la crianza en el perro. *Le Point Vétérinaire*, 31 (205): 109-116.
15. **Natoli, E. 1994.** Urban feral cats (*Felis catus* L.): perspectives for a demographic control respecting the psycho-biological welfare of the species. *Ann.* 1st 223-227.
16. **Pageat, P. 2002.** Nosografía de los problemas de comportamiento del perro. En: *Patología del comportamiento*. Pulso Ed. España. pp.269-372.
17. **Palma, D.C.; Viggiano, E.; Barillari, E.; Plame, R.; Dufour, A.B.; Fantini, C.; Natoli, E. 2005.** Evaluating the temperament in shelter dogs. *Behaviour*. 142: 1313-1334.
18. **Pope, V. 2005.** The animal issue: diversity in values and thoughts. En: *Animal Bioethics: principles and teaching methods*. Wageningen. Academic Publishers.
19. **Riva, E.; Sardella, N.; Hollman, P.; Denegri, G. 2006.** Relevamiento coproparasitológico de aceras y calles de la ciudad de Mar del Plata, Argentina. *Rev. vet.* 17:72-76.
20. **Rollin, B.E.; Rollin, M.D.H. 2001.** Dogmatism and catechisms- ethics and companion animals. *Anthrozoos*. 14:4-11.
21. **Rubel, D.; Wisnivesky, C. 2005.** Magnitude and distribution of canine fecal contamination and helmintho eggs in two area of different urban structure Greater Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*. 133: 339-347.
22. **Slater, M.R. 2001.** The role of veterinary epidemiology in the study of free-roaming dogs and cats. *Preventive Veterinary Medicine*. 48:273-286.
23. **Slater, M.R.; Di Nardo, A.; Pedroni, O.; Dalla Villa, P.; Candeloro, L.; Alessandrini, B.; Del Paya, S. 2008.** Free rooming dogs and cats in central Italy: public perceptions of the problem. *Preventive Veterinary Medicine*. 84: 27-47.
24. **Sommerfelt, I.E.; Cardello, N.; López, C., Ribiach, M.; Gallo, C.; Franco, A. 2006.** Prevalence of *Toxocara cati* and other parasites in cats' feces collected from the open spaces of public institutions: Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology* 140: 296-301.
25. **Sommerfelt, L.E.; Franco, J. 2002.** Relaciones entre el hombre y los animales de compañía. *Revista de Medicina Veterinaria*, 83: 181-184. STAFFORD KJ. 2007. *Free living dogs*. En: *The welfare of dogs*. Springer. Netherlands. pp.31-54.
26. **Temple Grandin, Mark J. 1998.** *Genetics and the behaviour of domestic animals*. Academic Press, San Diego, California.
27. **Tuber, D.S.; Millar, D.D.; Caris, K.A.; Halter, R.,; Linden, F.; Hennessy, M. 1999.** Dogs in Animal Shelters: Problems, Suggestions, and Needed Expertise. *American Psychological Society*. 10: 379-386.
28. **Weng, H.; Kass, P.H.; Chomel, B.B.; Hart, L.A. 2006.** Educational intervention in dog sterilization and retention in Taiwan. *Preventive Veterinary Medicine*. 76: 196-210.
29. **World Society for Protection of Animals (WSPA). 2003.** *Animales de Compañía 1: Programas de control de población*. En: *Conceptos de Bienestar Animal*.