



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

***Chaetophractus villosus* RESERVORIO Y/O
TRANSMISOR DE ALGUNAS ENFERMEDADES
INFECTO-CONTAGIOSAS Y/O ZOONÓTICAS QUE
AFECTAN A LOS RUMIANTES Y AL HOMBRE.**

Licenciada Marta Susana Kin

Directora: Dra. Emma B. Casanave

Director Asistente: Dr. en Med. Vet. Daniel Bedotti

2015

PREFACIO

Esta tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Instituto de Investigaciones Biológicas y Biomédicas del Sur, INBIOSUR (CONICET-UNS) y Cátedra de Fisiología Animal, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, durante el período comprendido entre el 08 de agosto de 2008 y el 31 de agosto de 2015, bajo la dirección de la Dra. Emma B. Casanave, Profesora Asociada de Fisiología Animal (DBByF-UNS) e Investigadora Independiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CONICET (INBIOSUR, CONICET-UNS) y el Dr. en Medicina Veterinaria Daniel Bedotti, Investigador de la Estación Experimental Agropecuaria INTA, Anguil.

Firma alumno:



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../....., mereciendo

la calificación de (.....)

Prólogo

Cambiaré de opinión tantas veces y tan a menudo como adquiriera conocimientos nuevos, el día que me aperciba que mi cerebro ha dejado de ser apto para esos cambios, dejaré de trabajar.

Compadezco de todo corazón a todos los que después de haber adquirido y expresado una opinión, no pueden abandonarla nunca más”.

Florentino Ameghino

AGRADECIMIENTOS

- A mi directora, Dra. Emma B. Casanave, por su guía en lo académico, por creer en mí, gracias por acompañarme en esta etapa.
- A mi director asistente, Dr. Daniel Bedotti, por todo el apoyo brindado.
- Al jurado Dra. Bibiana Brihuega, Dra. Graciela Navone y al Dr. Raúl Costamagna.
- Al Ms. Marcelo C. Fort, por el tiempo que me ha dedicado, por brindarme conocimiento, por no dejarme bajar los brazos y por guiarme en esta etapa tan importante de mi vida.
- Al técnico Hugo D. Giménez por su ayuda incondicional y por su amistad.
- A la Universidad Nacional del Sur, por permitirme realizar mi doctorado.
- Al Departamento de Farmacia, Bioquímica y Biología de la Universidad Nacional del Sur e Instituto de Investigaciones Biológicas y Biomédicas del Sur, INBIOSUR (CONICET-UNS), por brindarme sus instalaciones.
- A la Universidad Nacional de La Pampa, por permitirme realizar el doctorado.
- A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam, por brindarme sus instalaciones, como así también por la capacitación y apoyo brindado.
- A INTA Anguil que me abrió sus puertas, en donde procesé parte de las muestras y en donde aprendí conocimientos nuevos. Gracias por su cordialidad.
- Al director de la Estación Experimental Agropecuaria, (INTA) Anguil, Dr. Jesús Pérez Fernández, gracias por todo lo que me brindó y por confiar en mí.
- A todo los profesionales, técnicos y colaboradores que trabajan en el Laboratorio de Sanidad Animal de INTA Anguil, gracias por brindarme sus conocimientos y experiencias, por su amistad y por toda la ayuda brindada (Marcelo, Hugo D.,

Daniel, Ludmila, Valeria, Hernán, Ariel, Silvina, Carina, Ramón, Jorge, Lucas, María, Pablo, Violeta, Olga).

- Al laboratorio Santa Rosa que me abrió sus puertas para que pudiera realizar algunos de los test utilizados en esta tesis, y a todos los que trabajan allí, por su afecto, aliento y conocimiento brindado (Fernando, Luis, Marcelo, Lalo, Olga, Lito, Claudia, Silvana, Raúl, Lucho, Carolina).
- A todos los productores de campos, los cuales permitieron mi ingreso a sus predios para que yo pudiera acceder a las muestras.
- A todas aquellas personas que colaboraron con las capturas de algunos de los *C. villosus*, Lic. Andrea Biasotti, Sofía Gonzáles, Alberto Biasotti, Dr. E. Corro Molas, Ramón H. Bonetti, Aldana Cayron, Leticia Cayron, Leonardo Miranda, Rubén Ibarra y en especial a mis hijos, Eduardo y Gabriel, como así también la ayuda invaluable de mi esposo Carlos.
- A todos los profesionales y/o técnicos que me ayudaron con las diferentes técnicas, un profundo agradecimiento: Mr. Marcelo C. Fort, Hugo D. Giménez, Dr. Daniel Bedotti, Dr. Carlos Campero, Dra. Bibiana Brihuega, Dra. Lucía Campero, Dr. Gastón Mooré, Dr. Fernando Delgado, Dr. Norverto Fondevilla, Dra. Viviana Randazzo, Dra. Susana T. de Echaide, Dr. Ignacio Echaide, Graciela Romero, Mr. Daniel Funes, Dr. Norberto Fondevila, Jorge Urquiza, L. Linschinky, Diego Compaired.
- Al Ing. Francisco J. Babinec por su colaboración y ayuda en el análisis estadístico.
- A La Dra. Claudia I. Montalvo por todos los comentarios realizados y por su apoyo incondicional.

- A la Dra. Graciela Bazán, a la Lic. María José Galea, a la Lic. Andrea Biasotti y a todos los que me brindaron su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida y me dieron aliento en los momentos en los que los necesité, muchas gracias.
- A Cristina y Betina, por su amistad y por los momentos vividos.
- A un gran amigo, al Lic. Enrique R. Justo, por incentivarme a que realizara el doctorado, además quiero agradecerte infinitamente por todo el apoyo brindado y por todo lo que me enseñaste en los años en que trabajamos juntos. Muchas gracias.
- A mi familia, y en especial a mis hijos: Eduardo y Gabriel, a mis nietos Renata, Bruno y Joaquín, a Vanesa, a todos, muchas gracias por el apoyo y cariño brindado.
- A mi esposo, por tener paciencia, por apoyarme y colaborar en esta etapa de mi vida.
- Y mi agradecimiento para todas aquellas personas que no incluí en la lista, pero que me ayudaron o apoyaron durante la realización de la tesis.

A todos muchas gracias.

ABREVIATURAS Y SIGLAS

BPA: Prueba de antígeno buferado en placa

DO: Densidad óptica

ELISA-c: prueba de enzimoimmunoensayo de competición

ELISA-i: prueba de enzimoimmunoensayo indirecto

EMJH: Medio líquido de Ellinghausen, Mc Cullough, Johnson y Harris, con albúmina bovina factor V (EMJH) y semisólido de Fletcher.

FC: Fijación de complemento

FPA, POL: Prueba de Polarización de la Fluorescencia

HAI: Test de hemaglutinación indirecta

HD: Hospedador definitivo

HI: Hospedador intermediario

IICAB: *Intitute for International Cooperation in Animal Biologics*

IDAs: bandas de antígeno inmunodominante

IDGA: Prueba de inmunodifusión asociada al virus en gel de agar

IFAT: Prueba de inmunofluorescencia indirecta

IRPC: Índice relativo de las muestras

kDa: proteínas inmunorreactivas

KELA: *kinetic enzyme-linked immunosorbent assay*

LA: Prueba de aglutinación en Látex

MAT: Técnica de microaglutinación

MAT: Aislamiento en medio semisólido de Fletcher

M.E.P.R.A.: Misión de Estudios de Patología Regional de la Universidad de Buenos Aires

MLVA: *Multiple-Locus Variable number of tandem repeat Analysis* (Análisis de número variable de repeticiones en tándem)

mg: miligramos

ml: mililitros

mm: milímetros

mP: micropolarización

OIE: Organización Mundial de Sanidad Animal

OR: *Odds ratio*

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

REC: Reporte Epidemiológico de Córdoba

RBT: Test Rosa de Bengala

SAP: Seroaglutinación en placa

SAT: Seroaglutinación lenta en tubo

VIA: Prueba de inmunodifusión asociada al virus en gel de agar

WB: *Western blot*

2-ME: Seroaglutinación con 2-mercaptoetanol

μm: micrones

RESUMEN

Diferentes enfermedades infecto-contagiosas, comunes en los animales silvestres, pueden afectar a los animales domésticos y al hombre. Por lo tanto, su estudio es de gran interés sanitario. Muchas de las patologías presentes en los animales silvestres resultan de su condición de hospedadores y/o reservorios de los organismos causantes de esas enfermedades. En Argentina existe un limitado conocimiento del rol que pueden jugar las especies silvestres en el mantenimiento y la diseminación de las enfermedades infecto-contagiosas. Debido a su abundancia en áreas de ganadería y su contacto frecuente con el hombre y los animales domésticos, es de gran interés estudiar al armadillo *ChaetophRACTUS villosus* (Xenarthra, Dasypodidae) como posible reservorio y/o transmisor de esas enfermedades. Importa evaluar, entre otras, neosporosis, brucelosis, fiebre aftosa, tuberculosis, paratuberculosis, leptospirosis, toxoplasmosis, chagas, triquinelosis e hidatidosis. Estas enfermedades afectan tanto al hombre como a los rumiantes domésticos, impactando en forma significativa sobre la rentabilidad de las empresas ganaderas de cría.

El objetivo general de este trabajo fue investigar la presencia y los niveles de exposición a las enfermedades infecto-contagiosas mencionadas anteriormente en *ChaetophRACTUS villosus*, para determinar su importancia en la epidemiología de las mismas. El área de estudio incluyó la región central de la provincia de La Pampa

Se estudiaron 150 ejemplares provenientes de 12 sitios ubicados en los departamentos Atréucó, Capital y Toay. Los resultados evidenciaron que el 56% de los individuos de *ChaetophRACTUS villosus* estuvieron expuestos a *Mycobacterium bovis*, el 32% a *Neospora caninum*, el 12% a *Echinococcus granulosus* y el 16% a *Brucella* aislándose *Brucella suis* biovar 1. Por otra parte, se registró la presencia de anticuerpos contra *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en el 53,3% de los ejemplares y contra *Toxoplasma gondii* en el 27,3%. Se detectó además la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* en el 23,3% de los individuos muestreados, registrándose anticuerpos contra *L. interrogans* serovares Icterohaemorrhagiae, Canicola y Hardjo, y *Leptospira borgpetersenii* serovar Castellonis. Asimismo, se registró la presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el 4% y larvas de *Trichinella spiralis* en el 25,3% de los individuos. Todos estos resultados son los primeros que se registran en la provincia de

La Pampa para *C. villosus*. Más aún, en el caso de *M. bovis*, *N. caninum*, *E. granulosus* y *Brucella suis* biovar 1, los resultados aquí presentados representan el primer registro para *Xenarthra*. No se detectaron anticuerpos contra el virus de la Fiebre Aftosa. Se demostró experimentalmente que *C. villosus* se infecta con *N. caninum* y con *B. suis* biovar 1 aislándosela del útero, cuerno uterino, vulva uretral, cola del epidídimo, hígado, bazo, pulmón, ganglio mesentérico, ganglio axilar, riñón y de orina.

La presencia de las zoonosis indicadas representa un riesgo para los vertebrados que predan sobre *Chaetophractus villosus*, para los animales domésticos con los cuales comparte el mismo hábitat, y para los seres humanos cuando lo manipulan o consumen. Asimismo, podrían afectar a sus poblaciones naturales. Los resultados de este trabajo proporcionan información de interés epidemiológico y para la elaboración de planes de manejo de la especie.

ABSTRACT

Different common infectious diseases in wild animals can affect domestic animals and humans, so their study is of great public health interest. Many of the diseases present in wildlife result from their status as hosts and/or reservoirs of organisms that cause these diseases. In particular, in Argentina there is little knowledge of the role they can play these wild species in maintaining and disseminating them. Due to its abundance in areas of livestock and frequent contact with humans and pets, it is of great interest to study the big hairy armadillo (*Xenarthra*, *Dasypodidae*) as a possible reservoir and / or transmitter of these diseases. Import assess, among others, neosporosis, brucellosis, foot-and-mouth (FMD) disease, tuberculosis, paratuberculosis, leptospirosis, toxoplasmosis, Chagas disease trichinosis and hydatidosis that impact significantly on the profitability of livestock breeding companies.

The overall objective of this work was to investigate the presence and levels of exposure to the infectious diseases mentioned above in the big hairy armadillo, to determine its importance in their epidemiology. The study area included the central region of the province of La Pampa

Hundred and fifty specimens from 12 sites in Atreuco, Capital and Toay departments were studied. The results showed that 56% of *C. villosus* are exposed to *Mycobacterium bovis*, 32% to *Neospora caninum*, 12% to *Echinococcus granulosus* and 16% to *Brucella suis* biovar 1. Moreover, antibodies to *Mycobacterium avium* subsp paratuberculosis in 53.3% of the specimens and *Toxoplasma gondii* in 27.3% were also recorded. Presence of *Leptospira* was detected in 23.3% of individuals sampled, registering antibodies against *L. interrogans Icterohaemorrhagiae*, *Canicola* and *Hardjo* serovars and *Leptospira borgpetersenii Castellonis* serovar.

In addition, antibodies against *Trypanosoma cruzi* in 4% and larvae of *Trichinella spiralis* in 25.3% of subjects were established. All these results are the first ones obtained in the province of La Pampa for *C. villosus*.

Furthermore, in the case of *M. bovis*, *N. caninum*, *E. granulosus* and *Brucella suis* biovar 1, results here presented constitute the first record for *Xenarthra*. No antibodies against FMD virus were detected. It was experimentally demonstrated that *C. villosus* infected with *N. caninum* and *B. suis* biovar 1; they were isolated from the uterus,

uterine horn, urethral vulva, cauda epididymis, liver, spleen, lung, mesenteric lymph node, axillary lymph node, kidney and urine.

The presence of all those zoonoses represents a risk for vertebrates that prey on big hairy armadillo, for pets with which it shares the same habitat, and for humans when handled or consumed. They could also affect natural populations. The results of this study provide information of epidemiological interest and for the development of management plans for the species.

ESTRUCTURA DE LA TESIS

El presente estudio propone determinar la presencia de anticuerpos contra distintas enfermedades en *Chaetophractus villosus* en el centro de la provincia de La Pampa.

En el primer capítulo, a partir de una revisión bibliográfica general, se describe la ubicación taxonómica de *C. villosus*, su distribución geográfica y características biológicas; se mencionan diferentes investigaciones que se han llevado a cabo en la especie y su estatus zoonótico. Además, se caracterizan las áreas de estudio, procurando marcar las diferencias en cuanto al manejo y presencia de animales domésticos en cada una de ellas. Finalmente, se refiere la bibliografía consultada.

En cada uno de los capítulos siguientes (capítulos 2 a 11) se hace referencia a una enfermedad en particular, sucesivamente Fiebre Aftosa, Brucelosis, Tuberculosis, Paratuberculosis, Leptospirosis, Neosporosis, Toxoplasmosis, Chagas, Triquinelosis, Hidatidosis. Se propone una breve introducción a dicha enfermedad, su ciclo biológico, a qué es resistente, cuales son los síntomas que se manifiestan en los organismos cuando la misma está presente. Se menciona una lista de animales silvestres de Argentina y particularmente de La Pampa, en las cuales ha sido investigada dicha enfermedad. Se detallan las investigaciones realizadas en las distintas especies de Xenartros, en general, en Argentina y, particularmente, en La Pampa, aclarando si la misma ha sido estudiada en *C. villosus*. Se menciona el test con el cual se determinó la presencia de anticuerpos. Se detallan los resultados obtenidos. Se discuten los mismos y se listan las conclusiones a las cuales se ha arribado, como así también la bibliografía consultada.

Por último, se incluye un capítulo (capítulo 12) en donde se analiza cual es el riesgo que presenta *C. villosus* de contraer una determinada enfermedad, cuando posee anticuerpos contra otra enfermedad en particular. Además, se detallan las conclusiones finales a las que se ha llegado, en base a los resultados obtenidos para cada una de las enfermedades analizadas, se listan publicaciones realizadas y se proponen nuevas líneas de investigación, surgidas de esta tesis.

	Páginas
ÍNDICE	
Resumen	i-ii
Abstract	iii-iv
Estructura de la tesis	v
<u>CAPÍTULO I: <i>CHAETOPHRACTUS VILLOSUS</i></u>	1
1-INTRODUCCIÓN	1
1-a. Ubicación y distribución	1-2
1-b. Caracteres externos	3-4
1-c. Hábitos	4-6
1-d. Caracteres internos y reproducción	6-7
1-e. Alimentación	7
1-f. Estudios realizados en <i>Chaetophractus villosus</i>	7-8
1-g. Enfermedades	8-9
2- OBJETIVO GENERAL	9
2-a. Objetivos particulares	9-11
3- ÁREA DE ESTUDIO	11-13
4- MATERIALES Y METODOS	14-19
4-a. Análisis estadístico	19-20
5- BIBLIOGRAFÍA	20-31
<u>CAPÍTULO II: FIEBRE AFTOSA</u>	32
1- INTRODUCCIÓN	32-33
1.1- Ciclo biológico	33-34
1.2- Resistencia	34-35
1.3- Síntomas	35-36
1.4- Fiebre Aftosa en animales silvestres no Xenartros en Argentina	36
1.5- Fiebre Aftosa en Xenartros	36
1.6- Fiebre aftosa en Xenartros en la Provincia de La Pampa	37
2- MATERIALES Y MÉTODOS	37
3- RESULTADOS	37

4- DISCUSIÓN	38
5- CONCLUSIÓN	39
6- BIBLIOGRAFÍA	39-42
<u>CAPÍTULO III: BRUCELOSIS</u>	43
1- INTRODUCCIÓN	43-44
1.1- Ciclo biológico	45-46
1.2- Resistencia	46-47
1.3- Síntomas	47
1.4- Brucelosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina	47-48
1.5- Brucelosis en Xenartros	48-49
1.6- Brucelosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa	49
2- MATERIALES Y MÉTODOS	49-50
2.1- Infección experimental	50-51
3- RESULTADOS	51-58
3.1- Infección experimental	58-59
4- DISCUSIÓN	59-62
5- CONCLUSIÓN	62
6- BIBLIOGRAFÍA	62-66
<u>CAPÍTULO IV: TUBERCULOSIS</u>	67
1- INTRODUCCIÓN	67-68
1.1- Ciclo biológico	68-69
1.2- Resistencia	69
1.3- Síntomas	69-70
1.4- Tuberculosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina	70
1.5- Tuberculosis en Xenartros	70-71
1.6- Tuberculosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa	71
2- MATERIALES Y MÉTODOS	71
3- RESULTADOS	71-76
4- DISCUSIÓN	76-77

5- CONCLUSIÓN	77-78
6- BIBLIOGRAFÍA	78-80

<u>CAPÍTULO V: PARATUBERCULOSIS</u>	81
1- INTRODUCCIÓN	81-82
1.1- Ciclo biológico	82-83
1.2- Resistencia	83
1.3- Síntomas	83-84
1.4- Paratuberculosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina	84
1.5- Paratuberculosis en Xenartros	85
1.6- Paratuberculosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa	85
2- MATERIALES Y MÉTODOS	85-86
3- RESULTADOS	86-91
4- DISCUSIÓN	91-93
5- CONCLUSIÓN	93-94
6- BIBLIOGRAFÍA	94-97

<u>CAPÍTULO VI: LEPTOSPIROSIS</u>	98
1- INTRODUCCIÓN	98
1.1- Ciclo biológico	98-100
1.2- Resistencia	100
1.3- Síntomas	100-101
1.4- Leptospirosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina	101-105
1.5- Leptospirosis en Xenartros	106-109
1.6- Leptospirosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa	109
2- MATERIALES Y MÉTODOS	109-110
3- RESULTADOS	110-116
3.1- Lesiones anatomopatológicas macroscópicas	116
3.2- Lesiones histopatológicas	116-117
4- DISCUSIÓN	118-120
5- CONCLUSIÓN	121
6- BIBLIOGRAFÍA	122-129

<u>CAPÍTULO VII: NEOSPOROSIS</u>	130
1- INTRODUCCIÓN	130-131
1.1- Ciclo biológico	131-133
1.2- Resistencia	133
1.3- Síntomas	133-134
1.4- Neosporosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina	134-135
1.5- Neosporosis en Xenartros	135
2- MATERIALES Y MÉTODOS	135-136
2.1- Infección experimental	137
3- RESULTADOS	137-141
3.1- Infección experimental	142
3.2- Western Blot	143
4- DISCUSIÓN	144-146
5- CONCLUSIÓN	146
6- BIBLIOGRAFÍA	146-153
<u>CAPÍTULO VIII: TOXOPLASMOSIS</u>	154
1- INTRODUCCIÓN	154
1.1- Ciclo biológico	154-156
1.2- Resistencia	156
1.3- Síntomas	157-158
1.4- Toxoplasmosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina	158-159
1.5- Toxoplasmosis en Xenartros	159-160
1.6- Toxoplasmosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa	160
2- MATERIALES Y MÉTODOS	160-161
3- RESULTADOS	161-166
4- DISCUSIÓN	166-168
5- CONCLUSIÓN	168-169
6- BIBLIOGRAFÍA	169-174
<u>CAPÍTULO IX: CHAGAS</u>	175

1- INTRODUCCIÓN	175
1.1- Ciclo biológico	175-176
1.2- Resistencia	176-177
1.3- Síntomas	177
1.4- Chagas en animales silvestres no Xenartros en Argentina	177-178
1.5- Chagas en Xenartros	178-183
1.6- Chagas en Xenartros en la Provincia de La Pampa	184
2- MATERIALES Y MÉTODOS	184
3- RESULTADOS	184-188
4- DISCUSIÓN	188-189
5- CONCLUSIÓN	189
6- BIBLIOGRAFÍA	190-199

CAPÍTULO X: TRIQUINELOSIS

200

1- INTRODUCCIÓN	200-201
1.1- Ciclo biológico	201-203
1.2- Resistencia	203
1.3- Síntomas	203-204
1.4- Triquinelosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina	204-206
1.5- Triquinelosis en Xenartros	206
1.6- Triquinelosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa	206
2- MATERIALES Y MÉTODOS	207
3- RESULTADOS	207-212
4- DISCUSIÓN	213-214
5- CONCLUSIÓN	214-215
6- BIBLIOGRAFÍA	215-220

CAPÍTULO XI: HIDATIDOSIS

221

1- INTRODUCCIÓN	221-222
1.1- Ciclo biológico	222-224
1.2- Resistencia	225

1.3- Síntomas	225-226
1.4- Hidatidosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina	226-227
1.5- Hidatidosis en Xenartros	227
1.6- Hidatidosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa	227
2- MATERIALES Y MÉTODOS	227-228
3- RESULTADOS	228-232
4- DISCUSIÓN	232-234
5- CONCLUSIÓN	234
6- BIBLIOGRAFÍA	234-238

CAPÍTULO XII: ANÁLISIS DE LAS DISTINTAS ENFERMEDADES Y

<u>CONCLUSIÓN FINAL</u>	239
1.1- Brucelosis	239
1.2- Tuberculosis	239
1.3- Paratuberculosis	239-240
1.4- Leptospirosis	240
1.5- Neosporosis	240
1.6- Toxoplasmosis	240
1.7- Chagas	240-241
1.8- Triquinelosis	241
1.9- Hidatidosis	241
1.10- Presencia de anticuerpos contra distintas enfermedades según los sitios de captura de <i>Chaetophractus villosus</i>	242
1.11- Enfermedades no detectadas según los sitios	242-243
2- SÍNTESIS DE PRINCIPALES CONCLUSIONES	243-245
3- PUBLICACIONES ORIGINADAS DE LA TESIS	245-246
3.1- Reportaje	246
3.2- Participación a jornadas y congresos	246
3.3- Tesinas realizadas	246
4- LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN A DESARROLLARSE	246-247

CAPÍTULO I: *CHAETOPHRACTUS VILLOSUS*

1- INTRODUCCIÓN

Diferentes enfermedades infecto-contagiosas comunes en animales silvestres pueden afectar a los animales domésticos y al hombre, por lo que su estudio es de gran valor sanitario. Muchas de las patologías presentes en animales silvestres resultan de su condición de hospedadores y/o reservorios de organismos causantes de esas enfermedades. En particular, en la Argentina hay escaso conocimiento del rol que pueden jugar esas especies silvestres en el mantenimiento y diseminación de las mismas. Importa evaluar, entre otras, neosporosis, brucelosis, fiebre aftosa, tuberculosis, paratuberculosis, leptospirosis, toxoplasmosis, chagas, triquinelosis e hidatidosis ya que impactan en forma significativa sobre la rentabilidad de las empresas ganaderas de cría. Debido a su abundancia en áreas de ganadería y su contacto frecuente con el hombre y animales domésticos, es de gran interés estudiar al armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenartra, Dasypodidae) como posible reservorio y/o transmisor de esas enfermedades.

1.a- Ubicación sistemática y distribución

Chaetophractus villosus (Desmarest, 1804), conocido vulgarmente como peludo, quirquincho mediano o armadillo, es un mamífero euterio exclusivamente americano, muy común en Argentina (Figura 1).



Figura 1: Ejemplar de *Chaetophractus villosus*.

Su ubicación Sistemática (Gardner 2005, Montero y Autino 2009) es:

Phyllum: CHORDATA

Suphyllum: CRANIATA

Clase: MAMMALIA Linnaeus, 1758

Subclase: THERIA

Infraclase: EUTHERIA

Superorden: XENARTHRA Cope, 1889

Orden: CINGULATA Illiger, 1811

Familia: DASYPODIDAE Gray, 1821

Subfamilia: EUPHRACTINAE Winge, 1923

Género: *Chaetophractus* Fitzinger, 1871

Especie: *Chaetophractus villosus* (Desmarest, 1804)

Nombre vulgar: Peludo o quirquincho grande.

Se distribuye desde el Gran Chaco de Bolivia, Paraguay, sureste de Chile y en Argentina en Jujuy, Chaco, Formosa, Santiago del Estero, Santa Fe, Córdoba, Mendoza, San Luis, La Pampa, Buenos Aires, Neuquén, Río Negro, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego (Azize Atalath 1975, Gardner 2005, Barquez et al. 2006, Poljak et al. 2007, Abba y Superina 2010, Abba y Vizcaíno 2011, Abba et al. 2005, 2009, 2010, 2012, 2014, Rimoldi y Abba 2013, Figura 2). Si bien en la actualidad no se encuentra en la provincia de Corrientes, estuvo presente en el Cuaternario, Pleistoceno tardío (Francia y Ciancio 2013).

Los primeros registros datan del Plioceno medio de la localidad de Chapadmalal (provincia de Buenos Aires), a partir de allí sufrieron una importante radiación adaptativa (Poljak et al. 2010). Su categoría taxonómica es de preocupación menor (Díaz y Ojeda 2000, Superina et al. 2012).

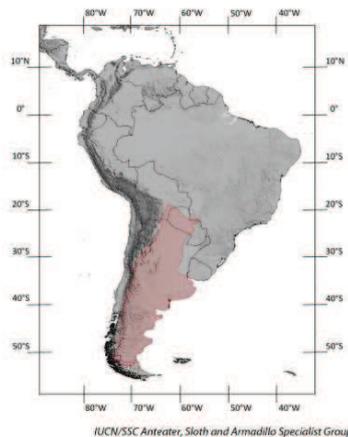


Figura 2: Distribución geográfica de *Chaetophractus villosus* según la IUCN/SSC (Abba y Superina 2010).

1.b- Caracteres externos

Presentan el cuerpo cubierto por un caparazón bien desarrollado, con 7-8 bandas móviles suficientemente articuladas entre sí, que le permiten una flexión casi completa del cuerpo (Figura 3a) sin llegar a enrollarse en bola compacta, como en *Tolypeutes*, (Figura 3b) debido a que los escudos escapular y pelviano no son tan convexos (Cabrera y Yepes 1960).

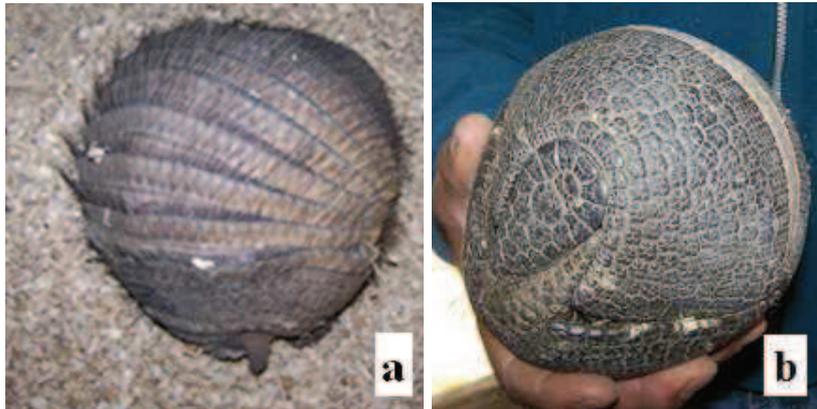


Figura 3: a- *C. villosus* durmiendo enrollado. b- *Tolypeutes matacus* enrollado.

La longitud del escudo pelviano no alcanza al doble del escudo escapular; la cola es cónica y está recubierta de placas, la longitud es menor que la mitad del largo cabeza-cuerpo; el escudo cefálico es consistente y de contornos bien definidos, las orejas son medianas y puntiagudas (Cabrera y Yepes 1960, Figura 4a). En el escudo pelviano se observa la presencia de 2 a 3 glándulas pelvianas que secretan unas gotas de un líquido incoloro o amarillento, de un olor muy desagradable, cuando el individuo es molestado (Estecondo y Casanave 1999). Esta secreción actuaría como feromona o intervendría en el marcado territorial (Casanave et al. 2002, Figura 4b).

El caparazón posee pelo hirsuto y abundante, aunque no muy largo con el vientre y los flancos muy peludos (Cabrera y Yepes 1960). Los pelos del dorso, la cabeza y las extremidades son castaños, mientras que los ventrales son blancuzcos, levemente amarillentos o rojizos; la coloración general es pardo grisáceo, con los bordes del caparazón algo más claros (Canevari y Vaccaro 2007).

El peso al nacer es de unos 155 gramos y en edad adulta entre 1,5 kg y 3,6 kg (Parera 2002), a más de 4 kg (observación personal).

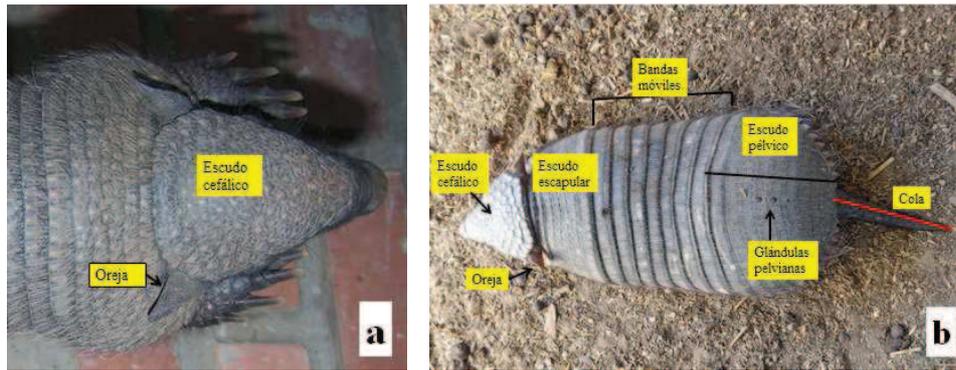


Figura 4: a- Cabeza de *Chaetophractus villosus* en donde se observa el escudo cefálico y las orejas puntiagudas. b- Vista dorsal de *Chaetophractus villosus* en donde se observa el escudo cefálico, las orejas, el escudo escapular, las hileras de bandas móviles, el escudo pélvico con las glándulas pelvianas y la cola.

Las crías de unos tres días miden 182 mm de largo total (Ceresoli et al. 2003) y el adulto varía entre un mínimo de 386 mm (Redford y Eisenberg 1992) y un máximo de 515 mm (Ceresoli et al. 2003), si bien nosotros hemos registrado individuos que superan los 540 mm.

1.c- Hábitos

Es una especie de hábitos tanto diurnos como nocturnos, cavadores, con extremidades robustas, provistas de uñas desarrolladas en todos los dedos, en especial las anteriores, que alcanzan 15 a 20 mm (Casanave et al. 2002, Ciuccio et al. 2007, Figura 5a). Construyen diversos tipos de cuevas (Figura 5b) simples y complejas, con distintas finalidades y características (Luengos Vidal et al. 1997, Abba et al. 2005, Ruíz Aravena 2012).



Figura 5: a- *C. villosus* en posición ventral en donde se observan las extremidades anteriores con las garras bien desarrolladas, b- Cueva activa de *C. villosus*.

Viven en zonas abiertas como pastizales, estepas, monte, sabanas y en ambientes modificados por el hombre, en donde la actividad principal es la agrícola-ganadera. Comparten los mismos ambientes que el ganado doméstico y en muchos lugares forman parte de la dieta de los lugareños (obs. pers.). Son considerados plagas por los productores rurales debido a los daños que ocasionan en sus cultivos (Figura 6a, b) o por romper los silos bolsa (Figura 6c, obs. pers., Abba et al. 2015). Merino Tosoni y Pennisi (2010), registraron 583 plantas de girasol volcadas por hectárea, debido al excavado que produce *C. villosus*, en cultivos implantados bajo el sistema de siembra directa, en la región centro-este de La Pampa.



Figura 6: a- plantas de girasol volteadas por el excavado de *C. villosus* b- cabeza de girasol comida por *C. villosus*, c- Cueva de *C. villosus* excavada debajo de silo bolsa, donde se pueden observar granos de semillas, debido a la ruptura de la bolsa en la parte inferior.

Se desconoce cuántos años pueden vivir en su hábitat natural, pero en cautiverio pueden llegar hasta los 24 años (Canevari y Vaccaro 2007).

Duermen en posición lateral (Figura 7a), enrollados (Figura 3), o con el vientre hacia arriba (Figura 7b, 7c), posiblemente dependiendo de la temperatura ambiente, y se exponen al sol cuando esta es baja (Figura 7d).



Figura 7: a- *C. villosus* durmiendo en decúbito lateral y cabeza abajo, b- decúbito dorsal.



Figura 7: **c-** *C. villosus* durmiendo en decúbito dorsal, **d-** exponiéndose al sol, en decúbito dorsal o decúbito ventral.

La temperatura corporal puede variar entre 33,2 °C y 36 °C (Roig y Henríquez 1984, Casanave y Affanni 1994), por lo que la temperatura ambiente es muy importante en sus hábitos de vida.

1.d- Caracteres internos y reproducción

El cráneo y las mandíbulas son semejantes en ambos sexos, pero en las hembras son de mayor tamaño (Squarcia et al. 1994, 1999, 2009). Los dientes son homodontes, de raíz abierta y están desprovistos de esmalte, son de contornos muy sencillos, sin una distinción de corona y de poca altura sobre el nivel del alvéolo, todos son de posición lateral, con ausencia de incisivos (Cabrera y Yepes, 1960). La fórmula dentaria es $9/10 = 38$, ubicándose el primer molariforme en el premaxilar (Figura 8).



Figura 8: Cráneo de *C. villosus* en donde se observan los dientes homodontes.

Los machos presentan testículos de posición intraabdominal, con interrupción temporal de la espermatogénesis durante el período comprendido entre mediados a finales

de otoño, en correlación con niveles muy bajos de testosterona (Luaces et al. 2012). Las hembras no presentan verdadera vagina (Cetica et al. 2005). La madurez sexual sobreviene aproximadamente a los nueve meses (Canevari y Vaccaro 2007).

En nuestra área de estudio hemos observado hembras preñadas en los meses de agosto hasta enero y en el mes de marzo. La gestación dura entre 60 a 75 días y nacen normalmente dos crías, que abren sus ojos a las dos semanas y son amamantadas unos dos meses (Redford y Eisenberg 1992).

1.e- Alimentación

En cuanto a sus hábitos alimenticios son generalistas. Su dieta consiste en semillas (Figura 9a) y otro material vegetal, insectos y sus larvas, otros invertebrados, vertebrados pequeños, placentas y/o fetos abortados (obs. pers.) y carroña (Figura 9b, Bruno y Cuéllar 2000, Casanave et al. 2002, Olocco Diz et al. 2006, Ciuccio et al. 2007, Abba y Superina 2010). Cavan debajo de las carcasas de ganado o animales silvestres e incluso dentro de ellas para obtener larvas y adultos de insectos y carroña (Bolkovic et al. 1999; obs. pers.).



Figura 9: a- *Chaetophractus villosus* alimentándose de semillas de girasol, b- *C. villosus* alimentándose de un bovino muerto.

1.f- Estudios realizados en *C. villosus*

Debido a sus particularidades fisiológicas y anatómicas, *C. villosus* ha sido y es usado como modelo experimental, animal de laboratorio no tradicional, en investigación biomédica (Iódice 2009).

Se realizaron distintas investigaciones morfológicas, entre ellas sobre el sistema olfatorio (Affanni et al. 1969, Ferrari et al. 1998, entre otros); órgano vomeronasal (Carmanchahi et al. 1999, 2000, Iódice et al. 2010), glándula lacrimal y nictitante (Aldana

Marcos et al. 2002), encéfalo (Benítez et al. 1994); osteología craneana (Squarcia et al. 2006); bulla timpánica (Squarcia et al. 2007); estructura esplénica (Galíndez et al. 1997); morfología del tracto digestivo y de la lengua (Estecondo et al. 1995, 2004); oído medio (Sidorkewicz y Casanave 2012); esqueleto de la mano (Galliari 2014); glándula de Harder (Aldana Marcos 1996, 2005, Cavagnari et al. 1998); ovario y folículos ováricos (Codón y Casanave 1996, 2005, Codón et al. 2001); oviducto (Codón y Casanave 2009); espermatozoides (Cetica et al. 1993, 1998); placenta (Adamoli et al. 2001, Rezende et al. 2012); células de Sertoli (Luaces et al. 2014); glándulas pelvianas (Fernández 1922, Estecondo y Casanave 1999, Estecondo et al. 2000); leucocitos (Polini et al. 1999) y plaquetas (Bermúdez et al. 2004).

Con respecto a la fisiología se demostró ausencia de apnea (Affanni et al. 1987), desarrollo de bradicardia (Casanave et al. 1995) y descenso de temperatura corporal (Casanave y Affanni 1995), en condiciones de enterramiento experimental; se demostró la ausencia de erecciones durante el sueño paradójico en los machos (Affanni et al. 2001), cambios estacionales en hormonas ováricas (Luaces et al. 2011a) y estacionalidad de la espermatogénesis (Luaces et al. 2012, 2014); se describió el trazado del electrocardiograma (Maldonado y Casanave 1996); parámetros hematológicos (Casanave y Polini 1999); mecanismos hemostáticos (Casanave et al. 2005); coagulación y sistema fibrinolítico (Casanave et al. 2006, Tentoni et al. 2008, 2010); ácidos biliares fecales (Ciuccio et al. 2007, Araujo et al. 2010); proteínas de la leche (Hernández et al. 2001); lípidos y ácidos grasos plasmáticos (Maldonado et al. 2002), estructura de algunas proteínas (Costabel et al. 2006) y, a nivel genético, cromosomas y cariotipo (Jorge et al. 1978, Lizarralde et al. 2005, Sciurano et al. 2006, 2012, Rossi et al. 2014).

Asimismo, se analizó ampliamente la fauna ecto y endoparasitológica (Navone y Lombardero 1980, Navone 1986, 1987a-b, 1988, 1990, Notarnicola y Navone 2003, Ezquiaga et al. 2008, del Arco 2013, Ezquiaga y Navone 2014, Ezquiaga et al. 2015), entre otras investigaciones.

1.g- Enfermedades

Poco se sabe de la presencia o ausencia de enfermedades zoonóticas en *C. villosus*, y nada para la provincia de La Pampa.

Experimentalmente se ha comprobado que es receptivo al virus de la Fiebre Aftosa (Campion 1950). Varios investigadores han detectado la presencia de anticuerpos contra

Leptospira y se han realizado algunos aislamientos (Tedesco y Szyfres 1964, Cacchione et al. 1966, Szyfres et al.1967, García-Carrillo et al. 1972, Cuba-Caparó y Myers 1977, Myers et al. 1977, Scialfa et al. 2012, 2013). Asimismo, se ha detectado la presencia de larvas de *Trichinella* (Niño 1937, Neghme y Schenone 1970, Boero 1970a, Acha y Szyfres 1977, Tesón et al. 1997, Huici et al. 1999, Krivokapich et al. 2006, Pozio y Murrell 2006, Ribicich et al. 2010) y de *Trypanosoma cruzi* (M.E.P.R.A.1946, Mazza 1949, Boero 1970b, Barreto y Barreto 2011).

Se desconoce si *C. villosus* interviene en el ciclo de toxoplasmosis, hidatidosis, neosporosis, brucelosis, tuberculosis y paratuberculosis, las cuales afectan tanto a los animales domésticos, como a los animales silvestres y al humano.

2- OBJETIVO GENERAL

Investigar la presencia y/o niveles de exposición a fiebre aftosa, brucelosis, tuberculosis, paratuberculosis, leptospirosis, neosporosis, toxoplasmosis, chagas, triquinelosis e hidatidosis, en el armadillo *Chaetophractus villosus*, lo que permitirá establecer si la especie tiene importancia en la epidemiología de estas enfermedades que afectan a los rumiantes domésticos y al hombre, y aportar los primeros datos sobre el tema para el centro de la provincia de La Pampa.

2- a. Objetivos particulares

Objetivo 1: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de anticuerpos contra el virus de la Fiebre Aftosa en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 1: *C. villosus* está expuesto al virus de la Fiebre Aftosa en el centro de la provincia de La Pampa.

Objetivo 2: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de anticuerpos contra *Brucella* sp. en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 2: *C. villosus* está expuesto a *Brucella* sp. en el centro de la provincia de La Pampa.

Objetivo 3: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de anticuerpos contra *Mycobacterium bovis* en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 3: *C. villosus* está expuesto a *M. bovis* en el centro de la provincia de La Pampa.

Objetivo 4: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de anticuerpos contra *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 4: *C. villosus* está expuesto a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en el centro de la provincia de La Pampa.

Objetivo 5: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp. en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 5: *C. villosus* está expuesto a *Leptospira* sp. en el centro de la provincia de La Pampa

Objetivo 6: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 6: *C. villosus* está expuesto a *Neospora caninum* en el centro de la provincia de La Pampa.

Objetivo 7: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 7: *C. villosus* está expuesto a *Toxoplasma gondii* en el centro de la provincia de La Pampa.

Objetivo 8: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 8: *C. villosus* está expuesto a *T. cruzi* en el centro de la provincia de La Pampa.

Objetivo 9: Determinar en *Chaetophractus villosus* la prevalencia de larvas de *Trichinella* sp. en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 9: *C. villosus* está expuesto a *Trichinella* sp. en el centro de la provincia de La Pampa.

Objetivo 10: Determinar en *C. villosus* la prevalencia de anticuerpos contra *Echinococcus granulosus* en el centro de la provincia de La Pampa.

Hipótesis 10: *C. villosus* está expuesto a *E. granulosus* en el centro de la provincia de La Pampa.

3- ÁREA DE ESTUDIO

El muestreo se realizó en los departamentos Capital, Atreucó y Toay, de la provincia de La Pampa (Figura 10). En todos los sitios (Tabla 1, 2, Figura 10, 11) donde se capturaron los ejemplares se realizan diferentes tipos de actividad productiva agrícola ganadera, con presencia de bovinos, de perros y gatos domésticos, con o sin presencia de tambo en el mismo predio rural o lindante a él y con presencia o no de ovinos, cerdos y aves de corral con destino al consumo familiar.

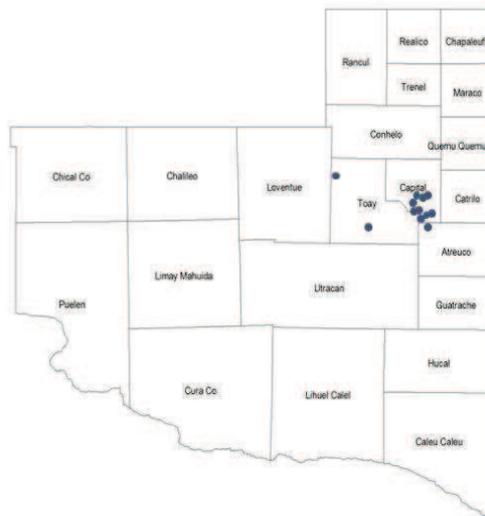


Figura 10: Mapa de la provincia de La Pampa con sus respectivos departamentos. Los círculos representan cada uno de los sitios de muestreos de *C. villosus*.

Los sitios de muestreo están comprendidos dentro del Dominio Chaqueño, provincia fitogeográfica del Espinal, distrito del Caldén, que se extiende desde el centro de San Luis y de La Pampa hasta el sur de Buenos Aires (Cano 1980). Se caracteriza por ser una región hídrica subhúmeda a seca, con una precipitación media anual de 500 a 600 mm.

El suelo es del tipo molisol, de textura entre franco y franco arenoso, con permeabilidad y drenaje rápido, con la presencia de un horizonte superficial oscuro,

provisto de materia orgánica y relativamente espeso, cuya vegetación es el monte del caldén (*Prosopis caldenia*), pastizales y cultivos (Cano 1980), siendo en la actualidad un área modificada por los efectos del desmonte, el sobrepastoreo y los incendios (Rúgolo de Agrasar et al. 2005).

Tabla 1: Denominación y ubicación geográfica de los sitios muestreo de *C. villosus*. Referencia color figura 10.

Sitios	Latitud	Longitud	Sitios (símbolo color)
Arca de Noe	36°47'37,11"S	64°10'03,40"O	A (rosa)
El Indio	36°48'45,52"S	64°08'22,22"O	A1 (rosa)
El Bajo	36°46'21,35"S	64°08'03,59"O	B (verde)
El Coraje	36°46'18,18"S	64°06'53,81"O	B1 (verde)
El Irupé	36°41'34,84"S	64°11'10,08"O	C (celeste)
Laco	36°42'03,04"S	64°12'28,02"O	C1 (celeste)
Colonia el Indio	36°30'01,73"S	64°08'05,27"O	D (azul)
Granja Don Juan	36°29'37,68"S	64°15'44,57"O	D1 (azul)
Campus UNLPam	36°32'57,58"S	64°18'16,36"O	D2 (azul)
INTA Anguil	36°32'32,80"S	63°59'26,42"O	D3 (azul)
El Ciprés	36°51'41,93"S	64°29'16,95"O	E (amarillo)
La Florida	36°22'16,64"S	65°02'48,23"O	F (blanco)

Tabla 2: Actividades realizadas en los distintos sitios de captura de *C. villosus*.

	Sin tambo	Con tambo	Ovinos	Porcinos	Aves de corral	Bovinos	Agricultura
A	X		X		X	X	X
A1	X					X	X
B	X		X			X	X
B1	X		X	X	X	X	X
C		X			X	X	X
C1		X				X	X
D	X					X	X
D1		X			X	X	X
D2		X	X	X	X	X	X
D3	X		X			X	X
E	X		X		X	X	X
F	X					X	X

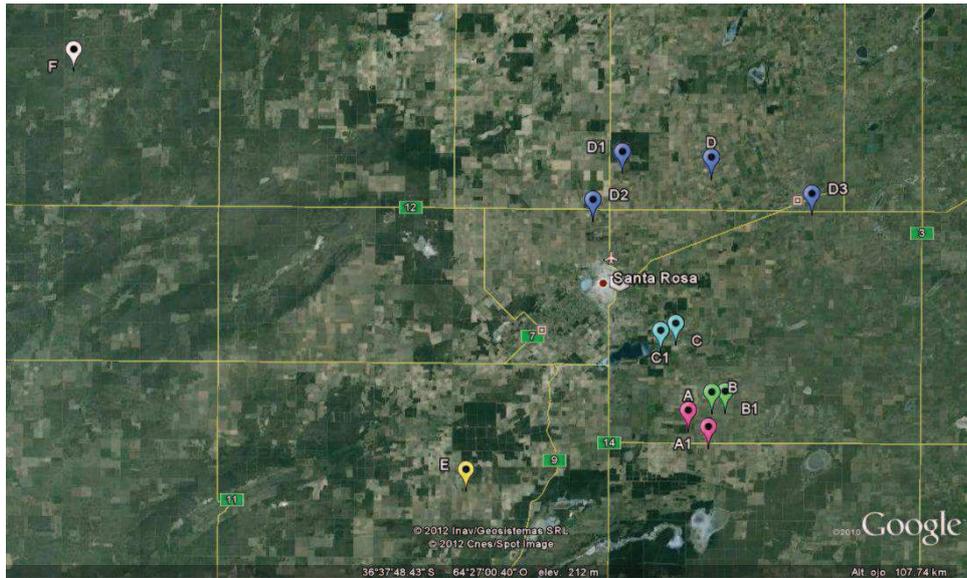


Figura 11: Imagen satelital mostrando la ubicación de los distintos sitios de muestreo de *C. villosus*. Por coordenadas geográficas ver tabla 1. Por características entre los sitios ver tabla 2.

Las distancias a los distintos sitios de muestreo, considerando la Capital de La Pampa, Santa Rosa, como punto central, se presentan en Tabla 3 y Figura 12.

Tabla 3: Distancia (en km) desde Santa Rosa, Capital de La Pampa, a cada uno de los sitios de muestreo.

Sitios	Sitio A	Sitio A1	Sitio B	Sitio B1	Sitio C	Sitio C1	Sitio D	Sitio D1	Sitio D2	Sitio D3	Sitio E	Sitio F
Distancia en km desde Santa Rosa	21,67	24,77	21,33	22,36	11,65	11,04	18,74	14,22	8,23	27,43	32,46	73,99

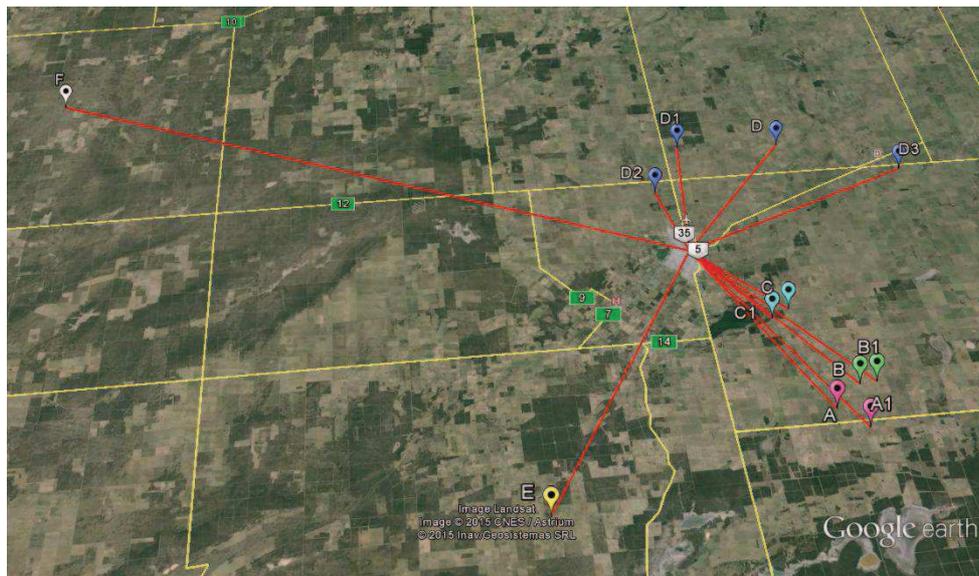


Figura 12: Imagen satelital de los distintos sitios de muestreo de *C. villosus*; en línea roja se representa la distancia desde Santa Rosa hasta cada uno de ellos.

4- MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los años 2007 al 2010 se capturaron 150 individuos (70 machos y 80 hembras) de la especie *C. villosus* en los distintos sitios muestreados (Tabla 1).

Para la determinación del tamaño muestral se utilizó el programa Epi info.6. Versión 6.04d, opción Epi table, con un tamaño de población estimada en la provincia de La Pampa de unos 10.000 y en la zona de captura de *C. villosus* se estimó en unos 3000 individuos, con una precisión deseada del 5%, prevalencia esperada del 10%, efecto de diseño del 1%, Riesgo del 10% y nivel de confianza del 95%; si bien los valores obtenidos indicaron un tamaño muestral de unos 133 individuos, se decidió aplicar para la tesis un tamaño muestral de 150 individuos. Del total de la muestra, 23 ejemplares fueron juveniles y 127 adultos. Se consideraron juveniles aquellos individuos cuyo largo total (incluida la cola) no superó los 460 mm. (Figura 13a y 13b).



Figura 13a- *C. villosus* juvenil. **3b-** *C. villosus* juvenil en porción superior derecha y adulto en porción inferior izquierda.

Las capturas se realizaron en forma manual, al azar; los ejemplares se ubicaron con la luz de un vehículo, luz diurna, o con luna llena, al atardecer o bien con la ayuda de perros rastreadores (Figura 14a, b, c y d), realizando caminatas por los distintos sitios de muestreo (Tabla 4, Figura 15: A, A1, B, B1, C, C1, D, D1, D2, D3, E y F).

Tabla 4: Número de individuos (n) de *C. villosus* capturados en los distintos sitios de muestreo.

Sitios	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
n	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4

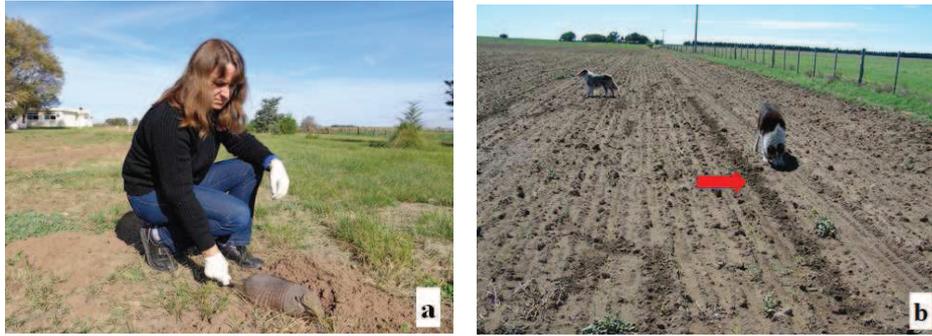


Figura 14: a- *C. villosus* capturado con la mano, b- Perros olfateando el rastro de *C. villosus* (→).

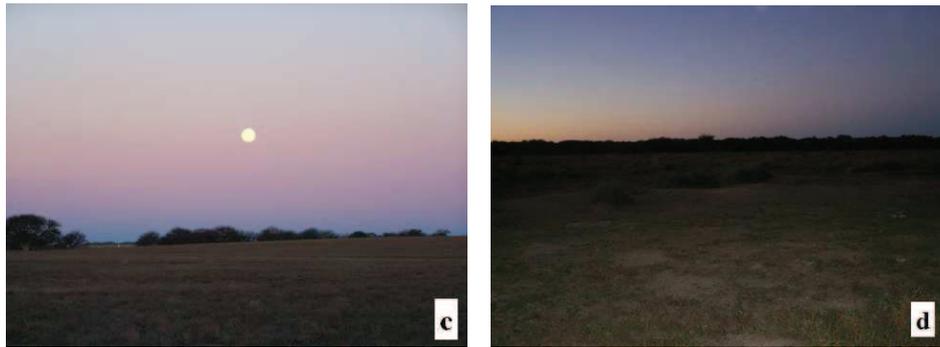


Figura 14: c - Búsqueda de *C. villosus* con luna llena, y d- al atardecer en distintos sitios de muestreo.





Figura 15: Las distintas imágenes muestran los diferentes sitios (A, A1, B, B1, C, C1, D, D1, D2, D3, E y F) donde fueron capturados los *C. villosus*.

Los ejemplares de *C. villosus* utilizados para experimentación se alojaron en recintos ubicados dentro del predio de la Experimental INTA, Anguil. Los mismos tienen 1,50 mts de ancho x 2,50 mts de largo x 1,30 mts de alto, piso de cemento con tierra, con agua y alimento *ad libitum* (semillas de centeno, trigo, maíz y 20 grs de alimento balanceado para caninos Pompy Mix Tradicional, dos veces por semana), Figura 16).



Figura 16: a- Recinto donde se alojaron los *C. villosus* usados para experimentación (parte externa). b- Parte interna de los habitáculos donde se alojaron los ejemplares. c y d- *C. villosus* alimentándose.

Se deja constancia que la captura de los armadillos se realizó con la autorización del Ministerio de la Producción, Subsecretaría de Asuntos Agrarios y Dirección de Recursos Naturales de la provincia de La Pampa y con el permiso de los propietarios de los predios rurales.

Se extrajo (sin anestesia), por punción de la *rete mirabile* de la cola (Luaces et al. 2011b, Figura 17a-b), una muestra de sangre, que fue centrifugada mediante una centrífuga Gelec-G 142.D, Argentina) a 2500 rpm, durante 15 minutos. Luego se procedió a separar

el suero, colocarlo en tubos Ependorf (Figura 17c) y almacenarlo en un freezer a -20°C , hasta su procesamiento.



Figura 17: **a-b** Extracción de una muestra de sangre de la vena caudal en campo y en laboratorio, **c**-centrífuga y **d**-tubo con una muestra de sangre entera y ependorf con suero.

Posteriormente se realizó la eutanasia de los individuos con Pentobarbital sódico 1ml/Kg (Euthanyle, BROUWER S.A. Arg.) previa anestesia con Ketamina y Diazepam, 50 mg/kg/IM, (HOLLIDAY-SCOTT S.A. Arg., BABio-Amer Arg.). Se colectaron los ectoparásitos para su posterior identificación. Se pesaron con una Balanza digital Senior OCS-20B. Se registró el sexo y se tomaron medidas externas para otros estudios, con un calibre digital Caliper y cinta métrica. Las medidas externas fueron largo total (LT), largo de cabeza y cuerpo (LCyC), largo de la cola (LC), largo del escudo de la cola (Lesco), pata con uña (Pc/u), pata sin uña (Ps/u), mano con uña (Mc/u), mano sin uña (Ms/U), ancho del ojo (O), longitud de la oreja (Oreja), longitud de la cabeza (Lcab), longitud del escudo cefálico (Lesce), ancho escudo cefálico (Aesce), longitud del escudo escapular incluye la primer hilera de placas (Lesesc1), longitud del escudo escapular (Lesesc), longitud del escudo pélvico (Lospel) y ancho del escudo pélvico (Aospel, Figura 18a, b y c).

Luego se realizó una incisión en la parte ventral, desde la caja torácica hasta la zona del ano, con el fin de observar macroscópicamente y microscópicamente lesiones internas, en caso de que las hubiera, en pulmón, bazo, hígado, riñón, corazón, cerebro. Se tomaron,

además, muestras de los músculos masetero, base de la lengua y diafragma, con el fin de investigar la presencia de larvas de *Trichinella*. Se fijó en formol el estómago e intestino delgado y grueso para la posterior búsqueda de endoparásitos.

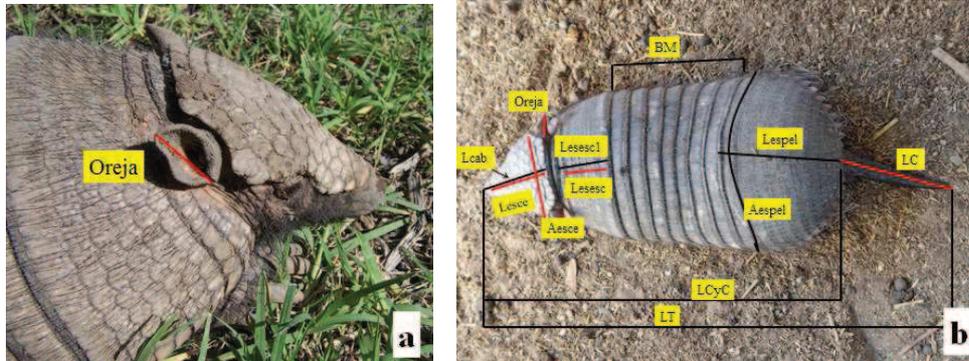


Figura 18: a y b- Medidas registradas en *Chaetophractus villosus*, vista dorsal (referencias en el texto).

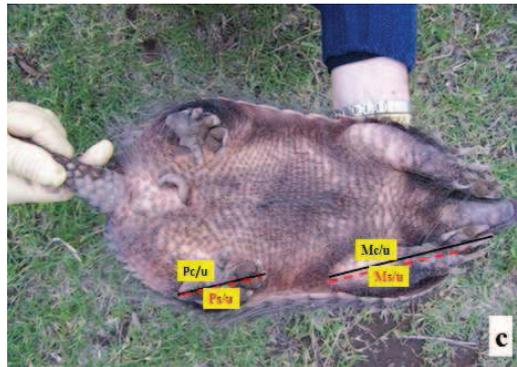


Figura 18c: Medidas tomadas en *Chaetophractus villosus*, vista ventral (referencias en el texto).

Se deja constancia que (además), se guardaron las cabezas y los miembros anteriores y posteriores izquierdos de todos los individuos, los cuales se encuentran depositados en la Cátedra de Biología de Cordados de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UNLPam), para posteriores estudios.

4.a-Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el software Epi Info 6.0.4. Se utilizó un estadístico con un 95% de nivel de confianza y un valor de $p \leq 0,05$ el que fue considerado significativo. Los niveles de asociación de las variables evaluadas se analizaron por medio del test de Chi cuadrado (χ^2) y su correspondiente intervalo de confianza (IC=95%). Las

variables incluidas en el análisis fueron: sexo, edad, presencia de tambo, cerdos, ovinos y aves de corral.

Para obtener la probabilidad de que un *C. villosus* se infecte, se calculó el *Odds ratio*, (OR), razón entre la probabilidad de que un evento ocurra y la probabilidad de que no ocurra (Thrusfield 1995).

Los resultados de presencia de anticuerpos para cada una de las enfermedades analizadas se expresaron en forma porcentual, empleando la siguiente fórmula (Thrusfield 1995), donde P= prevalencia.

$$P = \frac{\text{N}^\circ \text{ de muestras positivas}}{\text{N}^\circ \text{ total de muestras}} \times 100$$

5- BIBLIOGRAFÍA

- Abba AM.; Udrizar Sauthier DE.; Vizcaíno SF. 2005. Distribution and use of burrows and tunnels of *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra) in the eastern Argentinean pampas. *Acta Theriol.* 50:115-124.
- Abba AM.; Vizcaíno SF.; Cassini MH. 2009. Eto-Ecología y Conservación de Tres Especies de Armadillos (*Dasypus hybridus*, *Chaetophractus villosus* y *C. vellerosus*) en el Noreste de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Edentata.* 8-10:41-47.
- Abba AM.; Nabte MJ.; Udrizar Sauthier DE. 2010. New Data on Armadillos (Xenarthra: Dasypodidae) for Central Patagonia, Argentina. *Edentata* 11(1):11-17.
- Abba AM.; Superina M. 2010. The 2009/2010 Armadillo Red List Assessment *Edentata* 11(2):135-184.
- Abba AM.; Vizcaíno SF. 2011. Distribución de los armadillos (Xenarthra: Dasypodidae) en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Mastozool. Neotrop.* 18(2):185-206.
- Abba AM.; Tognelli MF.; Seitz VP.; Bender JB.; Vizcaíno SF. 2012. Distribution of extant Xenarthrans (Mammalia: Xenarthra) in Argentina using species distribution models. *Mammalia* 76:123-136.
- Abba AM.; Poljak S.; Gabrielli M.; Teta P.; Pardiñas UFJ. 2014. Armored invaders in patagonia: recent southward dispersion of armadillos (Cingulata, Dasypodidae). *Mastozool. Neotrop.* 21(2):311-318.

- Abba AM.; Zufiaurre E.; Codesido M.; Bilenca DN. 2015. Burrowing activity by armadillos in agroecosystems of central Argentina: Biogeography, land use, and rainfall effects. *Agr. Ecosyst. Environ.* 200:54-61.
- Acha PN.; Szyfres B. 1977. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica N° 580, Washington Pg. 708.
- Adamoli VC.; Cetica PD.; Merani MS.; Solari AJ. 2001. Comparative morphologic placental types in Dasypodidae (*Chaetophractus villosus*, *Cabassous chacoensis*, *Tolypeutes matacus* and *Dasypus hybridus*). *Biocell.* 1:17-22.
- Affanni JM.; Caruso RC.; García Samartino L.; Mascitti TA.; Pavia MA.; Basso HP.; Vaccarezza RR. 1969. Interbulbar commissural olfactory pathway: an experimental study in the armadillo *Chaetophractus villosus*. *Acta Physiol. Lat. Am.* 19(4):384-388.
- Affanni JM.; García Samartino L.; Casanave EB.; Dezi R. 1987. Absence of apnea in armadillos covered by soil. *Resp. Physiol.* 67(2):239-245.
- Affanni JM.; Cervino CO.; Aldana Marcos HJ. 2001. Absence of penile erections during paradoxical sleep. Peculiar penile events during wakefulness and slow wave sleep in the armadillo. *J. Sleep Res.* 10:219-228.
- Aldana Marcos HJ. 1996. Estudio experimental sobre dos peculiares estructuras del Armadillo *Chaetophractus villosus*: El núcleo de Onuf y la glándula de Harder. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires URL. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2853_AldanaMarcos.pdf
http://digital.bl.fcen.uba.ar/gsd1-282/cgi-bin/library.cgi?a=d&c=tesis&d=Tesis_2853_AldanaMarcos
- Aldana Marcos HJ.; Ferrari CC.; Cervino C.; Affanni JM. 2002. Histology, histochemistry and fine structure of the lacrimal and nictitans gland in the South American *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Mammalia). *Exp. Eye. Res.* 75:731-744.
- Aldana Marcos HJ.; Affanni JM. 2005. Anatomy, histology, histochemistry and fine structure of the harderian gland of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Mammalia). *Anat Embryol.* 209:409-424.
- Araujo MS.; Ciuccio M.; Cazón AV.; Casanave EB. 2010. Differentiation of Xenarthra (Mammalia) species through the identification of their fecal bile acid patterns: An ecological tool. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 83:335-347.

- Azize Atalah G. 1975. Presencia de *Chaetophractus villosus* (Edentata, Dasypodidae). Nueva especie para la región de Magallanes, Chile. Anales del Instituto de la Patagonia (Chile) 6:169-171.
- Barquez RM.; Díaz MM.; Ojeda RA. (eds). 2006. Mamíferos de Argentina. Sistemática y distribución. Ed. SAREM. Pg. 359.
- Barreto M.; Barreto P. 2011. *Trypanosoma cruzi* en armadillos. En Basualdo J.; Cacchione R.; Durlach R.; Martino P.; Seijo A. (eds.) Temas de zoonosis 5, AAZ. Ed. Ideográfica, Argentina. 21:189-194.
- Benítez I.; Aldana Marcos HJ.; Affanni JM. 1994. The encephalon of *Chaetophractus villosus*: A general view of its most salient features. Comun. Biol. 12(1):57-73.
- Bermúdez PM.; Polini NN.; Casanave EB. 2004. A study of platelets in the armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Dasypodidae). Platelets 15(5):279-285.
- Boero, JJ. 1970a. Parasitosis animales. Helminthiasis. Entomozoosis. Tomo III. Editorial Universitaria de Buenos Aires Pg. 264-524.
- Boero JJ. 1970b. Parasitosis animales. Protozoosis. Tomo II. Editorial Universitaria de Buenos Aires Pg. 89-264.
- Bolkovic ML.; Millones A.; Bono J.; McDonough C.; Ghersa, C. M. 1999. Variables que influyen en la presencia de rastros de peludo (*Chaetophractus villosus*) en lotes agropecuarios de la pampa interior. En: Actas de la XIX Reunión Argentina de Ecología. Asociación Argentina de Ecología (ASAE), 21 al 23 de abril de 1999, Horco Molle, Tucumán. Pg. 189.
- Bruno N.; Cuéllar E. 2000. Hábitos alimenticios de cinco armadillos en el Chaco Boliviano. Pg. 401-412. En IV Congreso Internacional sobre manejo de fauna silvestre en Amazonía y Latinoamérica, Asunción. www.manejofaunasilvestre.org/DesktopModules/Bring2mind/DMX/Download.aspx?Command=Core_Download&EntryId=5751&PortalId=86&TabId=3469
- Cabrera A.; Yepes J. 1960. Los edentados. En Mamíferos Sudamericanos. 2º ed. Buenos Aires. 2:51-57.
- Cacchione RA.; Cascelli ES.; Martínez ES.; Zuberbuhler. 1966. Leptospirosis en animales silvestres: aislamiento de una cepa de *Leptospira Canicola* de un peludo (*Chaetophractus villosus*). INTA. RIA. (Buenos Aires) Serie 4,3:51-55.
- Campion RL. 1950. Receptividad del *Chaetophractus villosus* (peludo) al virus de la Fiebre Aftosa. Gac. Vet. Buenos Aires 63:3-14.

- Canevari M.; Vaccaro O. 2007. Guía de los mamíferos del sur de América del Sur. 1ª ed. Buenos Aires, L.O.L.A. Pg. 424.
- Cano E. 1980. Inventario integrado de los recursos naturales de la provincia de La Pampa. Clima, geomorfología, suelo y vegetación. (ed.) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria provincia de La Pampa, Universidad Nacional de La Pampa, Buenos Aires, Pg. 493.
- Carmanchahi PD.; Aldana Marcos HJ.; Ferrari CC.; Affanni JM. 1999. The vomeronasal organ of the South American armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Mammalia): anatomy, histology and ultrastructure. *J. Anat.* 195:587-604.
- Carmanchahi PD.; Ferrari CC.; Aldana Marcos HJ.; Affanni JM.; Sonez CA.; Paz DA. 2000. Characterisation of glycoconjugate sugar residues in the vomeronasal organ of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra) *J. Anat.* 196:357-370.
- Casanave EB.; Affanni JM. 1994. Body temperatura of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Arch. Int. Physiol. Biochim. Biophys.* 102:243-246.
- Casanave EB.; Affanni J. 1995. "Decrease of body temperature in armadillos experimentally covered by soil". *Arch. Physiol. Biochem.* 103(1):29-32.
- Casanave EB.; García Samartino L.; Affanni JM. 1995. Bradycardia in armadillos experimentally covered with soil. *Arch. Physiol. Biochem.* 103(1):51-53.
- Casanave EB.; Polini NN. 1999. Comparative study of some haematological parameters of two wild *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae) populations. *Comp. Haematol. Int.* 9(1):13-16.
- Casanave EB.; Manfredi MC.; Luengos Vidal EM. 2002. Ecología comportamental de los armadillos en un pastizal serrano. II Jornadas Interdisciplinarias del sudoeste bonaerense 115-125.
- Casanave E; Manfredi C.; Luengos Vidal E. 2003. Ecología comportamental de los armadillos en un pastizal serrano". *Actas de las II Jornadas Interdisciplinarias del Sudoeste Bonaerense, Tomo III, Pgs. 115-125, EdiUNS, ISBN 987-9281-91-8 (646 pgs.)*.
- Casanave EB., Bermúdez PM.; Polini NN. 2005. Haemostatic mechanisms of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Dasypodidae). *Comp. Clin. Path.* 13:171-175.
- Casanave EB.; Bermúdez PM.; Polini NN. 2006. Principal coagulation factors and natural anticoagulants in the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra, Dasypodidae). *Comp. Clin. Pathol.* 14:210-216.

- Cavagnari BM.; Córdoba OL.; Veerkamp JH.; Santome JA.; Affanni JM. 1998. Presence of a fatty acid-binding protein in the armadillo harderian gland. *Int. J. Biochem. Cell B.* 30:465-473.
- Ceresoli N.; Torres Jiménez G.; Fernandez Duque E. 2003. Datos morfométricos de los armadillos del Complejo Ecológico Municipal de Sáenz Peña, provincia del Chaco. Argentina. *Edentata* 5:35-37.
- Cetica PD.; Sassaroli J.; Merani MS.; Solari AJ. 1993. Comparative spermatology in Dasypodidae (*Priodontes maximus*, *Chaetophractus villosus* and *Dasypus hybridus*). *Biocell* 18:89-103.
- Cetica PD.; Solari AJ.; Merani MS.; De Rosas JC.; Burgos MH. 1998. Evolutionary sperm morphology and morphometry in armadillos. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 30:309-314.
- Cetica PD.; Aldana Marcos HJ.; Merani MS. 2005. Morphology of female genital tracts in Dasypodidae (Xenarthra, Mammalia): a comparative survey. *Zoomorphology* 124:57-65.
- Ciuccio M.; Araujo S.; Casanave E. 2007. Estudio ecológico de las especies de armadillos presentes en cercanías de Bahía Blanca. Actas de las IV Jornadas Interdisciplinarias del SO Bonaerense. Cazzaniga y Vaquero (eds.). Pg. 183-190. EdiUNS ISBN 978-987-23429-1-3.
- Codón SM.; Casanave EB. 1996. Histology of the ovary of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Rev. Brasil. Biol.* 56:599-604.
- Codón SM.; Estecondo SG.; Galíndez EJ.; Casanave EB. 2001. Ultrastructure and morphometry of ovarian follicles in the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Brazil. J. Biol.* 61(3):485-496.
- Codón SM.; Casanave EB. 2005. A simple proposal for the classification of ovarian follicles in mammals using the armadillo *Chaetophractus villosus* as a model. *Ciencias Morfológicas* 7(1):1-6.
- Codón SM.; Casanave EB. 2009. Morphology and histological annual changes of the oviduct of *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra, Dasypodidae). *Int. J. Morphol.* 27(2):355-360.
- Costabel MD.; Ermácora MR.; Santomé JA.; Alzari PM.; Guérin DMA. 2006. Structure of armadillo ACBP: a new member of the acyl-CoA-binding protein family. *Acta Cryst.* F62:958-961.
- Cuba-Caparó A.; Myers DM. 1977. Interstitial nephritis in the seven banded armadillo (*Chaetophractus villosus*) and its association with infections caused by several types of

- leptospirae serotypes. Workshop on the armadillo: an animal model for research. Caracas, Venezuela, mayo 23-27, in Escobar Gutiérrez A.; Anezcuca de Bernés ME. 1981. El armadillo: un nuevo animal de experimentación para el estudio de las zoonosis. *Ciencia Veterinaria* 3:199-229.
- del Arco VS. 2013. Endoparásitos presentes en el intestino grueso y/o ciego de *Chaetophractus villosus* (peludo), en dos sitios de La Pampa, Argentina. Tesina presentada en la Facultad de Cs. Ex. y Nat. UNLPam. Pg. 29.
- Díaz GB.; Ojeda RA. (eds.). 2000. Libro rojo de Mamíferos amenazados de la Argentina. SAREM. Pg. 106.
- Estecondo S.; Codón SM.; Casanave EB. 1995. Histología del tracto digestivo de *Chaetophractus villosus* (Desmarest, 1804) y *C. vellerosus* (Gray, 1865), Mammalia, Dasypodidae. *Iheringia, Sér. Zool.* 78:9-18.
- Estecondo S.; Casanave EB. 1999. On the presence of the pelvic glands in armadillos (*Xenarthra*, Dasypodidae). *Physis (Bs. As.), Secc. C.* 57 (132-133):13-17.
- Estecondo S.; Galíndez, EJ.; Casanave EB. 2000. Ultraestructura de los acinos sudoríparos de las glándulas pelvianas de *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Iheringia, Sér. Zool.* 89:153-158.
- Estecondo S.; Codón SM.; Casanave EB. 2004. Scanning electron microscopic (SEM) study of the dorsal surface of the *Chaetophractus villosus* (Desmarest, 1804) (Mammalia, Dasypodidae) tongue. *Physis. Bs. As.* 59:23-27.
- Ezquiaga MC.; Lareschi M.; Abba AM.; Navone GT. 2008. Nuevos registros de pulgas (Siphonaptera) parásitas de Dasipódidos (Mammalia: Xenarthra) en el noreste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Mastozoología Neotropical* 15(2):193-196.
- Ezquiaga MC.; Navone GT. 2014. A new species of *Moennigia* (Trichostrongylina, Molineidae) a parasite of *Chaetophractus* spp. (*Xenarthra*: Dasypodidae) from Argentina. *J. Parasitol.* 100(4):500-503.
- Ezquiaga MC.; Abba AM.; Navone GT. 2015. Loss of helminth species diversity in the large hairy armadillo *Chaetophractus villosus* on the Tierra del Fuego Island, Argentina. *J. Helminthol.* Pg. 1-4. doi:10.1017/S0022149X14000893.
- Fernández M. 1922. Sobre la glándula pelviana y formaciones similares en desdentados recientes y fósiles. *Fac. Cs. Nat. y Museo UNLP. Rev. S. A.* 26(287):212-256.
- Ferrari CC.; Aldana Marcos HJ.; Carmanchahi PD.; Affanni JM. 1998. Olfactory mucosa of the South American armadillo *Chaetophractus villosus*: an ultrastructural study. *Anat. Record.* 252:325-339.

- Francia A.; Ciancio MR. 2013. First record of *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae) in the late Pleistocene of Corrientes Province (Argentina). *Revista del Museo de La Plata. Sección Paleontológica* 13(70):1-9.
- Galíndez EJ.; Aggio MC.; Estecondo S.; Casanave EB. 1997. Estructura esplénica de *Chaetophractus villosus*: Adulto y neonato. *Rev. Brasil. Biol.* 57:393-401.
- Galliari FC. 2014. El tipo scratch-digger en dos armadillos (Dasypodidae, Xenarthra): ontogenia esquelética de las manos y variaciones de dígitos. *Revista del Museo de La Plata. Sección Zoología*, 24(183):1-14.
- García Carrillo C.; Myers DM.; Szyfres B. 1972. Bataviae group leptospirae isolated from armadillos in Argentina. *Trop. Geogr. Med.* 24:377-381.
- Gardner AL. 2005. Orden Cingulata en Wilson E.; Reeder DM (eds). *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference.* (3rd ed). The Johns Hopkins University Press. Baltimore. Pg. 94-103.
- Hernández MB.; Saad S.; Casanave E.; Fernández FM.; Uhart M.; Vila A. 2001. Presencia de polímeros de caseínas en mamíferos. *Mastozología Neotropical/J. Neotrop. Mammal.* 8(1):15-20.
- Huici N.; Tesón M.; Macazaga A.; Loverde V. 1999. Triquinelosis en algunos animales autóctonos argentinos. *Vet. Argent.* 16(155):358-360.
- Iodice OH. 2009. Armadillos y zarigüeyas como modelos experimentales en la investigación biomédica: contribuciones a la generalización de su uso. Tesis doctoral, Universidad de Morón. Pg. 387.
- Iodice OH.; Cervino CO.; Affanni JM. 2010. A surgical procedure for the ablation of the vomeronasal organs in the armadillo *Chaetophractus villosus*. Approach from oral cavity. *REDVET Rev. Electrón. Vet.* 11(3):1-10.
- IUCN 2013. IUCN Red list of threatened Species. Version 2013.2. www.iucnredlist.org
- Jorge W.; Meritt DA.; Benirschke K. 1978. Chromosome studies in Edentata. *Cytobios.* 18(71-72):157-172.
- Krivokapich SJ.; Molina V.; Bergagna HFJ.; Guarnera EA. 2006. Epidemiological survey of *Trichinella* infection in domestic, synanthropic and sylvatic animals from Argentina. *J. Helminthol.* 80:267-269.
- Lizarralde MS.; Bolzán AD.; Poljak S.; Pigozzi MI.; Bustos J.; Merani MS. 2005. Chromosomal localization of the telomeric (TTAGGG) in sequence in four species of Armadillo (Dasypodidae) from Argentina: an approach to explaining karyotype evolution in the Xenarthra. *Chromosome Res.* 13(8):777-784.

- Luaces JP.; Ciuccio M.; Rossi LF.; Faletti AG.; Cetica PD.; Casanave EB.; Merani MS. 2011a. Seasonal changes in ovarian steroid hormone concentrations in the large hairy armadillo (*Chaetophractus villosus*) and the crying armadillo (*Chaetophractus vellerosus*). *Theriogenology* 75(5):796-802.
- Luaces JP.; Rossi LF.; Aldana marcos HJ.; Merani MS. 2011b. The rete mirabile of the tail, an effective site for sampling sterile blood from armadillos (Dasypodidae, Xenarthra). *Ital. J. Zool.* 78(1):63-69.
- Luaces JP.; Rossi LF.; Merico V.; Zuccotti M.; Redi CA.; Solari AJ.; Merani MS.; Garagna S. 2012. Spermatogenesis is seasonal in the large hairy armadillo, *Chaetophractus villosus* (Dasypodidae, Xenarthra, Mammalia) *Reprod. Fert. Develop.* 25(3):547-557.
- Luaces JP.; Rossi LF.; Sciurano RB.; Rebuzzini P.; Merico V.; Zuccotti M.; Merani MS.; Garagna S. 2014. Loss of sertoli-germ cell adhesion determines the rapid germ cell elimination during the seasonal regression of the seminiferous epithelium of the large hairy armadillo *Chaetophractus villosus*. *Biol. Reprod.* 90(3):1-11.
- Luengos Vidal EM.; Lucherini M.; Casanave EB. 1997. Los armadillos del Parque Tornquist. Primeras jornadas de Investigación y Extensión. UNS. Pg. 9-10.
- Maldonado EN.; Casanave EB. 1996. Electrocardiography in *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). *Rev. Ciêcc. Bioméd., Sao Paulo*, 17:17-22.
- Maldonado EN.; Casanave EB.; Aveldaño MI. 2002. Major plasma lipids and fatty acids in four HDL mammals. *Comp. Biochem. Phys. A* 132:297-303.
- Mazza S. 1949. La enfermedad de Chagas en la República Argentina. *Mem. I. Oswaldo Cruz* 47(1-2):273-288.
- Merino Tosoni MP.; Pennisi SM. 2010. Efectos de *Chaetophractus villosus* (Desmarest, 1984) “peludo” sobre cultivos implantados bajo diferentes sistemas de labranza en la región agrícola de la provincia de La Pampa. Tesina N° 356. MFN 3073. UNLPam F.A. R.P. N° 93478. Pg. 35.
- M.E.P.R.A. 1946. En Mazza S. 1949. Chagas disease in the Argentine Republic. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 47(1-2):289-302.
- Montero R.; Autino A. 2009. (eds.). Sistemática y filogenia de los Vertebrados con énfasis en la fauna argentina. Segunda edición. Tucumán. Argentina. Pg. 414.
- Myers DM.; Cuba Caparo A.; Payan Moreno J. 1977. Isolation of serotype Hardjo and other *Leptospira* from armadillos in Argentina. *PHAO Bulletin* XI(2):131-139.

- Navone GT.; Lombardero O. 1980. Estudios Parasitológicos de Edentados Argentinos. I. *Pterygodermatites chaetophracti* Sp. nov. en *Chaetophractus villosus* y *Dasyopus hybridus* (Nematoda Spirurida). Neotrópica, 26(75):65-70.
- Navone GT. 1986. Estudios parasitológicos en edentados argentinos. II. Nematodes parásitos de armadillos: *Aspidodera fasciata* (Schneider, 1866); *Aspidodera scoleciformis* (Diesing, 1851) y *Aspidodera vazi* Proenca, 1937. (Nematoda-Heterakoidea). Neotrópica 32:71-79.
- Navone GT. 1987a. Descripción del macho de *Pterygodermatites (Paucipectines) chaetophracti* (Navone y Lombardero, 1980) Sutton, 1984 (Nematoda-Rictulariidae). Neotrópica 33:45-49.
- Navone GT. 1987b. Estudios parasitológicos de edentados argentinos. III. Trichostrongylidos, *Macielia elongata* sp. nov.; *Moennigia virilis* sp. nov. y *Trichohelix tuberculata* (Parona y Stossich, 1901) Ortlepp, 1922 (Molineidae-Anoplostrongylineae) parásitos de *Chaetophractus villosus* Desmarest y *Tolypeutes matacus* (Desmarest) (Xenarthra-Dasyopodidae). Neotrópica 33:105-117.
- Navone GT. 1988. Estudios parasitológicos en edentados argentinos. IV. Cestodes pertenecientes a la familia Anoplocephaliidae Cholodkovshy, 1902, parásitos de dasipódidos. Neotrópica 34:51-61.
- Navone GT. 1990. Estudio de la distribución, porcentaje y microecología de los parásitos de algunas especies de edentados argentinos. Studies on Neotropical Fauna and Environment. 25:199-210.
- Neghme A.; Schenone H. 1970. Trichinosis in Latin America. In SE Gould, Trichinosis in Man and Animals, Charles C Thomas Publisher, Illinois Pg. 407-422.
- Niño FL. 1937. Triquinosis experimental en el peludo. Novena Reunión de la Sociedad Argentina de Patología, Región 2. Pg.630. En Escobar-Gutiérrez A.; Amescua de Bernés ME. 1981. El armadillo: un nuevo animal de experimentación para el estudio de las zoonosis. Ciencia Veterinaria 3:199-229.
- Notarnicola J.; Navone GT. 2003. Systematics and distribution of *Orihelia anticlava* (Molin, 1858) (Nematoda, Onchocercidae) from dasypodids of South America. Acta Parasitol. 48:103-110.
- Nowak RM. 1999. Order Xenarthra. In 'Walker's Mammals of the World'. (Ed. R. M. Nowak.) Pg. 149-168.
- Olocco Diz MJ.; Quse B.; Gachen GG. 2006. Registro de medidas y pesos del tubo digestivo de un ejemplar de *Chaetophractus villosus*. Edentata 7:23-25.

- Parera A. 2002. Los mamíferos de la Argentina y la región austral de Sudamérica. (ed.) El Ateneo. Pg. 453.
- Polini NN.; Camina RE.; Casanave EB. 1999. Morphological and morphometric study of blood leucocytes from *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). Comp. Haematol. Int. 9:162-167.
- Poljak S.; Escobar J.; Deferrari G.; Lizarralde M. 2007. Un nuevo mamífero introducido en la Tierra del Fuego: el "peludo" *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae) en Isla Grande. Rev Chil. Hist. Nat. 80:285-294.
- Poljak S.; Confalonieri V.; Fasanella M.; Gabrielli M.; Lizarralde MS. 2010. Phylogeography of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Dasypodidae Xenarthra): Post-glacial range expansion from Pampas to Patagonia (Argentina). Mol. Phylogenet. Evol. 55:38-46.
- Pozio E.; Murrell KD. 2006. Systematics and epidemiology of *Trichinella*. Adv. Parasitol. 63:367-439.
- Redford KH.; Eisenberg JF. 1992. Mammals of the Neotropics the Southern Cone. Vol. 2. Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay (eds.) the University of Chicago. Capítulo 3:56-68.
- Rezende LC.; Barbeito CG.; Favaron PO.; Mess A.; Miglino MA. 2012. The fetomaternal interface in the placenta of three species of armadillos (Eutheria, Xenarthra, Dasypodidae). Reprod. Biol. Endocrin. 1: 38 doi: 10.1186/1477-7827-10-38.
- Ribicich M.; Gamble HR.; Bolpe J.; Scialfa E.; Krivokapich S.; Cardillo N.; Betti A.; Holzmann ML.; Pasqualetti M.; Fariña F.; Rosa A. 2010. *Trichinella* infection in wild animals from endemic regions of Argentina. Parasitol. Res. 107:377-380.
- Rimoldi PG.; Abba AM. 2013. Nuevos datos de presencia de *Chaetophractus villosus* en la cuenca del río Carcarañá, sur de la provincia de Santa Fe, Argentina. Edentata 14:1-8.
- Roig VG.; Henríquez O. 1984. Regulación de la temperatura en *Chaetophractus villosus*. Ecosur XI(21-22):39-49.
- Rossi LF.; Luaces JP.; Alonso FM.; Merani MS. 2014. Karyotype and chromosome variability in the armadillo *Chaetophractus villosus* in Argentina. Cytogenet. Genome Res. 142:101-106.
- Rúgolo de Agasar ZE.; Steibel PE.; Troiani HO. 2005. Manual Ilustrado de las Gramíneas de la provincia de La Pampa. (eds.) Universidad Nacional de La Pampa y Universidad de Río Cuarto. Pg. 359.

- Ruíz Aravena MIA. 2012. Distribución espacial de las estrategias de forrajeo del armadillo *Chaetophractus villosus* (Desmarest 1804), en la patagonia chilena. Tesis presentada en la Universidad Austral de Chile. Fac. de Cs. Vet. Pg. 23. cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fvr934d/doc/fvr934d.pdf
- Scialfa EA.; Brihuega B.; Morris WE.; Recavarren M.; Quintana S.; Grune S.; Romero G.; Bolpe J.; Schettino M. 2012. First isolation of *Leptospira interrogans* from *Conepatus chinga*. Afr. J. App. Microbiol. Res. 1(1):1-5.
- Scialfa E.; Brihuega B.; Venzano A.; Morris WE.; Bolpe J.; Schettino M. 2013. First isolation of *Leptospira interrogans* from *Lycalopex griseus* (South American gray fox) in Argentina shows new MLVA genotype. J. Wildlife Dis. 49(1):168-172.
- Sciurano RB.; Merani MS.; Bustos j.; Solari AJ. 2006. Synaptonemal complexes and XY behavior in two species of argentinian armadillos: *Chaetophractus villosus* and *Dasypus hybridus* (Xenarthra, Dasypodidae). Biocell. 30(1):57-66.
- Sciurano RB.; Rahn MI.; Rossi L.; Luaces JP.; Merani MS.; Solari AJ. 2012. Synapsis, recombination, and chromatin remodeling in the XY body of armadillos. Chromosome Res. 20(2):293-302.
- Sidorkewicj NS.; Casanave EB. 2012. Morphology of the middle ear in three species of armadillos (Dasypodidae, Xenarthra) from Argentina. Int. J. Morphol. 30(4):1500-1507.
- Squarcia SM.; Casanave EB.; Cirone G. 1994. Morfometría craneana de *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae). An. Mus. Hist. Nat. Valparaíso 22:103-106.
- Squarcia SM.; Casanave EB.; Cirone GR. 1999. Sexual dimorphism in *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae) based on craniometrical characters. An. Mus. Hist. Nat. Valparaíso, 24:91-94.
- Squarcia SM.; Sidorkewicj NS.; Casanave E B. 2006. Cranial osteology of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Xenarthra, Dasypodidae) Int. J. Morphol. 24(4):541-547.
- Squarcia SM.; Sidorkewicj NS.; Casanave EB. 2007. The hypertrophy of the tympanic bulla in three species of Dasypodids (Mammalia, Xenarthra) from Argentina. Int. J. Morphol. 25(3):597-602.
- Squarcia S.; Sidorkewicj N.; Camina R.; Casanave EB. 2009. Sexual dimorphism in the mandible of the larger hairy armadillo *Chaetophractus villosus* (Dasypodidae) from northern Patagonia, Argentina. Brazilian J. Biology 69(2):347-352.

- Superina M.; Abba AM.; Vizcaíno SF. 2012. Orden Cingulata Familia: Dasypodidae. 61-66. En Libro Rojo de Mamíferos Amenazados de la Argentina. Ojeda RA.; Chillo V.; Diaz Isenrath GB. (Eds) SAREM Pg. 257.
- Szyfres B.; Sulzer CR.; Galton MM. 1967. A new leptospiral serotype in the Bataviae serogrup from Argentina. Trop. Geogr. Med. 19:344-346.
- Tedesco LF.; Szyfres B. 1964. Inédito. En Szyfres B.; Sulzer CR.; Galton MM. 1968. Nuevo serotipo de *Leptospira* del grupo Bataviae aislado en la Argentina. Bol. Ofi. Sanit. Panam. 225-227.
- Tentoni J.; Polini NN.; Casanave EB. 2008. Fibrinolytic system of the armadillo *Chaetophractus villosus* (Xenarthra, Dasypodidae). Comp. Clin. Pathol. 17:193-196.
- Tentoni J.; Polini NN.; Casanave EB. 2010. Comparative vertebrate fibrinolysis. Comp. Clin. Pathol. 19:225-234.
- Tesón M.; Huici N.; Regis A.; Novak F. 1997. Triquinelosis en jabalíes en el departamento Lacar, Neuquén. República Argentina. Vet. Argent. 14:187-190.
- Thrusfield M. 1995. Veterinary Epidemiology. Second Edition. (ed) Blackwell. Sience Ltd. Pg. 483.

CAPÍTULO II: FIEBRE AFTOSA

1- INTRODUCCIÓN

La Fiebre Aftosa es una enfermedad viral altamente contagiosa, de gran importancia en medicina veterinaria. Endémica en gran parte de Sudamérica, África, Oriente Medio y Lejano Oriente, subcontinente Indio y Asia (López Sánchez et al. 2003). En los últimos años se ha registrado su presencia en África, Japón y Bulgaria (Banda et al. 2014, MKama et al. 2014, Onozato et al. 2014, Dhollander et al. 2014).

Si bien los primeros registros hacen mención de la presencia de la enfermedad en Argentina en los años 1865-1866 en el norte y noroeste de Buenos Aires, fue en el año 1870 cuando se la diagnosticó por primera vez en San José de Flores y Lomas de Zamora, en ganado bovino (Pecker 2007).

Todas las excreciones y secreciones de los animales infectados contienen virus. Las partículas virales son excretadas por los animales antes de presentar los síntomas clínicos de la enfermedad, lo cual explica la gran expansión del virus en poco tiempo (López Sánchez et al. 2003).

Es frecuente en los Artiodáctilos, bovinos, cerdos, ovejas, cabras (Aiello y Mays 2000, López Sánchez et al. 2003), búfalo de agua, llama y camellos (Fenner et al. 1987, Yousef et al. 2012), siendo también los cérvidos, antílopes, elefantes, jirafas (Aiello y Mays 2000) y los osos negros y Malayos (Officer et al. 2014) afectados por el virus.

En forma experimental fue demostrada la susceptibilidad al virus de la Fiebre Aftosa en *Rattus norvegicus*, *Myocastor coypus*, *Talpa europeae*, *Sciurus carolinensis*, *Arvicola amphibius amphibius*, *Dasyprocta aguti*, *Hydrochoerus hydrochaeris*, *Capreolus capreolus*, *Dama dama*, *Cervus nippon*, *Cervus elaphus*, *Desmodus rotundus*, *Bubalus bubalis* y *Camelus dromedarius* (Capel-Edwards 1967, 1970, 1971, Gibbs et al. 1975, Rosenberg y Gomes 1977, Gomes y Rosenberg 1984, Lord et al. 1986, Gomes et al. 1997). Sin embargo, no se ha podido establecer si estas especies pueden constituir reservorios naturales del virus, o bien actúan como difusores de la enfermedad en el momento en que se da el brote en las especies domésticas o si sólo son hospedadores accidentales del virus (Rosenberg y Gomes 1977).

Desde el año 1927 se ha utilizado al erizo (*Erinaceus europaeus*) como animal de experimentación para la detección del virus de la Fiebre Aftosa, informándose la transmisión de la enfermedad mediante la inoculación artificial. Posteriormente se

demonstró que la enfermedad podía ser transmitida de erizo a erizo, mediante el contacto entre ellos; en 1933 se aisló el virus de los tejidos de un animal aparentemente normal, después de 14 días que la enfermedad había sido diagnosticada en bovinos, ovinos y cerdos; en 1946, en Boughton (Inglaterra), se hallaron varios erizos afectados por el virus de la Fiebre Aftosa, los cuales presentaban lesiones típicas de la enfermedad; éste hallazgo confirmó que los erizos se infectan en forma natural (McLauchlan y Henderson 1947). También se comprobó que es posible el contagio recíproco entre erizos y bovinos, y que el erizo puede albergar el virus durante el período invernante y transmitir la infección al despertar (Campion 1950).

Asimismo, Campion demostró experimentalmente en 1950 que *Chaetophractus villosus* se infecta con el virus de la Fiebre Aftosa, confirmando que esta especie es susceptible a dicha enfermedad.

En Argentina, los últimos brotes del virus de la fiebre aftosa se produjeron entre julio del 2000 a enero del 2002, con 2519 rebaños de bovinos afectados, asociándose 11 brotes al tipo O y los restantes al tipo A (Pérez et al. 2004).

En la provincia de La Pampa durante el período 2000-2001 se produjeron 192 focos de Fiebre Aftosa, distribuidos en 19 departamentos, no registrándose focos únicamente en los departamentos de Curacó, Chical C6 y Puelén (datos suministrados por SENASA, Centro Regional La Pampa-San Luis).

1.1- Ciclo biológico

El virus causante de la Fiebre Aftosa es un Aphtovirus de la familia Picornaviridae, formado por una cápside proteica, de configuración icosaédrica, de alrededor de 30 nm de diámetro, en cuyo interior contiene una molécula de ARN (FAO 2010). Se han identificado siete serotipos virales diferentes: O, A, C, Asia 1, SAT1, 2 y 3, de los cuales los serotipos O, A y C están presentes en América del Sur, siendo el serotipo O el más común en todo el mundo (Yousef et al. 2012). En Argentina, en los últimos brotes, sólo se encontraron los tipos O y A (Mattion et al. 2004).

El virus puede ingresar al organismo por vía digestiva a través del alimento o del agua contaminada; por vía respiratoria a través de aerosoles, siempre que el transmisor este cerca del receptor; por vía cutánea a través de erosiones o heridas que permiten el ingreso del virus que se encuentra en las camas de los animales y finalmente a través de las manos de los ordeñadores. Una vez que ingresa en un individuo el período de incubación varía

entre 1 a 15 días dependiendo de la especie, en bovinos es de 2 a 7 días, en cerdos de 2 a 6 días (pero hay casos de muy pocos días, con una alta tasa de mortalidad), en jabalí es de 2 días, en alces de 2 a 3, en camellos de 2 a 14 y en el búfalo de agua de hasta unos 21 días. Posteriormente se forman aftas, las que se rompen y se libera una gran cantidad de virus, dependiendo de la especie hospedadora y de la cepa viral. Estos virus, en contacto con otros animales, comienzan nuevamente el ciclo (Martínez-Conde 1975, The Center for Food Security y Public Health 2014).

Todas las secreciones y excreciones de los animales infectados contienen virus, pudiendo estar en la leche de las hembras que amamantan 4 días antes de que se manifieste la enfermedad (Aiello y Mays 2000). Los cerdos producen una gran cantidad de virus en forma de aerosol (The Center for Food Security y Public Health 2014).

En el hombre, la transmisión se produce por la ingesta de leche cruda o sus derivados o bien por contacto, como ocurre con los ordeñadores, encargados del ganado y veterinarios (Armstrong et al. 1967, López Sánchez et al. 2003).

El virus puede extenderse mecánicamente a través de productos contaminados como la leche y carne, fómites a través de las personas (prendas o calzado contaminados con el virus), por los vehículos y por los aerosoles, los cuales pueden diseminarse a distancias considerables, si las condiciones meteorológicas son favorables, en particular cuando la humedad relativa del aire es mayor del 60% y cuando la orografía del terreno no produce turbulencias (Aiello y Mays 2000, López Sánchez et al. 2003, Thomson et al. 2003, Figura 1).

1.2- Resistencia

La envoltura proteica confiere al virus una gran resistencia en el medio ambiente, sobre todo en ausencia de luz y baja temperatura; se preserva por refrigeración y congelación y es progresivamente inactivado por temperaturas superiores a 56°C, y a pH por debajo de 6 o por encima de 9 (Aiello y Mays 2000). Como se indicó, todas las excreciones y secreciones de los animales infectados contienen virus y estos pueden permanecer viables en la materia fecal seca, durante catorce días en el verano, en el fango hasta seis meses en invierno, en orina durante treinta y nueve días y en la tierra entre tres días en verano y veintiocho días en invierno (Aiello y Mays 2000).

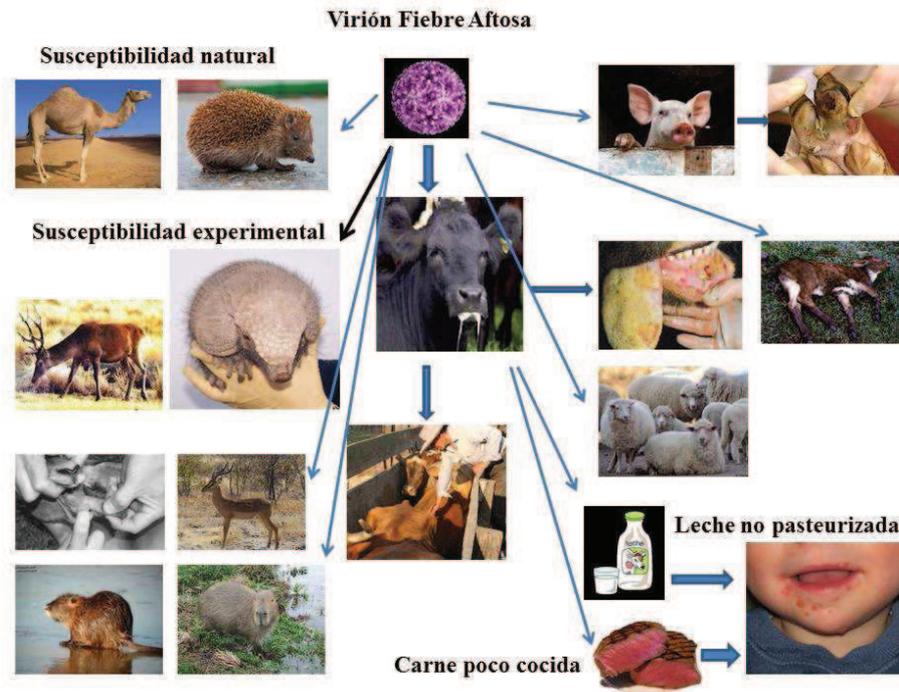


Figura 1: Ciclo del virus de la Fiebre Aftosa.

El virus puede perdurar bastante tiempo en la carne fresca, poco cocida, curada y ahumada, así como en la leche no hervida, pudiendo permanecer hasta 30 días si está refrigerada (López Sánchez et al. 2003).

1.3- Síntomas

El virus de la Fiebre Aftosa se manifiesta en bovinos con la aparición de ampollas o vesículas en la mucosa oral, en los espacios interdigitales de las patas y en ocasiones en las mamas (López Sánchez et al. 2003). Estas vesículas se rompen, dando lugar a grandes lesiones ulcerativas desprotegidas. También aparece fiebre alta, anorexia e hipersalivación, depresión, notable descenso en la producción de leche y un gran adelgazamiento, lo cual produce una enorme pérdida de productividad (Fenner et al. 1987). Los animales jóvenes (terneros, corderos, cabritos, lechones) pueden morir antes de que aparezcan las vesículas, debido al daño provocado en las células del miocardio (Aiello y Mays 2000, The Center for Food Security and Public Health 2014).

Los síntomas de la Fiebre Aftosa en los animales silvestres son similares a los de los animales domésticos, pudiendo pasar completamente desapercibidos, manifestar lesiones o generar infecciones letales como la ocurrida en la Reserva de Ramot Yissajar en

Israel, donde murieron entre 1500 a 2000 gacelas de montaña (*Gazella gazella*) de diversas edades, lo que representó un 50 % de la población (Shimshony 1988).

En suidos, las lesiones son más severas en los pies y en el hocico, en tanto que en los rumiantes las lesiones en la almohadilla digital suelen ser las más graves, pero también ocurren en la lengua y en las extremidades (Thomson et al. 2003).

La enfermedad en el humano es rara, se manifiesta con presencia de fiebre, cefalea, postración, dolores musculares, sequedad en la boca y aparición de vesículas en la mucosa oral y en la lengua, las que se ulceran, por lo que dificulta la alimentación. Las lesiones también pueden afectar a la mucosa nasal y a la piel de los espacios interdigitales de las manos y en ocasiones pueden ir acompañadas de diarrea (López Sánchez et al. 2003).

1.4.- Fiebre aftosa en animales silvestres no Xenartros en Argentina

En la Tabla 2.1 se han incorporado las escasas especies silvestres de Argentina en las cuales se ha investigado la presencia del virus de la Fiebre Aftosa.

Tabla 2.1: Animales silvestres investigados para la detección del virus de la Fiebre Aftosa en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n %	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Ozotoceros bezoarticus celer</i>	14	0 0	c-ELISA	Reserva Vida Silvestre Campos del Tuyú, Bs. As.	Uhart et al. (2003)
<i>Vicugna vicugna</i>	128	0 0	ELISA	Cieneguillas, Jujuy	Marcoppido et al. (2010)
<i>Cervus elaphus</i>	92	0 0	IDAG (a)	La Pampa	Mereb et al. (1994)
	41	0 0	VIAA (a)	Patagonia	Flueck y Smith-Flueck (2012)
<i>Sus scrofa</i>	80	0 0	ELISA	Bahía Samborombón, Bs.As.	Carpinetti et al. (2014)

(a) IDAG y VIAA (prueba de inmunodifusión en agar gel para la detección del antígeno asociado a la infección viral) es la misma técnica, que recibe dos siglas diferentes.

1.5- Fiebre Aftosa en Xenartros

Campion (1950) demostró experimentalmente la receptividad al virus de la Fiebre Aftosa en 9/25 *C. villosus*, efectuando pruebas de infección por inoculación (6/9 positivos), ingestión (1/10 positivos) y cohabitación (contacto con bovinos, 1/3 positivos y contacto con cerdos, 1/6 positivos). También *Dasypus novemcinctus* es experimentalmente susceptible al virus de la Fiebre Aftosa (Wilder et al. 1974). Los dos casos citados son los únicos registros de virus de Fiebre Aftosa en Xenarthra. Se mantiene la incógnita de su infección natural.

1.6- Fiebre Aftosa en Xenartros en la Provincia de La Pampa

No hay estudios previos sobre la presencia del virus de la Fiebre Aftosa en Xenartros en la provincia de La Pampa hasta la presente tesis.

El objetivo general de este capítulo es determinar si *C. villosus* está expuesto al virus de la Fiebre Aftosa y, de estarlo, cuál es su prevalencia.

2- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura y el área de estudio se indicaron en el capítulo 1.

Para la detección de anticuerpos contra el virus de la Fiebre Aftosa se utilizó la prueba de inmunodifusión en agar gel para la detección del antígeno asociado a la infección viral (VIAA) y para detectar los tipos O y/o A del virus se utilizó un enzimoimmunoensayo de bloqueo en fase líquida (ELISA Fase Líquida; OIE 2012).

Se realizó una entrevista a los productores rurales, habitantes de los lugares donde fueron muestreados los *C. villosus*, para averiguar si en esos sitios de captura se habían registrado focos de Fiebre Aftosa entre los años 2000-2002, período en el que se registraron los últimos casos en la provincia de La Pampa. Se solicitó, además, al SENASA la posición georreferenciada de los últimos focos de Fiebre Aftosa producidos en la provincia.

3- RESULTADOS

Los 150 sueros de *Chaetophractus villosus* analizados fueron negativos al virus de la Fiebre Aftosa tipo O y A (Fig. 2).

Pese a que fue solicitado, el SENASA no suministró la posición georreferenciada de los últimos focos de Fiebre Aftosa. Solo proveyó la cantidad de focos denunciados para cada uno de los departamentos, correspondiendo a aquellos en los cuales se realizaron muestreos para esta tesis (Toay, Atreucó y Capital), 9 focos a Toay, 14 a Atreucó y 9 a Capital.

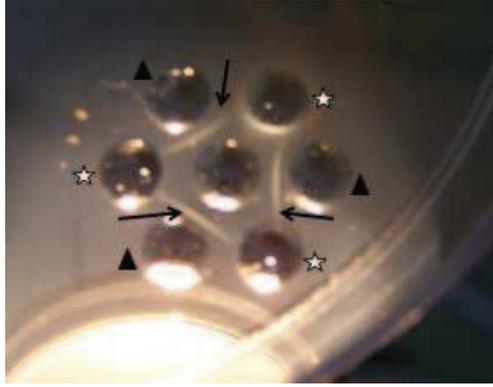


Figura 2: Prueba de inmunodifusión en agar gel para la detección del virus de la Fiebre Aftosa. ▲ muestra de suero de *C. villosus* (negativa), ☆ antígeno del virus de la Fiebre Aftosa. → líneas de precipitación.

De la información suministrada por los pobladores rurales surgió que los únicos sitios de captura donde previamente hubieron focos de Fiebre Aftosa fueron B y B1 (correspondientes al departamento Capital), de donde provenían el 21,33% (32/150) de los *C. villosus* muestreados, resultando, como se indicó, todos negativos.

4- DISCUSIÓN

Debido a que los *C. villosus* analizados en esta tesis resultaron todos negativos al virus de la Fiebre Aftosa, no fue posible comprobar la infección de forma natural. Por lo tanto, si bien la especie es receptiva experimentalmente (Campion 1950), continúa siendo una incógnita su posible infección natural. Campion (1950) admite la posibilidad de su contagio en la naturaleza y deja en consideración su posible importancia como reservorio y/o transmisor del virus.

La ausencia de anticuerpos contra el virus de la Fiebre Aftosa en *C. villosus* podría deberse a que el virus se encontraba ausente en los campos al momento del muestreo. No obstante ello, no puede descartarse que la ausencia de muestras positivas se deba a que las lesiones que el virus provoca (demostradas al menos experimentalmente por Campion en 1950), conlleven la muerte rápida de los individuos afectados, ya sea en forma natural o por depredación, en virtud que estarían más debilitados y con dificultades para caminar que los individuos sanos.

5- CONCLUSIÓN

- Todos los *Chaetophractus villosus* muestreados en esta tesis resultaron negativos contra el virus de la fiebre aftosa.
- Se rechaza la hipótesis de que *C. villosus* está expuesto al virus de la Fiebre Aftosa en La Pampa.
- Se mantiene la incógnita de la infección natural de la especie.

6- BIBLIOGRAFÍA

- Aiello SE.; Mays A. (eds). 2000. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Pg. 2558.
- Armstrong R.; Davie J.; Hedger RS. 1967. Foot and mouth disease in man. Brit. Med. J. 4:529-530.
- Banda F.; Kasanga CJ.; Sallu R.; Sinkala Y.; Sinkombe TW.; Mulumba M.; Rweyemamu MM.; Wambura PN. 2014. Investigation of foot and mouth disease outbreaks in the Mbala and Kazungula districts of Zambia. Onderstepoort J. Vet. Res. 81(2):1-6.
- Campion RL. 1950. Receptividad del *Chaetophractus villosus* (peludo) al virus de la Fiebre Aftosa. Gac. Vet. Buenos Aires 63:3-14.
- Capel-Edwards M. 1967. Foot and mouth disease in *Myocastor coypus*. J. Comp. Pathol. 77(2):217-220.
- Capel-Edwards M. 1970. Foot and mouth disease in the brown rat. J. Comp. Pathol. 80(4):543-548.
- Capel-Edwards M. 1971. The susceptibility of three British small mammals to foot and mouth disease. J. Comp. Pathol. 81(3):433-436.
- Carpinetti BN.; Castresana G.; Rojas P.; Grant J.; Marcos A.; Monterubbianesi M.; Borrás P. 2014. Vigilancia epidemiológica en poblaciones de cerdos silvestres (*Sus scrofa*). Implicancias para la salud pública, la producción animal y la conservación de la biodiversidad. SNS 5-6:67-76.
- Dhollander S.; Belsham GJ.; Lange M.; Willgert K.; Alexandrov T.; Chondrokouki E.; Depner K.; Khomenko S.; Ozyörük F.; Salman M.; Thulke HH.; Botner A. 2014. Assessing the potential spread and maintenance of foot-and-mouth disease virus

- infection in wild ungulates: general principles and application to a specific scenario in Thrace. *Transbound. Emerg. Dis.* doi: 10.1111/tbed.12240. [Epub ahead of print]
- FAO. (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2010. Fiebre Aftosa. Enfermedad transfronteriza. <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/aftosa/fa/>
- Fenner F.; Bachmann PA.; Gibbs EPJ.; Murphy FA.; Studdert MJ.; Owhite D. 1987. *Virología Veterinaria*. Ed. Acribia, S.A. Pg. 698.
- Flueck WT.; Smith-Flueck JAM. 2012. Diseases of red deer introduced to Patagonia and implications for native ungulates. *Anim. Prod. Sci.* 52(8):766-733.
- Gibbs EP.; Herniman KA.; Lawman MJ.; Sellers RF. 1975. Foot and mouth disease in British deer: transmission of virus to cattle, sheep and deer. *Vet. Rec.* 96:558-563.
- Gomes I.; Rosenberg FJ. 1984. A possible role of capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris hydrochaeris*) in foot and mouth disease (FMD) endemicity. *Prev. Vet. Med.* 3:197-205.
- Gomes I.; Ramalho AK.; Augé de Mello P. 1997. Infectivity assay of foot and mouth disease virus: contact transmission between cattle and buffalo (*Bubalus bubalis*) in the early stages of infection. *Vet. Rec.* 140:43-47.
- López Sánchez A.; Guijarro Guijarro B.; Hernández Vallejo G. 2003. Repercusiones humanas de la fiebre aftosa y otras enfermedades víricas afines. *Med. Oral* 8:26-32.
- Lord RD.; Ochoa de Charell A.; Campos EA. 1986. Experimental infection of Vampire Bats with foot and mouth disease virus. *J. Wildlife Dis.* 22(3):413-414.
- Mattion N.; König G.; Seki C.; Smitsaart E.; Maradei E.; Robiolo B.; Duffy S.; León E.; Piccone M.; Sadir A.; Bottini R.; Cosentino B.; Falczuk A.; Maresca R.; Periolo O.; Bellinzoni R.; Espinoza A.; Torre JL.; Palma EL. 2004. Reintroduction of foot and mouth disease in Argentina: characterisation of the isolates and development of tools for the control and eradication of the disease. *Vaccine.* 22:4149-4162.
- Mkama M.; Kasanga CJ.; Sallu R.; Ranga E.; Yongolo M.; Mulumba M.; Rweyemamu M.; Wambura P. 2014. Serosurveillance of foot and mouth disease virus in selected livestock-wildlife interface areas of Tanzania. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 81(2):1-4.
- Marcoppido G.; Parreño V.; Vilá B. 2010. Antibodies to pathogenic livestock viruses in a wild vicuña (*Vicugna vicugna*) population in the Argentinean Andean Altiplano. *J. Wildlife Dis.* 46(2):608-614.
- Martinez-Conde JM. 1975. Guía del inspector veterinario titular. 2- epizootiología zoonosis. (ed.) *Veterinaria Aedos*. Pg. 408.

- McLauchlan JD.; Henderson WM. 1947. The occurrence of foot and mouth disease in the hedgehog under natural conditions. *J. Hyg. (Lond)*. 45(4):474-479.
- Mereb GC.; Ganuza R.; Hecker HS.; Bueno ER.; Ottavianoni LA. 1994. Estudio sobre la Fiebre Aftosa y brucelosis en ciervo colorado (*Cervus elaphus*). *Agro Pampeano* 28:39-41.
- OIE. 2012. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Fiebre aftosa. Cap. 2.1.5. Pg. 206-236.
http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.01.05.FMD_Spanish.pdf
- Officer K.; Lan NT.; Wicker L.; Hoa NT.; Weegenaar A.; Robinson J.; Ryoji Y.; Loukopoulos P. 2014. Foot and mouth disease in Asiatic black bears (*Ursus thibetanus*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 26:705-713.
- Onozato H.; Fukai K.; Kitano R.; Yamazoe R.; Morioka K.; Yamada M.; Ohashi S.; Yoshida K.; Kanno T. 2014. Experimental infection of cattle and goats with a foot and mouth disease virus isolate from the 2010 epidemic in Japan. *Arch. Virol.* 159(11):2901-2908.
- Pecker AE. 2007. Fiebre aftosa: su paso por la Argentina. Sitio Argentino de Producción Animal. (1ª ed) Buenos Aires. SENASA. Servicio nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Pg. 136.
- Pérez AM.; Ward MP.; Carpenter TE. 2004. Control of a foot and mouth disease epidemic in Argentina. *Preventive Vet. Med.* 65:217-226.
- Rosenberg FJ.; Gomes I. 1977. Susceptibilidad del carpincho o capibara (*Hydrochoerus hydrochaeris hydrochaeris*) al virus de la Fiebre Aftosa. *Boletín Centro Panamericano Fiebre Aftosa* 27-28:35-41.
- Shimshony A. 1988. Foot and mouth disease in the mountain gazelle in Israel. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 7:917-923.
- The Center for Food Security & Public Health. 2014. Foot and Mouth Disease Fiebre Aftosa. http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/foot_and_mouth_disease.pdf
- Thomson GR.; Vosloo W.; Bastos ADS. 2003. Foot and mouth disease in wildlife. *Virus Res.* 91:145-161.
- Uhart MM.; Vila AR.; Beade MS.; Balcarce A.; Karesh WB. 2003. Health evaluation of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus celer*) at Campos del Tuyú Wildlife Reserve, Argentina. *J. Wildlife Dis.* 39(4):887-893.

- Wilder FW.; Dardiri AH.; Yedloutschnig RJ. 1974. Clinical and serological response of the nine banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*) to virus of African swine fever, hog cholera, rinderpest, vesicular exanthema of swine, vesicular stomatitis and foot-and-mouth disease Proc. Ann. Meet. U.S. Anim. Health Ass. 78:188-194. En Sahu SP.; Dardiri AH. 1979. Susceptibility of mink to certain viral animal diseases foreign to the United States. J. Wildlife Dis. 15(3):489-494.
- Yousef MR.; Mazloun HS.; Al-Nakhli HM. 2012. Serological evidence of natural exposure of camels (*Camelus dromedaries*) to foot and mouth disease virus. Vet. World. 5(4):197-200.

CAPÍTULO III: BRUCELOSIS

1-INTRODUCCIÓN

La brucelosis, también llamada fiebre ondulante, de Malta o del Mediterráneo (Acha y Szyfres 2001), fue aislada por primera vez en Argentina en el año 1930 (BEP 2006). Es causada por bacterias intracelulares facultativas Gram negativas (Godfroid et al. 2010).

Es una enfermedad de gran relevancia en bóvidos y es una importante zoonosis a nivel mundial, causada por distintas especies, cuya clasificación se basa mayormente por la patogenicidad y su hospedador de preferencia (Godfroid et al. 2010), además de las características de crecimiento y métodos serológicos, bacteriológicos y/o moleculares.

Se han reconocido diversas especies de *Brucella*, *B. abortus* (en bóvidos), *B. melitensis* (en cabras), *B. suis* (en cerdos), *B. ovis* (en ovejas) (Radostits et al. 2002), *B. canis* (en perro), *B. neotomae* en *Neotoma lepida* (ratas del desierto) (Godfroid 2002); se detectó la presencia de *Brucella* en mamíferos marinos del hemisferio norte (Cloeckert et al. 2001) y del hemisferio sur, específicamente en el lobo fino antártico (*Arctocephalus gazella*) y en la foca de Weddell (*Leptonychtes weddellii*) en la costa Noroeste de la Isla Livingston, Shetland del Sur (Blank et al. 2002), identificándose a *B. pinnipedialis* y *B. ceti* (Foster et al. 2007); además, se aisló a *B. microti* en *Microtus arvalis* (topillos) y en *Vulpes vulpes* (zorros), *B. inopinata* de un implante mamario de una mujer (Scholz et al. 2010, Godfroid et al. 2010), y *B. papionis* de *Papio* sp. (Wahtmore et al. 2014). De todas las especies *B. melitensis*, *B. suis* y *B. abortus* son las más patógenas (Acha y Szyfres 2001).

La sintomatología principal en la mayoría de las especies de animales es el aborto o la expulsión prematura de los fetos.

Los bovinos se encuentran infectados principalmente por *B. abortus*, la cual produce abortos y pérdidas reproductivas en las vacas (Campero 1993). También pueden infectarse por *B. suis* y *B. melitensis* cuando comparten el pastoreo o las instalaciones con cerdos, cabras u ovejas infectadas (Acha y Szyfres 2001).

En los cerdos el principal agente es *B. suis*, pero *B. abortus* también los puede afectar, aunque es menos patógena que la primera, siendo por lo general asintomática y no se transmite de un animal a otro, pero cuando la infección es por *B. suis* se producen abortos, infertilidad, nacimiento de lechones débiles, orquitis, epididimitis, parálisis de los

miembros posteriores y artritis (Morilla González y González-Vega Aguirre 1996, Aiello y Mays 2000, Acha y Szyfres 2001).

Recientemente *B. suis* fue aislada en perros de caza, los cuales habían estado en contacto con cerdos salvajes (Ramamoorthy et al. 2011). En los seres humanos *B. suis* biovar 1 se considera como fuente importante de infección, ya que es capaz de colonizar la ubre bovina y de allí pasar al ser humano (Godfroid et al. 2005).

Los caprinos se caracterizan por presentar *B. melitensis*, cuyo signo principal es el aborto (Acha y Szyfres 2001). En el ganado ovino se encuentra *B. ovis* que produce una enfermedad clínica o subclínica, que se caracteriza por lesiones genitales en los carneros (epididimitis) y placentitis en las ovejas. La consecuencia principal de la enfermedad es una disminución de la fertilidad en los carneros, siendo los abortos poco frecuentes en ovejas, con un incremento de la mortalidad perinatal (Olsen y Palmer 2014). Los ovinos son más resistentes a la infección por *B. melitensis*. Ocasionalmente se han encontrado caprinos y ovinos infectados con *B. suis* y *B. abortus* (Acha y Szyfres 2001).

En equinos se han aislado *B. suis* y *B. abortus* manifestándose una bursitis fistulosa, siendo raros los abortos (Aiello y Mays 2000, Acha y Szyfres 2001).

En perros el principal agente es *B. canis*, que se caracteriza por la presencia de abortos. También se han registrado casos esporádicos de infecciones con *B. melitensis*, *B. suis* y *B. abortus*. El perro adquiere la infección por ingestión de materiales contaminados, especialmente fetos y envolturas fetales (Acha y Szyfres 2001).

Los gatos son resistentes a la *Brucella* y no se conocen casos de ocurrencia natural de la enfermedad.

En la Argentina, en zorros (*Lycalopex gymnocercus* y *L. griseus*) y hurón (*Galictis cuja*) se ha detectado *B. abortus* biotipo 1 y en liebre europea (*Lepus europaeus*) *B. suis* biotipo 1 (Szyfres y Gonzáles Tomé 1966, 1967; Szyfres et al. 1968, Acha y Szyfres 2001, Fort et al. 2006).

El hombre es susceptible a la infección por *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*, no habiéndose comprobado casos humanos por *B. ovis* y *B. neotomae* (Acha y Szyfres 2001). En el Reino Unido se ha descrito la presencia de cepas de *Brucella* de mamíferos marinos como causantes de infección en personas que trabajan en laboratorios; se ha mencionado, además, la adquisición de la enfermedad en forma natural en Perú y en Nueva Zelanda (Godfroid et al. 2010).

1.1- Ciclo biológico

Las bacterias de *Brucella* son cocobacilos cortos de 0,5 a 0,7 μm de diámetro y de 0,5 a 1,5 μm de largo. La temperatura óptima de crecimiento es 37°C, con un pH ácido de 6,6 a 7,4 en un medio aerobio (BEP 2006, Godfroid et al 2010).

Las especies de *Brucella* son patógenos intracelulares facultativos Gram-negativas, capaces de adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucariotas tanto fagocíticas como no fagocíticas. Cuando ingresan al organismo pueden ser fagocitadas por los polimorfonucleares y macrófagos como parte de la inmunidad innata. Si no son degradadas por los lisosomas llegan por vía linfática a los ganglios regionales correspondientes pudiendo, desde allí, invadir el torrente sanguíneo donde, a su vez, son autofagocitadas y transportadas, de esta manera, a los diversos órganos en los que pueden sobrevivir y multiplicarse dentro de las vacuolas de los fagocitos circulantes y tisulares (Pizarro-Cerdá et al.1998, Castro et al. 2005).

En la cadena de transmisión el hombre es un hospedador secundario de *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis*. La brucelosis, en el humano, se transmite por la ingestión o penetración a través de la piel dañada o conjuntiva, por contacto de la ubre contaminada durante el ordeño, por contacto con tejidos, sangre, orina, fetos abortados, placenta, por ingestión de leche cruda y subproductos lácteos, como los quesos, provenientes de animales infectados (Benenson 1997, Radostits et al. 2002), por el consumo de carne con brucelosis insuficientemente cocida o por inhalación de polvo contaminado o aerosoles (Godfroid et al. 2005). En algunos casos, en el hombre, es consecuencia de auto inoculación accidental con vacuna de *Brucella* (Benenson 1997). En los cazadores, la infección puede darse a través de las heridas de la piel o por accidente, al ingerir la bacteria en el momento de la limpieza de los animales silvestres que ha cazado (Corbel 1997, Godfroid et al. 2005).

El contagio interhumano de la brucelosis es sumamente raro; en los pocos casos probados, la infección ha sido transmitida de la madre al lactante; siendo el queso elaborado con leche no pasteurizada una importante fuente de infección humana en muchas regiones del mundo (OMS 1958).

En el continente americano la brucelosis humana es causada principalmente por *B. suis* biovar 1, que se ha convertido en un problema grave para la salud humana, debido al consumo de leche de vaca no pasteurizada, ya que este biovar coloniza la ubre del ganado bovino (Corbel 1997).

En cerdos *Brucella suis* ingresa por medio de animales portadores de la bacteria o a través de semen contaminado, infectando rápidamente a la piara (Morilla González y González Vega Aguirre 1996).

En los animales silvestres, la bacteria puede llegar a través de la ingesta o por contacto con tejidos o alimentos contaminados.

Además, éste microorganismo es excretado en la leche durante un período variable, en la mayoría del ganado bovino durante toda la vida (Aiello y Mays 2000, Figura 1).



Figura 1: Ciclo de *Brucella*.

1.2- Resistencia

La supervivencia de *Brucella* en el suelo y estiércol es de unos 80 días, en el polvo de 15 a 40 días, en la leche a temperatura ambiente de 2 a 4 días, en fluidos y secreciones en verano 10 a 30 minutos, en lanas de depósitos unos 110 días, en el agua a 37 °C y pH 7,5 menos de 1 día, en agua a 8 °C y pH 6,5 más de 57 días, en fetos mantenidos a la sombra unos 6 a 8 meses, en descarga vaginal mantenida en hielo unos 7 meses, en la manteca a 8 °C de 1 a 2 meses, en cuero manchado con excremento de vaca es de 21 días, en el heno 29 días, grasa de ordeño unos 9 días, en heces bovinas naturales de 1 a 100 días, en tierra húmeda a temperatura ambiente unos 66 días y en tierra desecada a temperatura

ambiente unos 4 días (Castro et al. 2005). Las brucelas resisten la salazón y el ahumado (Acha y Szyfres 2001).

1.3- Síntomas

La brucelosis en el ganado vacuno se manifiesta con abortos, infertilidad, infecciones genitales secundarias (uno o ambos testículos pueden aumentar de tamaño) y merma en la producción de leche (Acha y Szyfres 2001, Castro et al. 2005).

En los cerdos la mayoría de las veces pasa en forma subclínica, pero en ocasiones hay abortos, infertilidad, orquitis, parálisis posterior y cojeras (Morilla González y González Vega Aguirre 1996).

En los caprinos el signo principal es el aborto, pero además puede producir artritis, mastitis y orquitis. En ovinos causa epididimitis, siendo los abortos poco frecuentes (Acha y Szyfres 2001).

En los cánidos la brucelosis produce abortos, esterilidad, epididimitis y dermatitis escrotal, prostatitis, esplenitis y una prolongada bacteriemia (Acha y Szyfres 2001, Castro et al. 2005).

En los humanos la brucelosis se caracteriza por una fiebre aguda en su inicio, sudores nocturnos, fatiga, anorexia, pérdida de peso, dolor de cabeza, depresión, artralgia y malestar generalizado (Benenson 1997, Godfroid et al. 2005).

1.4- Brucelosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina

En la Tabla 1 se han incorporado las especies silvestres de Argentina en las cuales se ha investigado la presencia de *Brucella*, incluyendo los escasos estudios realizados, previos a esta tesis, para la provincia de La Pampa.

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *Brucella* en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n %	Agente infeccioso	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Lycalopex gymnocercus</i>	410	104 25,4	<i>Brucella abortus</i>	Aglutinación en placa y en tubo Pruebas bacteriológicas	Partido de Azul y Olavarría (Bs. As.)	Szyfres y González Tomé (1966)
	56	5 12,5	<i>Brucella</i> sp.	ELISA	Región patagónica	Martino et al. (2004)
	41	7 17,1	<i>B. abortus</i>	FPA	Trenel, Anguil,	Fuchs et al.

				SAP 2-ME	Catriló, Rolón, Santa Rosa (LP)	(2009)
<i>L. culpaeus</i>	28	8 28,6	<i>Brucella</i> sp.	ELISA	Región patagónica	Martino et al. (2004)
<i>Lycalopex griseus</i>	318	69 21,0	<i>Brucella abortus</i>	Aglutinación en placa y en tubo Pruebas bacteriológicas	Río Negro	Szyfres y González Tomé (1966)
<i>Lepus europaeus</i>	500	1 0,2	<i>Brucella suis</i> biotipo 1	Aglutinación en placa. Cultivo, Inoculación experimental	Partido de Azul (Bs. As.)	Szyfres et al. (1968)
	77	0 0	<i>Brucella</i> sp	Aglutinación Cultivo	Río Cuarto, Córdoba	Giraud et al. (1985)
	106	7 6,6	<i>Brucella</i> sp.	FPA FC SAP 2-ME	Ataliva Roca, Santa Rosa, Anguil, Uriburu, Lonquimay, Catriló (L P.)	Baldone et al. (2007)
	106	4 3,8	<i>Brucella suis</i> biovar 1	Aislamiento FPA FC SAP 2-ME	Ataliva Roca, Santa Rosa, Anguil, Uriburu, Lonquimay, Catriló (L P.)	Fort et al. (2006)
<i>Cervus elaphus</i>	92	0 0	<i>Brucella</i> sp.	BPA	Ataliva Roca, Perú, Quehué, paraje La Araña, Santa Rosa	Mereb et al. (1994)
<i>Ozotoceros bezoarticus celer</i>	14	0 0	<i>Brucella</i> sp.	Test aglutinación en tubo	Campos del Tuyú Wildlife Reserva	Uhart et al. 2003
<i>Lagostomus maximus</i>	10	0 0	<i>Brucella</i> sp.	POL, 2-ME, SAT, BPA	La Rioja	Ferreya et al. (2007)
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	5	5 100	Infección experimental con <i>Brucella suis</i> biovar 1 aislada de <i>L. europaeus</i>	Inoculación BPA Seroaglutinación lenta en tubo 2-ME	La Pampa	Fort et al. (2012)
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	25	0 0	<i>Brucella</i> sp.	SAT FPA	Estero del Iberá, Corrientes	Corriale et al. (2013)
<i>Blastocerus dichotomus</i>	3	0 0	<i>Brucella</i> sp.	SAT FPA	Reserva Natural del Iberá, Corrientes	Orozco et al. (2013)
<i>Bubalus bubalis</i>	500	32 6,4	<i>Brucella abortus</i>	FPA	Corrientes, Chaco y Formosa	Konrad et al. (2013)

BPA: prueba de Aglutinación en Placa de Antígeno Tamponado, SAT ó SAP: Seroaglutinación en Tubo, 2-Me: prueba de 2-mercaptoetanol, FPA ó POL: prueba de polarización fluorescente, ELISA: prueba de enzimoimmunoensayo).

1.5- Brucelosis en Xenartros

En la Tabla 2 se detallan las especies de Xenarthra analizadas, fuera de Argentina, para *Brucella*. Obsérvese que solo se han detectado dos casos positivos, que corresponden a los osos hormigueros.

Tabla 2: Xenartros investigados para *Brucella* excepto en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n %	Agente infeccioso	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	6	0 0	B. abortus	Rosa de Bengala (RBT)	RPPN SESC (a) Pantanal, Brasil.	Miranda (2008)
	9	1 11,1	B. abortus	RBT	PNSC (b), Brasil	
<i>Tamandua tetradactyla</i>	1	1 100	Brucella sp.	RBT, SAT, 2-ME	São Paulo, Brasil.	Antunes et al. (2010)
<i>Euphractus sexcinctus</i>	3	0 0	Brucella sp.	RBT, SAT, 2-ME	São Paulo, Brasil.	
<i>Dasypus novemcinctus</i>	17	0 0	Brucella sp.	RBT, SAT, 2-ME	São Paulo, Brasil.	
<i>Cabassous tatouay</i>	1	0 0	Brucella sp.	RBT, SAT, 2-ME	São Paulo, Brasil.	

(a) RPPN SESC: Reserva Privada del Patrimonio Natural, Unidad de Conservación de uso sustentable.

(b) PNSC: Parque Nacional Siete Ciudades.

En Argentina, sólo se ha estudiado a *Myrmecophaga tridactyla* (Tabla 3), sin casos positivos.

Tabla 3: Xenartros investigados para *Brucella* en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n %	Agente infeccioso	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	8	0 0	<i>B. abortus</i>	BPA	Zoológico de Florencio Varela, Bs. As. Argentina.	Marc et al. (2008)
	3	0 0	<i>B. abortus</i>	BPA	Salta. Argentina.	Marc et al. (2008)

1.6- Brucelosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa

No hay estudios previos a la presente tesis sobre la presencia de *Brucella* en Xenartros en la provincia de La Pampa.

El objetivo general de este capítulo es determinar si *C. villosus* está expuesto a *Brucella* sp. y, de estarlo, cuál es su prevalencia y cuál es la especie con la que está infectado.

2- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados así como el área de estudio se indicó en el capítulo 1.

Para detectar la presencia de anticuerpos contra *Brucella* en *C. villosus* se utilizó la prueba de Aglutinación en Placa de Antígeno Tamponado (BPA) (Biotandil, Lab. Biológico de Tandil SRL. Argentina), confirmada por Seroaglutinación en Tubo (SAT), en paralelo con la prueba de 2-mercaptoetanol (2-Me), con diluciones 1/25, 1/50, 1/100 y 1/200, y el test fijación de complemento (FC), siendo los resultados expresados en unidades internacionales, UI (Alton et al. 1988). Estos resultados se compararon con los de ensayo de Polarización Fluorescente (FPA), donde se estableció un valor de corte de 82 unidades de milipolarización (mP).

En una segunda instancia se tomaron muestras de tejido de hígado y bazo de 1 macho y 1 hembra positivos a *Brucella*, elegidos al azar entre todos los positivos, los cuales fueron sembrados en medios de agar sangre, agar *Brucella*, agar McConkey y agar *Salmonella-Shigella*, se incubaron en presencia de 10% de CO₂ a 37 °C y se examinaron durante 10 días. Las colonias sospechosas de *Brucella* fueron analizadas utilizando pruebas bioquímicas de oxidasa, catalasa, ureasa, requisito CO₂, producción de H₂S, crecimiento con tionina y fucsina básica a 20 mg/ml (Quinn et al. 2002). Las colonias aisladas fueron confirmadas mediante PCR.

2.1- Infección experimental

Los ejemplares de *C. villosus* utilizados para la experimentación se encontraban alojados en recintos según se describe en el capítulo 1, con agua y alimento *ad libitum*.

Se inocularon 4 ejemplares adultos (1 hembra grávida, HIp978 y 3 machos, MI982, MI983, MI990), con una de las cepas de *Brucella* aislada previamente de *C. villosus*.

El procedimiento consistió en inocular por vía oral una suspensión que contenía 2×10^6 UFC (unidades formadoras de colonia), a razón de 0,2 ml a cada uno de los 4 ejemplares. La hembra HIp978 y el macho MI982 recibieron, además, 0,1 ml de la misma suspensión por vía conjuntiva.

La hembra HIp978 compartía el mismo habitáculo con otra hembra (Hn955), la cual no fue inoculada. Los 3 machos inoculados (MI982, MI983, MI990) compartían el mismo habitáculo con un macho juvenil (MJn989) y con una hembra adulta (Hn952), ambos no inoculados.

Previamente al inicio del experimento se tomó una muestra de sangre a todos los ejemplares, la cual fue analizada para garantizar la negatividad a *Brucella*. Posteriormente, se tomaron muestras de sangre antes de iniciar el experimento (antes de la inoculación, día

0), y a los 7, 10, 17, 25, 38 y 55 días pos-inoculación. Estas muestras fueron analizadas con el test FPA para la detección de anticuerpos contra *Brucella*.

En el día 55 se realizó la eutanasia, solo de aquellos ejemplares que dieron positivos a *Brucella*. Se tomaron muestras de tejidos de diversos órganos (útero, cuerno uterino, útero-vagina, glándula vulva uretral, cabeza del epidídimo, cola del epidídimo, hígado, bazo, pulmón, ganglio mesentérico, ganglio axilar, riñón) y también orina. Se realizaron los cultivos correspondientes y a todas las muestras con características de *Brucella* se les realizaron las pruebas bioquímicas indicadas anteriormente.

3- RESULTADOS

De las 150 muestras de suero de *Chaetophractus villosus* analizadas, se encontraron anticuerpos contra *Brucella* en el 16% (24/150) de los individuos, con un $IC_{95\%}$: 10,1-21,9. Los 24 sueros (12 machos y 12 hembras), que dieron positivos a BPA (Figura 2a) fueron confirmados por las técnicas complementarias (SAT, 2-Me, FPA, FC, Figura 2b, 2c, Tabla 4 y 5).

Los sueros con títulos positivos se distribuyeron según el siguiente detalle: BPA: 12 machos y 12 hembras; en SAT diluciones 1/25 (ninguno), 1/50 (2 machos), 1/100 (ninguno), 1/200 (10 machos y 12 hembras). En 2-Me las diluciones fueron: 1/25 (3 machos), 1/50 (ninguno), 1/100 (2 machos), 1/200 (7 machos y 12 hembras); FPA: 12 machos y 12 hembras; FC: 12 machos y 12 hembras (Tabla 4).

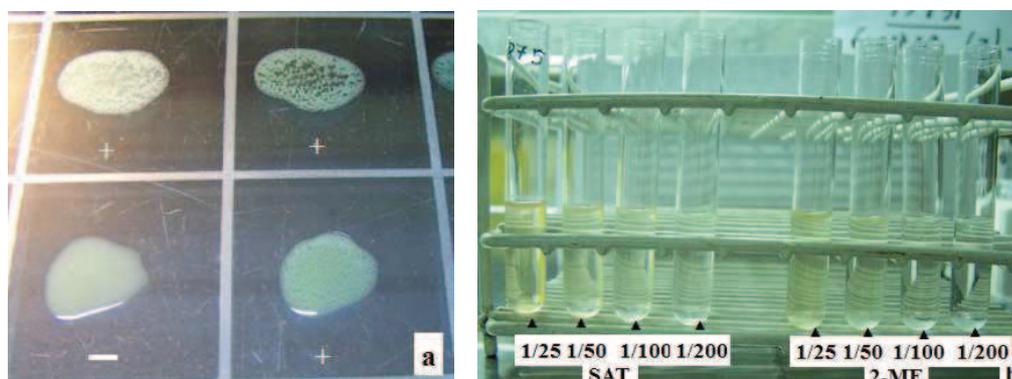


Figura 2: a- prueba de Aglutinación en Placa de Antígeno Tamponado (BPA), (—) muestra negativa, (+) muestra positiva. b: SAT y: 2-Me (▲ muestra positivas, diluciones 1/25, 1/50, 1/100 y 1/200).

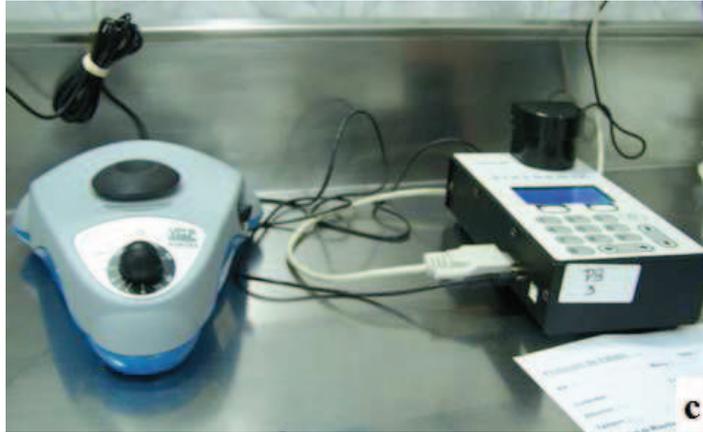


Figura 2: c- Equipo para la prueba de ensayo de Polarización Fluorescente (FPA).

Tabla 4: Prevalencia de *Brucella* en *C. villosus* (Cv.) según las diferentes técnicas: BPA, SAT, 2-Me, FPA y FC. Referencias en el texto.

<i>C. villosus</i>	n	Positivos	% BPA	% SAT	%2-Me	% FPA	% FC
Machos	70	12	17,1	17,1	17,1	17,1	17,1
Hembras	80	12	15	15	15	15	15
Total	150	24	16	16	16	16	16

Tabla 5: Valores mínimos, máximos y promedio de *Brucella* hallados en *C. villosus* mediante la prueba de ensayo de Polarización Fluorescente (FPA).

Sueros	n	FPA Mín	FPA Media	FPA Máx
Negativos	126	3,4	60,9	81,5
Positivos	24	82,6	220,0	277,3

En todos los sitios de captura hubo algún *C. villosus* positivo a *Brucella*, con excepción de los sitios D y F. La prevalencia en los sitios con serología positiva varió entre 4% a 50% (Tabla 6).

Tabla 6: Presencia de anticuerpos contra *Brucella* (B.) según los distintos sitios de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a B.	22	7	14	12	22	4	4	6	1	6	24	4
Cv. pos. a B.	3	1	2	4	7	1	0	2	1	2	1	0
Total Cv.	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%)	12	12,5	12,5	25	24,1	20	0	25	50	25	4	0

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados el 17,1% (12) fueron positivos a *Brucella* con un IC_{95%}: 8,1-26,2 y de las 80/150 hembras, el 15% (12) fueron positivas a *Brucella*, con un IC_{95%}:7-23. No se encontraron diferencias significativas debidas al sexo ($p=0,721$; OR: 0,853; Figura 3).

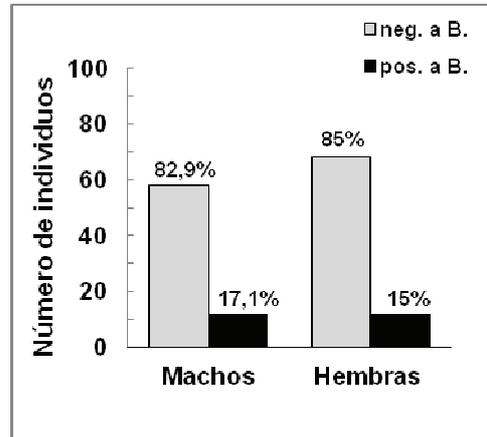


Figura 3: *C. villosus* (Cv.) negativos (neg.) y positivos (pos.) a *Brucella* (B.), según el sexo de los individuos, en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, ninguno fue positivo a *Brucella*, en tanto que de los 127 adultos, el 18,9% (24) fueron positivos. Se hallaron diferencias estadísticas significativas, siendo los adultos los más expuestos ($p=0,023$; Figura 4).

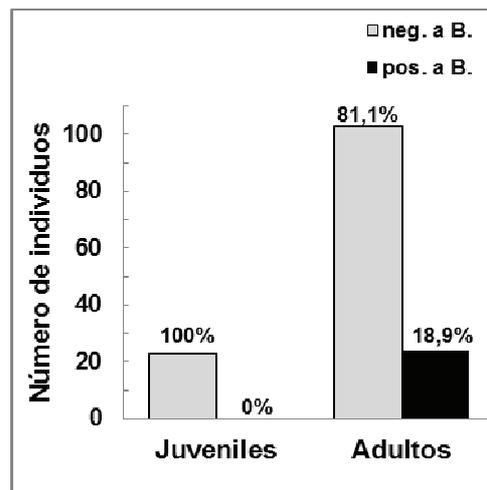


Figura 4: Presencia de anticuerpos contra *Brucella* (B.) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se hallaron 13/106 *C. villosus* positivos a *Brucella* (12,3%), mientras que en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se hallaron 11/44 *C. villosus* positivos

(25%). Por lo tanto, de los 24 *C. villosus* positivos el 45,8% (11) correspondieron a sitios de captura con presencia de tambo. La presencia o no, de tambo en el sitio de captura de los *C. villosus* no influye en la detección de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,053$; OR: 2,385; Figura 5).

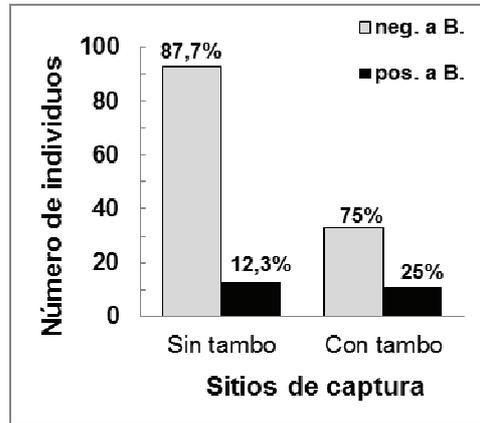


Figura 5: Presencia de anticuerpos a *Brucella* (B.) según presencia o no de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había cerdos (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se halló 14,4% (19/132) de los *C. villosus* positivos a *Brucella*, en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) se halló 27,8% (5/18) positivos. Por lo tanto, de los 24 individuos positivos a *Brucella*, 20,8% (5) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. La presencia o no de cerdos en el sitio de captura de los *C. villosus*, no influye en la detección de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,146$; OR: 2,287; Figura 6).

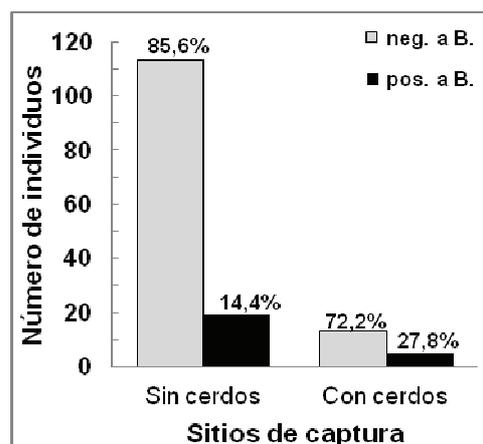


Figura 6: Presencia de anticuerpos contra *Brucella* (B.) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 19% (11/58) de los *C. villosus* positivos a *Brucella*, mientras que en sitios con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 14,1% (13/92). Por lo tanto, de los 24 *C. villosus* positivos, 54,2% (13) correspondieron a sitios con presencia de ovinos. La presencia o no de ovinos en el sitio de captura no influye en la detección de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,432$; OR: 0,703; Figura 7).

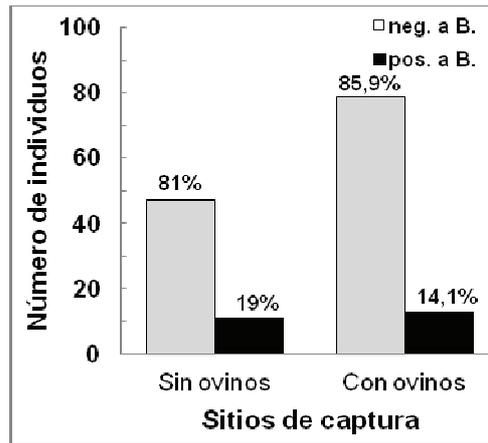


Figura 7: Presencia de anticuerpos a *Brucella* (B.) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 15,1% (8/53) de los *C. villosus* positivos a *Brucella*, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 16,5% (16/97). De los 24 *C. villosus* positivos, 66,7% (16) correspondieron a sitios de captura con aves de corral. La presencia o no de aves de corral en el sitio de captura no influye en la detección de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,823$; OR: 1,111; Figura 8).

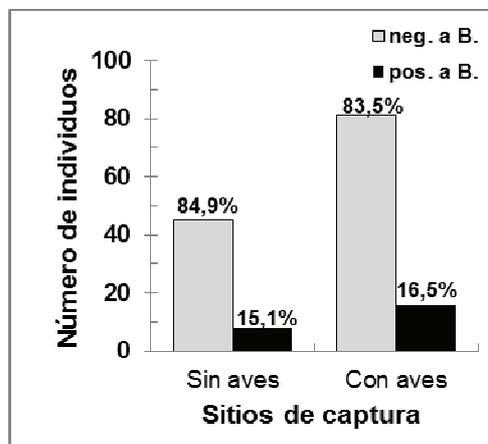


Figura 8: Presencia de anticuerpos a *Brucella* (B.) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Con muestras de hígado y bazo correspondientes a un macho y una hembra con serología positiva, se realizaron cultivos bacteriológicos. A la inspección, los órganos no presentaron lesiones macroscópicas visibles externamente, pero al corte se observaron pequeños abscesos (1mm, Figura 9a) internamente en el parénquima de ambos órganos estudiados. La siembra de estas muestras en medios específicos (agar sangre) dio como resultado la presencia de colonias con morfología típica de *Brucella* (Figura 9b). A la observación microscópica, las bacterias resultaron bacilos Gram negativos con características de *Brucella* (Figura 9c).



Figura 9: a- hígado con pequeños abscesos internos (1mm), b- Colonia de *Brucella*, en medio de agar sangre ► y c- Prueba Gram negativa, se observan los bacilos característicos de *Brucella*.

Las pruebas bioquímicas dieron como resultado que las bacterias no eran dependientes del CO₂, hubo producción de H₂S (Figura 10a) y la prueba de ureasa fue positiva entre los 0 a 30 minutos (Figura 10b), la prueba de oxidasa resultó positiva (Figura 11a), la prueba catalasa también resultó positiva (Figura 11b), se registró crecimiento en medio con tionina (Figura 12a) a una concentración de 1:25000, no habiendo crecimiento en medio de fuscina básica a una concentración de 1:50000 (Figura 12b). La aglutinación con sueros específicos contra *Brucella abortus*, *B. melitensis* y cepas rugosas resultó positiva sólo con *B. abortus* (Figura 13). Todas las características bioquímicas indican que las bacterias halladas corresponden a la especie *B. suis* biovar 1.

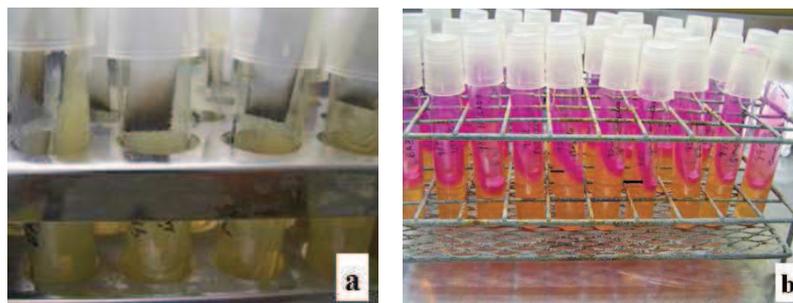


Figura 10: a- producción de H₂S positiva y b- prueba ureasa positiva entre los 0 a 30 minutos.

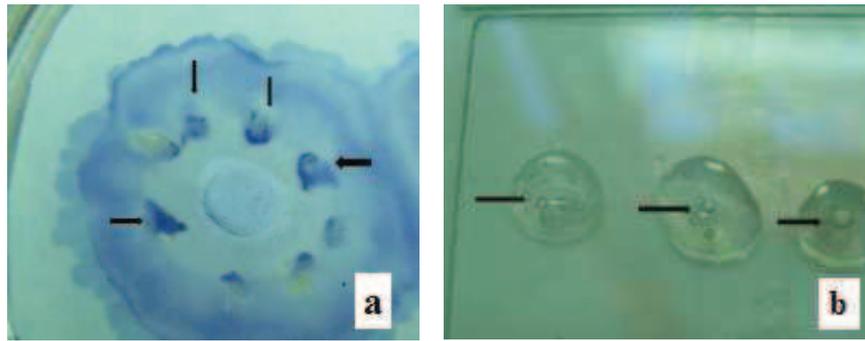


Figura 11: a- prueba oxidasa positiva (→) y b- prueba de catalasa (→) positiva.

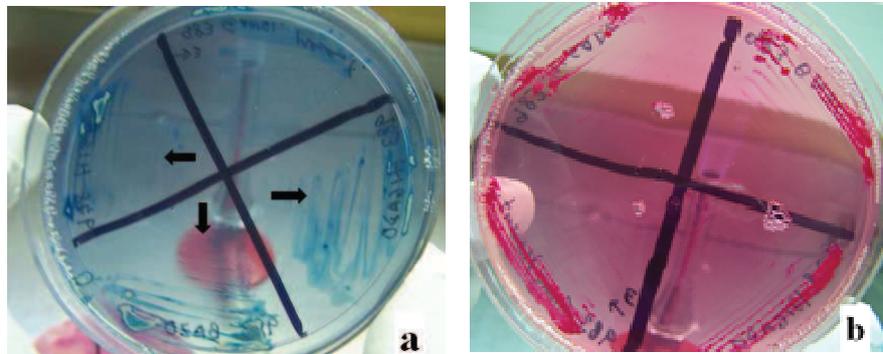


Figura 12: a- crecimiento de *Brucella* (→) en medio con tetraciclina concentración de 1:25000, b- no crecimiento de *Brucella* en medio de fucsina básica concentración de 1:50000.



Figura 13: Aglutinación con sueros específicos contra *Brucella abortus*, *B. melitensis* y cepas rugosas. Muestra positiva solo cuando se la enfrentó con suero específico contra *B. abortus* (primer recuadro).

Se corroboró, mediante PCR, que las cepas aisladas del hígado y del bazo de *C. villosus* correspondían a *B. suis* biovar 1 (Figura 14).

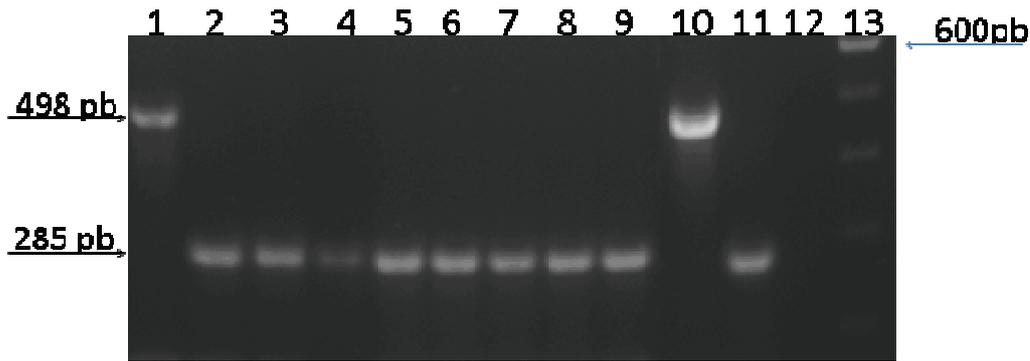


Figura 14: PCR, columna 1: *B. abortus* biovar 1, columnas 2-3-4-5-6-7 *B. suis* biovar1 de *Lepus europaeus*, columna 8-9: *B. suis* biovar 1 de *Chaetophractus villosus*, columna 10: *B. abortus* 2308, columna 11: *B. suis* biovar 1 1330, columna 12: control Negativo y columna 13: Marcador Molecular 600 pb. (pb=pares de base).

3.1- Infección experimental

Los cuatros individuos adultos de *C. villosus* inoculados con la cepa aislada de *B. suis* biovar 1 se infectaron.

La hembra que al momento del desafío con *Brucella* se encontraba preñada (HIp978), abortó al séptimo día pos-inoculación. El test (FPA) fue negativo para todas las muestras de suero correspondientes al día 7 pos-inoculación. Dos machos (MI982, MI990) y la hembra (HIp978) que habían sido inoculados con la cepa de *Brucella* presentaron títulos positivos al décimo séptimo día (superior a 82 mP), mientras que un macho inoculado (MI983) no superó el valor de corte (75,7 mP). La hembra adulta no inoculada (Hn952), que compartía el mismo hábitat que los machos inoculados, reaccionó en forma positiva al décimo séptimo día, no así el macho juvenil (MJn989) que se encontraba en el mismo habitáculo.

Los valores de anticuerpos siguieron elevándose hasta el final del experimento. Se destaca que la hembra no inoculada (Hn955) que compartía el habitáculo con la hembra infectada (HIp978) y el macho juvenil no inoculado (MJn989), que compartía el hábitat con los tres machos inoculados, no se infectaron. Se destaca, además, que los ejemplares doblemente inoculados (MI982 y HIp978) alcanzaron títulos altos en menor tiempo. Asimismo la Hn952 no inoculada pero que compartía el hábitat con los tres machos inoculados presentó un título alto (178,6 mP) a los 25 días (Figura 15).

A los 55 días pos-inoculación se realizó la eutanasia de los tres machos positivos y de las dos hembras positivas. Ninguno de los órganos de los individuos presentó lesiones visibles macroscópicamente. Las muestras de todos los órganos (útero, cuerno uterino, útero-vagina, glándula vulva uretral, cabeza del epidídimo, cola del epidídimo, hígado,

bazo, pulmón, ganglio mesentérico, ganglio axilar, riñón) y de la orina, sembradas en los medios correspondientes para intentar el aislamiento de *Brucella* dieron positivas a *Brucella suis* biovar 1, con excepción de la correspondiente a la cabeza del epidídimo.

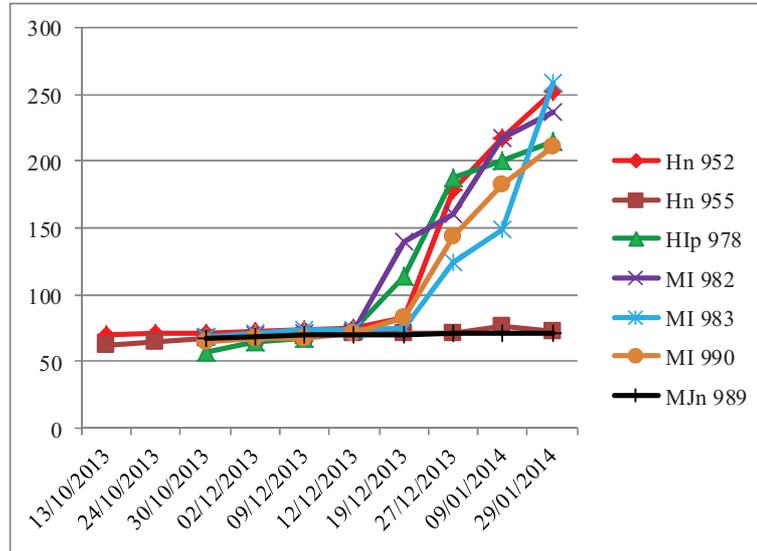


Figura 15: Valores de mP (FPA) de *Brucella suis* biovar 1 de *C. villosus* no inoculados e inoculados con la cepa de *B. suis* biovar 1, según el sexo de los mismos (Hn: hembras adultas no inoculadas, HI: hembra adulta inoculada, Hip: hembra adulta inoculada, MI: macho inoculado adulto, MJn: macho juvenil no inoculado).

4- DISCUSIÓN

La presencia de anticuerpos contra *Brucella* constituye un indicador de la exposición de *C. villosus* a esta bacteria en la provincia de La Pampa, siendo los resultados antes mencionados los primeros registros para Cingulata. Asimismo la presencia de *B. suis* biovar 1 es el primer registro para Xenarthra.

Los resultados obtenidos con las pruebas serológicas convencionales mostraron que los animales infectados naturalmente con la bacteria, fueron detectados por todas las pruebas serológicas utilizadas. Dado que el 2-Me detecta principalmente IgG1 e IgG2, inmunoglobulinas presentes en la etapa posterior a la infección y que persisten durante un largo período de tiempo, y que la FC detecta principalmente IgG1 (Godfroid et al. 2010), la gran proporción de *C. villosus* con resultados positivos para ambas pruebas, sugiere que la brucelosis es crónica en las poblaciones de armadillos en el área investigada.

La técnica en placa con antígeno buferado (BPA) es una técnica de "screening", rápida y sencilla, que tiene una alta sensibilidad, pero puede dar falsos positivos,

especialmente por reacciones cruzadas con otras bacterias Gram negativas que comparten un lipopolisacárido superficial con *Brucella* (entre las que podemos citar a *Escherichia coli*, *Francisella* sp., *Salmonella* sp. y *Campylobacter*; Díaz et al. 2012, Araoz et al. 2014), ó en aquellos casos en que los animales analizados han sido vacunados con inmunógenos preparados con cepa lisas de *Brucella* (hecho éste último descartable para el caso de *C. villosus*). Por el contrario, las técnicas "confirmatorias" (FPA, 2Me, SAT y FC), técnicas más complejas que requieren de mayor equipamiento e insumen más tiempo y mayores costos, permiten cuantificar los títulos de anticuerpos y aumentar la especificidad del diagnóstico, desechando los falsos positivos presentes en las pruebas del BPA.

Por otra parte, las referidas técnicas de diagnóstico serológico detectan anticuerpos contra cualquiera de las especies lisas de *Brucella* (*abortus*, *mellitensis* y *suis*).

Por ello, para corroborar e identificar la especie de la bacteria en los tejidos animales, es necesario desarrollar técnicas de cultivos con medios específicos y técnicas moleculares (PCR), como también se hizo en esta tesis, lo que nos permitió diferenciar el biovar presente, en los dos ejemplares elegidos al azar en los que se aplicaron.

Los animales juveniles fueron serológicamente negativos, lo que indicaría que la mayoría de los armadillos se infectaron con *Brucella* a una edad relativamente adulta, como lo sugiere el contagio de la hembra no inoculada, mantenida en cautiverio con los machos infectados experimentalmente, y como lo sugiere el aislamiento de la bacteria de la cola del epidídimo de los machos inoculados.

La amplia diferencia observada en los títulos obtenidos en FPA, entre los ejemplares con doble infección experimental (vía oral y vía conjuntiva), con respecto a los inoculados que recibieron una sola dosis, por vía oral, se debería no solo a que recibieron más cantidad de inóculo, sino, particularmente, a que la mucosa ocular es muy permeable al pasaje de *Brucella*, con lo cual el ingreso de *Brucella* vía conjuntival, permitiría que la bacteria llegue más rápidamente al torrente sanguíneo que por la vía oral y, por consiguiente, los ejemplares presentarían títulos más altos con un menor tiempo de exposición.

El biotipo de *B. suis* (biotipo 1) aislado a partir de los *C. villosus* estudiados, correspondió al mismo biotipo que fuera aislado previamente en *Lepus europaeus* por Fort et al. (2012) en La Pampa. No obstante la seroprevalencia de *Brucella* en *C. villosus* (16%, 24/150) fue superior a la registrada en *L. europaeus* (6%, 6/100) para La Pampa (Baldone et al. 2007); asimismo, fue superior a la reportada para cerdos (8%, 26/325), del sudoeste de Buenos Aires y este de La Pampa por Castro et al. (2006) y para La Pampa (5,7%,

155/2716) por Fort et al. (2008). La diferencia podría estar vinculado al tipo de dieta de estas especies (*Lepus* es herbívoro, los cerdos son principalmente granívoros aunque no desechan la carroña, mientras que *C. villosus* es omnívoro y carroñero).

Otro resultado interesante de esta tesis es que la hembra preñada que fuera inoculada por vía conjuntival con *Brucella* abortó al 7 día, lo que podría sugerir una relación entre el aborto y la infección con *Brucella*. De ser así, si bien *C. villosus* no se encuentra actualmente en riesgo de extinción (Díaz y Ojeda 2000, Superina et al. 2012), la alta prevalencia a *Brucella* hallada podría ser un factor de riesgo a largo plazo para el mantenimiento de sus poblaciones naturales.

Es interesante resaltar que en Argentina hay una subestimación y una sub notificación de casos humanos de brucelosis. Desde enero 2009 hasta noviembre 2011, 1.040 sueros de pacientes humanos resultaron positivos a las pruebas de diagnóstico serológico de brucelosis. Sólo el 2,8% de ellos fueron confirmados mediante pruebas bacteriológicas. Los hemocultivos fueron realizados en 40 pacientes, obteniéndose resultados positivos en 15 de ellos (37%). Las especies aisladas fueron *B. suis* biovar 1 en 8 pacientes (53%), *B. abortus* en 4 pacientes (27%) y *Brucella* sp. en tres (Aznar et al., 2014).

Aunque se desconoce para los armadillos la fuente de la infección, se sabe que *C. villosus* comparte su habitat con animales domésticos como cerdos, equinos, bovinos y con otros animales silvestres. Así, los armadillos podrían haberse infectado a través del contacto con esos animales domésticos o silvestres, incluidos aquellos en los que la presencia de *Brucella* es aún desconocida. Sin embargo, dada la alta prevalencia a *Brucella* encontrada en *C. villosus*, la transmisión entre ellos podría ser posible. Avalan ese enfoque la infección experimental realizada en esta tesis, en donde una hembra no inoculada con la cepa de *Brucella*, pero que compartía el mismo habitáculo con tres machos inoculados, adquirió la enfermedad.

La carne de *C. villosus* forma parte de la dieta de los lugareños, con lo cual éstos podrían llegar a infectarse en el momento en que extraen las vísceras, luego de cazarlo. Otros animales silvestres también podrían infectarse con *Brucella* sí se alimentan de *C. villosus* infectados. No hay evidencia disponible que indique que *C. villosus* pueda transmitir eficazmente la brucelosis a los animales domésticos, los seres humanos u otros animales silvestres. No obstante, la alta incidencia de *Brucella* en *C. villosus* indica que esta especie podría representar un riesgo para los seres humanos.

La alta seroprevalencia a brucelosis encontrada en armadillos sugiere que existirían focos naturales en animales silvestres en Argentina. Por lo que los esfuerzos para controlar esta zoonosis no deberían estar dirigidos exclusivamente a los animales domésticos.

Debido a que la presente investigación se limita a una zona geográfica restringida, se requieren posteriores estudios para explorar la presencia de brucelosis en la población de armadillos en otras partes de la provincia de La Pampa, del país y en otros países en donde habita.

5- CONCLUSIONES

- Se demostró por primera vez la presencia de anticuerpos a *Brucella* en *C. villosus*.
- Se demostró la utilidad de las distintas pruebas para el diagnóstico de la brucelosis en esta especie.
- Se confirmó la hipótesis que los *C. villosus* están expuestos a *Brucella* en la provincia de La Pampa.
- La alta tasa de infección (16%) indica que un segmento importante de la población de armadillos está infectado con *Brucella*.
- La prevalencia fue significativamente afectada por la edad, solo los adultos presentaron anticuerpos contra *Brucella*, pero no por el sexo de *C. villosus*
- Se aisló *B. suis* biovar 1, siendo este el primer reporte para *Xenarthra* y, en particular, para *C. villosus*.
- Se aisló *Brucella suis* biovar 1 del útero, cuerno uterino, vulva uretral, cola del epidídimo, hígado, bazo, pulmón, ganglio mesentérico, ganglio axilar, riñón y de orina.
- *C. villosus* puede infectarse con *B. suis* biovar 1 en forma natural y experimental.
- La carne de *C. villosus* forma parte de la dieta de los lugareños, con lo cual éstos podrían llegar a infectarse en el momento en que extraen las vísceras luego de cazarlo.

6- BIBLIOGRAFÍA

Acha PN.; Szyfres B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a

- los animales. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica N° 580, Washington Pg. 708.
- Aiello SE.; Mays A. (eds). 2000. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Pg. 2558.
- Alton GG.; Jones LM.; Angus RD.; Werger J M. 1988. Techniques for the brucellosis laboratory. Vet. Res. Commun 13:420-420.
- Antunes JMAP.; Machado GP.; Costa LF.; Fornazari F.; Cipriano JRB.; Appolinário CM.; Allendorf SD.; Bagagli E.; Teixeira CR.; Megid J. 2010. Comparison of infection by *Brucella* spp. in free-ranging and captive wild animals from São Paulo State, Brazil. J. Venom. Anim. Toxins. 16(4):654-658.
- Araoz J.; Cruz ML.; González del Pino F.; Jorrot JJ.; de la Vega AC. 2014. Estudio comparativo de distintas técnicas serológicas para el diagnóstico de brucelosis equine. Rev. Agron. Noroeste Argent. 34(2):177-179.
- Aznar MN.; Samartino LE.; Humblet MF.; Saegerman C. 2014. Bovine brucellosis in Argentina and bordering countries: update. Transbound. Emerg. Dis. 61(2):121-133.
- Baldone VN.; Fuchs LI.; Fort MC.; Rojas MC; Bedotti DO.; Samartino L.; Giménez HD.; Kin MS. 2007. Presencia de anticuerpos contra *Brucella* en la liebre europea (*Lepus europaeus*, Pallas 1778) en la provincia de La Pampa, Argentina. Rev. Med. Vet. 88(6):242-245.
- Benenson AS. (ed.). 1997. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. OPS. 16ª edición. Washington. Publicación Científica N° 564. Pg. 541.
- BEP (Boletín epidemiológico periódico). 2006. Brucelosis N° 33. Ed. Especial. http://msal.gov.ar/htm/site/sala_situacion/PANELES/boletines/boletin_Brucelosis.pdf
- Blank O.; Retamal P.; Abalos P.; Torres D. 2002. Detección de anticuerpos anti-*Brucella* en focas de Weddell (*Leptonychotes weddellii*) de Cabo Shirref, Antártica. Arch. Med. Vet. 34(1):117-122.
- Campero CM. 1993. Brucelosis en toros: una revisión. Rev. Med. Vet. 74(1):8- 14.
- Castro HA.; González SR.; Prat MI. 2005. Brucelosis: una revisión práctica. Acta Bioquím. Clín. Latinoam. 39(2):203-216.
- Castro HA.; González SR.; Prat MI.; Baldi PC. 2006. Detección de anticuerpos anti *Brucella* spp. en cerdos mediante técnicas de aglutinación y ELISA indirecto en las provincias de Buenos Aires y La Pampa, Argentina. Rev. Arg. Microbiol. 38:75-78.

- CloECKAERT A.; Verger JM.; Grayon M.; Paquet JY.; Garin Bastuji B.; Foster G.; Godfroid, J. 2001. Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. *Microbes Infect.* 3(9):729-738.
- Corbel MJ. 1997. Brucellosis: an overview. *Emerg. Infect. Dis.* 3(2):213-221.
- Corriale MJ.; Orozco MM.; Jiménez Pérez I. 2013. Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los Esteros del Iberá. *Mastozoología Neotropical* 20(1):31-45.
- Díaz GB.; Ojeda RA. (eds.). 2000. Libro rojo de Mamíferos amenazados de la Argentina. SAREM. Pg.106.
- Díaz AG.; Soto P.; Estein SM. 2012. Estudio de la interferencia serológica en el diagnóstico de la brucelosis bovina en el modelo murino. *InVet.* 14(1):69-77.
- Ferreyra H.; Uhart MM.; Romano MC.; Beldoménico PM.; Samartino L.; Paolicchi F.; Lauricella M.; Jorge MC.; Schettino A.; Guida N.; Martín AM. 2007. Inmovilización química y evaluación de salud de vizcachas salvajes (*Lagostomus maximus*) en el Chaco árido Argentino. *Arq. Ciénc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, 10(2):91-99.
- Fort M.; Baldone V.; Fuchs L.; Rojas M.; Bedotti D.; Giménez H. 2006. Aislamiento de *Brucella suis* en liebre europea (*Lepus europaeus*) en la provincia de La Pampa, Argentina. *Rev. Inv. Prod. Animal. INTA. Bol. de Div. Técnica* 90:175-181.
- Fort M.; Baldone V.; Fuchs L.; Miranda A.; Giménez H.; Rojas M.; Esaín F.; Pérez L. 2008. Relevamiento serológico de la Brucelosis en porcinos de la Provincia de La Pampa durante el período 2005-2006. *Rev. Inv. Prod. Animal. INTA. Bol. de Div. Técnica* 85-87.
- Fort M.; Baldone V.; Fuchs L.; Giménez H.; Rojas M.; Breccia JD.; Oyhenart J. 2012. Experimental infection of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with *Brucella suis* biovar 1 isolated from wild hares (*Lepus europaeus*). *Vet. Microbiol.* 156:439-442.
- Foster G.; Osterman BS.; Godfroid J.; Jacques I.; CloECKAERT A. 2007. *Brucella ceti* sp nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57:2688-2693.
- Fuchs L.; Baldone V.; Fort M.; Rojas MC.; Samartino L.; Giménez H. 2009. Brucelosis en el zorro gris pampeano (*Pseudalopex gymnocercus*) en la provincia de La Pampa (Argentina). *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* 43(2):227-231.
- Giraud JA.; Dauria PG.; de la Cruz JP.; Bagnat E. 1985. Anti-*Leptospira* and anti-*Brucella* agglutinins in hares (*Lepus europaeus*) from Río Cuarto Department, Province of Córdoba. *Rev. Arg. Microbiol.* 17(4):221-223.

- Godfroid J. 2002. Brucellosis in wildlife. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 21(2):227-286.
- Godfroid J.; Cloeckart A.; Liautard JP.; Kohler S.; Fretin D.; Walravens K.; Garin-Bastuji B.; Letesson JJ. 2005. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. Vet. Res. 36:313-326.
- Godfroid J.; Nielsen K.; Saegerman C. 2010. Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. Croat. Med. J. 51(4):296-305.
- Konrad JL.; Campero LM.; Caspe GS.; Brihuega B.; Draghi G.; Moore DP.; Crudeli GA.; Venturini MC.; Campero CM. 2013. Detection of antibodies against *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., and Apicomplexa protozoa in water buffaloes in the Northeast of Argentina. Trop. Anim. Health. Prod. 45:1751-1756.
- Marc L.; Gualtieri C.; Di Nucci D.; Pérez Jimeno G.; Molteni H. 2008. Relevamiento serológico de *Brucella abortus* en una población cautiva de osos hormiguero (*Myrmecophaga tridactyla*).
http://www.proyectoosohormiguero.org/Descargas/AAVDL_2008_Ac_anti_brucella_osos_hormigueros%5B2%5D.pdf
- Martino PE.; Montenegro JL.; Preziosi JA.; Venturini C.; Bacigalupe D.; Stanchi NO.; Batistuta EL. 2004. Serological survey of selected pathogens of free ranging foxes in southern Argentina, 1998-2001. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 23(3):801-806.
- Mereb GC.; Ganuza R.; Hecker HS.; Bueno ER.; Ottavianoni LA. 1994. Estudio sobre la fiebre aftosa y brucelosis en ciervo colorado (*Cervus elaphus*). Agro Pampeano 28:39-41.
- Miranda FR. 2008. Pesquisa de anticorpos contra bactérias de gênero *Brucella* spp., *Leptospira* spp, *Clamydophila* spp en tamandúas-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linneaus, 1758), da RPPN Sesc Pantanal, Parque Nacional da Serra da Canastra e Parque Nacional das Ema. Disertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ecología Aplicada. Piracicaba Pg. 116.
- Morilla González A.; González-Vega Aguirre D. 1996. Los perfiles serológicos y microbiológicos para evaluar el estado sanitario de las granjas porcinas. Cienc. Vet. 7:273-313.
- Olsen SC.; Palmer MV. 2014. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years. Vet. Pathol. 51(6):1076-1089.
- OMS (Organización Mundial para la Salud). 1958. Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. Tercer informe. Ginebra. Org. Mund. Salud Ser. Inf. Técn. 148:1-60.

- Orozco MM.; Maruull C.; Jiménez I.; Gürtler RE. 2013. Mortalidad invernal de ciervo de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*) en humedales del noreste de Argentina. *Mastozoología Neotropical* 20(1):163-167.
- Pizarro-Cerdá J.; Méresse S.; Parton RG.; Van Der Goot G.; Sola-Landa A.; López-Goñi I.; Moreno E.; Gorvel JP. 1998. *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. *Infect. Immun.* 66(12):5711-5724.
- Quinn PJ.; Carter ME.; Markey BK.; Carter GR. 2002. *Clinical Veterinary Microbiology.* (ed.) Mosby International Limited. Pg. 648.
- Scholz HC.; Nöckler K.; Göllner C.; Bahn P.; Vergnaud G.; Tomaso H.; Al Dahouk S.; Kämpfer P.; Cloeckaert A.; Maquart M.; Zygmunt MS.; Whatmore AM.; Pfeiffer M.; Huber B.; Jürgen BusseH.; Kumar De B. 2010. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int. J. Syst. Evol. Micr.* 60:801-808.
- Superina M.; Abba AM.; Vizcaíno SF. 2012. Orden Cingulata Familia: Dasypodidae. 61-66. En Libro Rojo de Mamíferos Amenazados de la Argentina. Ojeda RA.; Chillo V.; Diaz Isenrath GB. (Eds) SAREM Pg. 257.
- Szyfres B.; González Tomé J. 1966. Natural *Brucella* infection in Argentine wild foxes. *Bull. World Health. Organ.* 34:919-923.
- Szyfres B.; González Tomé J. 1967. Infección natural por *Brucella* en zorros silvestres de la Argentina. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 144-150.
- Szyfres B.; González Tomé J.; Palacio Mendieta T. 1968. Aislamiento de *Brucella suis* de la libre europea (*Lepus europaeus*) en la Argentina. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 441-445.
- Radostits OM.; Gay CC.; Blood DC.; Hinchcliff KW. 2002. *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* Ed. McGraw-Hill. Interamericana de España, S. A. U. I: 1-1206.
- Ramamoorthy S.; Woldemeskel M.; Ligett A.; Snider R.; Cobb R.; Rajeev S. 2011. *Brucella suis* infection in dogs, Georgia, USA. *Emerg. Infect. Dis.* 17(12):2386-2387.
- Uhart MM.; Vila AR.; Beade MS.; Balcarce A.; Karesh WB. 2003. Health evaluation of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus celer*) at Campos del Tuyú Wildlife Reserve, Argentina. *J. Wildlife. Dis.* 39(4):887-893.
- Whatmore AM.; Davison N.; Cloeckaert A.; Al Dahouk S.; Zygmunt MS.; Brew SD.; Perrett LL.; Koylass MS.; Vergnaud G.; Quance C.; Scholz HC.; Dick Jr EJ.; Hubbard G.; Schlabritz-Loutsevitch NE. 2014. *Brucella papionis* sp. nov. isolated from baboons (*Papio* spp.). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64:4120-4128.

CAPÍTULO IV: TUBERCULOSIS

1- INTRODUCCIÓN

La tuberculosis es una zoonosis infectocontagiosa, crónica, caracterizada por la formación de nódulos o tubérculos con tendencia a la calcificación, localizados frecuentemente en pulmón, pero puede afectar cualquier órgano o tejido (Radostits et al. 2002, OIE 2004). Es una enfermedad muy frecuente en los bovinos, tanto en la Argentina como en otros países donde la ganadería es una actividad relevante. Es producida por microorganismos del género *Mycobacterium* (Aiello y Mays, 2000), el cual incluye diversas especies que causan enfermedades tanto al ganado como a los animales silvestres y al hombre. El complejo *M. tuberculosis* incluye a las especies: *M. tuberculosis*, *M. canettii*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. pinnipedii*, *M. caprae* y *M. microti* (Thoen et al. 2009).

Mycobacterium tuberculosis afecta al hombre y, a veces, a perros, cerdos y aves; *M. bovis* afecta principalmente a los bovinos y a la gran mayoría de los vertebrados de “sangre caliente” y *M. avium* es la única especie con efectos en las aves, pero también es patógeno para cerdos, bovinos, ovinos, cérvidos, visones, perros, gatos y algunos animales de “sangre fría” (Aiello y Mays 2000, Engelmann et al. 2014).

Mycobacterium bovis se encuentra en el ganado bovino a nivel mundial, causando grandes pérdidas económicas. La enfermedad fue probablemente introducida en América en el tiempo colonial, con la importación de ganado bovino (Thoen et al. 2009). Ha sido aislada de lesiones tuberculosas en cerdos, las cabras son susceptibles, y en ovinos es muy rara, pero tanto en cabras como en ovinos las lesiones que produce son similares a las del ganado bovino (Thoen et al. 2009). En cerdos alimentados con restos de ganado vacuno tuberculoso ha provocado graves brotes de la enfermedad (Radostits et al. 2002).

La infección con *M. bovis* también ha sido descripta en perros y gatos, pero no aún la transmisión de éstos al ganado (Wilesmith y Clifton-Hadley 1994, Gay et al. 2000, Etienne et al. 2013).

Los animales domésticos y los silvestres pueden ser hospedadores reservorios de las micobacterias o anfitriones esporádicos. En los reservorios u hospedadores de mantenimiento la enfermedad puede persistir a través de la vía horizontal, en ausencia de cualquier otra fuente de *M. bovis*, y puede transmitirse a otros hospedadores susceptibles,

no sólo a la fauna doméstica sino también a especies silvestres (Lisle et al. 2002, Biet et al. 2005).

Es así que si bien en diversos países se han implementado programas de erradicación de la tuberculosis bovina, en muchos de ellos no se la ha podido erradicar totalmente, debido a la presencia de animales silvestres que actúan como hospedadores de mantenimiento de la enfermedad, los que pueden infectar al ganado bovino y éstos, a su vez, al hombre; un ejemplo de ello es el tejón (*Meles meles*), que en Gran Bretaña e Irlanda actúa como una fuente importante de infección para el ganado doméstico (Biet et al. 2005). El ciervo colorado (*Cervus elaphus*) en Nueva Zelanda y el jabalí (*Sus scrofa*) en Italia, España, Hawaii, Australia y Nueva Zelanda actúan como hospedadores de mantenimiento y accidentales de *M. bovis* (Biet et al. 2005).

M. bovis puede ser transmitida a los humanos afectando su calidad de vida, es considerada como una enfermedad ocupacional en frigoríficos, en establecimientos ganaderos y para veterinarios (Torres 2011).

La tuberculosis en humanos debida a *M. bovis* ha sido documentada en los últimos años en Argentina, Brasil, Ecuador y Venezuela, ocurriendo en Argentina el porcentaje más alto de casos diagnosticados. Entre los años 1988 y 2006 en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INE), Santa Fe, se confirmaron bacteriológicamente 2485 casos, predominando en personas que trabajan en relación con el ganado bovino, en especial los trabajadores de mataderos o frigoríficos (Kantor et al. 2008).

1.1- Ciclo biológico

La tuberculosis puede transmitirse por vía respiratoria o aerógena y por vía digestiva. La primera ocurre por medio de secreciones nasofaríngeas, donde los bacilos son liberados cuando el animal tuberculoso tose o estornuda. La segunda vía se produce por medio de suelos, pastos y aguas contaminadas con el bacilo a través de heces y orina infectados, también puede ser por medio de la leche de hembras tuberculosas, si bien existen otras vías de menor importancia como el semen y secreciones genitales (Aiello y Mays 2000, Torres 2011).

Si la entrada del bacilo es predominantemente aerógena, las lesiones iniciales se presentan principalmente en el pulmón; si es por ingestión de leche contaminada, las lesiones son bucofaríngeas o intestinales. Los bacilos dan origen a granulomas en los órganos donde se detienen; la extensión de las lesiones y los signos clínicos pueden variar,

pero la enfermedad es siempre progresiva, causando finalmente la muerte (Benenson, 1997).

Las infecciones congénitas y la transmisión vertical a los terneros son poco comunes en lugares donde existen programas intensivos de erradicación (Biet et al. 2005).

El hombre actúa como un hospedador accidental de *M. bovis*, siendo el modo de transmisión más común la ingestión de leche o productos lácteos crudos; o bien, la infección es a través de la vía aerógena (Acha y Szyfres 2001).

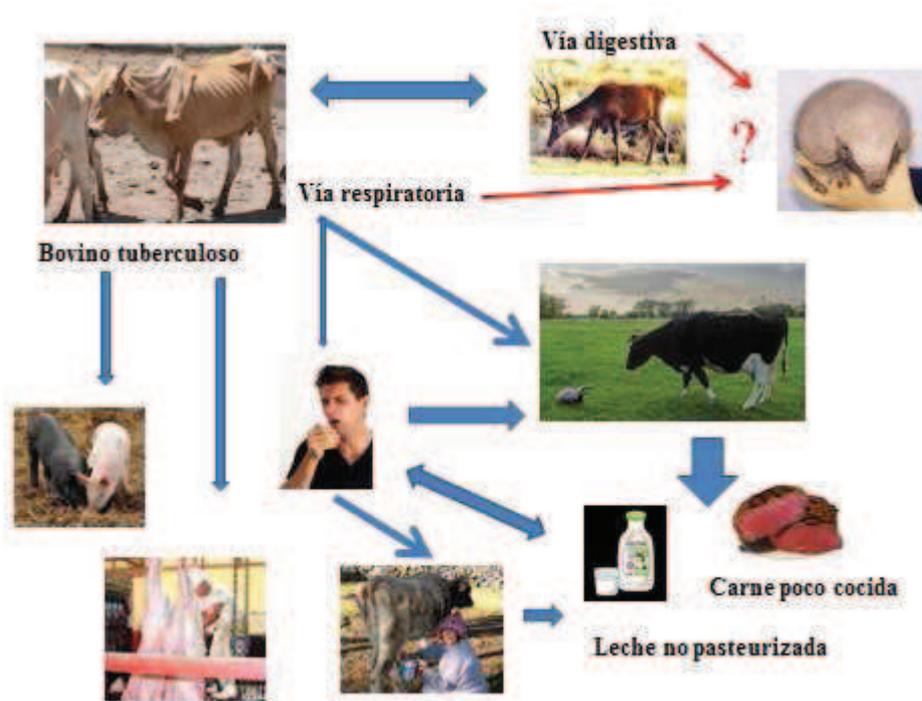


Gráfico 1: Ciclo de *M. bovis*.

1.2- Resistencia

Las micobacterias pueden sobrevivir en heces, sangre y orina cerca de un año a una temperatura de 12 a 14° C y al resguardo de la luz solar, pero disminuye de 18 a 31 días con temperaturas de 24 a 43 °C si es expuesto a la luz del sol (Abdala y Tarabla 2007).

1.3- Síntomas

Algunos de los síntomas manifestados en los animales y en el hombre con tuberculosis son: adelgazamiento progresivo, letargia, debilidad, temperatura fluctuante,

actitud perezosa, tos crónica, respiración dificultosa (Benenson 1997, Aiello y Mays 2000). En el hombre, es importante como causa de incapacidad y muerte en muchas zonas del mundo (Benenson 1997). El hombre que sufre de tuberculosis pulmonar debida al tipo bovino puede, a su vez, retransmitir la infección a los bovinos (Acha y Szyfres 2001).

1.4- Tuberculosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina

A nivel mundial, una gran variedad de animales silvestres se han visto afectados por *M. bovis*, entre ellos ratas, topes, búfalo africano, zorros, ciervo axis, cerdos salvajes, mangostas, cabras silvestres, zarigüeyas, tejones, bisones, búfalos africanos, leones, ciervos de cola blanca, ciervo colorado, antílopes, jabalíes, hurones, mandriles, oso negro, gatos, coyotes, leopardos, onza, hienas y ginetas (Pastoret et al. 1988, Bruning-Fann et al. 1998, Lisle et al. 2002).

En Argentina, se ha reportado la presencia de *M. bovis* en algunas especies, las cuales se detallan en la tabla 1.

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *M. bovis* en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n %	Órgano de aislamiento	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Lepus europeus</i>	369	5 1,36			Prov. de Bs. As.	Kantor et al. (1984)
<i>Rattus norvegicus</i>	8	1 12,5	Pulmón	Histopatología Bacteriología	Córdoba y Santa Fe	Abdala et al. (2006)
<i>Lycalopex griseus</i>	1	1 100	Ganglio mesentérico		Córdoba y Santa Fe	
<i>Didelphys albiventris</i>	6	1 16,7	Ganglios cefálicos		Córdoba y Santa Fe	
<i>Sus scrofa</i>	2	2 100		Aislamiento PCR	La Pampa, Argentina	Aguilar León et al. (2009)
<i>Bubalus bubalis</i>	402	1 0,9	Ganglio retromamario	Prueba tuberculínica intradérmica Histopatología Bacteriología	Nordeste argentino	Guanziroli Stefani et al. (2008)
<i>Mustela vison</i>	2	2 100	Pulmón, Ganglios linfáticos, Órganos gastrointestinales	Histopatología Bacteriología	Prov. de Bs. As.	Martino et al. (2007)
<i>Blastocercus dichotomus</i>	3	0 0		ELISA	Reserva Nat. del Iberá, Ctes.	Orozco et al. (2013)

1.5- Tuberculosis en Xenarthra

Se estudiaron muestras de 3 ejemplares de *C. villosus*, provenientes de las provincias de Córdoba y Santa Fe, en búsqueda de la presencia de *M. bovis*, resultando las tres muestras negativas (Abdala et al. 2006).

1.6- Tuberculosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa

Hasta la presente tesis no han habido intentos de búsqueda de la presencia de *Mycobacterium bovis* en la provincia de La Pampa en ningún Xenartro.

El objetivo general de este capítulo es determinar si *C. villosus* está expuesto a *M. bovis* y, de estarlo, cuál es su prevalencia.

2- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados y el área de estudio, se describe en el capítulo 1.

Para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos frente a *M. bovis* se utilizó el test de enzimoimmunoensayo (ELISA-i) indirecto modificado (Kit *in House* ELISAs con antígeno PPD, Boadella et al. 2011), usando como solución de conjugado Proteína G (Lote 089K 1697 de USA, Lab. SIGMA).

Se consideraron positivos aquellos sueros que presentaban un IRPC (índice relativo de las muestras) igual o mayor a 40.

$$\text{IRPC} = \frac{\text{DO muestra} - \text{Media DO Control Negativo}}{\text{Media DO Control Positivo} - \text{Media DO Control Negativo}} \times 100 =$$

3- RESULTADOS

Se detectó la presencia de anticuerpos contra *M. bovis* en 56% (84/150; IC_{95%}: 48-64) de los *C. villosus* estudiados.

El valor medio de IRPC fue 93,38; con un mínimo de 40,11 y un máximo de 286,92; los 66 sueros que resultaron negativos registraron valores de IRPC inferiores a 40, valor medio 12,51, rango -16,78 a 39,26 (Figuras 2 y 3).

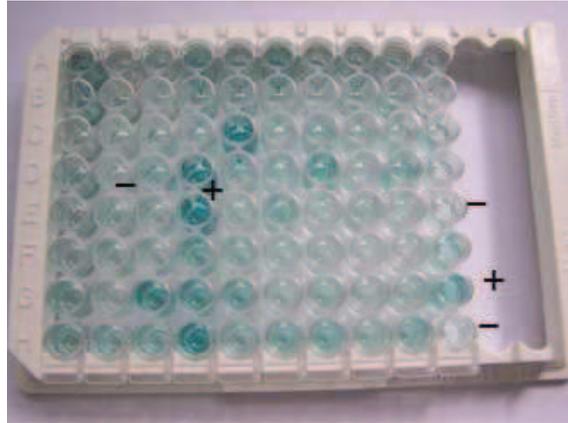


Figura 2: Placa con muestras de sueros positivas a *M. bovis*.

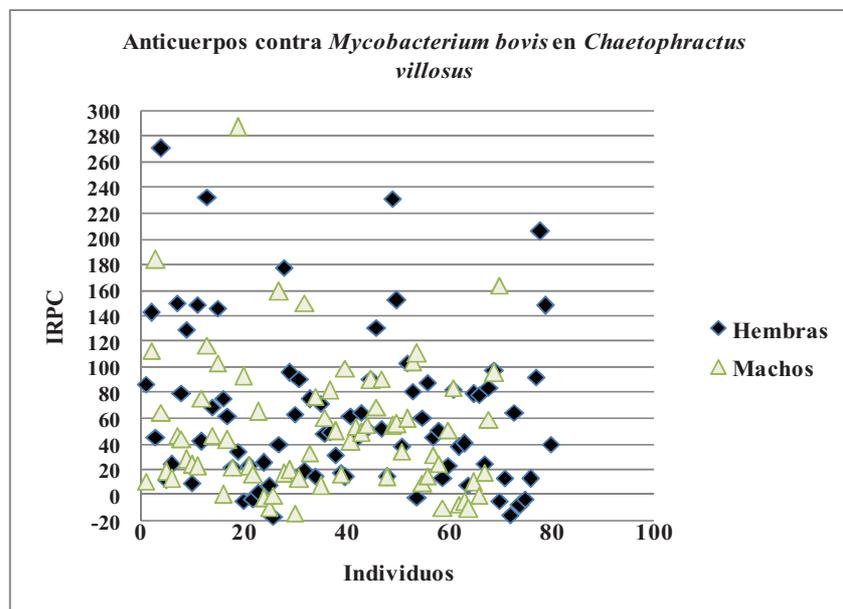


Figura 3: Valores de índice relativo de las muestras (IRPC) de *M. bovis* según el sexo de cada uno de los *C. villosus* muestreados.

En todos los sitios de captura hubo algún *C. villosus* positivo a *M. bovis*. Las prevalencias en los sitios con serología positiva variaron entre 25% y 87,5% (Tabla 2).

Tabla 2: Prevalencia de anticuerpos a *M. bovis* (Mb.) en *C. villosus* (Cv.), según los distintos sitios de captura.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a Mb.	7	3	8	12	9	2	2	1	1	6	12	3
Cv. pos. a Mb.	18	5	8	4	20	3	2	7	1	2	13	1
Total Cv.	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%)	72	62,5	50	25	69	60	50	87,5	50	25	52	25

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados, 52,86% (37) fueron positivos a *M. bovis*, IC_{95%} 40,9-64,8 y de las 80/150 hembras, 58,75% (47) fueron positivas a *M. bovis*, IC_{95%}: 47,7-69,8 (Figura 4); el sexo no influye en la presencia de anticuerpos contra *M. bovis* en *C. villosus* ($p=0,468$; OR: 1,27).

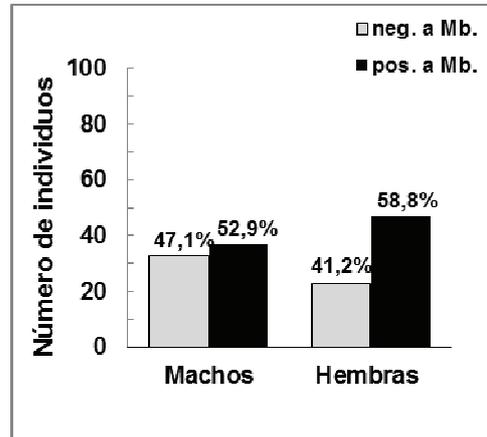


Figura 4: Prevalencia de anticuerpos a *M. bovis* (Mb) según el sexo de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, 34,78% (8) fueron positivos a *M. bovis* en tanto que de los 127 adultos, 59,84% (76) fueron positivos. Se hallaron diferencias estadísticas significativas, siendo los *C. villosus* adultos los más susceptibles a adquirir la enfermedad ($p=0,026$; OR: 2,794; Figura 5).

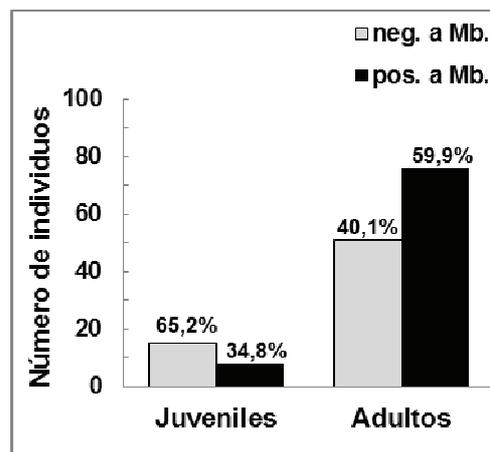


Figura 5: Prevalencia de anticuerpos a *M. bovis* (Mb.) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se halló 50% (53/106) de *C. villosus* positivos a *M. bovis* y en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se halló 31/44 positivos, siendo la prevalencia del 70,45%. De los 84 *C. villosus* positivos, 36,9% (31) correspondieron a sitios de captura

con presencia de tambo. Se hallaron diferencias estadísticas significativas, siendo los *C. villosus* capturados en sitios con presencia de tambo los que más presentaron anticuerpos contra *M. bovis* ($p=0,022$; OR: 2,385; Figura 6).

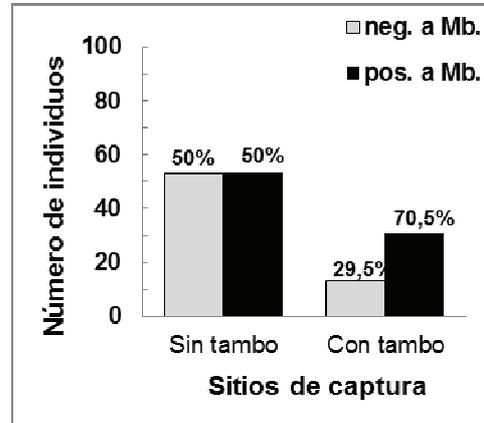


Figura 6: Prevalencia de anticuerpos a *M. bovis* (Mb.) según presencia o no de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de cerdo (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se halló 59,8% (79/132) de los *C. villosus* positivos a *M. bovis*; en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) se halló 27,8% (5/18). De los 84 *C. villosus* positivos, 5,95% (5) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. Se hallaron diferencias estadísticas significativas, siendo los *C. villosus* capturados en sitios sin presencia de cerdos los que más frecuentemente presentaron anticuerpos contra *M. bovis* ($p=0,010$; OR: 0,250; Figura 7).

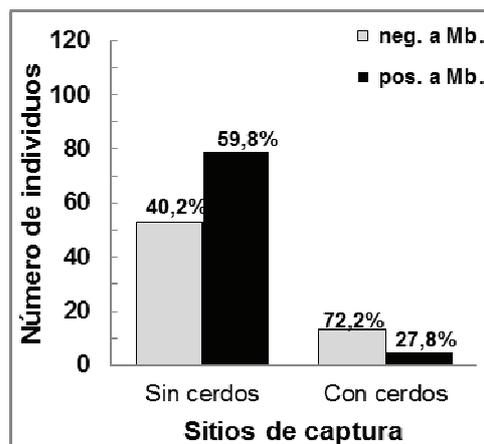


Figura 7: Prevalencia de anticuerpos a *M. bovis* (Mb.) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 65,5% (38/58) de los *C. villosus* positivos a *M. bovis*, mientras que en sitios con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 50% (46/92). De los 84 *C. villosus* positivos, 54,8% (46) correspondieron a sitios de captura con presencia de ovinos. La presencia o no de ovinos en los sitios de captura no influye en la detección de anticuerpos contra *M. bovis* ($p=0,062$; OR: 0,526; Figura 8).

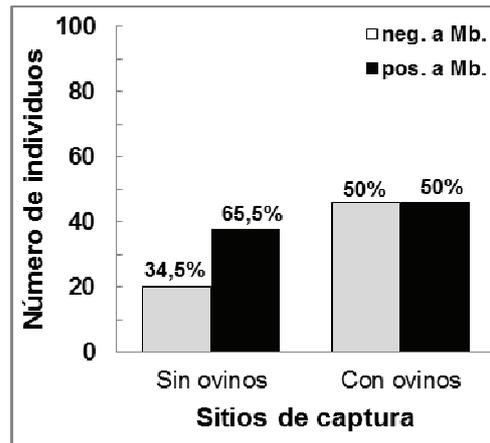


Figura 8: Prevalencia de anticuerpos a *M. bovis* (Mb.) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 52,8% (28/53) de los *C. villosus* positivos a *M. bovis*, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 57,7% (56/97). De los 84 *C. villosus* positivos, 66,7% (56) correspondieron a sitios de captura con presencia de aves de corral. La presencia o no de aves de corral en los sitios de captura no influye en la detección de anticuerpos contra *M. bovis* ($p=0,563$; OR: 1,220; Figura 9).

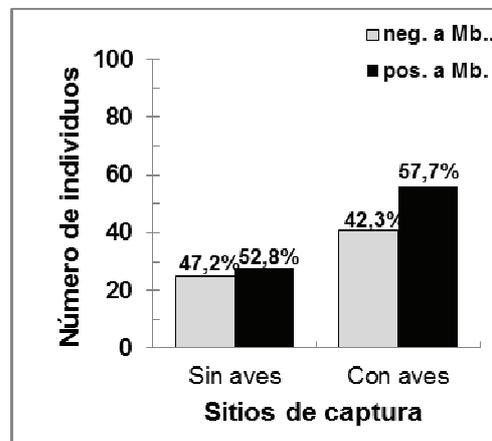


Figura 9: Prevalencia de anticuerpos a *M. bovis* (Mb.) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los órganos de *C. villosus* no se observaron lesiones macroscópicas compatibles con *M. bovis*, como las que presentan los bovinos enfermos.

4- DISCUSIÓN

La tuberculosis es una zoonosis que afecta a una gran variedad de animales tanto domésticos como silvestres y nuestros resultados corroboran que los armadillos no son la excepción. La prevalencia de anticuerpos contra *M. bovis* aquí hallada para *C. villosus* fue alta (56%) en comparación a la registrada en fauna silvestre para la Argentina, con 1,36% (5/369) en *Lepus europaeus* (Kantor et al. 1984), 12,5% (1/8) en (*Rattus norvegicus*) y 16,7% (1/6) en *Didelphis albiventris* (Abdala et al. 2006). La elevada prevalencia hallada en esta tesis podría deberse a los hábitos alimenticios de *C. villosus*, que en su dieta incluye una variedad de alimentos, los cuales podrían estar contaminados con la micobacteria. La misma ingresaría por vía digestiva, o bien a través de las vías respiratorias, por inhalación de aerosoles, cuando los armadillos se encuentren próximos a bovinos enfermos que tosen.

La ausencia de lesiones macroscópicas compatibles con *M. bovis*, como las que presentan los bovinos enfermos, coincide con lo descripto para *Ursus americanus*, *Procyon lotor*, *Crocota crocuta*, *Rattus norvegicus*, *Lycalopex gimnocercus* y *Didelphis albiventris*, donde tampoco se hallaron lesiones macroscópicas visibles (Lisle et al. 2005, Abdala et al. 2006).

La mayor probabilidad de presencia de micobacteria en ejemplares adultos se vincularía al mayor tiempo de exposición al agente.

La mayor exposición a la enfermedad de los ejemplares provenientes de sitios con presencia de tambo podría deberse a que las condiciones de manejo de los bovinos de tambo facilitan la forma de contagio, ya sea por inhalación de gotitas con el microorganismo, o por contaminación de los pastos, aguadas o comederos con secreciones nasales, materia fecal u orina que contiene el agente causal de la tuberculosis, como lo menciona Abdala y Tarabla (1998). Los *C. villosus* podrían infectarse cuando concurren a esos sitios a alimentarse.

La menor prevalencia hallada en los sitios con presencia de cerdos podría estar relacionada con el hábito de crianza de los cerdos que, a pesar de ser familiar (pocos individuos), se crían en semicautividad. Debemos tener en cuenta, además, que, aun

cuando los cerdos son susceptibles a contraerla, la prevalencia de tuberculosis para el centro y sur de la provincia de Santa Fe, sudeste de Córdoba, norte de Buenos Aires y centro-este de Entre Ríos, es baja (0,07-0,10%; Torres 2011), debido al manejo de crianza (sistema intensivo industrializado). En La Pampa no se cuenta con datos de presencia o no de *M. bovis* en cerdos, por lo cual no podemos comparar nuestros resultados.

El efecto irrelevante de la presencia o no de ovinos en los sitios de captura para la detección de anticuerpos contra *M. bovis* sería coincidente con la escasa importancia epidemiológica que poseen los ovinos, ya que estos últimos son bastante resistentes a la tuberculosis bovina (Torres 2011). Del mismo modo se interpreta la falta de una relación directa entre presencia o ausencia de aves de corral y presencia de anticuerpos contra *M. bovis* en *C. villosus*, que se relacionaría con la no susceptibilidad de las aves de corral a contraer *M. bovis* (Dhama et al. 2011).

En todos los sitios de captura hubo por lo menos algún individuo positivo a tuberculosis por lo que, si bien no se puede comparar entre los sitios debido al número variable de ejemplares capturados entre ellos, podemos decir que el medio ambiente o la fauna existente en los sitios en donde se capturaron los armadillos para esta tesis, están contaminados con dicho microorganismo.

El conocimiento de los reservorios naturales de *M. bovis* es un factor importante a tener en cuenta a la hora del éxito de los programas de control y erradicación de la tuberculosis bovina, como se están llevando a cabo en la Argentina, ya que éstos programas podrían verse afectados por la existencia de animales silvestres que podrían actuar como hospedadores de mantenimiento (reservorio) de *M. bovis*. Lo que aún no se sabe para *C. villosus* es cuál es el rol que desempeña en el ciclo de esta micobacteria, si actúa solo como un hospedador intermediario o si actúa como transmisor de la misma y, para dilucidarlo, es necesario realizar otros estudios.

4- CONCLUSIÓN

- Estos son los primeros registros de la presencia de anticuerpos contra *M. bovis* en *C. villosus*.
- Se confirmó la hipótesis que los *C. villosus* están expuestos a *M. bovis* en La Pampa.

- La alta prevalencia hallada y la presencia de la micobacteria en todos los sitios de muestreo, pone de manifiesto el riesgo al que están expuestos los *C. villosus* en La Pampa.
- Los *C. villosus* adultos son los más expuestos a la micobacteria.
- Tanto machos como hembras son susceptibles a contraer la enfermedad.
- La presencia de tambo predispone a contraer *M. bovis*.
- La presencia de ovinos, cerdos y aves de corral no influye en la presencia de anticuerpos contra *M. bovis* en *C. villosus*.
- Se requieren nuevos estudios para determinar si los *C. villosus* actúan como transmisores de la micobacteria.

5- BIBLIOGRAFÍA

- Abdala AA.; Tarabla HD. 1998. Tuberculosis bovina ¿A qué nos enfrentamos?.
http://rafaela.inta.gov.ar/productores97_98/p86.htm
- Abdala A.; Tarabla H.; Garbaccio S.; Jorge MC.; Traversa MC.; Zumárraga M.; Cataldi A. 2006. Aislamiento de *Mycobacterium bovis* en fauna silvestre.
<http://rafaela.inta.gov.ar/info/documentos/anuarios/anuario2006/sanidad-01.pdf>
- Abdala AA.; Tarabla HD. 2007. Tuberculosis bovina en rodeos lecheros. *Idia XXI* 9: 169 - 173.
- Acha PN.; Szyfres B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Vol 1. Bacteriosis y Micosis. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica N° 580, Washington. 3ra. edición. Pg. 381.
- Aiello SE.; Mays A. (eds). 2000. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Pg. 2558.
- Aguilar León D.; Zumárraga MJ.; Jiménez Oropeza R.; Gioffré AK.; Bernardelli A.; Orozco Estévez H.; Cataldi AA.; Hernández Pando R. 2009. *Mycobacterium bovis* with different genotypes and from different hosts induce dissimilar immunopathological lesions in a mouse model of tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.* 157:139-147.
- Benenson AS. (ed). 1997. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. OPS. 16ª edición. Washington. Publicación Científica N° 564. Pg. 541.

- Biet F.; Boschioli ML.; Thorel MF.; Guilloteau LA. 2005. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). Vet. Res. 36:411-436.
- Boadella M.; Lyashchenko K.; Greenwald R.; Esfandiari J.; Jaroso R.; Carta T.; Garrido JM.; Vicente J.; de la Fuente J.; Gortázar C. 2011. Serologic tests for detecting antibodies against *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Eurasian wild boar (*Sus scrofa scrofa*). Vet. Diagn. Invest. 23:77–83.
- Bruning-Fann CS.; Schmitt SM.; Fitzgerald SD.; Payeur JB.; Whipple D L.; Cooley TM.; Carlson T.; Friedrich P. 1998. *Mycobacterium bovis* in coyotes from Michigan. J. Wildlife. Dis. 34(3):632-636.
- Dhama K.; Mahendran M.; Tiwari R.; Singh SD.; Kumar D.; Singh S.; Sawant PM. 2011. Tuberculosis in birds: insights into the *Mycobacterium avium* infections. Vet. Med. Int. ID 712369, Pg. 1-14.
- Engelmann N.; Ondreka N.; Michalik J.; Neiger R. 2014. Intra-abdominal *Mycobacterium tuberculosis* Infection in a Dog. J. Vet. Intern. Med.28:934-938.
- Etienne CL.; Granat F.; Trumel C.; Raymond-Letron I.; Lucas MN.; Boucraut-Baralon C.; Pingret JL.; Magne L.; Delverdier M. 2013. A mycobacterial coinfection in a dog suspected on blood smear. Vet. Clin. Pathol. 42(4):516-521.
- Gay G.; Burbidge HM.; Bennett P.; Fenwick SG.; Dupont C.; Murray A.; Callejón MR. 2000. Pulmonary *Mycobacterium bovis* infection in a dog. N. Z. Vet. J. 48:78-81.
- Guanziroli Stefani MC.; Cicuta ME.; Zumárraga MJ.; Romano MI. 2008. Primer aislamiento de *Mycobacterium bovis* de búfalo del nordeste argentino. Rev. Vet. 19(2):143-146.
- Kantor IN. de; de La Vega E.; Bernardelli A. 1984. Infección por *Mycobacterium bovis* en liebre en la provincia de Buenos Aires. Argentina. Rev. Med. Vet. 65(5):268-279.
- Kantor IN. de; Paolicchi F.; Bernardelli A.; Torres PM.; Canal A.; Lobo JR.; Zollin de Almeida MA.; Paredes Noack LA.; López JF.; Garín A.; López Insaurralde A.; Boschioli-Cara ML.; Cataldi A.; Ambroggi M. 2008. Bovine tuberculosis in Latin American countries. Current situation and recommendations (Workshop sponsored by OIE, 3rd Latin American Congress on Zoonoses. Buenos Aires, Argentina, June 19, 2008). I. <http://inta.gob.ar/documentos/bovine-tuberculosis-in-latin-american-countries.-current-situation-and->

recommendations/at_multi_download/file/Bovine_Tuberculosis%28Sept%2015%29%5B1%5D.pdf

- Lisle GW de; Bengis RG.; Schmitt SM.; O'Brien DJ. 2002. Tuberculosis in free-ranging wildlife: detection, diagnosis and management. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 21(2):317-334.
- Martino P.; Gatti M.; Bautista E.; Stanchi N. 2007. Case report: tuberculosis in introduced American Mink *Mustela vison*. *Small Carnivore Conservation* 36:46-47.
- OIE. 2004. Tuberculosis bovina. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.3.3. Pg. 489-502.
- Orozco MM.; Marull C.; Jiménez I.; Gürtler RE. 2013. Mortalidad invernal de ciervo de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*) en humedales del noreste de Argentina. *Mastozoología Neotropical* 20(1):163-167.
- Pastoret PP.; Thiry E.; Brochier B.; Schwers A.; Thomas I.; Dubuisson J. 1988. Diseases of wild animals transmissible to domestic animals. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 7(4):705-736.
- Radostits OM.; Gay CC.; Blood DC.; Hinchcliff KW. 2002. *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* Ed. McGraw-Hill. Interamericana de España, S.A.U. I:1-1206.
- Thoen CO.; LoBue PA.; Enarson DA., Kaneene JB.; Kantor IN. de. 2009. Tuberculosis: a re-emerging disease in animals and humans. *Vet. Ital.* 45(1):135-181.
- Torres PM. 2011. Situación de la tuberculosis bovina en la República Argentina. http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File1013-situacion_tuberculosis_bovina_junio_2011.pdf
- Wilesmith JW.; Clifton-Hadley RS. 1994. Tuberculosis in cats. *Vet. Rec.* 134:359.

CAPÍTULO V: PARATUBERCULOSIS

1- INTRODUCCIÓN

La paratuberculosis o enfermedad de Johne fue descrita por primera vez en 1985 por Johne y Frothingham en Alemania, cuando hallaron la presencia de microorganismos ácido alcohol resistente en frotis de material intestinal. Pero fue en 1923 cuando Bergey y colaboradores le otorgaron el nombre de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* al microorganismo causante de la enfermedad (Gilardoni y Mundo 2008).

La paratuberculosis es una enfermedad muy frecuente en los bovinos, tanto en la Argentina como en otros países donde la ganadería es una actividad relevante (Aiello y Mays 2000). Se distribuye mundialmente y causa considerables pérdidas económicas en la ganadería y en la industria tanto cárnica como láctea (Beard et al. 2001), con importancia en Salud Pública (Gilardoni y Mundo 2008).

La paratuberculosis afecta principalmente al ganado bovino, ovino, caprino, llamas, camellos, ciervos y otros rumiantes domésticos, exóticos y silvestres (Aiello y Mays 2000, Radostits et al. 2002).

En animales silvestres se han documentadas infecciones con *M. avium* subespecie *paratuberculosis* en todo el mundo (Biet et al. 2005), como por ejemplo en *Cervus elaphus* (Sharp et al. 1995, Kopecna et al. 2008, Pradenas et al. 2014, Verdugo et al. 2014), *Capreolus capreolus* y *Ovis canadensis* (Williams et al. 1979, Kopecna et al. 2008), *Oryctolagus cuniculus* (Greig et al. 1997, Maio et al. 2011), *Dama dama*, *Ovis musimon*, *Rupicapra rupicapra*, *Rattus norvegicus*, *Microtus arvalis* y *Crocidura suaveolens* (Kopecna et al. 2008), *Lepus europaeus* (Márquez Vicencio 2010), *Sus scrofa* (Kopecna et al. 2008, Kim et al. 2013), en *Lama guanicoe* en estado silvestre (Salgado et al. 2009), entre otros. En Escocia, Beard et al. (2001) la hallaron mediante cultivo en *Vulpes vulpes*, *Mustela erminea*, *Mustela nivalis*, *Lepus europaeus*, *Rattus norvegicus*, *Corvus corone*, *Corvus frugilegus* y *Corvus monedula*.

Los signos clínicos de la paratuberculosis en animales silvestres son pocos conocidos, pero las lesiones son similares a las de infecciones tempranas y subclínicas descritas en los rumiantes domésticos infectados (Daniels et al. 2003, Biet et al. 2005).

En Escocia, Judge et al. (2006) detectaron alta prevalencia a *M. avium* subespecie *paratuberculosis* en conejos, pero no encontraron lesiones en los mismos, aunque aislaron la micobacteria de los testículos, útero, placenta, fetos y leche.

En el bisonte la histopatología es similar a la que presenta el ganado bovino (Biet et al. 2005).

1.1- Ciclo biológico

La ingestión de micobacterias ha sido propuesta como la ruta primaria de la infección en paratuberculosis. La vía fecal-oral, es decir, a través de la ingestión de contaminantes fecales, leche o calostro, ingestión de forrajes y agua contaminada con materia fecal, es la vía principal de infección (Aiello y Mays 2000, Biet et al. 2005). Los animales más jóvenes son los más susceptibles a la infección, permaneciendo infectados en forma subclínica por largos períodos de tiempo (dos o tres años), eliminando un número bajo de bacterias antes de que se manifieste la enfermedad clínica (Stabel 1997, Beard et al. 2001). Otra vías de infección son la intrauterina y transmisión sexual ya que la bacteria ha sido aislada del semen de toros (Aiello y Mays 2000, Ayele et al. 2004).

Un esquema del ciclo de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* se muestra en Figura 1.

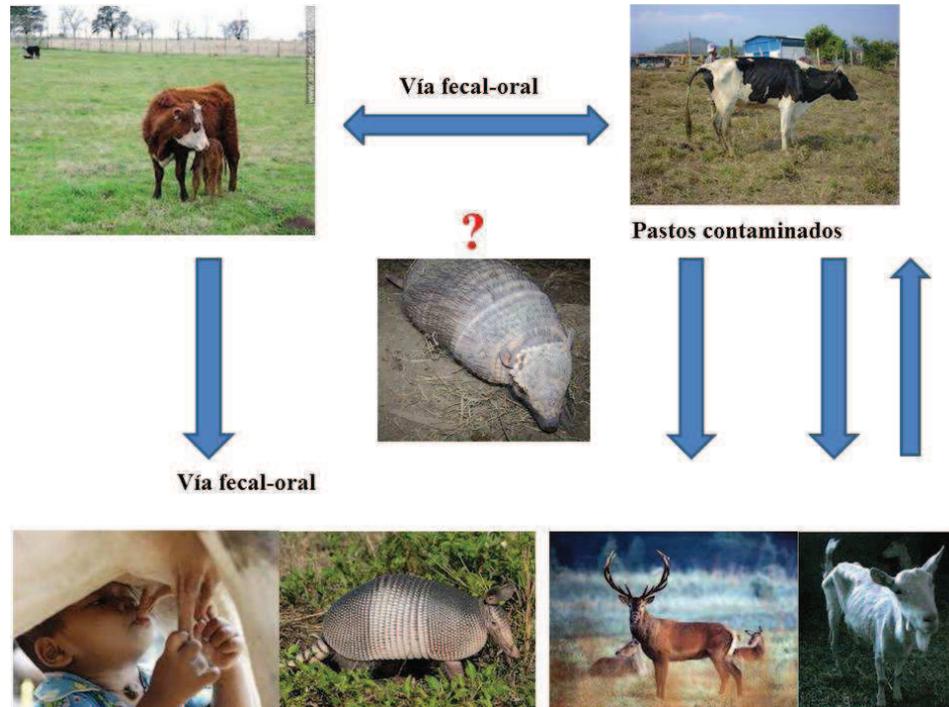


Figura 1: Ciclo de *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*.

La presencia de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en conejos, en la placenta y en fetos, sugiere una transmisión vertical, mientras que su hallazgo en testículos, útero y heces sugiere un potencial reservorio de transmisión horizontal (Judge et al. 2006).

En especies silvestres la predación es otra posible vía de transmisión, ya que en carnívoros (armiños, zorros, comadrejas) la prevalencia es del 62% y en especies presas (conejos, ratas) es del 10% (Biet et al. 2005). El ganado también actúa como fuente de contaminación para la vida silvestre a través del contacto directo o por medio de la excreción de heces con micobacterias (Biet et al. 2005).

Tras la ingestión, la micobacteria infecta los macrófagos localizados en la mucosa de la última porción del intestino delgado y los ganglios linfáticos correspondientes. La mayoría de los animales eliminarán la infección tempranamente debido a una respuesta inmunitaria de tipo celular que potencia la actividad antimicrobiana de los macrófagos (Aiello y Mays 2000).

1.2- Resistencia

M. avium subsp. *paratuberculosis* tiene la característica de ser resistente a condiciones ambientales, pudiendo sobrevivir en el medio ambiente nueve meses en aguas estancadas, cinco a seis meses en agua dulce, once meses en materia fecal y cuarenta y siete meses en materia orgánica desecada (Abalos 2001). Puede sobrevivir al proceso de pasteurización de alta temperatura (71,7 °C) por 15 segundos, Cirone et al. 2007, Gilardoni y Mundo 2008). El pH bajo, el tiempo de maduración de los quesos y la concentración de sal, afectarían la supervivencia de la micobacteria (Cirone et al. 2007).

Es muy resistente a la purificación con cloro, a las bajas temperaturas y al incremento del pH, estas condiciones permiten que las micobacterias se encuentren en los sistemas de suministro de agua potable (Cirone et al. 2007).

Altas densidades de animales, malas condiciones de higiene, suelos ácidos y húmedos favorecen la propagación de la infección (Gilardoni et al. 2012).

1.3- Síntomas

La enfermedad en los animales se caracteriza por una enteritis granulomatosa infecciosa específica, que se manifiesta en diarreas persistentes o recurrentes con un alto derramamiento bacteriano (Aiello y Mays 2000, Abalos 2001, Corn et al. 2005), sin

sangre; hay pérdida de peso y el color del pelaje se hace más claro, la enfermedad culmina con debilitamiento y finalmente la muerte (Aiello y Mays 2000, Cirone et al. 2007).

En las explotaciones lecheras ocurre disminución en la producción de leche y en las etapas avanzadas pueden aparecer problemas reproductivos, como infertilidad y abortos (Magnano et al. 2008).

Las lesiones anatomopatológicas se localizan en la cadena de ganglios mesentéricos o intestino delgado, especialmente en la zona de la válvula ileocecal (Mereb et al. 1994, Cirone et al. 2007).

La pared intestinal en el vacuno infectado presenta un aspecto cerebroide debido a la presencia de pliegues de 5 a 8 mm, que no desaparecen cuando se estira el intestino. El engrosamiento de los pliegues se debe a la infiltración de macrófagos, células epitelioides y células gigantes que contienen los bacilos en número variable (Gilardoni et al. 2012).

1.4- Paratuberculosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina

La fauna silvestre en Argentina ha sido escasamente estudiada en búsqueda de la presencia de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* y la provincia de La Pampa no escapa a ello (Tabla 1).

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n %	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Cervus elaphus</i>	9	2 22,2	Aislamiento Bacteriología ELISA	Toay, La Pampa	Mereb et al. (1994)
	7	7 100	Aislamiento	Argentina	Paolicchi et al. (2001)
	903	50 5,5	ELISA con preabsorción <i>M. phlei</i>	Argentina	Soler et al. (2002)
	332	29 8,7 46 13,8	Inmunodifusión en gel (IGDA) ELISA.	Buenos Aires	Verna et al. (2002)
<i>Ozotoceros bezoarticus celer</i>	14	0 0	ELISA	Buenos Aires	Uhart et al. (2003)
<i>Lagostomus maximus</i>	9	0 0	Cultivo ELISA	La Rioja	Ferreyra et al. (2007)
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	9	8 88,9	Inoculación experimental	La Pampa	Baldone et al. (2008)
<i>Blastocercus dichotomus</i>	3	0 0	ELISA	Reserva Natural del Iberá, Corrientes	Orozco et al. (2013)

1.5- Paratuberculosis en Xenartros

M. avium subespecie *paratuberculosis* fue aislada en 4/23 (17,4% positivos) *Dasybus novemcinctus* provenientes de Wisconsin y Georgia, en heces, hígado y ganglios linfáticos mesentéricos (Corn et al. 2005).

1.6- Paratuberculosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa

No hay registros previos de la presencia de paratuberculosis en la provincia de La Pampa.

El objetivo de este capítulo es determinar si *C. villosus* está expuesto a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* y, de estarlo, cuál es su prevalencia.

2.- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados así como el área de estudio se indicó en el capítulo 1.

El diagnóstico serológico para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos contra *M. avium* subsp. *paratuberculosis* se realizó mediante el uso de un enzimoimmunoensayo (ELISA) indirecto (Institut Pourquier, POURQUIER®) modificado, usando como solución de conjugado Proteína G (Lote 089K 1697 de USA, Lab. SIGMA) con preabsorción de los sueros con *Mycobacterium phlei*, que permite eliminar reacciones cruzadas con otros microorganismos, aumentando la sensibilidad y especificidad (Milner et al. 1990, Gilardoni et al. 2012).

Se calculó el IRPC (índice relativo de las muestras):

$$\text{IRPC} = \frac{\text{DO muestra} - \text{DO Control Negativo}}{\text{Media DO Control Positivo} - \text{DO Control Negativo}} \times 100 =$$

Donde DO = densidad óptica.

Se estableció como positivos aquellos sueros que presentaban un IRPC igual o mayor a 45.

Se seleccionó un conjunto de 48 armadillos, de los cuales 45 eran positivos y 3 negativos a *Mycobacterium*, a los que se les tomaron muestras de la última porción del

íleon y colon y se realizó un corte histológico en cada una de las secciones. Los preparados fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina y Ziehl-Neelsen y se estudiaron al microscopio óptico, en búsqueda de lesiones compatibles con la enfermedad.

Además se realizaron cortes histológicos en 6 muestras de hígado y en 6 muestras de ganglios linfáticos mesentéricos (todos eran positivos serológicamente a *M. avium* subsp. *paratuberculosis*).

3- RESULTADOS

Se detectó la presencia de anticuerpos contra *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en 53,3% (80/150; IC_{95%}: 45,3-61,4) de los *C. villosus* estudiados, con valores de IRPC 45-105, en los 80 ejemplares positivos, y menores o iguales a 26 en los 70 negativos (Figuras 2 y 3). Se encontraron ejemplares positivos en todos los sitios muestreados (Tabla 2).

Tabla 2: Presencia de anticuerpos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Mp.) según los distintos sitios de captura, en *C. villosus* (Cv) La Pampa.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a Mp.	9	5	10	8	11	3	3	2	0	5	11	3
Cv. pos. a Mp.	16	3	6	8	18	2	1	6	2	3	14	1
Total	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%)	64	37,5	37,5	50	62,1	40	25	75	100	37,5	56	25

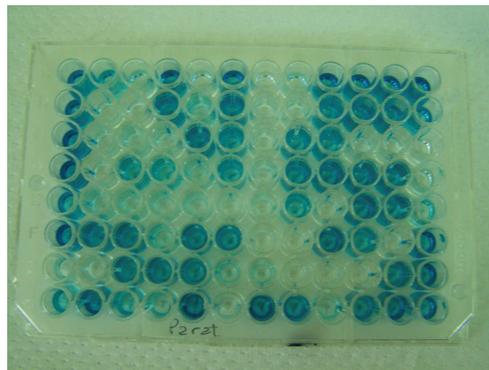


Figura 2: Identificación de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en sueros de *C. villosus*. Color azul, sueros positivos.

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados, 51,43% (36) fueron positivos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, con IC_{95%}: 39,4-63,4 y de las 80/150 hembras, 55% (44)

fueron positivas, con $IC_{95\%}$: 43,9-66,1. El sexo no influye en la presencia de anticuerpos contra *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en *C. villosus* ($p=0,662$; OR: 1,154; Figura 4).

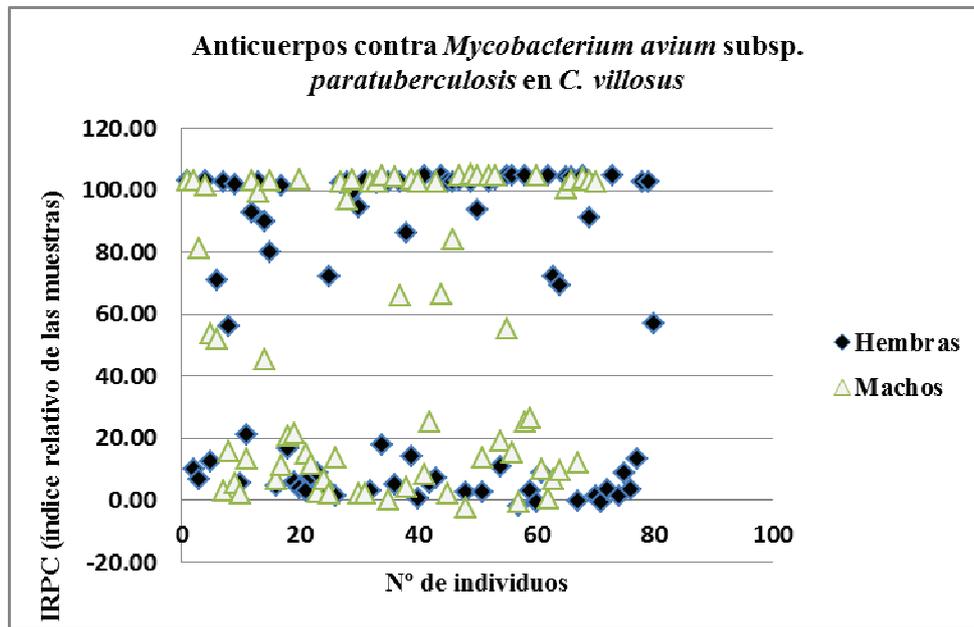


Figura 3: Valores de IRPC de *M. avium* subsp. *paratuberculosis* según el sexo de cada uno de los *C. villosus* (Cv.) muestreados.

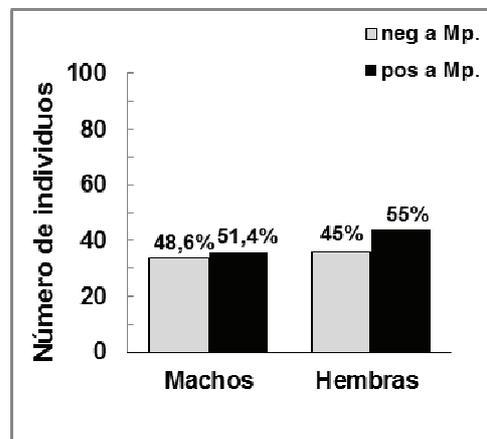


Figura 4: Prevalencia de anticuerpos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Mp.), según el sexo de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, 13,04% (3) fueron positivos a *M. avium* subsp. *Paratuberculosis*, en tanto que de los 127 adultos, 60,63% (77) fueron positivos. Se observaron diferencias estadísticas significativas, siendo los adultos más susceptibles de contraer la enfermedad ($p=0,001$; OR: 10,267; Figura 5).

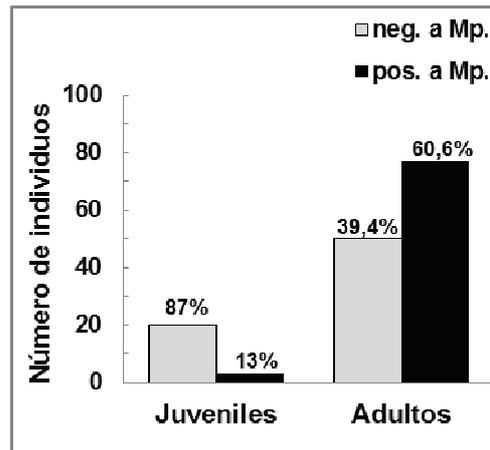


Figura 5: Prevalencia de anticuerpos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Mp.) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se hallaron 49,05% (52/106) *C. villosus* positivos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* y en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se hallaron 28/44 *C. villosus* positivos, siendo la seroprevalencia 63,64%. De los 80 *C. villosus* positivos, 35% (28) correspondieron a sitios de captura con presencia de tambo. La existencia o no de tambo en los sitios de captura no influye en la presencia de anticuerpos contra *M. avium* subsp. *Paratuberculosis* en *C. villosus* ($p=0,103$; OR: 1,817; Figura 6).

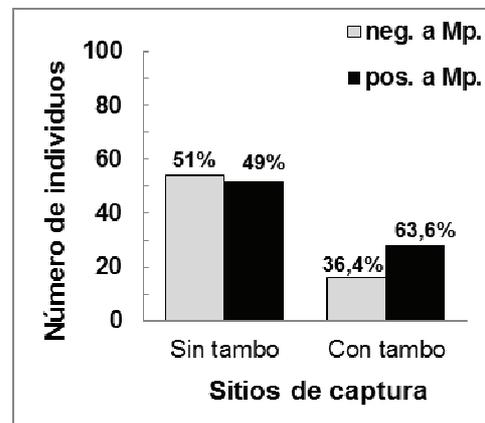


Figura 6: Prevalencia de anticuerpos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Mp) según presencia o no de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de cerdos (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se halló 53,03% (70/132) de los *C. villosus* positivos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis*; en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) se halló 55,56% (10/18). De los 80 *C. villosus* positivos, 12,5% (10) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. La existencia o no de cerdos en los sitios de captura no influye en la presencia

de anticuerpos contra *M. avium* subsp. *Paratuberculosis* en *C. villosus* ($p=0,84$; OR: 1,107; Figura 7).

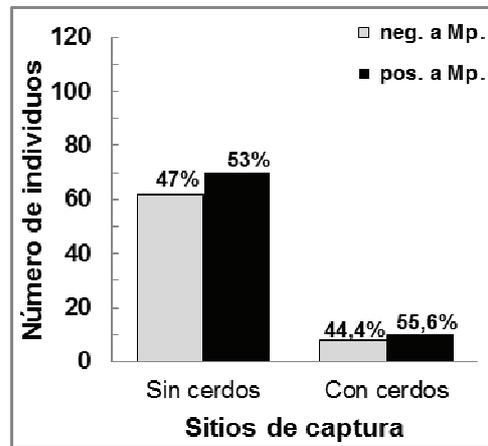


Figura 7: Prevalencia de anticuerpos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Mp.) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 53,45% (31/58) de los *C. villosus* positivos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, mientras que en sitios con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 53,26% (49/92). De los 80 *C. villosus* positivos, 61,25% (49) correspondieron a sitios de captura con presencia de ovinos. La existencia o no de ovinos en los sitios de captura no influye en la presencia de anticuerpos contra *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en *C. villosus* ($p=0,982$; OR: 0,992; Figura 8).

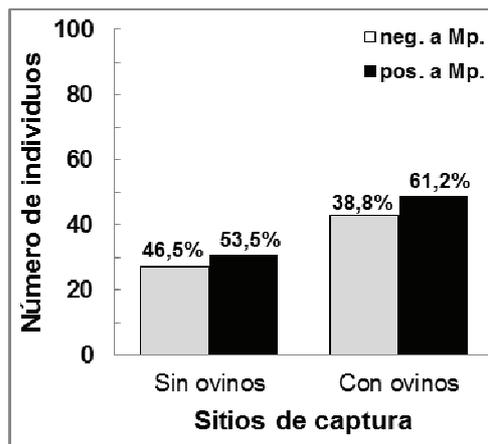


Figura 8: Prevalencia de anticuerpos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Mp.) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 41,51% (22/53) de los *C. villosus* positivos a *M. avium* subsp.

paratuberculosis, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 59,79% (58/97). De los 80 *C. villosus* positivos el 72,5% (58) correspondieron a sitios de captura con presencia de aves de corral. Se detectaron diferencias significativas, hallándose mayor cantidad de ejemplares positivos con anticuerpos contra *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en aquellos sitios de captura en donde hay presencia de aves de corral ($p=0,032$; OR: 2,069; Figura 9).

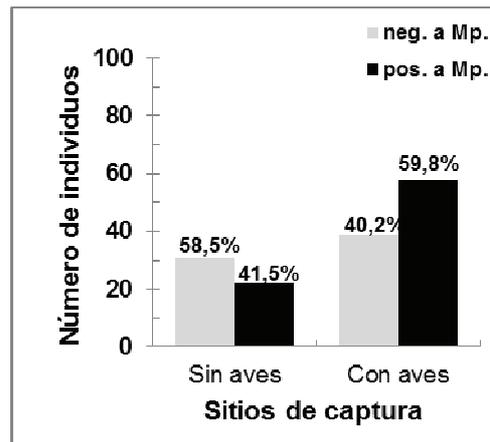


Figura 9: Prevalencia de anticuerpos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (Mp.) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Al momento de realizar la necropsia de los armadillos no se observó presencia de nodulillos en el mesenterio, como así tampoco los pliegues intestinales característicos de la enfermedad en bovinos.

En los 48 individuos de los cuales se realizó preparados histológicos (45 eran positivos por serología), se pudieron observar diferentes tipos de lesiones, de las cuales, en siete cortes de íleon, las lesiones eran compatibles con paratuberculosis y al ser coloreados con Ziehl-Neelsen, las siete muestras resultaron negativas a la presencia del bacilo (Figura 10a). En el resto de las muestras de íleon, las lesiones que se observaron fueron hipertrofia e hiperplasia de células caliciformes, atrofia de las vellosidades, presencia de linfocitos y macrófagos, además, de la presencia de coccidios, rodeados de células polimorfonucleares. En 16 muestras de colon no se observaron lesiones, mientras que en el resto de las muestras se observaron hipertrofia e hiperplasia de células caliciformes, presencia de linfocitos, polimorfonucleares, coccidios y fragmentos de helmintos (Figura 10b).

En los tres individuos con serología negativa se observó en íleon la presencia de linfocitos y coccidios y en uno de ellos además la presencia de polimorfonucleares,

mientras que en un colon se detectó la presencia de linfocitos, coccidios y helmintos, y en los dos restantes no se registraron lesiones.

Los seis cortes histológicos de hígado y de ganglios linfáticos mesentéricos que eran positivos serológicamente a *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, resultaron todos negativos a la presencia del bacilo al ser coloreados con Ziehl-Neelsen.

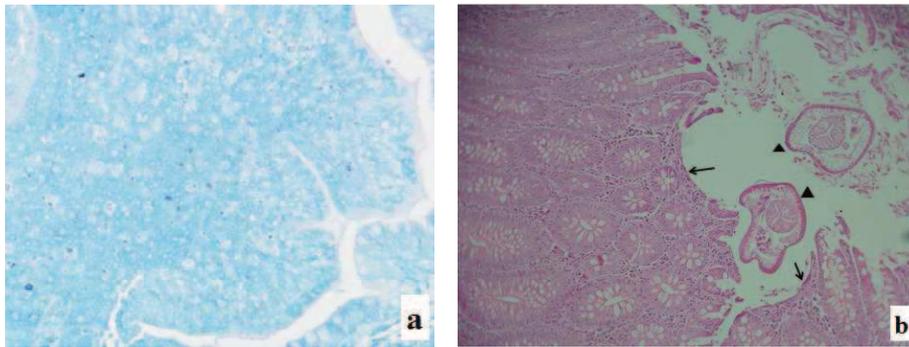


Figura 10: a- Sección de íleon coloreada con Ziehl-Neelsen donde se observan macrófagos, con ausencia de bacilos ácido-alcohol resistentes. b- Sección de colon donde se observa aplanamiento del epitelio (←), con fragmentos de helmintos ▲.

4- DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran que *C. villosus* se encuentra expuesto a *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. Asimismo, evidenciaron una alta seroprevalencia contra la micobacteria (53,3% 80/150), en comparación con *Cervus elaphus* (22,2% 2/9, Mereb et al. 1994), también en la provincia de La Pampa. Esto podría deberse a que los *C. villosus* están mucho más expuestos que los ciervos colorados, debido a que su hábitos alimenticios omnívoro-carroñeros, facilitarían el contagio. La alta prevalencia sugiere una contaminación frecuente en los armadillos, lo que podría indicar que son partícipes comunes en el ciclo de la micobacteria y, por ende, podrían ser una fuente de infección para otros animales y el hombre.

La ausencia en *C. villosus* en el íleon de pliegues intestinales, característicos de paratuberculosis en bovinos, coincide con lo descrito por Mereb et al. (1994) para ciervos colorados.

Por el contrario, la ausencia de nodulillos en el mesenterio en armadillos, difiere de lo observado en ciervos colorados que sí los presentan (Mereb et al. 1994). Asimismo, la negatividad a bacilos ácido-alcohol resistente en íleon y colon en *C. villosus* difiere de lo descrito en ciervos colorados, en donde se hallaron abundantes cúmulos de bacilos en el

interior de las células macrofágicas (especialmente en las crestas intestinales, Mereb et al. 1994).

La presencia de erosiones y aplanamiento del epitelio, además de focos de células epiteliales con presencia de coccidios, rodeados de células polimorfonucleares y fragmentos de helmintos hallados en *C. villosus*, podría estar relacionadas con la presencia de parásitos o de algún otro agente, que aún no se ha investigado.

La ausencia de las micobacterias en los tejidos del íleon y colon en *C. villosus* (sitios en donde se alojan comúnmente en el bovino), podría estar relacionado con la fase de la infección (reciente), o bien, puede deberse a que las micobacterias se localicen en estos armadillos en sitios diferentes a los que normalmente se las encuentra en los bovinos.

Cabe destacar que en otro armadillo, *Dasypus novemcinctus*, no se encontraron infiltrados granulomatosos coherentes con *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en íleon y colon, pero si se aislaron las micobacterias de heces, hígado y ganglios linfáticos mesentéricos (Corn et al. 2005). Si bien para *C. villosus* no se realizó aislamiento de heces ni de tejidos, se pudo comprobar que en cortes histológicos realizados en hígado, y en ganglios linfáticos mesentéricos de individuos serológicamente positivos, tampoco se pudieron localizar a las micobacterias, por lo que deberá seguirse estudiando para poder comprobar si en estos armadillos, hay un órgano específico en donde se aloja dicha micobacteria, o bien el sistema inmune actúa eliminando al agente, quedando el individuo como reactor, pero sin la presencia de los bacilos.

Corn et al. (2005) hallaron en *Dasypus novemcinctus* una prevalencia del 17,4% (4/23), valor muy inferior al registrado en esta tesis 53,3% (80/150). La mayor prevalencia hallada en *C. villosus* con respecto a *Dasypus novemcinctus* podría deberse a sus hábitos alimenticios.

La mayor predisposición a contraer a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en armadillos adultos se relacionaría con la mayor exposición a la enfermedad, vinculada con sus hábitos dietarios.

Otro resultado interesante es que la presencia de aves de corral en los sitios de captura predispone a los *C. villosus* a contraer la enfermedad. Al respecto se ha aislado *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en cuervos y grajos en Escocia, pero solo los cuervos presentaron lesiones compatibles con paratuberculosis (Beard et al. 2001).

Con respecto a la presencia de ovinos en el área de captura de los armadillos, que no los predispone a contraer la micobacteria, si bien se han realizado muestreos en Argentina, en donde se han detectado en Corrientes un 13,3% a un 26% de ovinos

positivos a la micobacteria en la provincia de Buenos Aires (Jorge et al. 2000, Bernardelli et al. 2002), en La Pampa no se han realizado estudios, con lo cual no es posible comparar con nuestros resultados. Asimismo, la presencia de tambos o de cerdos en el área de captura de los armadillos no los predispone a contraer la enfermedad. Tampoco en este caso se cuenta con registros de la presencia de anticuerpos contra *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en tambos ni en cerdos de la provincia de La Pampa, por lo que no se puede realizar ninguna comparación con los datos obtenidos para *C. villosus*.

La presencia de reservorios silvestres no rumiantes para *M. avium* subsp. *paratuberculosis* podría explicar por qué la enfermedad ha resultado difícil de controlar en el ganado doméstico (Judge et al. 2006). Lo que aún no se sabe es cuál es el impacto que tiene la micobacteria sobre la salud de los animales silvestres y, en particular, para *C. villosus*. Nuevos estudios deberán llevarse a cabo para poder determinar cuál sería el efecto que podría causar la micobacteria en estos armadillos.

5- CONCLUSIÓN

- Se confirmó la hipótesis que los *C. villosus* están expuestos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis*.
- Este el primer registro de anticuerpos a *M. avium* subsp. *paratuberculosis* en *C. villosus*.
- El sexo en los *C. villosus* no influye en la probabilidad de contraer paratuberculosis, como así tampoco la presencia de tambos, de cerdos o de ovinos en el lugar de captura.
- Los *C. villosus* adultos están más expuestos a contraer paratuberculosis que los individuos jóvenes, como así también están más expuestos aquellos *C. villosus* que son capturados en sitios donde hay aves de corral.
- En los cortes histológicos de la última porción del intestino y del colon no se observaron bacilos ácido alcohol resistentes típicos de la enfermedad.
- Es necesario continuar con los estudios para determinar la importancia de esta micobacteria desde el punto de vista de la patogénesis y derramamiento en los *C. villosus*, para poder evaluar el impacto que podría producir en la especie, y el riesgo que podría representar para la fauna doméstica y silvestre.

- Además, es necesario determinar en qué sitio se alojan las micobacterias en *C. villosus* y si éstas son eliminadas al medio ambiente.

6- BIBLIOGRAFÍA

- Abalos P. 2001. Actualidad en paratuberculosis. Tecno Vet. 7, (3). Dic. [Http://www.tecnovet.uchile.cl](http://www.tecnovet.uchile.cl)
- Aiello SE.; Mays, A. (eds.). 2000. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Pg. 2558.
- Ayele WY.; Bartos M; Svastova P.; Pavlik I. 2004. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in organs of naturally infected bull-calves and breeding bulls. Vet. Microbiol. 103:209-217.
- Baldone V.; Fuchs L.; Morsella C.; Giménez H.; Fort M.; Bedotti D.; Paolicchi F. 2008. Inoculación del conejo (*Oryctolagus cuniculus*) con *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis*. Bol. Div. Téc. 94:69-71.
- Beard PM.; Daniels MJ.; Henderson D.; Pirie A.; Rudge K.; Buxton D.; Rhind S.; Greig A.; Hutchings MR.; McKendrick I.; Stevenson K.; Sharp JM. 2001. Paratuberculosis infection of nonruminant wildlife in Scotland. J. Clin. Microbiol. 39(4):1517-1521.
- Bernardelli A.; Cicuta ME.; Nicola A.; Roibón WR.; Boehringer SI.; Benítez MC.; Barceló MC.; Alonso B.; Alonso Z.; Schneider M.; Zumárraga M.; Estéves Madero J. 2002. Paratuberculosis ovina en Corrientes, Argentina. <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/04-Veterinarias/V-058.pdf>
- Biet F.; Boschioli ML.; Thorel MF.; Guilloteau LA. 2005. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). Vet. Res. 36:411-436.
- Cirone K.; Morsella C.; Romano M.; Paolicchi F. 2007. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: presencia en los alimentos y su relación con la enfermedad de Crohn Rev. Arg. Microbiol. 39:57-68.
- Corn JL.; Manning EJB.; Sreevatsan S.; Fischer JR. 2005. Isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from free ranging birds and mammals on livestock premises. Appl. Environ. Microb. 71(11):6963-6967.

- Daniels MJ.; Hutchings MR.; Beard PM.; Henderson D.; Greig A.; Stevenson K.; Sharp JM. 2003. Do non-ruminant wildlife pose a risk of paratuberculosis to domestic livestock and vice versa in Scotland. *J. Wildlife Dis.* 39(1):10-15.
- Ferreira H.; Uhart MM.; Romano MC.; Beldoménico PM.; Samartino L.; Paolicchi F.; Lauricella M.; Jorge MC.; Schettino A.; Guida N.; Martín AM. 2007. Inmovilización química y evaluación de salud de vizcachas salvajes (*Lagostomus maximus*) en el Chaco árido Argentino. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, 10(2):91-99.
- Gilardoni MV; Mundo SL. 2008. Paratuberculosis bovina. *InfoVet* 13(102):11-14.
- Gilardoni LR.; Paolicchi FA.; Mundo SL. 2012. Bovine paratuberculosis: a review of the advantages and disadvantages of different diagnostic tests. *Rev. Arg. Microbiol.* 44:201-215.
- Greig A.; Stevenson K.; Perez V.; Pirie AA.; Grant JM.; Sharp JM. 1997. Paratuberculosis in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Vet. Rec.* 140(6):141-143.
- Jorge MC.; Schettino DM.; Torres P.; Bernardelli A. 2000. First description of concomitant infection with tuberculosis and paratuberculosis in dairy sheep in Argentina. *Rev. Sci. Tech.* 19(3):800-809.
- Judge J.; Kyriazakis I.; Greig A.; Davidson RS.; Hutchings MR. 2006. Routes of intraspecies transmission of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*): a field study. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(1):398-403.
- Kim JM.; Ku BK.; Lee HN.; Hwang IY.; Jang YB.; Kim J.; Hyun BH.; Jung SC. 2013. *Mycobacterium avium paratuberculosis* in Wild Boars in Korea. *J. Wildlife Dis.* 49(2):413-417.
- Kopečna M.; Trčka I.; Lamka J.; Moravkova M.; Koubek P.; Heroldova M.; Mrlik V.; Kralova A.; Pavlik I. 2008. The wildlife hosts of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in the Czech Republic during the years 2002–2007. *Vet. Med.* 53(8):420-426.
- Magnano G.; Schneider M.; Giraudo J.; Bérghamo E. 2008. Paratuberculosis bovina: una enfermedad emergente. XXVIª Jornadas de Actualización en Ciencias Veterinarias y 1ª Jornadas del Centro del País, Colegio Médico Veterinario de la Provincia de Córdoba. Pg. 1-3. http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_en_general/27-paratuberculosis.pdf

- Maio E.; Carta T.; Balseiro A.; Sevilla IA.; Romano A.; Ortiz JA.; Vieira-Pinto M.; Garrido JM.; de la Lastra JM.; Gortázar C. 2011. Paratuberculosis in European wild rabbits from the Iberian Peninsula. *Res Vet Sci.* 91(2):212-218.
- Márquez Vicencio DO. 2010. Detección de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* en tejidos de liebres (*Lepus europaeus*) del sur de Chile, mediante análisis histopatológico. Tesis presentada en la Universidad Austral de Chile Facultad de Ciencias Veterinarias Instituto de Patología Animal. Pg. 54. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2010/fvm357d/doc/fvm357d.pdf>
- Mereb GC.; Bedotti DO.; Suárez VH.; Buseti MR.; Moreira AR.; Lorenzo RM. 1994. Paratuberculosis en ciervo colorado. *Vet. Arg.* 11(102):107-112.
- Milner AR.; Mack WN.; Coates KJ.; Hill J.; Gill I.; Sheldrick P. 1990. The sensitivity and specificity of a modified ELISA for the diagnosis of John's disease from a field trial in cattle. *Vet Microbiol.* 25:193-198.
- Orozco MM.; Marull C.; Jiménez I.; Gürtler, RE. 2013. Mortalidad invernal de ciervo de los pantanos (*Blastocercus dichotomus*) en humedales del noreste de Argentina. *Mastozoología Neotropical* 20(1):163-167.
- Paolicchi FA.; Vagnozzi A.; Morsella CG.; Verna AE.; Massone AR.; Portiansky EL.; Gimeno EJ. 2001. Paratuberculosis in red deer (*Cervus elaphus*): an immunohistochemical study. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public. Health.* 48(4):313-320.
- Pradenas M.; Navarrete-Talloni MJ.; Salgado M.; Zamorano P.; Paredes E. 2014. Paratuberculosis or avian tuberculosis in red deer with chronic diarrhea?. *Arch. Med. Vet.* 46:45-52.
- Radostits OM.; Gay CC.; Blood DC.; Hinchcliff KW. 2002. *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* Ed. McGraw-Hill. Interamericana de España, S. A.U. I:1-1206.
- Salgado M.; Herthnek D.; Bölske G.; Leiva S.; Kruze J. 2009. First isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* from wild guanacos (*Lama guanicoe*) on Tierra del Fuego island. *J. Wildlife Dis.* 45(2):295-301.
- Sharp JM.; Stevenson K.; Challans JA.; Ramage C.; Hitchcock D.; Reid HW. 1995. Mycobacterial infections of free living deer in Scotland pg.180-182. In Beard PM.; Daniels MJ.; Henderson D.; Pirie A.; Rudge K.; Buxton SD.; Rhind S.; Greig A.; Hutchings MR.; Mckendrick I.; Stevenson K.; Sharp JM. 2001. Paratuberculosis Infection of nonruminant wildlife in Scotland. *J. Clin. Microbiol.* 39(4):1517-1521.

- Soler JP.; Verna A.; Morsella C.; Casaro A.; Paolicchi F. 2002. Control of paratuberculosis in an farm of red deer in captivity in Argentina. 7° International Colloquium on Paratuberculosis. Bilbao. España. http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ciervos/57-paratuberculosis.pdf
- Stabel JR. 1997. An improved method for cultivation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal samples and comparasion to three other methods. Vet. Diagn. Invest. 9:375-380.
- Uhart MM.; Vila AR.; Beade MS.; Balcarce A., Karesh WB. 2003. Health evaluation of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus celer*) at Campos del Tuyú Wildlife Reserve, Argentina. J. Wildlife Dis. 39(4):887-893.
- Verdugo C.; Pleydell E.; Price-Carter M.; Prattley D.; Collins D.; de Lisle G.; Vogue H.; Wilson P.; Heuer C. 2014. Molecular epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolated from sheep, cattle and deer on New Zealand pastoral farms. Prev. Vet. Med. 117:436-446.
- Verna A.; Morsella C.; Casaro A.; Paolicchi F. 2002 Serologic and pathologic characterization of infection for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Red Deer from Argentina. Proceedings of the Seventh International Colloquium on Paratuberculosis. International Association for Paratuberculosis, Bilbao, España. Pg. 95-98. <http://www.paratuberculosis.info/images/stories/pdfs/25>
- Williams ES.; Spraker TR.; Schoonveld GG. 1979. Paratuberculosis (Johnès disease) in bighorn sheep and a rocky mountain goat in Colorado. J. Wildlife Dis. 15(2):221-227.

CAPÍTULO VI: LEPTOSPIROSIS

1- INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una zoonosis que presenta distribución mundial, es más común en los climas templados, húmedos y ocurre tanto en zonas urbanas como en zonas rurales, excepto en las regiones polares (Acha y Szyfres 2001, Radostits et al. 2002, Evangelista y Coburn 2010).

Esta enfermedad es producida por espiroquetas pertenecientes al género *Leptospira*, que se agrupan en cepas, dependiendo de la capacidad patogénica de las mismas. Las cepas patógenas de *Leptospira* afectan a los animales domésticos y silvestres, los que actúan como hospedadores de mantenimiento o accidentales, en función del serovar considerado, siendo los hospedadores de mantenimiento los que aseguran que la leptospira permanezca en el medio (Delgado et al. 2007).

La ocurrencia de leptospirosis a nivel mundial es variable, dependiendo de si afecta al humano o/a los animales. En el humano puede darse en forma esporádica o en brotes epidémicos (éstos últimos ocurren cuando se exponen a aguas contaminadas conteniendo espiroquetas). Los grupos más expuestos son los trabajadores de arrozales, cañaverales, alcantarillados, cuidadores de animales y veterinarios (Acha y Szyfres 2001).

En los animales es más común en los roedores, pero también está presente en otros mamíferos silvestres y domésticos. Cada serovar tiene su o sus hospedadores animales predilectos, pero cada especie animal puede ser hospedador de uno o más serovares (Acha y Szyfres 2001).

En todo el mundo se han descrito unos 250 serovares pero, en general, las infecciones se producen por un número limitado de serovares presentes en una región y su presencia está asociada a factores ambientales. Dentro de estos factores, adquieren especial importancia las grandes precipitaciones pluviales, el suelo (con un pH neutro o alcalino) y una temperatura favorable (Evangelista y Coburn 2010, Acha y Szyfres 2001).

1.1- Ciclo biológico

Las leptospiras son espiroquetas extremadamente finas, enrolladas helicoidalmente. Aerobios obligados, su tamaño oscila entre 6 a 20 micras de largo por 0,06 a 0,12 micras de espesor, siendo su porción media casi recta y ambos extremos están encorvados en

forma de gancho. Los movimientos de traslado se realizan mediante rotación endoflagelar (Evangelista y Coburn 2010).

Las leptospiras penetran en el organismo animal o humano, mediante la ingestión de alimentos o de agua contaminada, o a través de las membranas mucosas de ojo, boca, fosas nasales, piel dañada, etc. e invaden el torrente sanguíneo, multiplicándose en éste y en el parénquima hepático, con un período de incubación de una a dos semanas, aunque se conocen casos de incubación de sólo dos días (Sandow y Ramírez 2005, Adler y de la Peña Moctezuma 2010). La infección se caracteriza por presentar dos fases, la septicémica, que dura de 5 a 7 días y la leptospirúrica, que varía de una semana a varios meses (Aiello y Mays 2000, Acha y Szyfres 2001).

Tras la infección aguda, las leptospiras se localizan en los riñones u órganos reproductivos y son excretadas en la orina de los animales o humanos enfermos durante periodos variables, siendo en los vacunos unos 12 meses y en el hombre no más de 60 días (Aiello y Mays 2000, Odriozola 2001). De esta manera se efectiviza la infección directa a otros individuos de la misma o de diferentes especies, pudiendo llegar también al hombre (Brihuega et al. 2008).

Los animales silvestres, al igual que los animales domésticos, son reservorios importantes de leptospiras.

En los animales la enfermedad se transmite por vía transplacentaria, digestiva, mamaria, cutánea o por contacto con el suelo o alimento contaminado, siendo el período de incubación variable entre 5 y 14 días, con un máximo de 21 días (Odriozola 2001).

Si las leptospiras se localizan en el útero grávido, se produce aborto (Sandow y Ramírez 2005). Los serovares más importantes de *Leptospira* asociados con aborto son Pomona, Castellonis (en suidos y animales salvajes) y Hardjo, en bovinos (Acha y Szyfres 2001).

La transmisión de leptospiras de los animales al hombre se produce a través del contacto directo con orina, sangre u órganos de animales infectados, o indirectamente por exposición al medio ambiente contaminado con las espiroquetas (Adagio et al. 2000; Figura 1).

El hombre es sensible a todas las serovariedades patógenas halladas en los animales domésticos y la transmisión a partir de animales silvestres ocurre generalmente cuando entra en contacto con tejidos de animales infectados o con aguas superficiales contaminadas por la orina de animales infectados (Aiello y Mays 2000).



Figura 1: Ciclo de vida de *Leptospira*.

1.2- Resistencia

Las leptospiras no se multiplican fuera de la especie animal hospedador, pero las condiciones del medio ambiente juegan un papel importante en la supervivencia. Son muy sensibles a la desecación, a la luz solar directa, al pH ácido menor a 6, al alcalino mayor a 8, a temperaturas menores de 13 °C y mayores de 35 °C, o a la acción química del alcohol 70%, formol 2% y ácido clorhídrico 2%, entre otros químicos (Sandow y Ramírez 2005). Pueden persistir hasta ciento ochenta y tres días en un suelo saturado de agua, pero sólo treinta minutos cuando el suelo está aireado, por lo que la capacidad del microorganismo para sobrevivir durante largo tiempo en condiciones favorables de humedad, puede provocar una incidencia alta de la enfermedad en áreas con una pluviometría elevada y clima templado (Radostits et al. 2002).

Las leptospiras pueden sobrevivir 9 días en el músculo, 13 días en los riñones, 12 días en el hígado y 8 días en el bazo, luego de que el animal ha muerto (Sandow y Ramírez 2005).

1.3- Síntomas

La leptospirosis en animales como el perro, búfalo, equinos, bovinos y otras especies de mamíferos, se presenta con la misma sintomatología que en el ser humano

(Linzitto y Orellana 2008). Causa desde formas inaparentes de enfermedad hasta casos fatales, pudiendo ser asintomática o presentar una gran variedad de signos. Las lesiones pueden darse en el endotelio de los pequeños vasos sanguíneos, que conducen a la isquemia localizada en los órganos, necrosis tubular renal y hepatocelular y hemorragia pulmonar; además, puede ocasionar meningitis, aborto, infertilidad, esplenomegalia, ictericia, hemoglobinuria, fiebre y, en los casos más graves, puede llevar a la muerte (Aiello y Mays 2000, Evangelista y Coburn 2010, Adler y de la Peña Moctezuma 2010).

Cuando se producen abortos o partos prematuros se dan, con mayor frecuencia, durante la mitad o el último tercio de la gestación (Odriozola 2001).

En los bovinos, en general, la enfermedad se manifiesta con fiebre y anorexia, con una disminución brusca de la leche, mastitis atípica con ubre flácida, leche amarillenta, viscosa y teñida a veces con sangre en las hembras en lactación (Aiello y Mays 2000), pero los síntomas más llamativos en hembras gestantes son los abortos, mortinatos y/o nacimientos de animales débiles, además de infertilidad subsiguiente a la infección (Sandow y Ramírez 2005).

En cobayas preñadas, inoculadas con *Leptospira interrogans* serovar Pomona, se observaron alteraciones celulares en los tejidos placentarios, provocando abortos y muerte embrionaria (apoptosis y necrosis celular) (Brihuega et al. 2011a).

1.4. - Leptospirosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina

La leptospirosis es una enfermedad de gran importancia, tanto en medicina veterinaria como en salud pública. En Argentina, en el año 1939 se aislaron por primera vez leptospirosis en porcinos y en 1946 se aislaron en bovinos (Brihuega et al. 1996). El primer serotipo de *Leptospira* aislado (Bataviae serovar Paidjan) en animales silvestres fue en zarigüeyas (*Didelphis azarae*), en la provincia de Corrientes, por Szyfres y Blood en el año 1964.

En la Tabla 1 se detallan algunas de las especies silvestres de Argentina en las cuales se ha investigado la presencia de *Leptospira*. En particular, para la provincia de La Pampa, hay sólo tres estudios realizados sobre leptospirosis en animales silvestres, previos a esta tesis (Tabla 1).

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *Leptospira* en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n	Serovar %	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Cavia pamparum</i>		1	Pomona	Aislamiento	Corrientes	Szyfres y Moya (1963)
	282	25	8,8 Pomona 4 1,4 Grippotyphosa 1 0,3 Icterohaemorrhagiae 1 0,7 Autumnalis 0 0 (a)	MAT Aislamiento	Corrientes	Blood et al. (1963)
<i>Didelphis azarae</i>			Paidjan	Aislamiento	Corrientes	Szyfres y Blood (1964)
<i>Lepus europaeus</i>	42	1 2,4 Wolffii 6 14,3 Ballum 0 0 (b)		MAT	Río Cuarto, Córdoba	Giraud et al. (1985)
			19 Ballum, Wolffii, Bratislava, Butembo	MAT	Neuquén	Brihuega y Tealdo (2011)
<i>Cervus elaphus</i>	(c)	(c) Juveniles reaccionaron 20 Icterohaemorrhagiae 20 Pomona 40 Tarassovi 10 Pyrogenes		MAT	La Pampa y Pellegrini (Bs. As).	Suárez et al. (1997)
		(c) Adultos reaccionaron 6 Icterohaemorrhagiae 6 Pomona 3 Tarassovi 6 Pyrogenes				
	45	9 20,3 Pomona, Castellonis y Grippotyphosa		MAT	Neuquén y Río Negro	Brihuega et al. (2003)
		20,3 Castellonis, Pomona e Icterohaemorrhagiae		MAT	Argentina	Brihuega et al. (2011b)
<i>Rattus norvegicus</i>	85	39 45,9 Icterohaemorrhagiae		Aislamiento	Villa de emergencia La Cava, San Isidro Bs. As.	Arango et al. (2001)
	23	11 48 <i>Leptospira</i>		ELISA Aislamiento	Santa Fe	Vanasco et al. (2003)
	17	2 12 Ballum (e)				
	152	0 0 <i>Leptospira</i> sp.		Serología, tinción Warthin-Starry	Exaltación de la Cruz (Bs. As.)	Gómez Villafañe et al. (2004)
	42	14 33,3 Castellonis 19 45,2 Canicola 12 28,6 Grippotyphosa 2 4,7 Icterohaemorrhagiae 1 2,4 Hebdomadis 0 0 (f)		MAT	Tandil, Bs. As.	Scialfa et al. (2010)
	35	13 37,1 Icterohaemorrhagiae		PCR, cultivo	Ciudad Autónoma de Bs. As.	Brambati et al. (2014)
54	6 11,1 <i>Leptospira</i>		MAT,PCR, cultivo	Buenos Aires	Scialfa et al. (2014)	
	11	2 18,2 Icterohaemorrhagiae		Aislamiento	Villa de emergencia La Cava, San Isidro Bs. As.	Arango et al. (2001)
	32	12 38 <i>Leptospira</i> (e)		ELISA Aislamiento	Santa Fe	Vanasco et al. (2003)
	17	3 18 Icterohaemorrhagiae				
3	0 0 <i>Leptospira</i> sp.		Serología,	Exaltación de la	Gómez Villafañe	

<i>Rattus rattus</i>				tinción Warthin-Starry	Cruz (Bs. As.)	et al. (2004)
	73	22	30,1	<i>Leptospira</i> sp.	Aislamiento	Corrientes Marder et al. (2006)
	73	23	31	Grippotyphosa	MAT	Corrientes Merino et al. (2008)
	3	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	PCR	Ciudad Autónoma de Bs. As. Brambati et al. (2014)
<i>Lama guanicoe</i>	78	3	3,8	Copenhageni (g)	MAT	Rio Negro Llorente et al. (2002)
<i>Vicugna vicugna</i>	30	2	6,6	Copenhageni	MAT	Catamarca
	43	5	16,7	Castellonis	MAT	Salta
<i>Vicugna vicugna</i>	43	10	23,2	Copenhageni	MAT	Salta
		16	37,2	Castellonis		
<i>Vicugna vicugna</i>	43	2	4,6	Pyrogenes	MAT	Salta
		0	0	(h)		
<i>Akodon molinae</i>	46	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	Cultivo	Reserva Provincial Parque Luro (La Pampa) Salomone et al. (2002)
<i>Akodon azarae</i>		1		Icterohaemorrhagiae	Aislamiento	Cacchione et al. (1966)
	29	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	Cultivo	Reserva Provincial Parque Luro (La Pampa) Salomone et al. (2002)
	29 23	12 0	41 0	<i>Leptospira</i> (e)	ELISA Aislamiento	Santa Fe Vanasco et al. (2003)
<i>Calomys musculinus</i>	30	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	Cultivo	Reserva Provincial Parque Luro (La Pampa) Salomone et al. (2002)
	0	0	0	<i>Leptospira</i> (e)	ELISA	Santa Fe Vanasco et al. (2003)
<i>Graomys griseoflavus</i>	10	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	Cultivo	Reserva Provincial Parque Luro (La Pampa) Salomone et al. (2002)
<i>Oligoryzomys flavescens</i>	6	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	Cultivo	Reserva Provincial Parque Luro (La Pampa) Salomone et al. (2002)
	19 16	16 0	84 0	<i>Leptospira</i> (e)	ELISA Aislamiento	Santa Fe Vanasco et al. (2003)
<i>Calomys laucha</i>		1		Icterohaemorrhagiae	Aislamiento	Cacchione et al. (1966)
	2	0	0	<i>Leptospira</i> (e)	ELISA	Santa Fe Vanasco et al. (2003)
<i>Holochilus brasiliensis</i>	2 2	2 0	100 0	<i>Leptospira</i> (e)	ELISA Aislamiento	Santa Fe
<i>Ozotoceros bezoarticus celer</i>	14	1	7,1	Wolffi	MAT	Reserva Vida Silvestre Campos del Tuyú, Bs. As. Uhart et al. (2003)
		2	14,3	Pomona		
<i>Lycalopex culpaeus</i>	28	1	7,1	Wolffi	MAT	Reserva Vida Silvestre Campos del Tuyú, Bs. As. Uhart et al. (2003)
		2	14,3	Pomona		
<i>Lycalopex culpaeus</i>	28	0	0	(j)	MAT	Santa Cruz Martino et al. (2004)
		0	0	(k)		
<i>Lycalopex culpaeus</i>	28			Icterohaemorrhagiae	MAT	Argentina Brihuega et al. (2011b)
				Pyrogenes	MLVA	
<i>Lycalopex griseus</i>	56	16	28,6	(j)	MAT	Santa Cruz Martino et al. (2004)
		0	0	(k)		
	2	0	0	(l)	MAT	Bs. As. Scialfa et al. (2012)
<i>Lycalopex griseus</i>	5	2	40	(n)	MAT	Bs. As. Scialfa et al. (2013)
		0	0	(o)		

	8	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT,PCR, cultivo	Buenos Aires	Scialfa et al. (2014)
	8	1	12,5	Icterohaemorrhagiae	MAT,PCR, cultivo	Bs. As.	
<i>Didelphis albiventris</i>	25	1		Paidan	Aislamiento	Corrientes	Szyfres y Blood (1964)
		1		Pomona	Serología		
		1		Bataviae	Serología		
	16	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	Serología, tinción Warthin-Starry	Exaltación de la Cruz (Buenos Aires)	Gómez Villafañe et al. (2004)
	1	1	100	Canicola	Aislamiento tinción Warthin-Starry e inmunofluorescencia directa	Argentina	Brihuega et al. (2007)
	179	23	12,8	<i>L. interrogans</i>	MAT	Exaltación de La Cruz, Bs. As.	Pérez Carusi et al. (2009) Online 2012
	10	0	0	(l)	MAT	Bs. As.	Scialfa et al. (2012)
12	0	0	(o)	MAT Aislamiento	Bs. As.	Scialfa et al. (2013)	
	27	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT,PCR, cultivo	Buenos Aires	Scialfa et al. (2014)
<i>Lutreolina crassicaudata</i>	1	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	Serología, tinción Warthin-Starry	Exaltación de la Cruz (Buenos Aires)	Gómez Villafañe et al. (2004)
<i>Mus musculus</i>	92	31	34	<i>Leptospira</i>	ELISA	Santa Fe	Vanasco et al. (2003)
	43	19	44	Ballum	Aislamiento		
	41	16	39	Ballum	MAT Aislamiento	Santa Fe	Rossetti et al. (2004)
	29	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	PCR	Ciudad Autónoma de Bs. As.	Brambati et al. (2014)
<i>Lagostomus maximus</i>	10	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT	La Rioja	Ferreyra et al. (2007)
<i>Blastocercus dichotomus</i>	45	12	26,7	Ballum, Canicola, Pomona y Grippotyphosa	MAT	Noreste de la Argentina	Brihuega et al. (2008)
			27	Canicola, Pomona, Grippotyphosa, Ballum	MAT	Argentina	Brihuega et al. (2011b)
	3	0	0	Ballum	MAT	Reserva Natural del Iberá, Corrientes	Orozco et al. (2013)
		0	0	Pomona			
		0	0	Grippotyphosa			
		0	0	Icterohaemorrhagiae			
		0	0	Canicola			
		0	0	Wolffi			
		0	0	Pyrogenes			
		0	0	Tarassovi			
<i>Dolichotis patagonum</i>		19		Bratislava, Wolffi, Ballum, Butembo	MAT	Argentina	Brihuega et al. (2011b)
<i>Myocastor coypu</i>		36,5		Castellonis, Wolffi, aislaron Icterohaemorrhagiae Pyrogenes	MAT Aislamiento MLVA	Argentina	Brihuega et al. (2011b)
	3	1	33,3	Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae Hardjo, Ballum y Canicola	MAT Aislamiento	Bs. As.	Scialfa et al. (2012)

<i>Conepatus chinga</i>		(m)				
	2	1 50 (n) 0 0 (o)		MAT Aislamiento	Bs. As.	Scialfa et al. (2013)
	7	3 42,8 Canicola		MAT,PCR, cultivo	Buenos Aires	Scialfa et al. (2014)
<i>Leopardus geoffroyi</i>	25	15 60 Icterohaemorrhagiae 2 8 Ballum		MAT	Parque Nacional Lihué Calel (La Pampa)	Uhart et al. (2012)
	1	0 0 <i>Leptospira</i> sp.		MAT,PCR, cultivo	Buenos Aires	Scialfa et al. (2014)
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	22	6 27,3 Ballum 4 18,2 Pomona 3 13,6 Grippytyphosa 1 4,5 Icterohaemorrhagiae 0 0 (p)		MAT	Esteros del Iberá, Corrientes	Corriale et al. (2013)
<i>Bubalus bubalis</i>	500	111 22,2 Pomona, Canicola, Grippytyphosa, Pyrogenes, Wolffii, Hardjo (q)		MAT	Corrientes, Chaco y Formosa	Konrad et al. (2013)
<i>Callosciurus erythraeus</i>	34	13 38 Icterohaemorrhagiae Canicola		Inmunofluorescencia directa	Santa Fe	Gozzi et al. (2013)
<i>Sus scrofa</i>	50	21 42 Pomona		MAT	Bahía Samborombón (Bs. As.)	Carpinetti et al. (2014)
Chirópteros (<i>Eumops patagonicus</i> 11 positivos), <i>Molossus rufus</i> 2 y 1 <i>Myotis albescens</i>	70	14 20 <i>Leptospira</i> sp		PCR	Corrientes	Ramírez et al. (2014)

- (a) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Canicola, Ballum, Bataviae, Pyrogenes, Australis, Sejroe, Hebdomadis y Hyos.
- (b) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Pyrogenes, Pomona, Hardjo y Grippytyphosa.
- (c) Los autores no mencionan el total de la muestra, ni cuántos son juveniles o adultos, solo mencionan que 11 corresponden a la Pampa.
- (d) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Wolffii, Grippytyphosa, Canicola, Castellonis y Ballum.
- (e) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Australis, Autumnalis, Castellonis, Bataviae, Canicola, Celledoni, Cynopteri, Djasiman, Grippytyphosa, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Louisiana, Panama, Pomona, Pyrogenes, Ranarum, Sarmin, Wolffii, Shermani, Tarassovi.
- (f) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Pomona, Pyrogenes, Tarassovi, Wolffii y Hardjo.
- (g) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Canicola, Castellonis, Tarassovi, Wolffii, Pomona, Hardjo, Grippytyphosa y Pyrogenes.
- (h) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Canicola, Tarassovi, Wolffii, Pomona y Hardjo.
- (i) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Ballum, Castellonis, Canicola, Tarassovi, Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Pyrogenes y Sejroe.
- (j) Martino et al. (2004) menciona el número de individuos positivos (n) según los serovares, pero no discriminan si es en *L. culpaeus* o *L. griseus*. Los serovares a los cuales reaccionaron ambas especies son: Sejroe (10 individuos), Grippytyphosa (10 individuos), Icterohaemorrhagiae (8 individuos), Canicola (5 individuos), Hardjo (5 individuos), Tarassovi (3 individuos) y Ballum (3 individuos).
- (k) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Bataviae, Hebdomadis, Pomona y Pyrogenes.
- (l) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Grippytyphosa, Ballum, Hebdomadis, Canicola, Pomona, Pyrogenes, Tarassovi y Wolffii.
- (m) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Hebdomadis, Pomona, Pyrogenes, Tarassovi y Wolffii.
- (n) Scialfa et al. 2013, menciona que los serovares a los cuales reaccionaron los zorros y el zorrino fueron: Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Castellonis y que hay reacción cruzada en 1 zorro, pero no discrimina los serovares según los individuos y mencionan que el serovar predominante es Castellonis.
- (o) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Hardjo, Hebdomadis, Pomona, Pyrogenes, Tarassovi y Wolffii.
- (p) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Canicola, Hardjo, Pyrogenes, Tarassovi y Wolffii.
- (q) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Australis, Autumnalis, Ballum, Bataviae, Celledoni, Cynopteri, Djasiman, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Louisiana, Manhao, Mini, Panama, Ranarum, Sarmin, Sejroe, Shermani y Tarassovi.

1.5- Leptospirosis en Xenartros

Varios autores han realizado investigaciones en distintas especies de Xenartros en búsqueda de presencia de anticuerpos contra *Leptospira*, o han realizado el aislamiento de las mismas. En la tabla 2 se detallan los antecedentes conocidos según los datos geográficos indicados por los autores en cada caso, número muestreado, prevalencia y serovar analizado.

Tabla 2: Xenartros investigados para *Leptospira*, excepto en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n %	Serovar	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Dasyus novemcinctus</i>	50	4 8	Pomona	MAT Microscopía	Louisiana	Stuart et al. (1977)
		1 2	Ballum			
		3 6	Icterohaemorrhagiae			
		5 10	Grippotyphosa			
		3 6	Mini Georgia			
		1 2	Paidjan			
		4 8	L. 1945			
		2 4	Myocastorius			
		4 8	Autumnalis			
		1	0 0			
	19	1 5,3	Hebdomadis	MAT Aislamiento	Ilha do Marajó, Brasil	Lins y Lopes (1984)
	286	10 3,8	Shermani	MAT	Florida central	Motie et al. (1986)
		7 2,4	Canicola			
		6 2,1	Tarassovi			
		2 0,7	Javanica			
		1 0,3	Pomona			
		1 0,3	Grippotyphosa			
		1 0,3	Bataviae			
		1 0,3	Celledoni			
		3 1	Australis			
		0 0	(a)			
	4	1 25	Tarassovi	MAT	Louisiana	
		0 0	(b)			
	1	0 0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT	Venezuela	
	19	0 0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT Aislamiento	Norte de Pará, Brasil	Lins et al. (1986)
	20	1 5	Calzonae	MAT Aislamiento	Do Moju y áreas vecinas al norte de Pará	
	31	1 3,2	Autumnalis	MAT	Brasil	Costa da Silva et al. (2008)
		1 3,2	Grippotyphosa			
		1 3,2	Patoc			
			(c)			
<i>Tamandua longicaudata</i>	1	0 0		MAT Aislamiento	Llanos orientales de Colombia	Wells et al. (1981)
	1	0 0		MAT Aislamiento	Llanos orientales de Colombia	
	6	3 50	Bataviae, Autumnalis, Icterohaemorrhagiae	MAT	RPPN SESC Pantanal (Brasil)	

<i>Myrmecophaga trydactyla</i>			y Shermani, (d)			Miranda (2008)	
	15	4	26,7	Sentot (d)	MAT		PNSC y PNE (Brasil)
	15	5	33,3	Butembo (d)	MAT		Parque Nac. Da Serra da Canastra (PNSC) (Brasil)
	6	5	83,3	Sentot Butembo (d)	MAT	Parque Nacional Emas (PNE) (Brasil)	dos Santos Silva (2008)
	3	1	33,3	Icterohaemorrhagiae	MAT	Brasil	
	1	0	0	(e)	MAT PCR	Do Pantanal Sul-Mato-Grossense Brasil	Souto Vieira (2009)
<i>Bradypus tridactylus</i>	57	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT Aislamiento	Norte do Pará, Brasil	Lins et al. (1986)
	1	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT Aislamiento	Usina Hidroeléctrica de Tucuruí, Pará, Brasil	
<i>Choloepus didactylus</i>	2	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT Aislamiento	Serra dos Carajás, Pará, Brasil	
<i>D. septemcinctus</i>	2	1	50	Cynopter	MAT Aislamiento	Serra dos Carajás, Pará, Brasil	
	2	1	50	<i>Leptospira</i> sp.	MAT Aislamiento	Usina Hidroeléctrica de Tucuruí, Pará, Brasil	
<i>Cabassous unicinctus</i>	1	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT Aislamiento	Usina Hidroeléctrica de Tucuruí, Pará, Brasil	
<i>Tamandua</i> sp.	7	0	0	<i>Leptospira</i> sp.	MAT Aislamiento	Do Moju y área vecinas al norte de Pará	
<i>Dasypus</i> sp.	47	7	14,9	<i>Leptospira</i> sp.	MAT Aislamiento	Región de la Amazona	
<i>Euphractus sexcinctus</i>	5	0	0	(f)	MAT	Estado de Tocantins, Brasil	Formiga de Souza Júnior et al. (2006)
	3	1	33,3	Hardjo (c)	MAT	Brasil	Costa da Silva et al. (2008)
	2	0	0	(e)	MAT PCR	Do Pantanal Sul-Mato-Grossense Brasil	Souto Vieira (2009)
<i>D. hybridus</i>	2	0	0	(c)	MAT	Brasil	Costa da Silva et al. (2008)
<i>Cabassous tatouay</i>	2	0	0	(c)	MAT	Brasil	Costa da Silva et al. (2008)
<i>Tamandua tetradactyla</i>	28	2	7,1	Patoc	MAT	Zoológicos de Brasil	dos Santos Sales et al. (2012)
	3	10,7	Tarrasovi				
	2	7,1	Wolffi				
	1	3,6	Australis				

- (a) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Icterohaemoragiae, Hardjo, Ballum, Autumnalis, Hebdomadis, Cynopteri, Sejroe, Pyrogenes, Andamana y Wolffi.
- (b) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Shermani, Canicola, Javanica, Pomona, Grippytyphosa, Bataviae, Celledoni, Australis, Icterohaemoragiae, Hardjo, Ballum, Autumnalis, Hebdomadis, Cynopteri, Sejroe, Pyrogenes, Andamana y Wolffi.
- (c) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Australis, Bratislava, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Djasiman, Sentot, Hebdomadis, Copenhageni, Panama, Icterohaemorrhagiae,

- Javanica, Pomona, Pyrogenes, Hardjo-prajitno, Wolffi, Hardjo miniswajezak, Hardjo-CTG., Hardjo-bovis, Shermani, Tarassovi y Andamana.
- (d) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Wolffi, Whitcombi, Grippotyphosa, Australis, Hebdomadis, Autumnalis, Shermani, Icterohaemorrhagiae, Pomona, Bratislava, Butembo, Bataviae, Castellonis, canicola, Panamá, Cynopteri, Pyrogenes, Hardjo, Tarassovi, Sentot y Fostbragg.
- (e) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Wolffi, Mini, Cuíca, Grippotyphosa, Sarmin, Manguns, Fluminense, Australis, Hebdomadis, Guaratuba, Autumnalis, Swajizak, Javanica, Ballum, Icterohaemorrhagiae, Pomona y Brasiliensis.
- (f) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Bratislava, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Sentot, Hebdomadis, Copenhageni, Panama, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Pomona, Pyrogenes, Hardjo-prajitno, Wolffi, Hardjo-bovis, Shermani, Tarassovi, Australis y Autumnalis.

Los casos estudiados hasta el momento de infecciones por *Leptospira* en Xenartros en Argentina se muestran en la Tabla 3; para *C. villosus* se ha registrado *Leptospira biflexa*, la cual no es patógena, *Leptospira borgpetersenii* serovar Castellonis, Sejroe; *Leptospira kirschneri* serovar Grippotyphosa; *Leptospira noguchii* serovar Argentinensis; *Leptospira interrogans* serovar Bataviae, Canicola, Hardjo, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Paidjan, Pomona, Wolffi (Tabla 3).

Tabla 3: Xenartros investigados para *Leptospira* para Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n	Serovar %	Test	Localidad	Referencia bibliográfica	
<i>C. villosus</i>	1	1	100	Canicola	Aislamiento	Argentina	Cacchione et al. (1966)
	3	3	100	Paidjan	Aislamiento	Bs. As.	Tedesco y Szyfres (1967)
				Paidjan y Argentinensis	Aislamiento		Szyfres et al. (1967)
	1	1	100	Argentinensis	Aislamiento	Distrito de Olavarría (Bs. As)	Szyfres et al. (1968)
	438	24	5,5	Argentinensis, Paidjan y Bataviae	Aislamiento	Argentina	García-Carrillo et al. (1972)
	89	16	17,9	Hardjo, Hebdomadis, Wolffi, Bataviae Sejroe y Canicola	MAT Aislamiento	Partido de Azul, Buenos Aires	Cuba-Caparó (1976)
		2	2,3	<i>L. biflexa</i> (Aislaron Biflexa y Canicola)			
	89	2	2,2	Canicola	MAT Aislamiento	Partido de Azul, (Buenos Aires)	Myers et al. (1977)
		1	1,1	Pomona			
	19	21,3	Hardjo, Wolffi, Sejroe y Hebdomadis				
	14	15,7	Argentinensis, Paidjan y Bataviae				
	0	0	(a) (Aislaron Hardjo, Canicola, Bataviae, Paidjan, Biflexa y Argentinensis)				
		38,1	Canicola Hardjo, Icterohaemorrhagiae y Castellonis. (Aislaron Hardjo y Pyrogens)	MAT MLVA Aislamiento	Argentina	Brihuega et al. (2011b)	
	5	0	0 (b)	MAT	Buenos Aires	Scialfa et al. (2012)	

	6	2 33,3	Canicola, Castellonis, Grippytyphosa y Icterohaemorrhagiae	MAT	Buenos Aires	Scialfa et al. (2013)
		0 0 (c)				
	17	3 17,6	<i>Leptospira</i>	MAT,PCR, cultivo	Buenos Aires	Scialfa et al. (2014)
<i>Myrmecophaga tridactyla</i>	11	0 0 (d)		MAT	Argentina	Poli et al. (2008)

- (a) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Icterohaemoragiae, Ballum, Autumnalis, Tarassovi, Pomona, Australis, Pyrogenes y Grippytyphosa.
- (b) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Icterohaemoragiae, Canicola, Castellonis, Tarassovi, Pomona, Wolffi, Pyrogenes, Grippytyphosa, Hardjo y Hebdomadis.
- (c) Scialfa et al. 2013, menciona que los serovares a los cuales reaccionaron los 2 *C. villosus*, los 2 zorros y el zorrino fueron: Grippytyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola y Castellonis y que hay reacción cruzada en un zorro y en un *C. villosus*, pero no discrimina los serovares según los individuos y mencionan que el serovar predominante es Castellonis. Todas las muestras fueron negativas a los serovares Tarassovi, Pomona, Wolffi, Pyrogenes, Hardjo y Hebdomadis.
- (d) Todas las muestras fueron negativas a los serovares Icterohaemoragiae, Canicola, Castellonis, Tarassovi, Pomona, Wolffi, Pyrogenes y Grippytyphosa.

MLVA: (Análisis de Múltiple-Locus variable utilizando un número de tándem repetido).

1.6- Leptospirosis en Xenartros en la provincia de La Pampa

En la provincia de La Pampa no existen datos previos de la presencia de *Leptospira* en *C. villosus* (ni en ningún otro Xenartro) hasta la presente tesis.

El objetivo general de este capítulo es determinar si *C. villosus* está expuesto a *Leptospira* sp. y, de estarlo, cuál es su seroprevalencia y que serovares se presentan.

2- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados así como el área de estudio se indicó en el capítulo 1.

Para la detección serológica y la clasificación taxonómica de *Leptospira*, se utilizó el Test de Aglutinación Microscópica (MAT) que consiste en mezclar el suero problema con un volumen de suspensión de leptospirosas vivas y cuantificar la cantidad aglutinante del mismo (OIE 2008). Las cepas de leptospirosas vivas provienen del Laboratorio de Leptospirosis, Instituto de Patobiología, CICV y A-CNIA., Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Castelar, Buenos Aires, Argentina (Centro Nacional de referencia de *Leptospira*).

En una primera etapa se realizó un sondeo serológico para verificar si el suero problema presentaba anticuerpos (reaccionaba) contra leptospirosas. En una segunda etapa, los sueros que reaccionaron (sueros con una dilución inicial de 1:25) fueron diluidos en

progresión geométrica en base 2, enfrentados a los antígenos correspondientes, estableciéndose semi-cuantitativamente el nivel de anticuerpos presentes en el suero problema. Los sueros con una dilución de 1:50 o superior fueron considerados positivos.

Se testearon los sueros contra *Leptospira* serovares Castellonis, Canicola, Grippytyphosa, Icterohemorrhagiae, Pomona, Pyrogenes, Ranarum, Celledoni, Hebdomadis, Sarmin, Bataviae, Autumnalis, Cynopteri, Panama, Australis, Mini, Javanica, Djasiman, Wolffii, Tarasovi, Ballum y Hardjo.

Se realizaron cortes histológicos en riñones y se tiñeron con la coloración de hematoxilina-eosina para determinar si había lesiones compatibles con la enfermedad. Tres animales serológicamente positivos se utilizaron para la detección *in situ* de *Leptospira* mediante el procedimiento descrito para inmunohistoquímica por Delgado et al. (2007). La técnica utiliza un anticuerpo polivalente de conejo contra los serovares Canicola, Pomona e Icterohaemorrhagiae.

Además, se realizó un testeo en bovinos en dos de los predios rurales en donde se muestrearon los *C. villosus* (C y E). En el sitio C se muestrearon 29 hembras adultas de segunda o tercera parición y en el sitio E se muestrearon 24 vaquillonas que, al momento del sangrado, cursaban el octavo mes de preñez. La técnica utilizada para la detección de anticuerpos contra *Leptospira* fue la misma que la realizada para *C. villosus* y fueron enfrentados contra los mismos serovares que los de los armadillos.

3- RESULTADOS

De las 150 muestras de suero analizadas en *Chaetophractus villosus*, se encontraron anticuerpos contra *Leptospira* en 23,3% (35/150) de los individuos ($IC_{95\%}=16,5-30,2$).

De los 150 sueros, 6% (9/150) aglutinó con el serovar Canicola, 4,7% (7/150) con el serovar Castellonis, 1,3% (2/150) con el serovar Icterohemorrhagiae, 0,7% (1/150) con el serovar Hardjo y 10,7% coaglutinó con dos o más serovares, siendo el patrón más frecuente los serovares Castellonis-Icterohemorrhagiae con 4,7% (7/150), Canicola-Castellonis con 4,7% (7/150), Canicola-Hardjo con 0,6% (1/150) y Castellonis-Canicola-Icterohemorrhagiae con 0,6% (1/150) (Figura 2).

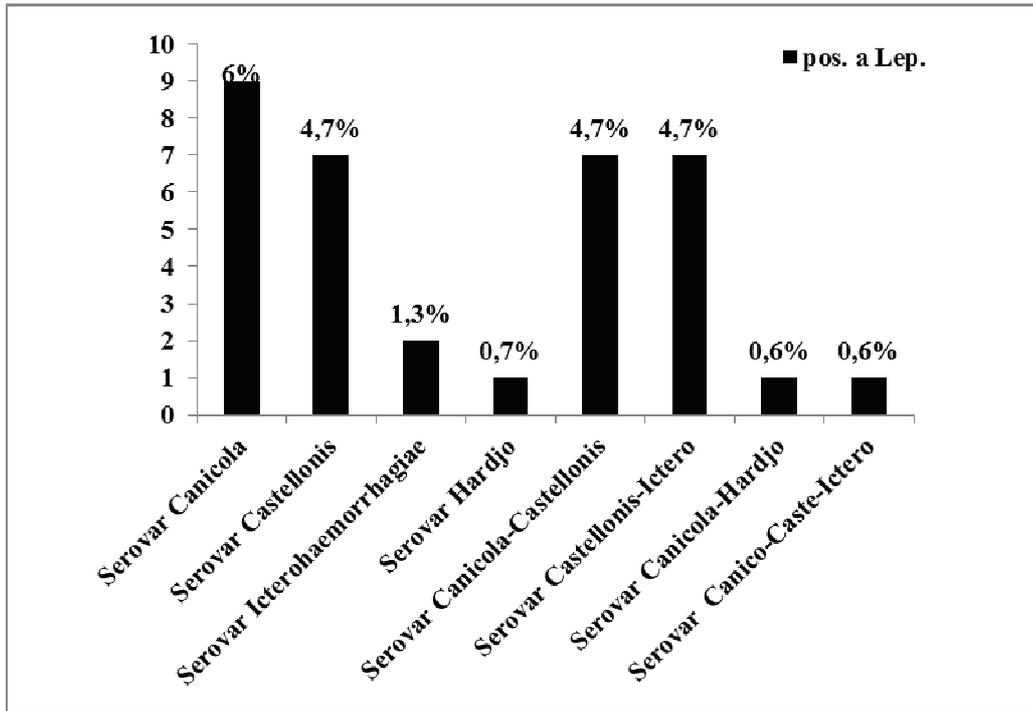


Figura 2: *C. villosus* positivos a *Leptospira*, según los distintos serovares.

No se detectaron anticuerpos contra los serovares Grippotyphosa, Pomona, Pyrogenes, Ranarum, Celledoni, Hebdomadis, Sarmin, Bataviae, Autumnalis, Cynopteri, Panama, Australis, Mini, Javanica, Djasiman, Wolffi, Ballum y Tarasovi.

Los títulos a los cuales reaccionaron los sueros variaron entre 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1: 1600 y 1:3200, detectándose los títulos más altos en los serovares Canicola (1:3200) y Castellonis (1:3200) (Tabla 4).

En todos los sitios de captura hubo algún *C. villosus* positivo a *Leptospira*, con excepción de los sitios D, D2 y F, variando las prevalencias en los sitios con serología positiva entre 6,25% a 37,5% (Tabla 5).

Tabla 4: Títulos de aglutinación de los distintos serovares de *Leptospira* a los que reaccionaron los *C. villosus*, según los sitios de captura (para la descripción de los distintos sitios, ver Tabla 1, Capítulo 1), edad y sexo.

Muestra	Sitios de captura	Sexo	Edad	Serovar Castellonis	Serovar Canicola	Serovar Hardjo	Serovar Icterohaemorrhagiae
609	A	H	A	1:50	1:50		1:50
639	A	M	A		1:50		
651	A	M	A		1:1600	1:100	
652	A	M	A		1:800		
653	A	H	A	1:3200	1:1600		
660	A	H	A		1:100		

661	A	M	A	1:50	1:200							
664	A1	M	A	1:100	1:800							
663	A	H	A					1:50				
676	C	M	A		1:50							
697	B1	M	A	1:100							1:200	
698	B1	M	A								1:50	
703	B1	M	A								1:50	
704	B1	H	A	1:100	3200							
706	B1	H	A	1:3200								
709	B1	M	A		1:100							
727	E	M	A	1:400								
739	C	M	A		1:800							
742	C	H	A	1:50								
744	E	H	J	1:50								
773	B1	H	A	1:50								
776	D1	H	A	1:100	1:100							
786	E	H	A		1:800							
788	C	M	A	1:400	1:800							
789	C	M	A		1:200							
791	C	H	A	1:400							1:200	
795	C	M	A	1:400								
799	B	M	A	1:200								
800	C	H	A	1:800							1:200	
803	C	H	A	1:3200							1:800	
810	C	H	A	1:1600	1:800							
815	E	H	A	1:800							1:200	
825	C1	M	A		1:800							
836	D1	M	A	1:1600							1:400	
843	D3	H	A	1:800							1:400	

Tabla 5: Presencia de anticuerpos contra *Leptospira* (Lep.) según los distintos sitios de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a Lep.	17	7	15	10	19	4	4	6	2	7	20	4
Cv. pos. a Lep.	8	1	1	6	10	1	0	2	0	1	5	0
Total Cv.	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%)	32	12,5	6,25	37,5	34,5	20	0	25	0	12,5	20	0

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados, 25,7% (18) fueron positivos a *Leptospira*, IC_{95%}: 15,2-36,2 y de las 80/150 hembras, 21,2% (17) fueron positivas a *Leptospira*, IC_{95%}: 12,1-30,4. El sexo de los *C. villosus* no influye en la presencia de *Leptospira* en los mismos ($p=0,519$; OR: 0,78; Figura 3).

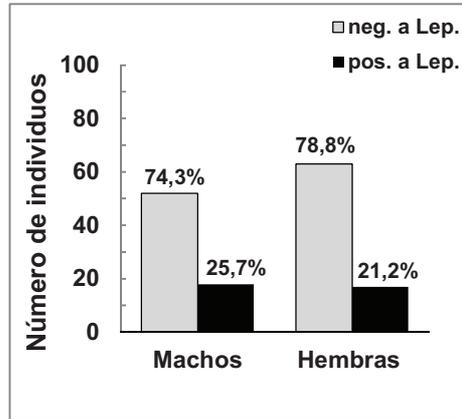


Figura 3: Prevalencia de anticuerpos a *Leptospira* (Lep.) según el sexo de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, 4,4% (1) fueron positivos a *Leptospira*, en tanto que de los 127 adultos 26,7% (34) fueron positivos. Se hallaron diferencias estadísticas según la edad, siendo los individuos adultos los que presentaron más anticuerpos contra *Leptospira* ($p=0,019$; OR: 8,043; Figura 4).

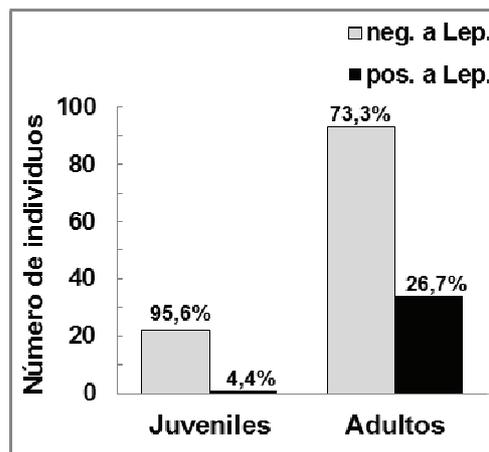


Figura 4: Prevalencia de anticuerpos a *Leptospira* (Lep.) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se halló 20,7% (22/106) *C. villosus* positivos a *Leptospira*; mientras que en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se halló 29,5% (13/44) *C. villosus*

positivos. De los 35 *C. villosus* positivos, 37,1% (13) correspondieron a sitios de captura con presencia de tambo. La presencia o no de tambo en los sitios de captura no está asociada con la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* ($p=0,246$; OR: 1,601; Figura 5).

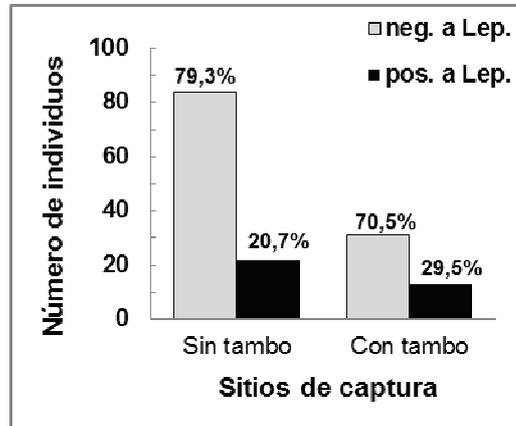


Figura 5: Prevalencia de anticuerpos a *Leptospira* (Lep.) según presencia o no de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura donde no había presencia de cerdos (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se halló 21,2% (29/132) de los *C. villosus* positivos a *Leptospira* y en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) 38,9% (6/18). De los 35 individuos positivos a *Leptospira*, 17,1% (6) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. La presencia o no de cerdos en los sitios de captura de los *C. villosus* no está asociada con la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* ($p=0,285$; OR: 1,776; Figura 6).

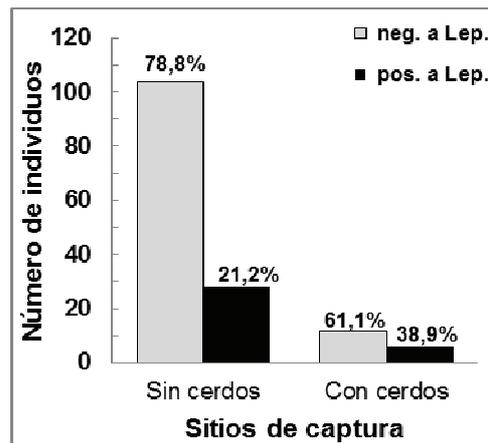


Figura 6: Prevalencia de anticuerpos a *Leptospira* (Lep.) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 24,1% (14/58) de los *C. villosus* positivos a *Leptospira*, mientras que en sitios

con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 22,8% (21/92). De los 35 *C. villosus* positivos a *Leptospira*, 60% (21) fueron capturados en sitios con presencia de ovinos. La presencia o no de ovinos en los sitios de captura de los *C. villosus* no está asociada con la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* ($p=0,853$; OR: 0,930; Figura 7).

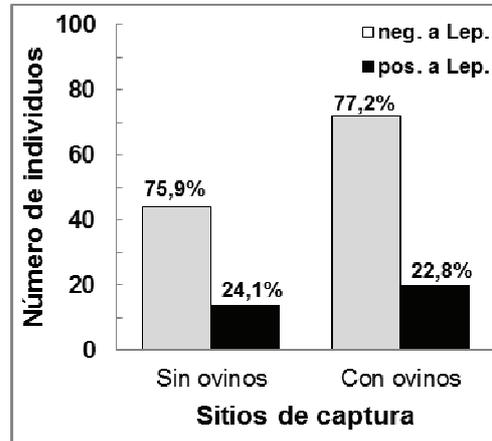


Figura 7: Prevalencia de anticuerpos a *Leptospira* (Lep.) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 11,3% (6/53) de los *C. villosus* positivos a *Leptospira*, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 29,9% (29/97). De los 35 *C. villosus* positivos a *Leptospira*, 82,9% (29) correspondieron a sitios de captura con presencia de aves de corral. Se hallaron diferencias estadísticas, siendo mayor la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* en los ejemplares capturados en sitios donde había presencia de aves de corral ($p=0,010$; OR: 3,341; Figura 8).

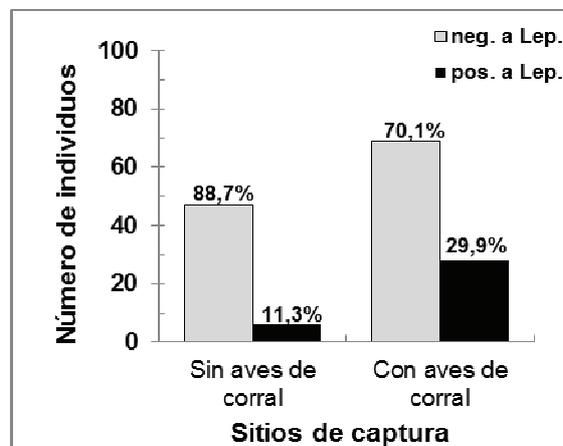


Figura 8: Prevalencia de anticuerpos a *Leptospira* (Lep.) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

De los 55 sueros bovinos analizados (sitio C y E), 16,3% (9) resultaron positivos a *Leptospira*, registrándose los serovares Pomona, Ballum y Wolffi, con títulos que variaron entre 1/200 a 1/800.

3.1- Lesiones anatomopatológicas macroscópicas

Macroscópicamente, en 4 de los riñones que dieron serología positiva a *Leptospira*, se pudo observar externamente una coloración más clara, marrón, con Petequias blanquecinas de forma irregular, distribuidas por todo el órgano (Figura 9a); y en 31, se observaron depresiones poco marcadas o de aspecto rugoso, de forma generalizada en la superficie renal (Figura 9b), a diferencia de los armadillos que resultaron con serología negativa, en donde los riñones son de aspecto normal, con superficie lisa y coloración marrón brillante (Figura 9c).

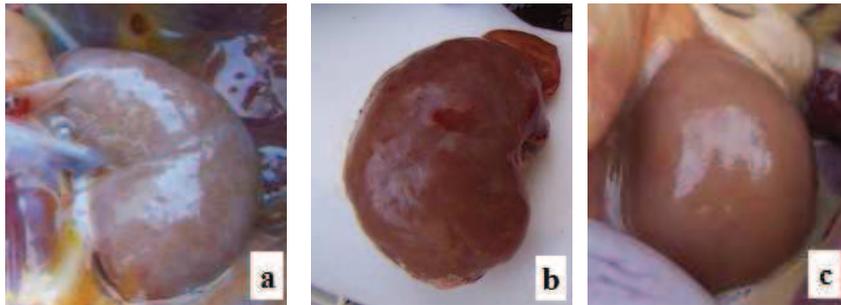


Figura 9: a y b- Riñón positivo a *Leptospira*, c- riñón negativo a *Leptospira*.

3.2- Lesiones histopatológicas

En los cortes histológicos de riñones de 10 *C. villosus* negativos por serología a *Leptospira*, no se evidenciaron lesiones. De los 35 *C. villosus* positivos a *Leptospira* se realizaron cortes histológicos de riñón en 16 individuos, de los cuales en tres que presentaban títulos bajos (1/50 y 1/100), se halló infiltración de células mononucleares, en su mayoría linfocitos y células plasmáticas, alrededor de los corpúsculos renales. En los que presentaron títulos más altos, las lesiones fueron más severas, produciendo una nefritis intersticial cortical que en algunos casos se extendía hasta la zona medular. También se observó en 13 de los animales positivos una infiltración linfocítica de células plasmáticas al nivel de la submucosa, en la pelvis renal. La capa parietal de la cápsula de Bowman era más gruesa en aquellos que presentaron títulos más altos, con una retracción

del ovillo glomerular y una dilatación del espacio capsular. En los túbulos renales, especialmente en los tubos colectores, se encontró depósitos de material hialino en forma de cilindros o gotas grandes, mostrando también diferentes niveles de degeneración tubular (Figura 10).

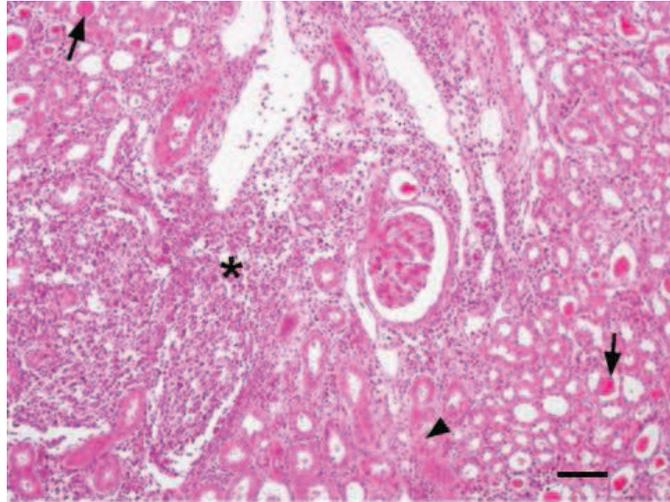


Figura 10: Riñón con infiltraciones multifocales de células mononucleares en especial en la zona cortical (*), presencia de material eosinófilo en los túbulos proximales (→), depósitos de material hialino en los túbulos distales y conductos colectores (►), 20 μ m.

En muestras de riñones de tres *C. villosus* positivos se detectó, mediante inmunohistoquímica, *Leptospira* principalmente en el interior de los túbulos proximales, añadidas a la superficie de las células epiteliales y entre esas células (Figura 11).

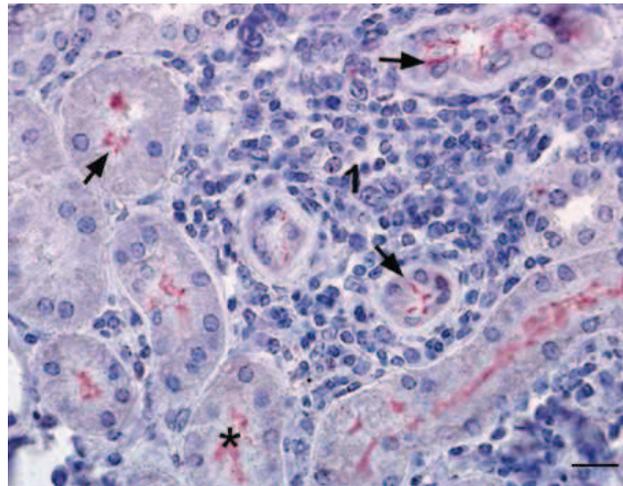


Figura 11: Riñón: La inmunotinción permite observar *Leptospiras*, como fibras finas entre las células tubulares y en las células epiteliales (flechas →), con un patrón difuso dentro de los túbulos (*). Se observa tejido intersticial con infiltrado de células linfocitarias (1), 40 μ m.

4- DISCUSIÓN

En este trabajo se demostró por primera vez la presencia de serovares de *Leptospira* en *C. villosus* en el centro de la provincia de La Pampa, destacándose los serovares Canicola, Castellonis, Icterohemorrhagiae y Hardjo, como también la presencia de dos o más serovares en un mismo individuo, siendo el patrón más frecuente los serovares Canicola-Castellonis, Castellonis-Icterohemorrhagiae, Canicola-Hardjo y Castellonis-Canicola-Icterohemorrhagiae.

Los resultados aquí obtenidos difieren de los hallados para la provincia de Buenos Aires por Myers et al. (1977), quienes encontraron 42/89 ejemplares positivos a *Leptospira*, pero todos ellos negativos para los serovares Castellonis e Icterohemorrhagiae, que sí se observaron en esta tesis.

La prevalencia hallada en *C. villosus* para el serovar Castellonis (4,7%) en esta tesis fue menor a la hallada previamente para sueros de humanos y de perros en La Pampa (17%, Adagio et al., 2000).

Un resultado importante es la detección en *C. villosus* del serovar Icterohemorrhagiae, uno de los serovares de *Leptospira* más patógenos (el cual también fuera identificado en Louisiana para *D. novemcinctus* por Stuart y col. 1977 y para la especie en estudio en Argentina por Brihuega et al. (2011b), y en Bs. As. por Scialfa et al. (2013). A pesar de la baja prevalencia (1,3%) aquí hallada, su detección pone de manifiesto el riesgo al que se exponen aquellas personas que manipulan a este armadillo.

Con respecto al serovar Canicola, en esta tesis se registró una prevalencia del 6%, mientras que en la provincia de Buenos Aires, la prevalencia detectada para *C. villosus* varió entre 2,2% (2/89) a 33,3% (2/6) (Cuba-Caparó y Myers 1977; Myers et al. 1977; Scialfa et al. 2013), y en Florida, *D. novemcinctus* presentó 2,5% (8/32, Motie et al. 1986); la prevalencia relativamente alta hallada en *C. villosus* para la Prov. de La Pampa podría relacionarse con la presencia del mismo serovar en perros (Adagio et al. 2000), los cuales comparten el mismo ambiente.

Cabe observar que si bien en Buenos Aires se halló el serovar Canicola en otras especies silvestres con valores más elevados que los registrados por nosotros para *C. villosus* en La Pampa (45,2% de 42 *Rattus norvegicus*, Scialfa et al. 2010), consideramos que el armadillo podría ser un hospedador que mantiene el serovar Canicola en el medio ambiente en el que vive y así podría infectar a especies domésticas y silvestres. Al respecto, debe destacarse que dicho serovar también ha sido hallado como predominante

en perros y en humanos en General Pico, La Pampa encontrándose además en los perros el serovar Castellonis e Icterohaemorrhagiae (Adagio et al. 2000), ambos también presentes en *C. villosus*.

Cuba-Caparo y Myers (1977) mencionan 17,9% (16/89) casos positivos para los serovares Hardjo, Wolffii, Sejroe, Hebdomadis, Bataviae y Canicola en *C. villosus*, en el Partido de Azul, provincia de Buenos Aires, no discriminando la prevalencia para cada uno de ellos, por lo cual no es posible realizar una comparación con los valores registrados en este trabajo para La Pampa.

El serovar Hardjo fue aislado por primera vez en *C. villosus* para la provincia de Buenos Aires por Myers et al. (1977), quienes relacionaron el hallazgo con los encontrados en bovinos, sugiriendo que este armadillo constituye un importante reservorio-hospedador de leptospiras patógenas. Si bien *C. villosus* en la provincia de La Pampa presentó una prevalencia muy baja para el serovar (0,7%), podría llegar a infectar al ganado vacuno presente en ese medio ambiente. Además, Myers et al. (1977) mencionan para *C. villosus* en el Partido de Azul (Buenos Aires), el hallazgo de los serovares Hardjo, Wolffii, Sejroe y Hebdomadis en 19/89 ejemplares, Argentiniensis, Paidjan y Bataviae en 14/89; Canicola en 2/89 y Pomona en 1/89. La presencia del serovar Argentiniensis, hallada en dicho trabajo, no pudo analizarse en los sueros de La Pampa, debido a que en la actualidad la cepa no se halla disponible.

Si bien los serovares Wolffii y Pomona fueron detectado en *C. villosus* en la provincia de Buenos Aires (Cuba-Caparó y Myers 1976, Myers et al. 1977), en La Pampa no se los registró, a pesar de encontrarse ambos serovares presentes en el ganado vacuno (datos no publicados), y que las muestras de suero bovino estudiadas provenían de los mismos sitios de muestreo en donde fueron capturados algunos de los *C. villosus*.

La menor presencia de *Leptospira* observada en los individuos juveniles de *C. villosus* podría relacionarse con una menor exposición a la bacteria por parte de los individuos de corta edad, con respecto a los adultos.

Tanto machos como hembras se infectan con *Leptospiras*, lo que coincide con lo hallado por Myers et al. (1977) para la provincia de Buenos Aires.

Reis et al. (2008) mencionan para Brasil, la presencia de aves de corral como un factor de riesgo para la infección con leptospiras en los humanos; al respecto, si bien las aves de corral no son reservorios de *Leptospira*, la presencia de alimento asociado a las mismas sería un atractivo para roedores portadores, los cuales contaminarían dicho alimento y el medio ambiente. Algo similar podría suceder con los *C. villosus* utilizados en

esta tesis, ya que la presencia de aves de corral en los sitios de muestreo predispone más al contacto con *Leptospira* y, consecuentemente, a la presencia de anticuerpos, que aquellos que fueron capturados en sitios donde las aves de corral estaban ausentes.

El hecho que la presencia o no de tambo en los sitios de captura no esté asociada con la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* podría relacionarse con la presencia variable de los serovares característicos de bovinos (Wolffi, Tarassovi y Pomona, Draghi et al. 2011), en las diferentes áreas de muestreo. Así, por ejemplo, ninguno de ellos fue detectado en el sitio C, en donde hay presencia de tambo; en cambio, si se halló en bovinos a los serovares Pomona y Wolffi en el sitio E, en donde no hay tambo (datos no publicados). Si bien en Jujuy existen antecedentes de la presencia de leptospirosis en bovinos de cría y de tambo en donde han hallado los serovares Hardjo, Canicola, Icterohemorrhagiae, Wolffi, Tarassovi y Pomona (Marín et al. 2011), los autores no discriminan cuales fueron hallados para los distintos tipos de explotación, con lo cual no es posible hacer una comparación entre ellos, pero si mencionan las prevalencias halladas para vacas de tambo, en donde la presencia de la enfermedad fue muy baja, 1,4% (2/143), comparada con los bovinos de cría 23% (77/336).

Draghi et al. (2011) también mencionan para la provincia de Corrientes la presencia del serovar Pomona en bovinos y ovinos, hallándose además en cerdos (Brihuega et al. 2009), y para La Pampa en bovinos (datos no publicados) y en cerdos (Petrakovsky et al. 2013, Martínez et al. 2014), pero este serovar no fue detectado en *C. villosus*. Debemos tener en cuenta que los factores asociados a la infección no dependen solamente del medio ambiente, sino que hay que tener presente las características del hospedador y del agente etiológico.

Del examen histopatológico realizado en los riñones, se pudo observar que las lesiones que presentaron los *C. villosus* con serología positiva a leptospira son similares a las que observaron Cuba Caparó y Myers en el año 1976, para la misma especie. La inmunohistoquímica corroboró la presencia de *Leptospira* en los túbulos renales, lo cual confirma que la especie es portadora y eliminadora de leptospiras.

El hallazgo de cuatro serovares de *Leptospira* en *C. villosus* para La Pampa es de fundamental importancia, ya que este armadillo convive con bovinos, ovinos, porcinos, equinos, caninos y una gran variedad de mamíferos silvestres, los cuales podrían llegar a infectarse por contacto con el armadillo. Inversamente, *C. villosus* podría infectarse por contacto con otros animales enfermos, inclusive conespecíficos. También el hombre corre

riesgos de infectarse con alguno de los serovares detectados, al manipular los armadillos luego de la captura.

5- CONCLUSIÓN

- Se demostró por primera vez la presencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, Canicola y Hardjo y anticuerpos contra *Leptospira borgpetersenii* serovar Castellonis para *C. villosus* en la provincia de La Pampa.
- Se confirmó la hipótesis que los *C. villosus* están expuestos a *Leptospira*.
- La mayor prevalencia a *Leptospira* correspondió a los serovares Canicola y Castellonis, ambos con título de 1:3200.
- Los ejemplares adultos son ocho veces más susceptibles a contraer leptospirosis que los juveniles.
- Los *C. villosus* adultos registraron los títulos de anticuerpos más altos (1/3200), y fueron positivos a más de un serovar.
- El sexo, la presencia de tambos, cerdos u ovinos en el sitio de muestreo no afecta la prevalencia de *Leptospira* en *C. villosus*.
- Los ejemplares de *C. villosus* que están en contacto con aves de corral tienen tres veces más posibilidad de infectarse que aquellos que no entran en contacto con aves de corral.
- Las lesiones observadas en los riñones de *C. villosus* son similares a las descriptas con anterioridad por otros investigadores, para esta especie.
- La inmunohistoquímica confirmó la presencia de *Leptospira* en los riñones de *C. villosus*.
- Los *C. villosus* son reservorios y podrían ser transmisores de *Leptospira*.
- Estos hallazgos evidencian la importancia que presenta *C. villosus* en la difusión de los distintos serovares de *Leptospira* y el riesgo al cual se exponen los humanos cuando manipulan armadillos infectados. También ponen en riesgo a la fauna doméstica o silvestre y a las poblaciones de la propia especie, con los cuales comparten el mismo hábitat.

6- BIBLIOGRAFÍA

- Acha PN.; Szyfres B. 2001. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Volumen I. Bacteriosis y Micosis. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica N° 580, Washington Pg. 175-186.
- Adagio L.; D'Amico G.; Wheeler JT.; Lattanzi D.; Hagge M.; Hierro J.; Somoza J.; Toribio M.; Alvarez E. 2000. Estudio preliminar serológico de leptospirosis canina y humana en la ciudad de General Pico y zona de influencia. Rev. Cs. Vet. Fac. de Cs. Vet. UNLPam. 5-11. http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/publicaciones/pub-rev_veter.htm
- Adler B.; de la Peña Moctezuma A. 2010. *Leptospira* and leptospirosis. Vet. Microbiol. 140:287-296.
- Aiello SE.; Mays A. (eds.). 2000. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Pg. 2558.
- Arango J.; Cittadino E.; Agostini A.; Dorta de Mazzone G.; Alvarez C.; Colusi M.; Koval A.; Cabrera Britos A.; Kravetz F. 2001. Prevalencia de leptospirosis en *Rattus rattus* y *Rattus norvegicus* en el Gran Buenos Aires, Argentina. Ecología Austral 11:25-30.
- Blood BD.; Szyfres B.; Moya V. 1963. Natural *Leptospira Pomona* infection in the pampas cavy. Public Health Reports 78(6):537-542.
- Brambati D.; Herculini C.; Aristegui E.; Vidal J.; Gentile G.; Navarro O'Connor M.; Castro J., Tealdo M. 2014. Presencia de *Leptospira interrogans* en roedores capturados en barrios marginales de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. III Congreso Panamericano de Zoonosis. VIII Congreso Argentino de Zoonosis. Fac. Cs Médicas UNLP. Del 4 al 6 de Junio, La Plata. Resúmenes. http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/Resuemn%20-%20Lepto%20en%20roedores.pdf
- Brihuega B.; Leoni L.; Martínez Vivot M. 1996. Leptospirosis en llamas (*Lama glama*): estudio serológico. Rev. Arg. Producción Animal. 16(4):393-396.
- Brihuega B.; Cacchione R.; Auteri C.; Samartino L. 2003. Estudio de leptospirosis en ciervos de la provincia del Neuquén. Acta Bioquim. Clín. L. 1:102.
- Brihuega B.; Paván M.; Cairó F.; Venzano A.; Auteri C.; Funes D.; Romero G.; Samartino L. 2007. *Leptospira* patógena en riñón de *Didelphys albiventris* (comadreja). Rev. Argent. Microbiol. 39:19.

- Brihuega B.; Martino P.; Romero G.; Samartino L. 2008. Rol de los animales silvestres en leptospirosis. Estudio en cérvidos. Congreso Brasileiro de Medicina Veterinaria, 35° Conbravet, Gramado, Brasil. www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1179-2.pdf
- Brihuega B.; Venzano A.; Zabal O.; Funes D.; Auteri C.; Romero G.; Samartino L. 2009. Cytopathic effect in BHK 21 (C13) cells inoculated with *Leptospira interrogans* serovar Pomona isolated from a porcine abortion. Rev. Argent. Microbiol. 41:261.
- Brihuega B.; Tealdo M. 2011. Importancia de los animales silvestres en la leptospirosis. Capítulo 19. Temas de zoonosis V. (eds.) Basulado J.; Cacchione R.; Durlach R.; Martino P.; Sejjo A. Pág. 169-174.
- Brihuega B.; Venzano A.; Diodati J.; Boffi A.; Funes D.; Auteri C.; Romero G.; Samartino L. 2011a. Alteraciones ultramicroscópicas en tejido placentario de animales infectados con *Leptospira interrogans* serovar Pomona. Rev. Argent. Microbiol. 43:68.
- Brihuega B.; Scialfa E.; Rago V.; Grune Löffler S.; Romero G.; Auteri C.; Samartino L. 2011b. Study of Leptospirosis of wildlife in Argentina. Congreso; VII Meeting International Leptospirosis Society; 2011. http://www.conicet.gov.ar/new_scp/detalle.php?keywords=&id=38922&congresos=yes&detalles=yes&congr_id=1712300
- Cacchione RA.; Cascelli ES.; Martínez ES.; Zuberbuhler JM. 1966. Leptospirosis en animales silvestres: aislamiento de una cepa de *Leptospira Canicola* de un peludo (*Chaetophractus villosus*). INTA. RIA. (Buenos Aires) Serie 4,3:51-55. En Myers DM.; Cuba Caparo A.; Payán Moreno J. 1977. Isolation of serotype Hardjo and other Leptospirae from armadillos in Argentina. PHAO Bull. Pan. Am. Health Organ. 11(2):131-139.
- Carpinetti BN.; Castresana G.; Rojas P.; Grant J.; Marcos A.; Monterubbianesi M.; Borrás P. 2014. Vigilancia epidemiológica en poblaciones de cerdos silvestres (*Sus scrofa*). Implicancias para la salud pública, la producción animal y la conservación de la biodiversidad. SNS 5-6:67-76.
- Corriale MJ.; Orozco MM.; Jiménez Pérez I. 2013 Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los Esteros del Iberá. Mastozoología Neotropical 20(1):31-45.
- Costa da Silva R.; Ballarini Zetun C.; de Moraes Gimenes Bosco S.; Bagagli E.; Sanmarco Rosa P.; Langoni H. 2008. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. Vet. Parasitol. 157:291-293.

- Cuba-Caparó A. 1976. The armadillo in biomedical research. Pan American Health Organization PAHO/ACMR 15/17. Fifteenth Meeting of the Advisory Committee on Medical Research Brasilia, D.F., Brazil 14-17 June 1976. 1-45. http://hist.library.paho.org/English/ACHR/ACMR15_17.pdf
- Delgado F.; Brihuega B.; Venzano A.; Funes D.; Blanco Viera F.; Auteri C.; Romero G.; Capellino F.; Sarmiento L. 2007. Adaptación de un protocolo de inmunohistoquímica para la detección de *Leptospira* spp. en muestras de tejido fijado en formaldehído. Rev. Cubana Med. Trop. 59(1):14-18.
- dos Santos Sales I.; Folly MM.; Nunes García LN.; Varela Ramos TM.; da Silva MC.; Pereira MM. 2012. *Leptospira* and *Brucella* antibodies in collared anteaters (*Tamandua tetradactyla*) in Brazilian zoos. J. Zoo. Wildl. Med. 43(4):739-743.
- dos Santos Silva C. 2008. Levantamento sorológico para leptospirose nos animais pertencentes ao bosque zoológico municipal “Dr. Fábio de Sá Barreto” de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva. Pg. 1-76.
- Draghi MG.; Brihuega B.; Benítez D.; Sala JM.; Biotti GM.; Pereyra M.; Homse A.; Guariniello L. 2011. Brote de leptospirosis en terneros en recría en la provincia de Corrientes, Argentina. Rev. Argent. Microbiol. 43:42-44.
- Evangelista KV.; Coburn J. 2010. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses Future Microbiol. 5(9):1413-1425.
- Ferreira H.; Uhart MM.; Romano MC.; Beldoménico PM.; Samartino L.; Paolicchi F.; Lauricella M.; Jorge MC.; Schettino A.; Guida N.; Martín AM. 2007. Inmovilización química y evaluación de salud de vizcachas salvajes (*Lagostomus maximus*) en el Chaco árido Argentino. Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama, 10(2):91-99.
- Formiga de Souza Júnior M.; Portela Lobato ZI.; Faria Lobato FC.; Moreira EC.; Rodrigues de Oliveira R.; Goulart Leite G.; Diógenes Freitas T.; Antunes de Assis R. 2006. Presença de anticorpos da classe IgM de *Leptospira interrogans* em animais silvestres do Estado do Tocantins, 2002. Presence of IgM antibodies for *Leptospira interrogans* in wild animals from Tocantins State, 2002. Rev. Soc. Brasil. Med. Trop. 39(3):292-294.
- García-Carrillo C.; Myers DM.; Szyfres B. 1972. Bataviae group leptospirae isolated from armadillos in Argentina. Trop. Geogr. Med. 24:377-381.

- Giraud JA.; Dauria PG.; de la Cruz JP.; Bagnat E. 1985. Anti-leptospira and anti-brucella agglutinins in hares (*Lepus europaeus*) from Río Cuarto Departament, province of Córdoba. Rev. Argent. Microbiol. 17(4):221-223.
- Gómez Villafaña IE.; Miñarro F.; Ribicich M.; Rossetti CA.; Rossotti D.; Busch M. 2004. Assessment of the risks of rats (*Rattus norvegicus*) and opossums (*Didelphis albiventris*) in different poultry-rearing areas in Argentina. Braz. J. Microbiol. 35(4):359-363.
- Gozzi AC.; Guichón ML.; Benitez VV.; Romero GN.; Auteri C.; Brihuega B. 2013. First isolation of *Leptospira interrogans* from the arboreal squirrel *Callosciurus erythraeus* introduced in Argentina. Wildl. Biol. 19:483-489.
- Konrad JL.; Campero LM.; Caspe GS.; Brihuega B.; Draghi G.; Moore DP.; Crudeli GA.; Venturini MC.; Campero CM. 2013. Detection of antibodies against *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., and Apicomplexa protozoa in water buffaloes in the Northeast of Argentina. Trop. Anim. Health. Prod. 45:1751-1756.
- Lins ZC.; Lopes ML. 1984. Isolation of *Leptospira* from wild forest animals in Amazonian Brazil. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 78(1):124-126.
- Lins ZC.; Lopes ML.; Mendonça Maroja O. 1986. Epidemiologia das leptospiroses com particular referencia ã Amazonia Brasileira. Bacteriología. Instituto Evandro Chagas. 50 años de contribuição às ciencias biológicas e à medicina tropical. Belém, Fundação Serviços de Saúde Pública, 1986. 2:733-764. [http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/pc/monografias/iec/iec50anos/vol2/cap12\(733-764\).pdf](http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/pc/monografias/iec/iec50anos/vol2/cap12(733-764).pdf)
- Linzitto OR.; Orellana JS. 2008. Leptospirosis clínica humana y animal. 1ra Jornada Platense de Salud Pública, Enfermedades Emergentes y Zoonóticas. Reie. 3(2):15-19.
- Llorente P.; Leoni L.; Martínez Vivot M. 2002. Leptospirosis en camélidos sudamericanos. Estudio de prevalencia serológica en distintas regiones de la Argentina. Arch. Med. Vet. 34(1):59-68.
- Marder G.; Ruiz RM.; Rios Machuca LM.; Zorzo L.; Merino D. 2006. Detección de leptospiras en riñón de roedores de la ciudad de Corrientes: estudio preliminar. Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. V-008: 1-4. <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/04-Veterinarias/2006-V-008.pdf>
- Marín RE.; Ramos S.; Luciani M.; Odeon A.; Brihuega B.; Späth E.; Campero CM. 2011. Relevamiento Seroepidemiológico de Enfermedades que Afectan la Reproducción en

- Bovinos de la Provincia de Jujuy. Vet. Arg. 28:1-8.
www.veterinariargentina.com/revista/2011/.../relevamiento-seroepidemiologia.
- Martínez M.; Grune Löffler S.; Samartino L., Romero G., De la Fuente I., Brihuega B. 2014. Estudio serológico de leptospirosis en porcinos de la llanura pampeana de la República Argentina. Pg. 1-2.
[http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/porcinos%20\(4\)para%20enviar-1.pdf](http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/porcinos%20(4)para%20enviar-1.pdf)
- Martino PE.; Montenegro JL.; Preziosi JA.; Venturini C.; Bacigalupe D.; Stanchi NO; Bautista EL. 2004. Serological survey of selected pathogens of free ranging foxes in southern Argentina, 1998-2001. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 23(3):801-806.
- Merino D.; Marder G.; Seijo A.; Lotero D.; Ulon S.; Ríos Machuca L.; Ruiz MR.; Roig Bustamante M.; Balbachán S.; Cudós C.; Bottinelli O. 2008. Leptospirosis en Corrientes, Argentina. Rev. Fac. Med. UNNE. 27(1):4-7.
- Miranda FR. 2008. Pesquisa de anticorpos contra bactérias do gênero *Brucella* spp, *Leptospira* spp. *Clamydophyla* spp. em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linnaeus, 1758), da RPPN SESC Pantanal, Parque Nacional da Serra da Canastra e, Parque Nacional das Emas. Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ecología Aplicada, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil, Pg. 116.
- Motie A.; Myers DM.; Storrs EE. 1986. A serologic survey for Leptospire in Nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus* L.) in Florida. J. Wildlife Dis. 22(3):423-424.
- Myers DM.; Cuba Caparo A.; Payán Moreno J. 1977. Isolation of serotype Hardjo and other Leptospirae from armadillos in Argentina. PHAO Bull. Pan. Am. Health Organ. 11(2):131-139.
- Odrizola E. 2001. Leptospirosis. Grupo de Sanidad Animal, Estación Experimental Agropecuaria Balcarce INTA.
http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/62-leptospirosis.pdf
- OIE. 2008. Terrestrial Manual. Chapter 2.1.9. Leptospirosis. 251- 264. www.oie.int
- Orozco MM.; Marull C.; Jiménez I.; Gürtler RE. 2013. Mortalidad invernal de ciervo de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*) en humedales del noreste de Argentina. Mastozoología Neotropical 20(1):163-167.

- Pérez Carusi LC.; Farace MI.; Ribicich MM.; Gómez Villafaña IE. 2009. Reproduction and parasitology of *Didelphis albiventris* (Didelphimorphia) in an agroecosystem landscape in central Argentina. *Mammalia* 73(2):89-97.
- Petrakovsky J.; Tinao J.; Esteves J. 2013. Leptospirosis porcina: prevalencia serológica en establecimientos productores de la República Argentina Swine leptospirosis: Serological prevalence in producing establishments in Argentina Republic. *Rev.MVZ. Córdoba* 18(1):3282-3287.
- Poli GL.; Marc L.; Gualtieri C.; Di Nucci D.; Pérez Jimeno G. 2008. Relevamiento serológico de *Leptospira interrogans* en una población cautiva de osos hormigueros (*Myrmecophaga tritactyla*). XIII Jornadas Argentinas de Microbiología. 9-11 de octubre 2008, Rosario, Santa Fe. <http://www.proyectoosohormiguero.org/Descargas/JornadasArgentinasMicrobiolog%EDa.pdf>
- Radostits O.; Gay C.; Blood D.; Hincheliff K. 2002. Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. IX ed España. Ed McGraw-Hill. Interamericana. Pg. 1920.
- Ramirez NN.; Alegre EA.; Ruiz RM.; De Biasio MB.; Bastiani CE. 2014. Detección de leptospiras patógenas en tejido renal de murciélagos de Corrientes, Argentina. *Rev. Vet.* 25(1):16-20.
- Reis RB.; Ribeiro GS.; Felzemburgh RDM.; Santana FS.; Mohr S.; Melendez AXTO.; Queiroz A.; Santos AC.; Ravines RR.; Tassinari WS.; Carvalho MS.; Reis MG.; Ko AI. 2008. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 2(4): e228. doi:10.1371/journal.pntd.0000228
- Rossetti CA.; Vanasco BN.; Pini N.; Carfagnini JC. 2004. Comparison of three diagnostic techniques for the detection of leptospirae in the kidneys of wild house mice (*Mus musculus*). *Pesq. Vet. Bras.* 24(1):6-10.
- Salomone F.; Tiranti SI.; Seijo AC.; Deodato B.; Enria DA.; Calderón GE.; Levis S.; Gouts N.; Coto H. 2002. Roedores como potenciales reservorios de hantavirus, virus Junín y leptospirosis, en la provincia de La Pampa, Argentina. *Actas VIII J. Pampeanas de Cs. Nat.* Pg. 203-205.
- Sandow K.; Ramírez W. 2005. Leptospirosis. *Redvet.* 6(6):1-61. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605.html>

- Scialfa E.; Bolpe J.; Bardón JC.; Ridao G.; Gentile J.; Gallicchio O. 2010. Isolation of *Leptospira interrogans* from suburban rats in Tandil, Buenos Aires, Argentina. *Rev. Argent. Microbiol.* 42:126-128.
- Scialfa EA.; Brihuega B.; Morris WE.; Recavarren M.; Quintana S.; Grune S.; Romero G.; Bolpe, J.; Schettino M. 2012. First isolation of *Leptospira interrogans* from *Conepatus chinga*. *Afr. J. App. Microbiol. Res.* 1(1):1-5.
- Scialfa E.; Brihuega B.; Venzano A.; Morris WE.; Bolpe J.; Schettino M. 2013. First isolation of *Leptospira interrogans* from *Lycalopex griseus* (South American gray fox) in Argentina shows new MLVA genotype. *J. Wildlife Dis.* 49(1):168-172.
- Scialfa E.; Giamperetti S.; Gallicchio O.; Bongiorno F.; Bolpe J. 2014. Diagnóstico bacteriológico, serológico y molecular de la leptospirosis en animales silvestres de la provincia de Buenos Aires. III Congreso Panamericano de Zoonosis. VIII Congreso Argentino de Zoonosis. Fac. Cs Médicas UNLP. Del 4 al 6 de Junio, La Plata. Resúmenes.
http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/abstrac%20t%C3%A9cnicas.pdf
- Souto Vieira A. 2009. Levantamento de *Leptospira* spp. em animais silvestres do pantanal Sul-Mato-Grossense por meio de técnicas sorológicas e moleculares. Pg. 83.
<http://www.cpap.embrapa.br/teses/online/DST57.pdf>
- Stuart BP.; Crowell WA.; Adams WV.; Carlisle JC. 1977. Spontaneous renal disease in Louisiana Armadillos (*Dasypus novemcintus*). *J. Wildlife Dis.* 13(3):240-244.
- Suárez HV.; Fort MC.; Lorenzo RM.; Buseti MR. 1997. Parasitosis y parámetros sanitarios en ciervos colorados en explotación comercial. Anguil, Sitio Argentino de Producción Animal. Producción de ciervos colorados. http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ciervos/04-parametros_sanitarios.pdf
- Szyfres B.; Blood BD. 1964. *Leptospira* Paidjan isolated from opossums in Argentina. *Trop. Geogr. Med.* 16:263-264. En Stanchi N.; Martino P. 1991. Evaluación clínico-patológica de la leptospirosis experimental con *Leptospira interrogans* serovar Pormona en sarigüeyas (*Didelphis albiventris*). *Avances en Ciencias Veterinarias*, 6(2). doi:10.5354/0719-5273.1991.4656.
<http://www.revistaurbanismo.uchile.cl/index.php/ACV/article/view/4656/4543>
- Szyfres B.; Sulzer CR.; Galton MM. 1967. A new leptospiral serotype in the Bataviae serogroup from Argentina. *Trop Geogr Med* 19:344-346. En Szyfres B.; Sulzer CR.;

- Galton MM. 1968. Nuevo serotipo de *Leptospira* del grupo Bataviae aislado en la Argentina. B. Ofic. Sanit. Panam. 225-227.
- Szyfres B.; Sulzer CR.; Galton MM. 1968. Nuevo serotipo de *Leptospira* del grupo Bataviae aislado en la Argentina. B. Ofic. Sanit. Panam. 225-227.
- Tedesco LF.; Szyfres B. 1967. Inédito. En Szyfres B.; Sulzer CR.; Galton MM. 1968. Nuevo serotipo de *Leptospira* del grupo Bataviae aislado en la Argentina. B. Ofic. Sanit. Panam. 225-227.
- Uhart MM.; Vila AR.; Beade MS.; Balcarce A.; Karesh WB. 2003. Health evaluation of pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus celer*) at campos del Tuyú Wildlife Reserve, Argentina. J. Wildlife Dis. 39(4):887-893.
- Uhart MM.; Rago MV.; Marull CA.; del Valle Ferreyra H.; Pereira JA. 2012. Exposure to selected pathogens in Geoffroy's cats and domestic carnivores from central Argentina. J. Wildlife Dis. 48(4):899-909.
- Vanasco NB.; Sequeira MD.; Sequeira G.; Tarabla HD. 2003. Associations between leptospiral infection and seropositivity in rodents and environmental characteristics in Argentina. Prev. Vet. Med. 60:227-235.
- Wells EA.; D'Alessandro A.; Morales GA.; Angel D. 1981. Mammalian wildlife diseases as hazards to man and livestock in an area of the Llanos Orientales of Colombia. J. Wildlife Dis. 17(1):153-162.

CAPÍTULO VII: NEOSPOROSIS

1- INTRODUCCIÓN

El protozoo *Neospora caninum* fue identificado por primera vez por Bjerkås et al. (1984), en Noruega, en un perro con paresia de las extremidades y lesiones de carácter inflamatorio en su sistema nervioso central y muscular; se demostró que dichas lesiones eran producidas por un protozoo parásito, formador de quistes, morfológicamente parecido pero serológicamente negativo frente a *Toxoplasma gondii*.

La denominación *N. caninum* fue otorgada años más tarde en EE.UU. por Dubey y colaboradores (1988a), quienes identifican el protozoo en perros, con síntomas neuromusculares. Ese mismo año, Dubey y col. (1988b) consiguieron aislar al parásito, mediante cultivo celular. La inoculación experimental en perros confirmó a *N. caninum* como causa de las alteraciones neurológicas, paresia, parálisis y muerte en los perros infectados.

A partir de ese momento surgieron diferentes líneas de investigación, entre ellas el desarrollo de distintas pruebas para la detección de *N. caninum*.

Thilsted y Dubey (1989) describieron a *N. caninum* como agente etiológico de abortos en el ganado bovino en Nuevo Méjico. Más tarde en California, Anderson et al. (1991) y Barr et al. (1991) reconocieron a *N. caninum* como la principal causa de abortos en el ganado bovino lechero.

En la actualidad la neosporosis sigue siendo un problema importante para el ganado vacuno (Dubey et al. 2011).

Desde entonces se han multiplicado los estudios para la obtención y caracterización de diversos aislados de *N. caninum* tanto de origen canino como de bovino (Conrad et al. 1993a, Barr et al. 1994), como así también se realizaron distintos estudios tanto en el ganado bovino como en animales silvestres para determinar la prevalencia de la enfermedad y las consecuencias que ella puede causar (Dubey et al. 1989, 1990, 1999, Dubey y Lindsay 1990, 1996, Trees et al. 1994, Woods et al. 1994, Lindsay et al. 1996, 2001, Buxton et al. 1997, Campero et al. 1998, 2003, 2007, Dubey 1999, Mainar-Jaime et al. 1999, Venturini et al. 1999, Moore et al. 2002a, b, Vitaliano et al. 2004, Martino 2004, Moré et al. 2008a, b, Basso et al. 2014, Fort et al. 2015).

Los estudios de prevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* indican que la neosporosis presenta una amplia distribución mundial, encontrándose en Australia, Nueva

Zelanda, Europa, China, Japón, África y América, y habiendo sido notificada en muchas especies animales como bovinos, ovinos, búfalos de agua, equinos, caninos, camélidos, entre otros (Dubey et al. 2007).

Existen evidencias de infecciones naturales encontradas en perros, ganado vacuno, ovejas, cabras, caballos, búfalos de agua (Dubey y Lindsay 1996, Basso et al. 2001a, b, 2005, Konrad et al. 2013, Fort et al. 2015), mientras que experimentalmente se han inducido infecciones en perros, cabras, ovejas, cerdos, jerbos, conejos y en el ganado vacuno (Dubey y Lindsay 1996).

1.1- Ciclo biológico

Se desconoce el ciclo de vida completo de este parásito pero se sabe que el perro es el hospedador definitivo, lo que fue confirmado cuando se hallaron los ooquistes en las heces de los perros (McAllister et al. 1998, Lindsay et al. 1999, Basso et al. 2001a), de este modo los perros actuarían como hospedadores intermediarios y definitivos de *N. caninum*. Posteriormente se descubrió que el coyote (*Canis latrans*), los zorros colorados (*Vulpes vulpes*), el dingo australiano (*C. lupus dingo*) y los lobos grises (*C. lupus lupus*), también actúan como hospedadores definitivos (Gondim et al. 2004a, Wapenaar et al. 2006, King et al. 2010, Dubey et al. 2011, Almería 2013, Dubey et al. 2014).

En el ciclo de vida de *N. caninum* se pueden diferenciar dos fases: una sexual (en cánidos) y otra asexual (en rumiantes, cánidos, equinos) con formación de taquizoítos y quistes tisulares, los cuales se encuentran en los hospedadores intermediarios, mientras que los ooquistes son eliminados solo por los hospedadores definitivos (Dubey y Lindsay 1996, McAllister et al. 1998, Almería 2013).

Los ooquistes de *N. caninum* son morfológicamente similares a los de *Toxoplasma gondii*, son de forma esférica o subesférica y su tamaño es de 11,7 μm de longitud por 11,3 μm de ancho (10,6-12,4 a 10,6-12,0 μm), con una pared lisa e incolora de 0,6 a 0,8 μm de espesor (McAllister et al. 1998, Dubey et al 2002, Dubey 2003). Son eliminados al medio ambiente sin esporular y en un lapso de 24 a 72 horas esporulan, conteniendo en su interior dos esporocitos (8,4 por 6,1 μm) con cuatro esporozoítos cada uno (6,5 por 2 μm), volviéndose así infectivos (Lindsay et al. 2001). Lo que aún no se sabe es con qué frecuencia se emiten los ooquistes y cuál es el tiempo de supervivencia en el medio ambiente (Dubey 2003).

Los ooquistes esporulados al ser ingeridos por un hospedador intermediario a través del alimento o del agua contaminada llegan al tracto gastrointestinal donde se liberan los esporozoítos, los cuales penetran en las células entéricas, transformándose en taquizoítos (Dubey 1999).

El taquizoíto es la fase de desarrollo más rápido y la más patógena y causa lisis celular por división activa (endodiogenia) dentro de la célula hospedera (Dubey y Lindsay 1996, Aiello y Mays 2000). Por invasión activa penetran en las células localizándose en el citoplasma de macrófagos, neuronas, fibroblastos, hepatocitos, miocitos y células epiteliales de los tubos renales, pudiéndose encontrar hasta 100 taquizoítos en las células hospederas (Dubey y Lindsay 1996).

Los quistes tisulares son intracelulares y su forma es redondeada u oval, se los puede observar en las células nerviosas, miden unos 100 μm de diámetro, su pared es amorfa, de unos 4 μm de espesor, no presentan tabiques y contienen en su interior los bradizoítos (responsables de la fase crónica de la infección), éstos son delgados, de 7 a 8 μm por 1,5 a 2 μm y se localizan principalmente en el tejido nervioso, retina y tejido muscular de los hospedadores intermediario (Dubey y Lindsay 1996, Aiello y Mays 2000, Dubey et al 2002, Dubey 2003).

Si el hospedador ve comprometido su estado inmunitario como ocurre durante la preñez, los bradizoítos se reconvierten en taquizoítos infectando la placenta y al feto (Innes et al. 2002).

El parásito puede transmitirse vía vertical (a través de la placenta) en perros, vacas, cabras, ovejas y gatos o vía horizontal (a través del alimento) entre animales silvestres y domésticos (Dubey et al.1989, Aiello y Mays 2000, Gondim et al. 2004b, Moré et al. 2009).

La transmisión venérea también puede ser posible, como lo ha demostrado experimentalmente Serrano et al. (2006) a través de la inoculación de semen contaminado con taquizoítos. Así mismo se ha informado la detección de *N. caninum* en semen de toros infectados en forma natural aunque tenían una baja carga parasitaria, lo cual sugiere un riesgo de transmisión sexual (Ortega-Mora et al. 2006).

Los hospedadores definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos (placenta, restos de fetos abortados y descargas uterinas) de los hospedadores intermediarios que contienen quistes tisulares (Dijkstra et al. 2002) o bien pueden infectarse congénitamente, siendo en estos casos donde la enfermedad se manifiesta más severamente.

Los hospedadores intermediarios se pueden contagiar con *N. caninum* al consumir agua y/o alimento contaminado con ooquistes (Figura 1).

En el ser humano se han detectado anticuerpos contra *N. caninum*, pudiendo ser la vía de contagio a través del agua o de alimentos contaminados (Tranas et al. 1999).



Figura 1: Ciclo de *N. caninum*.

1.2- Resistencia

Se ha observado experimentalmente en homogeneizados de cerebro de ratones, que los bradizoítos que se encuentran dentro de los quistes tisulares siguen siendo infectivos después de 14 días a 4°C y, solo son viables un día cuando son refrigerados a -20°C. Los bradizoítos son resistentes a la acción del ácido clorhídrico y a la pepsina (Lindsay et al. 1992).

1.3- Síntomas

El principal síntoma que presentan los perros infectados con *N. caninum* es parálisis de miembros, particularmente de las extremidades traseras; en algunos perros solo se

observan signos nerviosos, dermatitis ulcerativas, hepatitis, neumonía y encefalitis (Aiello y Mays 2000).

En el ganado vacuno *N. caninum* causa abortos (el feto puede morir en el útero, ser reabsorbido, momificado, autolizado o nacer prematuramente) desde el tercer mes hasta el final de la gestación, aunque es más frecuente entre el quinto y sexto mes (Anderson et al. 1991), o el nacimiento de un ternero congénitamente infectado, que puede mostrar signos clínicos o nacer clínicamente normal, pero crónicamente enfermo (Dubey 2003, Moore et al. 2005).

Los terneros, cuando nacen vivos, pueden presentar bajo peso, debilidad y parálisis (Aiello y Mays 2000).

Las lesiones más características de los fetos son encefalitis focal e inflamación no supurativa, presencia de múltiples focos de microgliosis y necrosis localizadas en la sustancia gris del sistema nervioso central, siendo la hepatitis más común en epizootias de abortos esporádicos (Barr et al. 1991, Lertora et al. 2010).

En animales silvestres como antílopes, ciervos damas, ciervos de Eld o tamín se han observado principalmente encefalitis no supurativa y en *Axis axis* o ciervo moteado, se ha detectado la presencia de gliosis, encefalitis no supurativa, bronconeumonía supurativa, enteritis y cambios degenerativos en el hígado (Basso et al. 2014).

En los humanos el potencial zoonótico es incierto ya que el parásito no se ha detectado en los tejidos, pero si la presencia de anticuerpos (Dubey et al. 2007).

1.4- Neosporosis en animales no Xenartros en la Argentina

La neosporosis en Argentina ha sido investigada en animales domésticos, principalmente en aquellos que presentaron alguna sintomatología contra la enfermedad, como la presencia de abortos; cabe mencionar los trabajos realizados por Venturini et al. (1995, 1999), Campero et al. (1998), Moore et al. (2002a, 2003a, 2008), Luna et al. (2003) y Lertora et al. (2010), con valores de anticuerpos que oscilaron entre 4,5% hasta 89%.

También se investigó la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en animales domésticos que no habían presentado sintomatología de abortos; por ejemplo Moore et al. (2003b, 2007, 2009), Moré et al. (2008a, 2008b, 2009), Marín (2009) y Fort et al. (2015) en donde los valores hallados oscilaron entre 4,9% y 73%.

En animales silvestres se han detectado anticuerpos contra *N. caninum* en cérvidos, carnívoros, camellos, jabalíes, búfalos, roedores y mamíferos marinos en distintos países

del mundo (Dubey et al. 2007). Los estudios realizados en Argentina se resumen en Tabla 1.

En la provincia de La Pampa, Baldone y colaboradores (2009) hallaron anticuerpos contra *N. caninum* en *Lepus europaeus* y Fuchs et al. (2007) en *Lycalopex gymnocercus* (Tabla 1).

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *N. caninum* en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n	%	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Cervus elaphus</i>	92	7	7,6	Microaglutinación	Coronel Suarez, Bs. As.	Moore et al. (2002b)
<i>Lycalopex culpaeus</i>	28	17	60,7	IFAT	Santa Cruz	Martino y col. (2004)
<i>L. griseus</i>	56	20	35,7		Corrientes, Chaco y Formosa	Crudeli et al. (2007)
<i>Bubalus bubalis</i>	1024	665	64,9		Corrientes	Campero y col. (2007)
	449	287	64		Corrientes, Chaco y Formosa	Konrad et al. (2013)
	500	211	42,2			
<i>L. gymnocercus</i>	41	4	9,8	ELISA-c	La Pampa	Fuchs et al. (2007)
<i>Lepus europaeus</i>	44	5	7,6	ELISA-c	La Pampa	Baldone et al. (2009)
<i>Axis axis</i>	4	4	100	IFAT PCR	Zoológico de La Plata (Arg.)	Basso et al. (2014)

1.5-Neosporosis en Xenartros

No hay estudios realizados sobre la presencia de *N. caninum* en Xenartros hasta la presente tesis.

El objetivo general de este capítulo es determinar si *C. villosus* está expuesto a *N. caninum* y, de estarlo, cuál es su prevalencia.

2.- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados así como el área de estudio se indicó en el capítulo 1.

Para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos frente a taquizoítos de *N. caninum* se utilizó el test de enzimoimmunoensayo (ELISA-i) indirecto (Civtest Bovis neospora del Laboratorio Hipra S.A. España) modificado, usando como solución de conjugado Proteína G (Lote 089K 1697 de USA, Lab. SIGMA). La lectura de la placa se realizó con un lector de placas (Stat Fax 2100 de Technology Inc. Awareness, Figura 2) de

micro-titulación entre 405 y 592 nm. Se estableció como sueros positivos aquellos que presentaban un Índice Relativo (IRPC) igual o mayor a 30, comparado con un suero de referencia positivo.



Figura 2: Lector de placas de micro-titulación.

Para cada muestra de suero se obtuvo el IRPC, aplicando la siguiente fórmula (Sánchez-Vizcaíno y Cambra Álvarez 1987).

$$\text{IRPC} = \frac{\text{DO muestra} - \text{Media DO Control Negativo}}{\text{Media DO Control Positivo} - \text{Media DO Control Negativo}} \times 100 =$$

En 30 ejemplares se realizaron cortes histológicos de sistema nervioso central (cerebro y cerebelo, teñidos con Hematoxilina y Eosina), en busca de lesiones compatibles con *N. caninum*.

Se realizó Western Blot como técnica confirmatoria, usando como conjugado Proteína G diluída 1:500 en PBS 1X y dilución de los sueros de armadillos 1/10, en solución de bloqueo.

Para la interpretación de los resultados se aplicó el criterio utilizado para la detección de anticuerpos anti- *N. caninum* en sueros bovinos, donde se registran las reacciones hacia 5 antígenos (IDAs o antígeno inmunodominante) con pesos moleculares relativos de 17-19, 29, 30, 33 y 37 kDa (kiloDalton). La interpretación de estos resultados es:

- reconocimiento de 2 o más IDAs: positivo
- reconocimiento de 1 IDA: sospechoso
- sin reconocimiento de IDA: negativo

2.1-Infección experimental

Un ejemplar macho adulto de *C. villosus* fue utilizado para la inoculación experimental con taquizoítos de *N. caninum*, el mismo se encontraba alojado en un recinto con agua y alimento *ad libitum*.

El individuo fue inoculado con 2×10^8 taquizoítos de *N. caninum* a través de la vena caudal (0,2 ml). Previamente a la inoculación se le había tomado una muestra de sangre para corroborar que el mismo fuera negativo a *N. caninum*.

3- RESULTADOS

Se detectó la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* en 32% (48/150; IC_{95%}: 24,4-39,6) de los *C. villosus* estudiados. De las 48 muestras de suero que resultaron positivas mediante ELISA, 27 correspondieron a hembras y 21 a machos. El valor medio de IRPC fue 62,03 (rango 30,38-176,59). Treinta y cuatro muestras registraron valores de IRPC entre 30 y 60 y 14 muestras, entre 60 y 176,59. Los 102 sueros que resultaron negativos registraron valores de IRPC inferiores a 30, con un valor medio de 12,77 (rango -7,41 a 29,86; Figura 3), correspondiendo a 53 hembras y 49 machos.

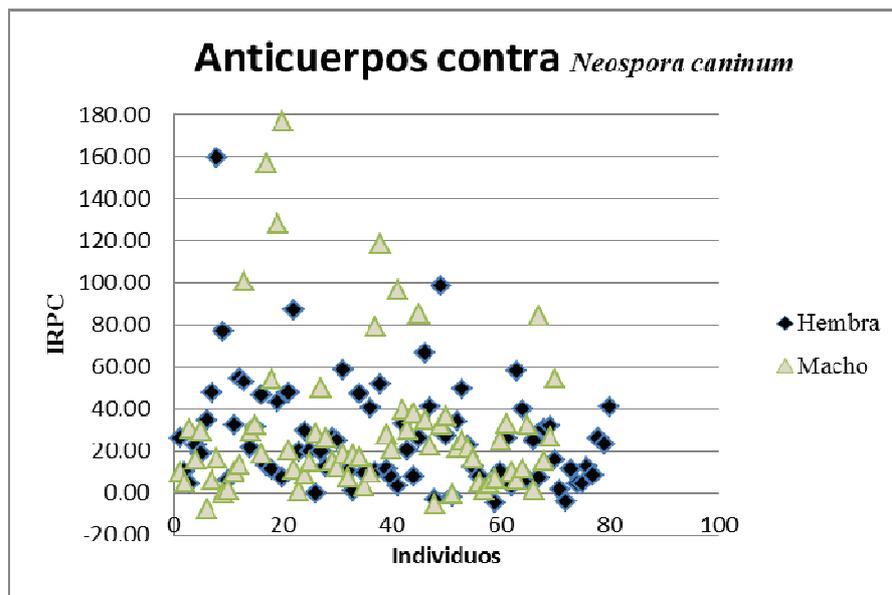


Figura 3: Valores de IRPC de *N. caninum* (Nc), según el sexo de los *C. villosus* (Cv.) muestreados.

En todos los sitios de captura hubo algún *C. villosus* positivo a *N. caninum*, con excepción del sitio D2. La prevalencia en los sitios con serología positiva varió entre 20% y 62,5% (Tabla 2).

Tabla 2: Presencia de anticuerpos a *N. caninum* (Nc) según los distintos sitios de captura, en *C. villosus* (Cv.) en la provincia de La Pampa.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a Nc	17	4	10	13	22	4	3	3	2	6	15	3
Cv. pos. a Nc.	8	4	6	3	7	1	1	5	0	2	10	1
Total Cv.	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%)	32	50	37,5	18,7	24,1	20	25	62,5	0	25	40	25

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados, 30% (21) fueron positivos a *N. caninum*, IC_{95%}: 19-41 y de las 80/150 hembras, 33,75% (27) fueron positivas, IC_{95%}: 23,2-44,3. El sexo de los *C. villosus* no influye en la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* (p=0,623; IC: 24,6-39,4; OR: 1,189; Figura 4).

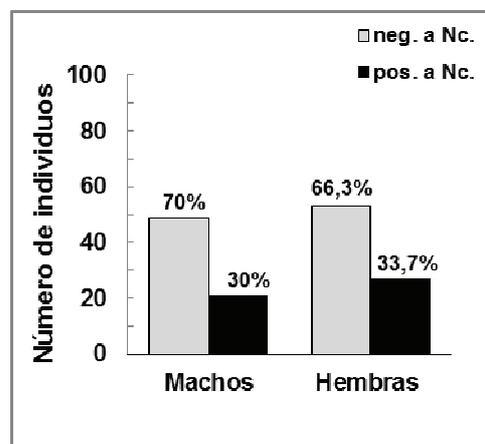


Figura 4: Presencia de anticuerpos a *N. caninum* (Nc.) según el sexo en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, 17,4% (4) fueron positivos a *N. caninum*, en tanto que de los 127 adultos, 34,6% (44) fueron positivos. La edad de los *C. villosus* no influye en la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* (p=0,103; OR: 2,518; Figura 5).

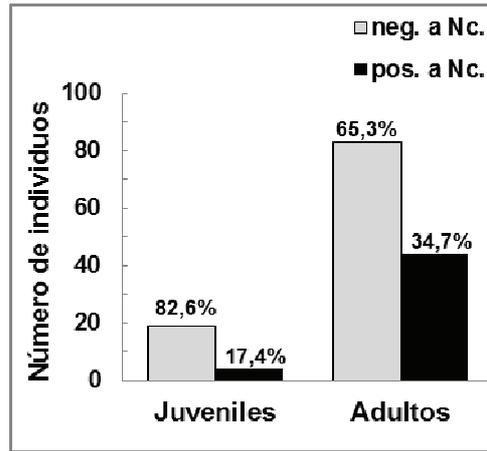


Figura 5: Presencia de anticuerpos a *N. caninum* (Nc) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se halló 33% (35/106) *C. villosus* positivos a *N. caninum* y en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se hallaron 13/44 *C. villosus* positivos, siendo la prevalencia 29,5%. De los 48 *C. villosus* positivos a *N. caninum*, 27,1% (13) correspondieron a sitios de captura con presencia de tambo. La presencia o no de tambo en los sitios de captura no influye en la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* ($p=0,678$; OR: 0,851; Figura 6).

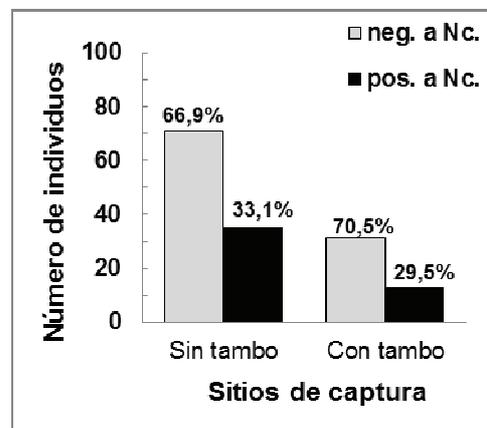


Figura 6: Presencia de anticuerpos a *N. caninum* (Nc) según presencia o no de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de cerdo (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se halló 34,1% (45/132) de los *C. villosus* positivos a *N. caninum*; en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) se halló 16,7% (3/18). De los 48 *C. villosus* positivos a *N. caninum* 6,3% (3) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. La

presencia o no de cerdos en los sitios de captura no influye en la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* ($p=0,137$; OR: 0,387; Figura 7).

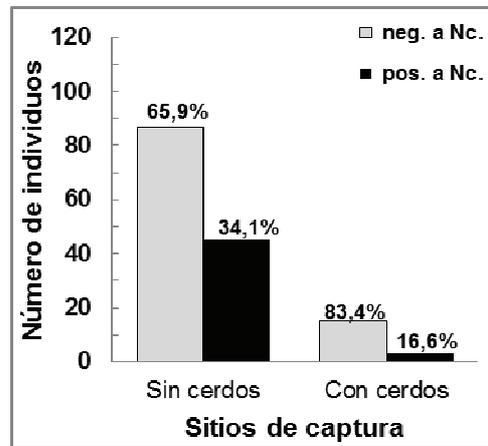


Figura 7: Presencia de anticuerpos a *N. caninum* (Nc) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 32,8% (19/58) de los *C. villosus* positivos a *N. caninum*, mientras que en sitios con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 31,5% (29/92). De los 48 *C. villosus* positivos a *N. caninum* el 60,4% (29) correspondieron a sitios de captura con presencia de ovinos. La presencia o no de ovinos en los sitios de captura no influye en la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* ($p=0,874$; OR: 0,945; Figura 8).

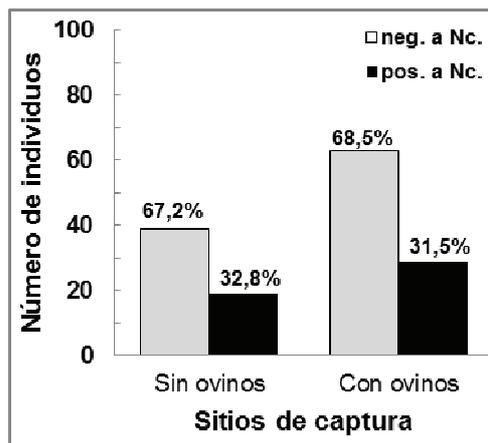


Figura 8: Presencia de anticuerpos a *N. caninum* (Nc) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 37,7% (20/53) de los *C. villosus* positivos a *N. caninum*, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 28,9% (28/97). De

los 48 *C. villosus* positivos a *N. caninum* 58,3% (28) correspondieron a sitios de captura con presencia de aves de corral. La presencia o no de aves de corral en los sitios de captura no influye en la existencia de anticuerpos contra *N. caninum* ($p=0,266$; OR: 0,670; Figura 9).

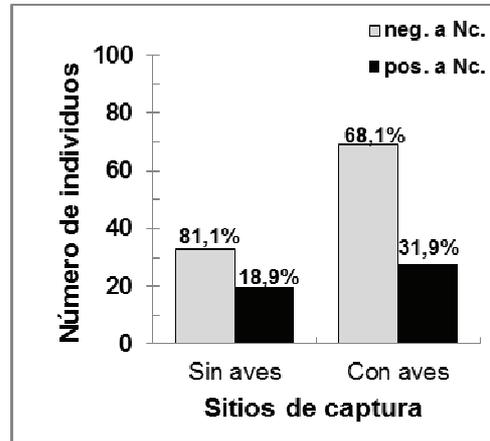


Figura 9: Existencia de anticuerpos a *N. caninum* (Nc) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en de La Pampa.

Se realizaron cortes histológicos de cerebro y cerebelo en 30 individuos (15 negativos y 15 positivos a *N. caninum*). En una de las muestras se encontraron lesiones compatibles con *N. caninum* (gliosis focal, figura 10a y b), pero al realizársele inmunohistoquímica para su confirmación, ésta fue negativa. Dicha lesión podría ser causada por el protozoo, *Toxoplasma gondii* (OIE 2008), para el cual fue positivo serológicamente, en tanto que era negativo para *N. caninum*.

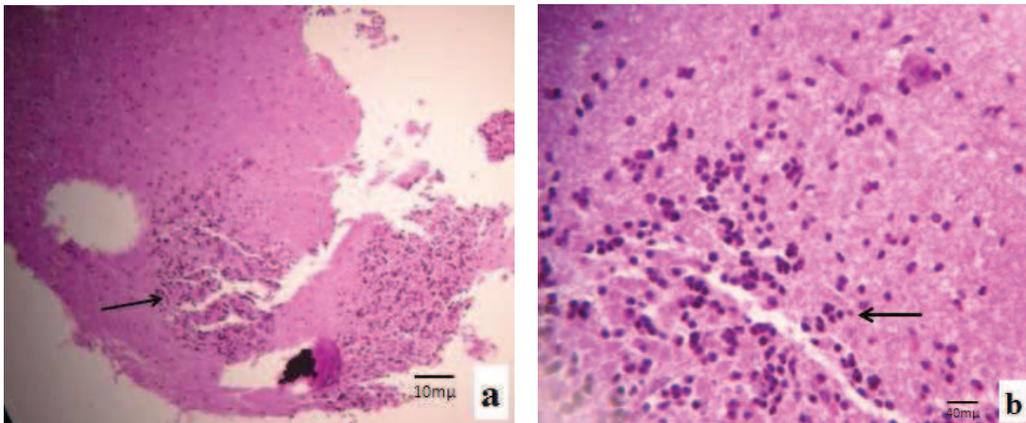


Figura 10: Cerebelo con gliosis focal (→) (a; 10µm; b 40µm).

3.1- Infección experimental

El macho de *C. villosus* que había sido inoculado con *N. caninum* (M 953), se infectó. El suero de ese ejemplar fue utilizado como control positivo cuando se realizó la técnica de Western Blot (WB) para la determinación de los 53 sueros. A los 12 días pos-inoculación presentaba título de IRPC relativamente elevado (76,8) marcando una banda inmunoreactiva característica de *N. caninum* mediante WB (37 kDa), alcanzando un título máximo de IRPC a los 19 días pos-inoculación, marcando mediante WB dos bandas reactivas, para descender un poco el valor de IRPC a los 38 días, volviendo nuevamente a registrar un aumento a los 50 días pos-inoculación, momento en donde se registró la presencia de 5 bandas inmunoreactivas características de *N. caninum*, volviendo a descender bruscamente el valor de IRPC a 35, a los 97 días pos-inoculación, al igual que las bandas inmunoreactivas (29 y 37 kDa, Figura 11), negativizando a los 130 posinoculación, para registrar nuevamente un aumento a los 157 y 188 días posinoculación.

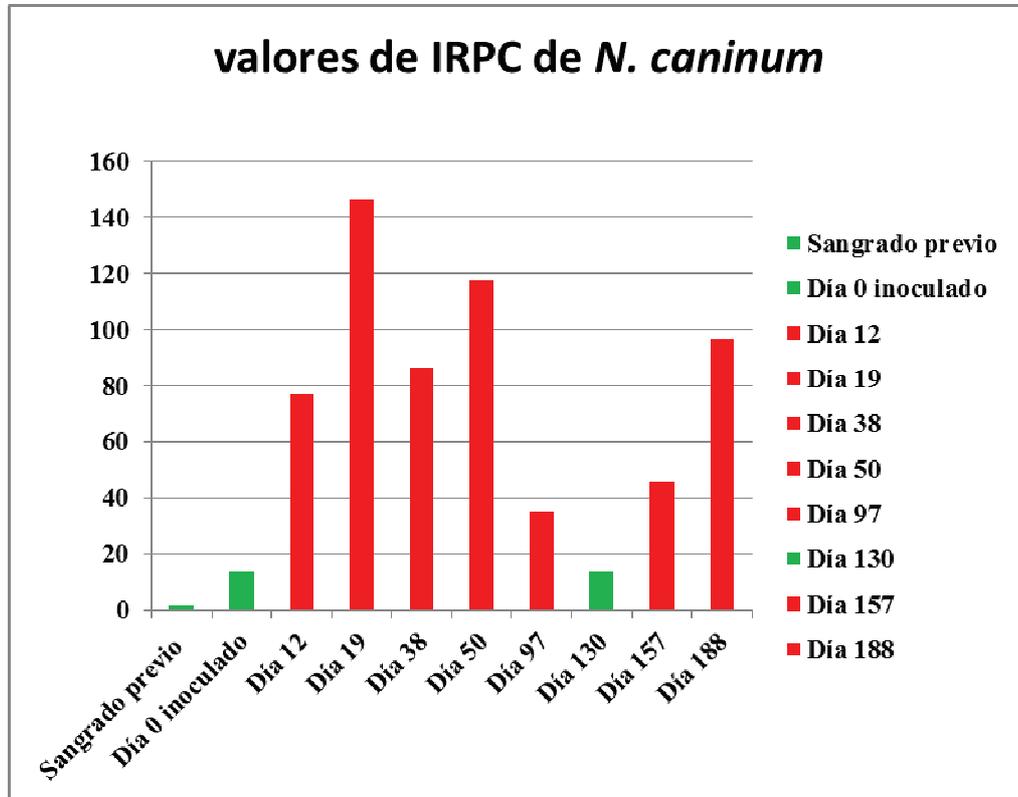


Figura 11: Valores de IRPC de la muestra de sueros de *C. villosus* inoculado con *N. caninum* según los días de sangrado (test ELISA-i). En verde valores de IRPC negativos y en rojo los positivos.

4- DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran que *C. villosus* se encuentra expuesto al protozoo *N. caninum*, constituyendo éste el primer registro de anticuerpos contra *N. caninum* en *C. villosus* y en *Xenarthra*.

La prevalencia observada en los *C. villosus* sugiere una contaminación frecuente, lo cual podría estar indicando que los mismos son partícipes comunes en el ciclo de *N. caninum* y, por ende, podrían ser una fuente de infección para otros animales y el hombre.

En los *C. villosus* positivos a *N. caninum* no se observaron en el sistema nervioso lesiones compatibles con la enfermedad como las descritas por Lertora et al. (2010), en fetos bovinos infectados con el protozoo. La presencia de gliosis focal en un individuo no se correspondería a *N. caninum*, debido a que el mismo era negativo a *N. caninum* por serología y por inmunohistoquímica.

La prevalencia a *N. caninum* hallada en esta tesis para *C. villosus* (32%), es menor a la registrada en Santa Cruz para *Lycalopex culpaeus* (*Dusicyon*), la cual fue de 60,7% y en *L. griseus* (*Dusicyon*) del 35,7% (Martino et al. 2004); esos registros más altos en zorros podrían deberse a una mayor presencia del parásito en sus alimentos.

Por el contrario, la prevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* hallada en esta tesis para *C. villosus*, resultó ser más elevada que las registradas para *L. gymnocercus* (9,8%; 4/41, Fuchs et al. 2007), *Lepus europaeus* (11,44%; 5/44, Baldone et al. 2009) y ganado bovino (9,6%; 302/4334, Fort 2003, Fort et al. 2015) también en La Pampa, lo que podría deberse a que los armadillos están ingiriendo alimento más contaminado o bien están más expuestos a adquirir la enfermedad.

Dubey et al. (2007) postula que el ciclo de vida de *N. caninum* sería similar al ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*, estimándose que los ooquistes de *N. caninum* podrían, de manera similar a los de *T. gondii*, ser muy resistentes a los factores ambientales. Lo mismo ocurre con los quistes tisulares en los cuales no se conoce cuanto es el tiempo en el cual permanecen viables en los animales. Lo que sí se sabe es que, en forma experimental, los bradizoítos que se encuentran dentro de los quistes tisulares siguen siendo infectivos después de 14 días a 4°C y, además, los bradizoítos son resistentes a la acción del ácido clorhídrico y a la pepsina (Lindsay et al. 1992) con lo cual, si un animal ingiere alimentos con quistes tisulares conteniendo bradizoítos, éstos podrían ser liberados dentro del sistema digestivo y, de esta manera, infectar a ese animal.

Debido al desconocimiento del ciclo de vida completo de *N. caninum*, surge la necesidad de realizar futuros estudios para poder dilucidar cómo se comportan los ooquistes y los quistes tisulares en el medio ambiente y en los mamíferos, en particular en *C. villosus*. Deberán también realizarse nuevos estudios para poder determinar que ocurre con estos armadillos en la naturaleza y experimentalmente; en este aspecto, fueron llamativos nuestros resultados en el ejemplar inoculado experimentalmente, en donde los valores de ELISA durante el experimento presentaron variaciones en los valores de IRPC en el transcurso de los días, llegando a un valor máximo de IRPC, para luego bajar y posteriormente volver a subir y luego nuevamente volver a bajar, y posteriormente volver a subir.

Del mismo modo, las fluctuaciones observadas con los bandas de IDAs (primero una fracción de proteína de 37 kDa, luego una segunda fracción, y después 5 fracciones, coincidente con el segundo pico de IRPC, para luego volver a marcar dos bandas de 29 y 37 kDa) no pueden explicarse. Las bandas de antígenos de 29 y 30 kDa se asocian con los gránulos densos y con la membrana de la vacuola del taquizoíto (Bjerkås et al. 1994). Según estos autores, en bovinos infectados experimentalmente los antígenos 29 y 30 kDa muestran una unión débil y los bovinos no manifiestan signos clínicos de la enfermedad (el parásito estaría en un estado de latencia no proliferativa en forma de quistes tisulares). Mientras que los antígenos inmunorreactivos que marcan la banda de 37 kDa persistirían por más tiempo, después de la infección o bien estos son producidos por el parásito en la fase de latencia.

Los antígenos de las proteínas inmunorreactivas de peso molecular 17, 29, 30 y 37 kDa son útiles como antígenos para el diagnóstico de la infección de *N. caninum* en bovinos y en una variedad de especies animales (Bjerkås et al. 1994; Dubey y Lindsay 1996). Como se indicó en resultados, en esta tesis observamos para *C. villosus* bandas de 29, 20 a 30, 33, 37 y 45 kDa, tanto en forma experimental como naturalmente infectados, siendo los antígenos 29 y 37 kDa y los de 45kDa los que se expresaron con mayor frecuencia.

Merece destacarse que las vacas infectadas naturalmente pueden presentar títulos de anticuerpos fluctuantes como respuesta a los cambios que ocurren durante la preñez, e incluso los títulos de los anticuerpos pueden caer por debajo de los límites de detección de algunas de las pruebas utilizadas para la detección de la enfermedad (Conrad et al. 1993b). Esta disminución podría estar asociada a una disminución en la estimulación antigénica una vez que el parásito se ha enquistado en los tejidos (Bjerkås et al. 1994). Rodrigues et

al. (2005) también observaron en terneros de búfalos de agua infectados experimentalmente un aumento en los títulos de anticuerpos hasta los dos meses posinoculación, y a partir de allí los títulos fueron bajando e incluso en algunos de los individuos infectados negativizaron a los 4, 6, 7 y 8 meses de edad, e incluso estos individuos se mantuvieron negativos a lo largo del resto de la experiencia (un año). En *C. villosus* se deberá estudiar con mayor profundidad, para poder explicar esa variación.

5- CONCLUSIÓN

- Se obtuvo el primer registro de anticuerpos a *N. caninum* en *Xenarthra* y, en particular, en *C. villosus*.
- Se confirmó la hipótesis que los *C. villosus* están expuestos a *N. caninum* en La Pampa.
- Un armadillo inoculado experimentalmente con taquizoitos de *N. caninum* se infectó.
- El sexo o la edad de los armadillos no influye en la posibilidad de contraer *N. caninum*, como así tampoco la presencia o no de tambos, cerdos, ovinos o aves de corral en el sitio de muestreo.
- Estos resultados constituyen un aporte relevante para ampliar el nulo conocimiento sobre el rol de *N. caninum* en las poblaciones de Xenartros silvestres.
- Futuras investigaciones deberán llevarse a cabo para poder determinar si *C. villosus* es un hospedador definitivo de *Neospora caninum*, y para explicar las fluctuaciones observadas en los valores de anticuerpos específicos contra *N. caninum*.

6- BIBLIOGRAFÍA

- Aiello SE.; Mays A. (eds.). 2000. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Pg. 2558.
- Almería S. 2013. *Neospora caninum* and wildlife. ISRN Parasitology 1-23. <http://dx.doi.org/10.5402/2013/947347>

- Anderson ML.; Blanchard PC.; Barr BC.; Dubey JP.; Hoffman RL.; Conrad PA. 1991. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 198:241-244.
- Baldone VN.; Fuchs LI; Rojas MC.; Fort MC.; Venturini C.; Giménez HD. 2009. Neosporosis y toxoplasmosis en la liebre europea (*Lepus europaeus*) en la provincia de La Pampa (Argentina). Acta Bioquím. Clín. Latinoam. 43(4):633-639.
- Barr BC.; Anderson ML.; Dubey JP.; Conrad PA. 1991. *Neospora*-like protozoal infections associated with bovine abortions. Vet. Pathol. 28:110-116.
- Barr BC.; Rowe JD.; Sverlow KW.; BonDurant RH.; Ardans AA.; Oliver MN.; Conrad PA. 1994. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. J. Vet. Diagn. Invest. 6:207-215.
- Basso W.; Venturini L.; Venturini MC.; Hill DE.; Kwok OCH.; Shen SK.; Dubey JP. 2001a. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. J. Parasitol. 87(3):612-618.
- Basso W.; Venturini L.; Venturini MC.; Moore P.; Rambeau M.; Unzaga JM.; Campero C.; Bacigalupe D.; Dubey JP. 2001b. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. J. Parasitol. 87(4):906-907.
- Basso W.; Venturini MC.; Bacigalupe D.; Kienast M.; Unzaga JM.; Larsen A.; Machuca M.; Venturini L. 2005. Confirmed clinical *Neospora caninum* infection in a boxer puppy from Argentina. Vet. Parasitol. 131:299-303.
- Basso W.; Moré G.; Quiroga MA.; Balducchi D.; Schares G.; Venturini MC. 2014. *Neospora caninum* is a cause of perinatal mortality in axis deer (*Axis axis*). Vet. Parasitol. 199(3-4):255-258.
- Bjerkås I.; Mohn SF.; Presthus J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z. Parasitenk. 70:271-274.
- Bjerkås TI.; Jenkins MC.; Dubey JP. 1994. Identification and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. Clin. Diagn. Lab. Immun. 1(2):214-221.
- Buxton D.; Maley SW.; Pastoret PP.; Brochier B.; Innes EA. 1997. Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. Vet. Record 141:308-309.

- Campero CM.; Anderson ML.; Conosciuto G.; Odriozola H.; Bretschneider G.; Poso MA. 1998. *Neospora caninum* associated abortion in a dairy herd in Argentina. Vet. Rec. 143:228-229.
- Campero CM.; Moore DP.; Odeón AC.; Cipolla AL.; Odriozola E. 2003. Aetiology of bovine abortion in Argentina. Vet. Res. Commun. 27:359-369.
- Campero CM.; Pérez A.; Moore DP.; Crudeli G.; Benitez D.; Draghi MG.; Cano D.; Konrad JL.; Odeón AC. 2007. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) on four ranches in Corrientes province, Argentina. Vet. Parasitol. 150:155-158.
- Conrad PA.; Barr BC.; Sverlow KW.; Anderson M.; Daft B.; Kinde H.; Dubey JP.; Munson L.; Ardans A. 1993a. In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. Parasitol. 106:239-249.
- Conrad PA.; Sverlow K.; Anderson M. Rowe J.; BonDurant R.; Tuter G.; Breitmeyer R.; Palmer C.; Thurmond M.; Ardans A.; Dubey J.; Duhamel G.; Barr B. 1993b. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. J. Vet. Diagn. Invest. 5:572-578.
- Crudeli G.; Campero CM.; Moore DP.; Benitez D.; Draghi G.; Polich D.; Konrad J.; Cano D.; Leunda MR.; Arzeno M.; Odeón A. 2007. High prevalence of *Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in ranches of Corrientes, Chaco and Formosa provinces, Argentina. Ital. J. Anim. Sci. 6(2):945-947.
- Dijkstra TH.; Barkema HW.; Eysker M.; Hesselink JW.; Wouda W. 2002. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. Vet. Parasitol. 105(2):99-104.
- Dubey JP.; Carpenter JL.; Speer CA.; Topper MJ.; Uggla A. 1988a. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 192:1269-1285.
- Dubey JP.; Hattel AL.; Lindsay DS.; Topper MJ. 1988b. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experiment transmission. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193:1259-1263.
- Dubey JP.; Leathers CW.; Lindsay DS. 1989. *Neospora caninum*-like protozoon associated with fatal myelitis in newborn calves. J. Parasitol. 75:146-148.
- Dubey JP.; Lindsay DS. 1990. *Neospora caninum* induced abortion in shepp. J. Vet. Diagn. Investig. 2:230-233.
- Dubey JP.; Miller S.; Lindsay DS.; Topper MJ. 1990. *Neospora caninum* associated myocarditis and encephalitis in an aborted calf. J. Vet. Diagn. Invest. 2:66-69.

- Dubey JP.; Lindsay DS. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 67:1-59.
- Dubey JP. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 84:349-367.
- Dubey JP.; Hollis K.; Romand S.; Thulliez P.; Kwok OCH.; Hungerford L.; Anchor C.; Etter D. 1999. High prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Int. J. Parasitol.* 29:1709-1711.
- Dubey JP.; Barr BC.; Barta JR.; Bjerkås I.; Björkman C.; Blagburn BL.; Bowman DD.; Buxton D.; Ellis JT.; Gottstein B.; Hemphill A.; Hill DE.; Howe DK.; Jenkins MC.; Kobayashi Y.; Koudela B.; Marsh AE.; Mattsson JG.; McAllister MM.; Modrý D.; Omata Y.; Sibley LD.; Speer CA.; Trees AJ.; Uggla A.; Upton SJ.; Williams DJL.; Lindsay DS. 2002. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. *Int. J. Parasitol.* 32:929-946.
- Dubey JP. 2003. Review of *Neospora caninum* and Neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.* 41(1):1-16.
- Dubey JP.; Schares G.; Ortega-Mora LM. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20:323-367.
- Dubey JP.; Jenkins MC.; Rajendran C.; Miska K.; Ferreira LR.; Martins J.; Kwok OCH.; Choudhary S. 2011. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.* 181(2-4):382-387.
- Dubey JP.; Jenkins MC.; Ferreira LR.; Choudhary S.; Verma SK.; Kwok OCH.; Fetterer R.; Butler E.; Carstensen M. 2014. Isolation of viable *Neospora caninum* from brains of wild gray wolves (*Canis lupus*). *Vet. Parasitol.* 201:150-153.
- Fort MC. 2003. *Neospora caninum*: estudio seroepidemiológico en bovinos de la provincia de La Pampa. *INTA Bol. Div. Técnico* 52:1-43.
- Fort M.; Edelsten M.; Maley S.; Innes E. 2015. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* in beef and dairy cattle in La Pampa, Argentina. *Acta Parasitol.* 60(2):275-282.
- Fuchs LI.; Baldone VN.; Rojas MC.; Giménez HD.; Fort MC.; Bedotti DO.; Venturini C.; Kin MS. 2007. Prevalencia serológica a Toxoplasmosis y Neosporosis en el zorro gris pampeano (*Pseudalopex gymnocercus*) en La Pampa (Argentina). *Rev. Méd. Vet.* 88(4):149-152.
- Gondim LFP.; McAllister MM.; Pitt WC.; Zemlicka DE. 2004a. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive host of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 34:159-161.

- Gondim LF.; Mcallister MM.; Mateus-Pinilla NE.; Pitt WC.; Mech LD.; Nelson ME. 2004b. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. J. Parasitol. 90(6):1361-1365.
- Innes EA.; Andrianarivo AG.; Björkman C.; Williams DJL.; Conrad PA. 2002. Immune response to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. Trends. Parasitol. 18:497-504.
- King JS.; Slapeta J.; Jenkins DJ.; Al-Qassab SE.; Ellis JT.; Windsor PA. 2010. Australian dingoes are definitive host of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 40:945-950.
- Konrad JL.; Campero LM.; Caspe GS.; Brihuega B.; Draghi G.; Moore DP.; Crudeli GA.; Venturini MC.; Campero CM. 2013. Detection of antibodies against *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., and Apicomplexa protozoa in water buffaloes in the Northeast of Argentina. Trop. Anim. Health Prod. 45(8):1751-1756.
- Lertora WJ.; Mohr BN.; Mosqueda MG.; Sánchez Negrette M. 2010. Detección de *Neospora caninum* en fetos bovino abortados espontáneamente en el nordeste argentino. InVet. 12(2):173-182.
- Lindsay DS.; Blagburn BL.; Dubey JP. 1992. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. J. Parasitol. 78:70-72.
- Lindsay DS.; Kelly EJ.; McKown RD.; Stein FJ.; Plozer J.; Herman J.; Blagburn BL.; Dubey JP. 1996. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. J. Parasitol. 82(4):657-659.
- Lindsay D.; Dubey JP.; Duncan R. 1999. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 28:327-333.
- Lindsay D.; Ritter D.; Brake D. 2001. Oocyst excretion in dogs fed mouse brains containing tissue cysts of a cloned line of *Neospora caninum*. J. Parasitol. 87:909-911.
- Luna F.; Cruz MM.; Conigliario S. 2003. Casuística del laboratorio. Prevalencia de neosporosis bovina en Argentina. Centro Diagnóstico Veterinario S.A. Boletín 18. Laboratorio acreditado por la red de SENASA. <http://www.cdvs.com.ar/pdf/boletin18.pdf>
- Mainar-Jaime R.; Thurmond M.; Berzal-Herranz B.; Hietala S. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. Vet. Rec. 145:72-75.
- Marín RE. 2009. Prevalencia sanitaria en llamas (*Lama glama*) de la provincia de Jujuy, Argentina. Proyecto FAO N° 2552/07. Vet. Arg. 1-26.

- Martino P.; Montenegro J.; Preziosi J.; Venturini C.; Bacigalupe D.; Stanchi NO.; Bautista EL. 2004. Serological survey of selected pathogens of free ranging foxes in, southern Argentina, 1998-2001. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 23:801-806.
- McAllister MM.; Dubey JP.; Lindsay D.; Jolley WR.; Wills RA.; McGuire AM. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 28:1473-1478.
- Moore DP.; Campero CM.; Odeón AC.; Posso MA.; Cano D.; Leunda MR.; Basso W.; Venturini MC.; Späth E. 2002a. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet. Parasitol.* 107:303-316.
- Moore DP.; Soler JP.; Cano O.; Leunda MR.; Odeón AC. Paolicchi FA.; Campero CM. 2002b. Evaluación de anticuerpos anti-*Neospora caninum* en ciervos colorados (*Cervus elaphus*). XIVa. Memorias de la Reunión Anual de la AAVLD. Villa Gral. Belgrano, Sierras de Córdoba. www.producción-animal.com.ar Producción de ciervos. Pg.1-2.
- Moore DP.; Campero CM.; Odeón AC.; Chayer R.; Bianco MA. 2003a. Reproductive losses due to *Neospora caninum* in a beef herd in Argentina. *J. Vet. Med. B.* 50:304-308.
- Moore DP.; Draghi MG.; Campero CM.; Cetrá B.; Odeón AC.; Alcaraz E.; Späth EAJ. 2003b. Serological evidence of *Neospora caninum* infections in beef bulls in six counties of the Corrientes province, Argentina. *Vet. Parasitol.* 114:247-252.
- Moore DP.; Odeón AC.; Venturini MC.; Campero CM. 2005. Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Rev. Argent. Microbiol.* 37:217-228.
- Moore DP.; G. de Yaniz M.; Odeón AC.; Cano D.; Leunda MR.; Späth EAJ.; Campero CM. 2007. Serological evidence of *Neospora caninum* infections in goats from La Rioja Province, Argentina. *Small Ruminant Res.* 73:256-258.
- Moore DP.; Regidor-Cerrillo J.; Morrell E.; Poso MA.; Cano DB.; Leunda MR.; Linschinky L.; Odeón AC.; Odriozola E.; Ortega-Mora LM.; Campero CM. 2008. The role of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spontaneous bovine abortion in Argentina. *Vet. Parasitol.* 156:163-167.
- Moore DP.; Pérez A.; Agliano S.; Brace M.; Cantón G.; Cano D.; Leunda MR.; Odeón AC.; Odriozola E.; Campero CM. 2009. Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina. *Vet. Parasitol.* 161:122-125.
- Moré G.; Basso W.; Bacigalupe D.; Venturini MC.; Venturini L. 2008a. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. *Parasitol. Res.* 102(4):671-675.

- Moré G.; Pardini L.; Basso W.; Marín R.; Bacigalupe D.; Auad G.; Venturini L.; Venturini M. C. 2008b. Seroprevalence of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* sp. in llamas (*Lama glama*) from Jujuy, Argentina. *Vet. Parasitol.* 155:158-160.
- Moré G.; Bacigalupe D.; Basso W.; Rambeaud M.; Beltrame F.; Ramirez B.; Venturini MC.; Venturini L. 2009. Frequency of horizontal and vertical transmission for *Sarcocystis cruzi* and *Neospora caninum* in dairy cattle. *Vet. Parasitol.* 160(1-2):51-54.
- OIE. 2008. Toxoplasmosis. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008. Cap. 2.9.10. Pg. 1400-1410. http://www.oie.int/fileadmin/home/esp/health_standards/tahm/2.09.10_toxoplasmosis.pdf
- Ortega-Mora LM.; Fernández-García A.; Gómez-Bautista M. 2006. Diagnosis of bovine neosporosis: Recent advances and perspectives. *Acta Parasitol.* 51(1):1-14.
- Rodrigues AAR.; Gennari SM.; Paula VSO.; Aguiar DM.; Fujii TU.; Starke-Buzeti W.; Machado RZ.; Dubey JP. 2005. Serological responses to *Neospora caninum* in experimentally and naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Vet. Parasitol.* 129: 21-24.
- Sánchez-Vizcaíno JM.; Cambra Álvarez M. 1987. Enzyme immunoassay techniques, ELISA, in animal and plant disease, Second Edition, technical Series vol. 7, Pg. 54.
- Serrano E.; Ferre I.; Osoro K.; Aduriz G.; Mateos-Sanz A.; Martínez A.; Atxaerandio R.; Hidalgo CO.; Ortega-Mora LM. 2006. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers. *Vet. Parasitol.* 135:197-203.
- Thilsted JP.; Dubey JP. 1989. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1:205-209.
- Tranas J.; Heinzen RA.; Weiss LM.; Mcallister MM. 1999. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. *Clin. Diagn. Lab. Immun.* 6(5):765-767.
- Trees AJ.; Guy F.; Low JC.; Roberts L.; Buxton D.; Dubey JP. 1994. Serological evidence implicating *Neospora* species as a cause of abortion in British cattle. *Vet. Rec.* 134:405-407.
- Venturini L.; Di Lorenzo C.; Venturini C.; Romero J. 1995. Anticuerpos anti-*Neospora* sp. in vacas que abortaron. *Vet. Arg.* 12(113):167-170.
- Venturini MC.; Venturini L.; Bacigalupe D.; Machuca M.; Echaide I.; Basso W.; Unzaga JM.; Di Lorenzo C.; Guglielmone A.; Jenkins MC.; Dubey JP. 1999. *Neospora*

- caninum* infections in bovine foetuses and dairy cows with abortions in Argentina. Int. J. Parasitol. 29:1705-1708.
- Vitaliano SN.; Silva DAO.; Mineo TWP.; Ferreira RA.; Bevilacqua E.; Mineo JR. 2004. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil. Vet. Parasitol. 122:253-260.
- Wapenaar W.; Jenkins MC.; O'Handley RM.; Barkema HW. 2006. *Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*). J. Parasitol. 92(6):1270-1274.
- Woods W.; Anderson ML.; Swift PK.; Sverlow KW. 1994. Systemic Neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus colombianus*). J. Vet. Diag. Invest. 6:508-510.

CAPÍTULO VIII: TOXOPLASMOSIS

1- INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una de las infecciones parasitarias zoonóticas de mayor difusión en la naturaleza. Es causada por un protozoo del Filum Apicomplexa (Vignau et al. 2005). Fue descrito por primera vez, en el año 1908 en Túnez (África), por Nicolle y Manceaux, quienes lo aislaron del hígado y bazo del roedor *Ctenodactylus gondii* y lo denominaron *Toxoplasma gondii* (Guarnera 1991).

T. gondii puede infectar tanto a animales silvestres como domésticos, además de encontrarse en el hombre. Se ha verificado su presencia en zorros, mapaches, zorrinos, felinos, osos, cérvidos, ungulados, marsupiales, monos, quirópteros y mamíferos marinos (Hill et al. 2005, Dubey y Jones 2008, Cabral et al. 2014, Profeta et al. 2015).

Los felinos son los hospedadores definitivos, y fue identificado en *Felis domesticus*, *Puma jaguaroundi*, *Leopardus pardalis*, *Puma concolor*, *Lynx rufus*, *Felis bengalensis*, *Leopardus geoffroyi*, *Panthera leo*, *Panthera tigris altaica* y *Panthera onca* (Dorny y Fransen 1989, Ferreira y Navarro 1994, Aiello y Mays 2000, Varela 2001, Acha y Szyfres 2003, Demar et al. 2008).

1.1- Ciclo biológico

En el intestino del hospedador definitivo el parásito pasa por cinco formas reproductivas asexuadas y una gametogonia, que termina con la formación de ooquistes; el período prepatente (tiempo que va desde la infección a la eliminación de ooquistes) difiere según el material infectante y varía de unos 3 a 5 días si son quistes tisulares, hasta 20 a 24 días si son ooquistes. El hospedador definitivo elimina ooquistes por un período breve de 1 a 2 semanas y al adquirir inmunidad cesa su producción (Acha y Szyfres 2003). En un gramo de materia fecal de un hospedador definitivo puede haber 1 millón de ooquistes y, durante el transcurso de patencia, puede eliminar hasta unos 600 millones de ooquistes (Basso y Venturini 2009).

Los ooquistes miden unas 10 μm por 12,4 μm (Dorny y Fransen 1989, Dubey et al. 1998, Grandía et al. 2013). En condiciones adecuadas de temperatura y humedad esporulan en 1 a 5 días y en su interior se forman dos esporocitos con cuatro esporozoítos cada uno,

que son las formas infectantes, los cuales pueden permanecer viables por períodos de hasta 4,5 años a 4°C o hasta 6 meses a 10-25 °C (Dubey y Beattie 1988, Grandía et al. 2013).

Los felinos, además de ser hospedadores definitivos con un ciclo sexual en el intestino, son también hospedadores intermediarios con un ciclo parasitario tisular, extraentérico y asexual, que ocurre en forma simultánea con la fase enteroepitelial. En cambio, todos los demás animales, incluido el hombre, son hospedadores intermediarios, en los que el parásito tiene un ciclo exclusivamente extraintestinal (Acha y Szyfres 2003, Basso y Venturini 2009, Grandía et al. 2013).

El ciclo extraintestinal se inicia cuando el hospedador intermediario ingiere un ooquiste esporulado o carne con quistes tisulares que contienen bradizoítos. En la lámina propia del intestino se desarrollan los taquizoítos, que por ruptura celular liberan las formas libres, las cuales proliferan rápidamente, siendo llevadas por los vasos linfáticos y la circulación venosa a los pulmones, desde donde pueden ser diseminadas por la circulación arterial. Estas formas libres desaparecen rápidamente, e invaden células nucleadas, principalmente del sistema muscular y nervioso (Aiello y Mays 2000).

Los taquizoítos son de formas semilunares y miden de 4 a 8 μm por 2 a 4 μm de diámetro. Son de multiplicación rápida, a diferencia de los bradizoítos (7 por 1,5 μm) cuya multiplicación es lenta. Los taquizoítos se multiplican por endodiogenia (división binaria) y endopoligenia (división múltiple), formando pseudoquistes. Cuando los pseudoquistes se rompen se liberan los taquizoítos, pudiendo así infectar a otras células (Dubey et al. 1998, Aiello y Mays 2000, Dubey y Jones 2008).

Los quistes tisulares miden de unos 50 a 150 μm de diámetro y están rodeados de una pared que engloba a cientos de bradizoítos. Los quistes pueden observarse en las células del sistema nervioso central, coriorretina y músculos (diafragma y miocardio) una o dos semanas después de la infección (Aiello y Mays 2000, Acha y Szyfres 2003).

La infección puede adquirirse por la ingesta de carne cruda o mal cocida que contenga quistes tisulares o por la ingestión de ooquistes infectivos en el agua de bebida o en los alimentos contaminados con heces de un hospedador definitivo, por vía transplacentaria o por transmisión sexual, como lo sugiere la infección experimental en *Bos taurus* y *Bos indicus* (Benenson 1977, Hill y Dubey 2002, Dubey 2009, Scarpelli et al. 2009). En los humanos, también puede ocurrir a través de transfusiones de sangre o mediante el trasplante de órganos (Dubey y Jones 2008). De esta manera se reinicia el ciclo (Figura 1).



Gráfico 1: Ciclo de *T. gondii*.

1.2- Resistencia

Los ooquistes esporulados y los quistes tisulares son muy resistentes a los factores ambientales, sobreviviendo los ooquistes en el suelo húmedo y a la sombra hasta un año, mientras que los quistes tisulares persisten en el animal durante años (Aiello y Mays 2000, Tenter 2009, Grandía et al. 2013). Los quistes tisulares son afectados por los procedimientos de curado con sal, pero su supervivencia varía según la concentración de la misma y la temperatura de almacenamiento (Dubey 1997, Tenter 2009). En condiciones de laboratorio, los quistes tisulares perecieron en una solución de NaCl al 6% a todas las temperaturas examinadas (4 a 20 °C), pero sobrevivieron en soluciones acuosas a menores concentraciones de sal durante varias semanas (Dubey 1997).

Los bradizoítos mueren cuando la carne es congelada por más de 3 días a -15 °C ó por más de dos días a -20 °C. El agua caliente y el detergente los destruye, por lo que se recomienda lavarse cuidadosamente las manos después de haber manipulado carne cruda (Acha y Szyfres 2003, Tenter 2009).

Todas las formas infectivas de *T. gondii* son sensibles al calor destruyéndose a una temperatura de 65 °C, o en agua hirviendo, yodo o amoníaco (Dubey 1996, Aiello y Mays 2000).

1.3- Síntomas

La mayoría de las infecciones causadas por *T. gondii* cursan en forma subclínica o asintomática. La infección clínica es relativamente rara en la mayoría de las especies hospedadoras intermediarias, pero se observan casos esporádicos y a veces epidemias especialmente en animales jóvenes, cuyos síntomas son fiebre, tos, disnea, anorexia, diarrea, ictericia y afección del sistema nervioso central. Las lesiones producidas por este parásito son: miocarditis, encefalomiелitis, neumonitis y hepatitis (Hill y Dubey 2014).

La infección natural en rumiantes no gestantes transcurre generalmente en forma asintomática, pero cuando la infección ocurre durante la gestación puede producir muerte embrionaria, aborto, o nacimientos de corderos o cabritos débiles o clínicamente normales pero infectados (Basso y Venturini 2009). A nivel mundial la toxoplasmosis es la causante del 11 al 14% de los abortos que ocurren en ovinos y caprinos. En ovinos la enfermedad se caracteriza por placentitis, abortos, encefalitis y lesiones oculares. Los corderos infectados congénitamente pueden nacer asintomáticos cuando la infección ocurre a los cuatro meses, pero si ocurre entre los 45 y 55 días de gestación el feto generalmente muere, y si es a los tres meses de preñez, los corderos nacen vivos pero enfermos (Acha y Szyfres 2003, Hill y Dubey 2014).

Por el contrario en los bovinos, la infección por *T. gondii* no se considera causa frecuente de aborto (Basso y Venturini 2009). En los equinos la infección asintomática es común, pero la enfermedad ocurre solo ocasionalmente (Acha y Szyfres 2003). En los cerdos, la enfermedad en general cursa en forma subclínica, pudiendo observarse en algunos casos nacimientos de animales débiles o natimortos (el embrión muere dentro del útero o al momento del parto) (Basso y Venturini 2009, Hill y Dubey 2014).

Toxoplasma gondii es considerado como un patógeno oportunista cuando infecta perros. Generalmente la enfermedad cursa en forma subclínica pero, en determinadas condiciones, pueden presentar problemas respiratorios y neuromusculares, habiendo algunos casos fatales de toxoplasmosis generalizada (Basso y Venturini 2009).

En conejos, cobayos y animales de laboratorio, la enfermedad sintomática ocurre con más frecuencia en animales jóvenes, conllevando en algunos casos a la muerte. En las aves la toxoplasmosis puede ser frecuente aunque raramente sintomática, pero en los casos agudos se pueden observar focos necróticos en el hígado, bazo, pulmones y ganglios, como

así también se han observado casos fatales en palomas, canarios, loros y pingüinos (Mason et al. 1991, Dubey 2002, Acha y Szyfres 2003).

En humanos, la primera referencia de transmisión transplacentaria fue realizada por Wolf et al. (1939), quienes describieron una encefalomiелitis fatal padecida por un niño recién nacido en Nueva York. Por lo general la enfermedad se manifiesta como una infección subclínica, siendo la intrauterina la más grave. Si esta ocurre en el primer tercio de gestación el riesgo de fetopatía es grave (puede ocurrir una parasitemia y una infección generalizada que puede provocar el aborto o el nacimiento prematuro). En el tercer trimestre se verifica el mayor número de infecciones fetales, pero su curso es clínicamente inaparente. La sintomatología congénita es muy variada, con encefalitis, hidrocefalia, coriorretinitis, fiebre, erupciones, hepatomegalia y esplenomegalia, a diferencia de la toxoplasmosis adquirida después del nacimiento, la cual es en general menos grave (Acha y Szyfres 2003, Pérez et al. 2011).

En los hospedadores definitivos, como los gatos, la infección asintomática es la más común, la sintomática se presenta en animales jóvenes, observándose diarrea, hepatitis, miocarditis, miositis, neumonía y encefalitis en forma experimental (Aiello y Mays 2000, Acha y Szyfres 2003).

1.4. -Toxoplasmosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina

En Argentina y, en particular, en la provincia de La Pampa, son escasas las referencias acerca de los posibles integrantes de la fauna silvestre con presencia de *T. gondii*. En la Tabla 1 se muestran los antecedentes conocidos previos a esta tesis.

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *T. gondii* en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos		Test	Localidad	Referencia bibliográfica
		n	%			
<i>Oncifelis geoffroyi</i> <i>Felis colocolo</i> <i>Felis eira</i>	23	y	37 59	Prueba parasitológica Serología	Córdoba	Pizzi et al. (1978).
<i>Lycalopex culpaeus</i>	28	11	39,28	MAT	Santa Cruz	Martino et al. (2004)
<i>Lycalopex griseus</i>	56	8	14,28			
<i>Macropus rufogriseus</i>	2	2	100	MAT, PCR, Himmunohistoquímica	La Plata	Basso et al. (2007)
<i>Pseudalopex (Lycalopex) gymnocercus</i>	30	8	26,67	HAI	Centro de La Pampa	Fuchs et al. (2007)
<i>Lepus europeus</i>	106	0	0	HAI	Dptos. Ataliva Roca, Santa Rosa, Anguil, Uriburu, Lonquimay y Catriló (La	Baldone et al. (2009)

				Pampa)	
<i>Macropus rufus</i>	1	1	100	IFAT, Histopatología, inmunohistoquímica, PCR y bioensayo	Zoológico de La Plata, Bs. As. Moré et al. (2010)
<i>Macropus giganteus</i>	1	1	100	IFAT, Histopatología, inmunohistoquímica, PCR y bioensayo	Zoológico de La Plata, Bs. As. Moré et al. (2010)
<i>Leopardus geoffroyi</i>	35	14	40	KELA	Parque Nacional Lihué Calel (La Pampa) Uhart et al. (2012)
	5	5	100	KELA	Parque Nacional Campos del Tuyú
<i>Blastocerus dichotomus</i>	3	0	0	HAI	Reserva Natural del Iberá, Corrientes Orozco et al. (2013)
<i>Bubalus bubalis</i>	500	127	25,4	IFAT	Corrientes, Chaco y Formosa Konrad et al. (2013)

KELA (ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas).

1.5-Toxoplasmosis en Xenartros

La Tabla 2 muestra las especies de Xenartros en las que se ha evaluado la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* fuera de Argentina y la Tabla 3 los casos estudiados hasta el momento para Argentina. Obsérvese que para *Chaetophractus vellerosus* y *Zaedyus pichiy* los resultados fueron negativos. No registrándose datos para *C. villosus*.

Tabla 2: Xenartros investigados para *T. gondii* excepto en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n	%	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Dasyus novemcinctus</i>	2	2	100	Aislamiento	Brasil	Lainson (1964)
	100	15	15	Prueba Sabin y Feldman	Minas Gerais, Brasil	Schenk et al. (1976)
	3	2	66,7	Prueba Sabin y Feldman	São Paulo, Brasil	Sogorb et al. (1977)
	63	12	19	Test de hemaaglutinación indirecta	Florida, USA.	Burridge et al. (1979)
	9	0	0	Inmunofluorescencia indirecta	Botucatu, Brasil	Salata et al. (1985)
	50	23	46	Test de aglutinación directa	Guayanas Francesas	Carme et al. (2002)
	50	22	44	Test de aglutinación directa	Guayanas Francesas	de Thoisy et al. (2003)
	9	1	11,1	Test de aglutinación directa modificado Aislamiento	Botucatu, Brasil	Vieira da Silva et al. (2006)
	31	4	12,9	Test de aglutinación microscópica	São Paulo, Brasil	Costa da Silva et al. (2008)
	9	3	33,3	Test de hemaaglutinación indirecta	Gran Chaco, Bolivia	Deem et al. (2009)
	1	1	100	Aislamiento Prueba de inhibición de la fluorescencia	Brasil	Walton y Arjona (1968)

<i>Tamandua tetradactyla</i>	13	6	46,2	Test de aglutinación directa	Guayanas Francesas	Carme et al. (2002)
	13	5	38,5	Test de aglutinación directa	Guayanas Francesas	de Thoisy et al. (2003)
<i>Choloepus didactylus</i>	1	1	100	Aislamiento	Bacarena, Brasil	Shaw y Lainson (1973)
	50	0	0	Test de aglutinación directa	Guayanas Francesas	Carme et al. (2002)
	50	0	0	Test de aglutinación directa	Guayanas Francesas	de Thoisy et al. (2003)
<i>Priodontes giganteus</i>	1	1	100	Prueba Sabin y Feldman Aislamiento	São Paulo, Brasil	Sogorb et al. (1977)
<i>Cabassous tatouay</i>	4	0	0	Inmunofluorescencia indirecta	Botucatu, Brasil	Salata et al. (1985)
	2	0	0	Test de aglutinación microscópica	São Paulo, Brasil	Costa da Silva et al. (2008)
<i>Euphractus sexcinctus</i>	3	2	66,7	Test de aglutinación directa modificado Aislamiento	Botucatu, Brasil	Vieira da Silva et al. (2006)
	3	0	0	Test de aglutinación microscópica	São Paulo, Brasil	Costa da Silva et al. (2008)
<i>Dasyopus hybridus</i>	2	0	0	Test de aglutinación microscópica	São Paulo, Brasil	Costa da Silva et al. (2008)
<i>Tolypeutes matacus</i>	10	0	0	Test de hemaaglutinación indirecta	Gran Chaco, Bolivia	Deem et al. (2009)

Tabla 3: Xenartros investigados para *T. gondii* en Argentina.

Especies analizadas	n	Positivos n	%	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Dasyopus novemcinctus</i>	16	1	6,2	Test de hemaglutinación indirecta	Corrientes, Argentina	Ramírez et al. (1984)
<i>Chaetophractus vellerosus</i>	14	0	0			
<i>Zaedyus pichiy</i>	35	0	0	Test de hemaglutinación indirecta	Mendoza, Argentina	Superina (2007)

1.6- Toxoplasmosis en Xenartros en la Provincia de La Pampa

No hay registros previos de la presencia de *T. gondii* en Xenartra en la provincia de La Pampa. El objetivo general de esta tesis es determinar si *C. villosus* está expuesto a *T. gondii* y, de estarlo, cuál es su prevalencia.

2- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados así como el área de estudio se indicó en el capítulo 1.

Las técnicas de determinación de *T. gondii* incluyeron:

- 1- Prueba de aglutinación en Látex (LA), Kit elaborado por Laboratorios Wiener Laboratorios S.A.I.C. Rosario, Argentina. Esta prueba tiene 91,0% de sensibilidad y 96,4% de especificidad.
- 2- Prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) para la detección de anticuerpos contra el *T. gondii* (Toxotest HAI), kit elaborado por Laboratorios Wiener Laboratorios S.A.I.C. Rosario, Argentina. Cada muestra de suero se diluyó 2 veces en un tampón de dilución y 25 μ L de cada muestra de ensayo fue diluida con un volumen igual de tampón solución salina, para obtener diluciones en serie de 2 veces a partir de 1:4 hasta 1:64.

Las muestras de suero que fueron positivas en la prueba del látex y por HAI, en diluciones de suero de 1:4 o más, fueron consideradas positivas.

En ambos casos se siguieron las instrucciones especificadas por los fabricantes.

Los bazos de cada uno de los ejemplares fueron observados macroscópicamente para ver si había un aumento en el tamaño de los mismos.

3- RESULTADOS

De las 150 muestras de suero analizadas en *Chaetophractus villosus*, se encontraron anticuerpos contra *T. gondii* en el 27,3% (41/150) de los individuos, con un $IC_{95\%}$: 20,1-34,5 (Figura 2a, 2b). Los sueros con títulos positivos se distribuyeron según el siguiente detalle: 10% (4) dilución 1:4; 29% (12) dilución 1:8; 41% (17) dilución 1:16; 10% (4) dilución 1:32; 10% (4) dilución 1:64 (Figura 3).

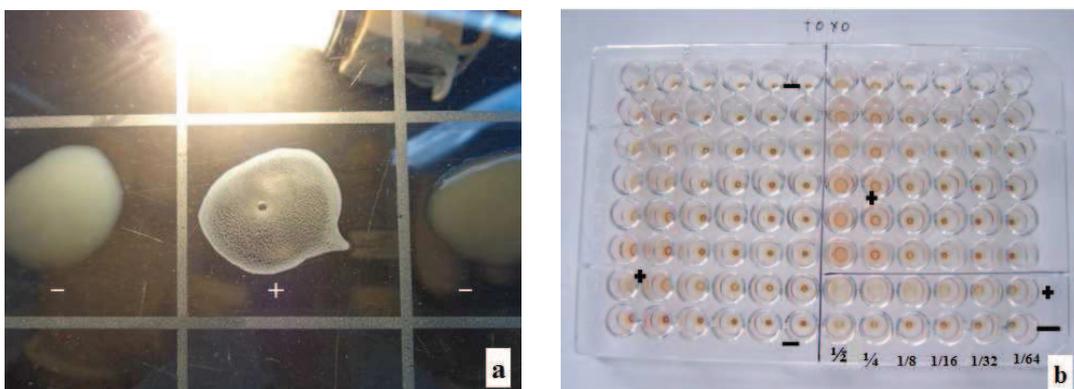


Figura 2: a- Prueba de aglutinación en Látex, muestra (—) negativa, (+) positiva). b- Prueba de hemaglutinación indirecta: placa donde se observa muestras positivas y negativas. Última fila margen derecho control negativo y anteúltima fila margen derecho control positivo, con sus respectivas diluciones.

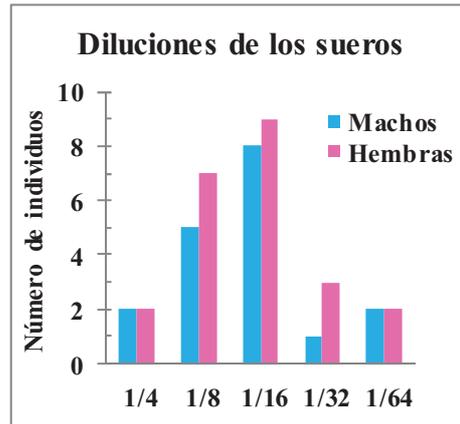


Figura 3: *C. villosus* positivos a *T. gondii* según la dilución de las muestras.

En todos los sitios de captura hubo algún *C. villosus* positivo a *T. gondii*, con excepción de los sitios A1, D3 y F, variando la prevalencia en los sitios con serología positiva entre 20,69% y 56,25% (Tabla 4).

Tabla 4: Presencia de anticuerpos a *T. gondii* (Tg.), según los distintos sitios de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a Tg.	18	8	10	7	23	4	3	6	1	8	17	4
Cv. pos. a Tg.	7	0	6	9	6	1	1	2	1	0	8	0
Total Cv.	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%)	28	0	37,5	56,3	20,7	20	25	25	50	0	32	0

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados, el 25,7% (18) fueron positivos a *T. gondii* con un IC_{95%}: 15,2-36,2 y de las 80/150 hembras, el 28,7% (23) fueron positivas a *T. gondii*, con un IC_{95%}: 18,6-38,9. El sexo de los *C. villosus* no influye en la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* ($p=0,677$; OR: 1,166; Figura 4).

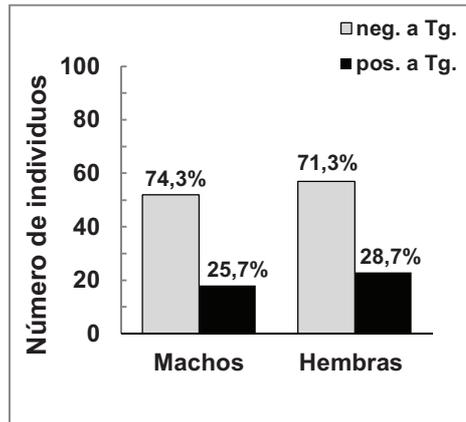


Figura 4: *C. villosus* (Cv.) negativos (neg.) y positivos (pos.) a *T. gondii* (Tg.) según el sexo de los individuos en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, el 21,74% (5) fueron positivos a *T. gondii*, en tanto que de los 127 adultos, el 28,34% (36) fueron positivos. La edad de los *C. villosus* no influye en la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* ($p=0,513$; OR: 1,424; Figura 5).

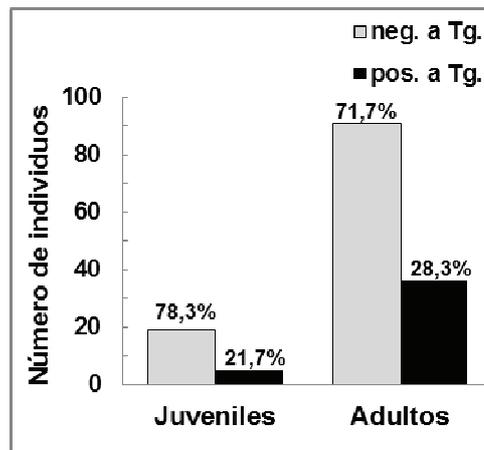


Figura 5: Presencia de anticuerpos a *T. gondii* (Tg.) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se hallaron 31/106 *C. villosus* positivos a *T. gondii*, representando un 29,25%; mientras que en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se hallaron 10/44 *C. villosus* positivos, siendo la prevalencia 22,72%. De los 41 *C. villosus* positivos a *T. gondii*, 24,39% (10) correspondieron a sitios de captura con presencia de tambo. La presencia o no de tambo en los sitios de captura no influye en la detección de anticuerpos contra *T. gondii* ($p=0,415$; OR: 0,712; Figura 6).

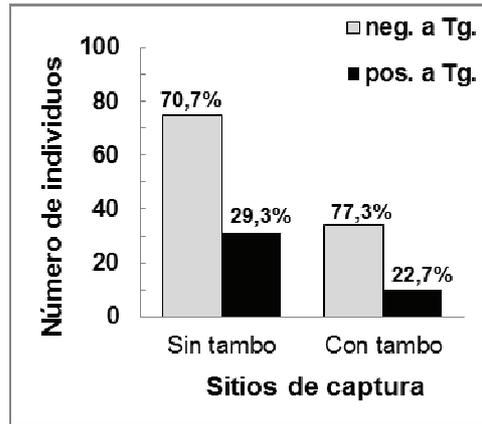


Figura 6: Presencia de anticuerpos a *T. gondii* (Tg) según presencia o no de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura donde no había presencia de cerdos (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se halló 23,48% (31/132) de los *C. villosus* positivos a *T. gondii*, mientras que en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) se halló 55,55% (10/18). De los 41 individuos positivos a *T. gondii*, 24,39% (10) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. Se hallaron diferencias estadísticas significativas, siendo los *C. villosus* capturados en sitios con presencia de cerdos los que más presentaron anticuerpos contra *T. gondii* ($p=0,004$; OR: 4,073; Figura 7).

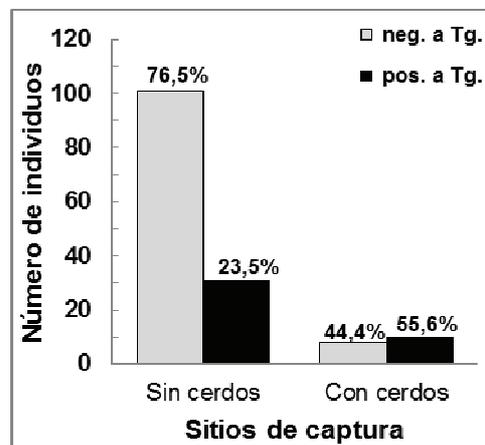


Figura 7: Presencia de anticuerpos a *T. gondii* (Tg.) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 17,24% (10/58) de los *C. villosus* positivos a *T. gondii*, mientras que en sitios con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 33,69% (31/92). De los 41 *C. villosus* positivos a *T. gondii*, 75,61% (31) fueron capturados en sitios con presencia de ovinos. Se hallaron evidencias estadísticas significativas, siendo los *C. villosus* capturados

en sitios con presencia de ovinos los que están más expuestos a *T. gondii* ($p=0,028$; OR: 2,439; Figura 8).

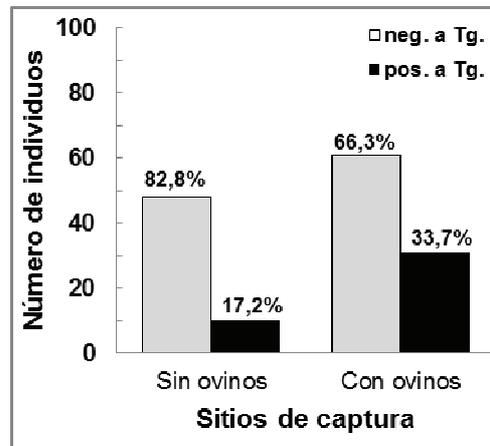


Figura 8: Presencia de anticuerpos a *T. gondii* (Tg.) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 18,87% (10/53) de los *C. villosus* positivos a *T. gondii*, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 31,96% (31/97). De los 41 *C. villosus* positivos a *T. gondii*, 75,61% (31) correspondieron a sitios de captura con presencia de aves de corral. La presencia o no de aves de corral en los sitios de captura no influye en la detección de anticuerpos contra *T. gondii* en *C. villosus* ($p=0,086$; OR: 2,020; Figura 9).

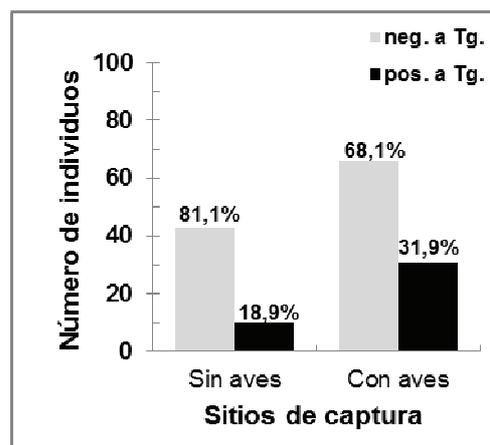


Figura 9: Presencia de anticuerpos a *T. gondii* (Tg.) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Macroscópicamente se observó en un *C. villosus* positivo a *T. gondii* un aumento considerable en el tamaño del bazo (10cm), cuyo peso fue de 23,7 gramos (Figura 10).



Figura 10: Bazo de un *C. villosus* positivo serológicamente a *T.gondii*, en La Pampa.

4- DISCUSIÓN

La presencia de anticuerpos a *T. gondii* es un buen indicador de la exposición de los *C. villosus* a este protozoo, siendo los resultados aquí mencionados los primeros registros para esta especie. La transmisión de *T. gondii* a *C. villosus* es probable que ocurra a través del consumo de ooquistes cuando éstos se alimentan. El rango de variación de serología positiva en los distintos sitios de captura, y la consideración de que en todos los sitios de captura se hallaban presentes felinos domésticos, indica que sería necesario realizar nuevas capturas para detectar variaciones geográficas a la enfermedad, como así también es necesario evaluar la presencia de *T. gondii* en los gatos, o en las presas y la presencia de ooquistes en el medio ambiente, en los distintos sitios de captura, ya que hasta la fecha no hay datos de su prevalencia.

La prevalencia hallada en esta tesis no se puede, en general, comparar con lo registrado por los diferentes autores para otras especies de Xenartros (*Dasybus novemcinctus*, *D. hybridus*, *Priodontes maximus*, *Euphractus sexcinctus*, *Cabassous tatouay*, *Tamandua tetradactyla* y *Tolypeutes matacus*, Tabla 2), ya que el número de individuos analizados en los distintos casos fue muy variable (de 2 a 100).

La prevalencia de anticuerpos contra *T. gondii* en *C. villosus* obtenida en esta tesis (27,3%), fue superior a la registrada por Ramírez et al. (1984) en Corrientes (6,2 %, 1/16) para *D. novemcinctus*, mientras que los 14 individuos de *C. vellersus* evaluados por esos autores fueron todos negativos, al igual que los 35 ejemplares de *Zaedyus pichiy* de Mendoza (Superina 2007). Estas diferencias podrían relacionarse con el tipo de dieta de las

diferentes especies y el grado de contaminación a *T. gondii* del medio ambiente en donde viven.

La prevalencia a *T. gondii* en *C. villosus* fue similar a la obtenida en La Pampa por Fuchs et al. (2007) en *Pseudalopex gymnocercus* (26,7%), pero fue inferior a la hallada por Uhart et al. (2012) en *Leopardus geoffroyi*, en donde registraron una prevalencia del 40% (14/35). La mayor prevalencia en el gato montés podría deberse a un mayor consumo de alimentos contaminados con *T. gondii* (principalmente roedores y otros vertebrados pequeños), si bien la infección de las presas no fue evaluada (Uhart et al. 2012).

La mayor predisposición de los *C. villosus* a infectarse con *T. gondii* en sitios con presencia de cerdos es coherente con la alta prevalencia que registra este parásito en los cerdos en la provincia de La Pampa (57,4%, 237/415, Fort et al. 2011) y 58,7% (27/46, Venturini et al. 2004), y estaría relacionada con el modo de crianza de los cerdos (sistemas extensivos de producción al aire libre).

Con respecto a que la presencia de ovinos en los sitios de captura también predispone a los *C. villosus* a contraer la enfermedad, llama la atención que la prevalencia hallada en este trabajo para los armadillos en sitios con presencia de ovinos (33,69%), fue mayor a la registrada para ovinos en la región Pampeana Húmeda (17,3%; Hecker et al. 2013) y para el noreste de La Pampa (28%, Giono com. pers.). Esto estaría relacionado con una mayor contaminación del alimento o del medio ambiente en donde fueron muestreados los armadillos.

Asimismo, si bien nuestros resultados indican que la presencia de aves de corral en sitios de captura de *C. villosus* no se correlaciona con la presencia de anticuerpos contra *T. gondii*, llamamos la atención acerca de prevalencias relativamente altas obtenidas en otras regiones para pollos, como en Buenos Aires en pollos criados en libertad 65,5% (Dubey et al. 2003), en Entre Ríos 61,2% y en la planicie semiárida de Santiago del Estero 20% (Dubey et al. 2005). Estas prevalencias tan dispares estarían en relación con las condiciones climáticas y la presencia de ooquistes en el medio ambiente en los sitios muestreados. En La Pampa no se cuenta con estudios de presencia de *T. gondii* en aves de corral, con lo cual no podemos comparar nuestros resultados. No obstante ello, y aunque en este estudio la presencia de pollos de granja no se asoció significativamente con *T. gondii*, la relativamente mayor prevalencia hallada en lugares donde se criaban pollos sugiere que los mismos pueden tener un papel importante como centinelas de la contaminación del medio ambiente.

La inexistencia de asociación entre valores de *T. gondii* en *C. villosus* capturados en sitios con presencia de tambo o sin ellos estaría relacionada con la ausencia de *T. gondii* en el ganado bovino, ya que en un muestreo realizado en bovinos en dos de los sitios (C y E) en donde fueron capturados los *C. villosus* de esta tesis, no se registraron animales positivos a esta enfermedad (datos no publicados).

El aumento en el tamaño del bazo observado en un *C. villosus*, positivo a *T. gondii* sería coincidente con lo descrito por Ramírez et al. (1984), quienes observaron esplenomegalia en un *Dasyopus novemcinctus*, en Corrientes, el cual era positivo a toxoplasmosis. A pesar de ello, no podemos decir que en *C. villosus* esa anomalía se deba exclusivamente a la presencia de anticuerpos contra *T. gondii*, ya que el mismo individuo también fue positivo a chagas y brucelosis, enfermedades, ambas, que también pueden producir agrandamiento del bazo (Argente y Alvarez 2005).

La detección de anticuerpos contra *T. gondii* en *C. villosus* en la provincia de La Pampa pone en evidencia que dicho parásito se encuentra presente en el medio ambiente y, por lo tanto, constituye un riesgo para la salud de la especie, como así también para la de otros animales silvestres y domésticos con los cuales comparte el mismo hábitat. Del mismo modo, la relativamente alta prevalencia hallada indica que el consumo de la carne de *C. villosus*, en particular mal cocida, puede ser un riesgo para la salud de los seres humanos.

5- CONCLUSIÓN

- Se confirmó la hipótesis que los *C. villosus* están expuestos a *T. gondii*.
- Los resultados obtenidos constituyen los primeros registros de *T. gondii* para la especie.
- El sexo, edad, presencia o no de tambos en el lugar de captura, y presencia o no de aves de corral, no influyen en la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en *C. villosus*.
- La presencia de cerdos y ovinos en los sitios de muestreo predispone a *C. villosus* a contraer *T. gondii*.

- La presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en *C. villosus* pone en evidencia el riesgo potencial al que están expuestos los animales silvestres que consuman su carne.
- La presencia de *T. gondii* en *C. villosus* podría ser un factor de riesgo para las poblaciones silvestres de la especie.
- Los resultados aquí presentados tienen importantes implicaciones para la salud pública, ya que sugieren que la carne de *C. villosus* es una fuente de contaminación con un gran potencial para la transmisión de *T. gondii*, para aquellos humanos que la ingieran insuficientemente cocida.

6- BIBLIOGRAFÍA

- Acha P.; Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Vol III. Parasitosis. Publicación Científica y Técnica N° 580. OPS. Pg. 413.
- Aiello SE.; Mays A. (eds). 2000. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Pg. 2558.
- Argente HA.; Alvarez ME. 2005. Semiología Médica. Parte XII sistema inmunohematopoyético y hemostasia. Ed. Médica Panamerican. Pg. 1632.
- Baldone VN.; Fuchs LI; Rojas MC.; Fort MC.; Venturini C.; Giménez HD. 2009. Neosporosis y toxoplasmosis en la liebre europea (*Lepus europaeus*) en la provincia de La Pampa (Argentina). Acta Bioquím. Clín. Latinoam. 43(4):633-639.
- Basso W.; Venturini MC.; Moré G.; Quiroga A.; Bacigalupe D.; Unzaga JM.; Larsen A.; Laplace R.; Venturini L. 2007. Toxoplasmosis in captive bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus*) in Argentina. Vet. Parasitol. 144:157-161.
- Basso WU.; Venturini M. 2009. Capítulo 39. Toxoplasmosis en los animales domésticos y silvestres criados en cautiverio: Aspectos epidemiológicos y diagnóstico. En Temas de zoonosis IV. Cacchione RA.; Durlach R.; Martino P.; Asociación Argentina de Zoonosis (eds.). Pg. 355-361.
- Benenson AS. (ed.). 1997. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. OPS. 16ª edición. Washington. Publicación Científica N° 564. Pg. 541.

- Burridge MJ.; Bigler WJ.; Forrester DL.; Hennemann JM. 1979. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in wild animals in Florida. J. Am. Vet. Med. Assoc. 175:964-967.
- Cabral AD.; D'Auria SRN.; Camargo MCGO.; Rosa AR.; Sodré MM.; Galvão-Dias MA.; Jordão LR.; Dubey JP.; Gennari SM.; Pena HFJ. 2014. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in bats from São Paulo city, Brazil. Vet. Parasitol. 206:293-296.
- Carme B.; Aznar C.; Motard A.; Demar M.; de Thoisy B. 2002. Serologic survey of *Toxoplasma gondii* in noncarnivorous free-ranging neotropical mammals in French Guiana. Vector Borne Zoonot. 2(1):11-17.
- Costa da Silva R.; Ballarini Zetun C.; de Moraes Gimenes Bosco S.; Bagagli E.; Sanmarco Rosa P.; Langoni H. 2008. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. Vet. Parasitol. 157:291-293.
- Demar M.; Ajzenberg D.; Serrurier B.; Dardé ML.; Carme B. 2008. Case report: atypical *Toxoplasma gondii* strain from a free-living Jaguar (*Panthera onca*) in French Guiana. Am. J. Trop. Med. Hyg. 78(2):195-197.
- Deem SL.; Noss AJ.; Fiorello CV.; Manharth AL.; Robbins RG.; Karesh WB. 2009. Health assessment of free-ranging three-banded (*Tolypeutes matacus*) and nine-banded (*Dasybus novemcinctus*) armadillos in the Gran Chaco, Bolivia. J. Zoo. Wild. Med. 40(2):245-256.
- de Thoisy B.; Demar M.; Aznar C.; Carme B. 2003. Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii* exposure in free-ranging Neotropical Mammals. J. Wildlife Dis. 39(2):456-459.
- Dorny P.; Franssen J. 1989. Toxoplasmosis in a siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). Vet. Rec. 125:647.
- Dubey JP.; Beattie CP. 1988. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press, Boca Raton, FL. Pg. 1-220.
- Dubey JP. 1996. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. Vet. Parasitol. 64:65-70.
- Dubey JP. 1997. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0,85-6% NaCl solutions at 4-20 °C. J. Parasitol. 83:946-949.
- Dubey JP.; Lindsay DS.; Speer CA. 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin. Microbiol. Rev. 11(2):267-299.
- Dubey JP. 2002. A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet. Parasitol. 106:121-153.

- Dubey JP.; Venturini MC.; Venturini L.; Piscopo M.; Graham DH.; Dahl E.; Sreekumar C.; Vianna MC.; Lehmann T. 2003. Isolation and Genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Argentina. *J. Parasitol.* 89(5):1063-1064.
- Dubey JP.; Marcet PL.; Lehmann T. 2005. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Argentina. *J. Parasitol.* 91(6):1335-1339.
- Dubey JP.; Jones JL. 2008. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int. J. Parasitol.* 38:1257-1278.
- Dubey JP. 2009. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.* 39:877-882.
- Ferreira JRV.; Navarro IT. 1994. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais selvagens: revisão. *Semina Ci. Agr. Londrina* 15(1):94-100.
- Fort M.; Rekofsky C.; Stazionati M.; Giménez H.; Kin M. 2011. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs in La Pampa- Argentina. Resúmenes 23rd. International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. 21st-25th August 2011. Buenos Aires. Argentina. Pg. 216.
- Fuchs LI.; Baldone VN.; Rojas MC.; Giménez HD.; Fort MC.; Bedotti DO.; Venturini C.; Kin MS. 2007. Prevalencia serológica a Toxoplasmosis y Neosporosis en el zorro gris pampeano (*Pseudalopex gymnocercus*) en La Pampa (Argentina). *Rev. Méd. Vet.* 88(4):149-152.
- Grandía GR.; Entrena GÁ.; Cruz H.J. 2013. Toxoplasmosis en *Felis catus*: etiología, epidemiología y enfermedad. Toxoplasmosis in *Felis catus*: etiology, epidemiology and disease. *Rev. Inv. Vet. Perú* 24(2):131-149.
- Guarnera EA. 1991. Toxoplasmosis. *Revista de Medicina Veterinaria.* 72(3):138-149.
- Hecker YP.; Moore DP.; Manazza JA.; Unzaga JM.; Späth EJA.; Pardini LL.; Venturini Mc.; Roberi JL.; Campero CM. 2013. First report of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy sheep from Humid Pampa, Argentina. *Trop. Anim. Health Pro.* 45(7):1645-1647.
- Hill D.; Dubey JP. 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin. Microbiol. Infect.* 8:634-640.
- Hill DE.; Chirukandoth S.; Dubey JP. 2005. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim. Health. Res. Rev.* 6(1):41-46.
- Hill DE.; Dubey JP. 2014. Toxoplasmosis: Reston, Va., U.S. Geological Survey Circular 1389, Pg. 84.

- Konrad JL.; Campero LM.; Caspe GS.; Brihuega B.; Draghi G.; Moore DP.; Crudeli GA.; Venturini MC.; Campero CM. 2013. Detection of antibodies against *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., and Apicomplexa protozoa in water buffaloes in the Northeast of Argentina. *Trop. Anim. Health. Prod.* 45:1751-1756.
- Lainson 1964. T. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 58:287. En Shaw JJ.; Lainson R. 1973. Toxoplasmosis of the Two-toed Sloth, *Choloepus didactylus*, in Brazil. *J. Parasitol.* 59(1):206-207.
<http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/pc/artigos/1973/jparasitol1973v59n1p206-207.pdf>
- Martino PE; Montenegro JL.; Preziosi JA.; Venturini C.; Bacigalupe D.; Stanchi NO.; Bautista EL. 2004. Serological survey of selected pathogens of free-ranging foxes in southern Argentina, 1998-2001. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 23:801-806.
- Mason RW.; Hartley WJ.; Dubey JP. 1991. Lethal toxoplasmosis in a little penguin (*Eudyptula minor*) from Tasmania. *J. Parasitol.* 77:328.
- Moré G.; Pardini L.; Basso W.; Machuca M.; Bacigalupe D.; Villanueva MC.; Schares G.; Venturini MC.; Venturini L. 2010. Toxoplasmosis and genotyping of *Toxoplasma gondii* in *Macropus rufus* and *Macropus giganteus* in Argentina. *Vet. Parasitol.* 169:57-61.
- Orozco MM.; Marull C.; Jiménez I.; Gürtler RE. 2013. Mortalidad invernal de ciervo de los pantanos (*Blastocerus dichotomus*) en humedales del noreste de Argentina. *Mastozoología Neotropical* 20(1):163-167.
- Pérez JE.; Villada Gómez JS.; Naranjo Pérez OD.; Castaño SV. 2011. Formas alternas de transmisión de *Toxoplasma gondii*. *Biosalud.* 10(2):123-137.
- Pizzi HL.; Rico CM.; Pessat OAM. 1978. Hallazgo del ciclo ontogénico selvático del *Toxoplasma gondii* en félidos salvajes (*Oncifelis geoffroyi*, *Felis colocolo* y *Felis eira*) de la provincia de Córdoba. *Rev. Milit. Vet.* 25:293-300. En Acha P.; Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Vol III. Parasitosis. Publicación Científica y Técnica N° 580. OPS. Pg. 413.
- Profeta F.; Di Francesco CE.; Marsilio F.; Mignone W.; Di Nocera F.; De Carlo E.; Lucifora G.; Pietroluongo G.; Baffoni M.; Cocumelli C.; Eleni C.; Terracciano G.; Ferri N.; Di Francesco G.; Casalone C.; Pautasso A.; Mazzariol S.; Centelleghes C.; Di Guardo G. 2015. Retrospective seroepidemiological investigations against Morbillivirus, *Toxoplasma gondii* and *Brucella* spp. in cetaceans stranded along the Italian coastline (1998–2014) *Res. Vet. Sci.* 101:89-92.

- Ramírez MM.; Resoagli EH.; Martínez AR. 1984. Detección de toxoplasmosis en armadillos. *Vet. Arg.* 1:135-140.
- Salata E.; Yoshida ELA.; Pereira EA.; Correa FMA. 1985. Toxoplasmosis em animais silvestres e domésticos da Região de Botucatu, Estado São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 27:20-22.
- Schenk MAM.; Ávila FA.; Lima JD.; Schenk JAP. 1976. Frecuencia de anticorpus anti-*Toxoplasma gondii* em tatus (*Dasybus novemcinctus*) capturados em Minas Gerais, Brasil. *Arq. Esc. Vet. U.F.M.G.* 28:33-35.
- Scarpelli L.; Lopes WDZ.; Migani M.; Bresciani KDS.; Costa AJ. 2009. *Toxoplasma gondii* in experimentally infected *Bos taurus* and *Bos indicus* semen and tissues. *Pesquisa Vet. Brasil.* 29(1):59-64.
- Shaw JJ.; Lainson R. 1964. *Tr. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 58:287. En Shaw JJ.; Lainson R. 1973. Toxoplasmosis of the two-toed sloth, *Choloepus didactylus*, in Brazil. *J. Parasitol.* 59(1):206-207.
- Shaw JJ.; Lainson R. 1973. Toxoplasmosis of the two-toed sloth, *Choloepus didactylus*, in Brazil. *J. Parasitol.* 59(1):206-207.
- Sogorb SF.; Jamra LF.; Guimarães EC. 1977. Toxoplasmosis em animais de São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 19(3):191-194.
- Superina M. 2007. Natural history of the pichi (*Zaedyus pichiy*) in Mendoza Province, Argentina. University of New Orleans Theses and Dissertation on paper 604. UMI Number: 3292286.
- Tenter AM. 2009. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(2): 364-369.
- Uhart MM.; Rago MV.; Marull CA.; del Valle Ferreyra H.; Pereira JA. 2012. Exposure to selected pathogens in Geoffroy's cats and domestic carnivores from central Argentina. *J. Wildlife Dis.* 48(4):899-909.
- Varela N. 2001. La toxoplasmosis en los Primates del Nuevo Mundo. *Boletín GEAS* 2(4):30-35.
- Venturini MC.; Bacigalupe D.; Venturini L.; Rambeaud M.; Basso W.; Unzaga JM.; Perfumo CJ. 2004. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sows from slaughterhouses and in pigs from an indoor and an outdoor farm in Argentina. *Vet. Parasitol.* 124:161-165.
- Vieira da Silva A.; de Moraes Gimenes Bosco S.; Langoni H.; Bagagli E. 2006. Study of *Toxoplasma* infection in Brazilian wild mammals: serological evidence in *Dasybus*

novemcinctus Linnaeus, 1758 and *Euphractus sexcinctus* Wagler, 1830. Vet. Parasitol. 135:81-83.

- Vignau ML.; Venturini LM.; Romero JR.; Eiras DF.; Basso WU. 2005. Parasitología práctica y modelos de enfermedades parasitarias en los animales domésticos. 1ra edición Facultad de Ciencias Veterinaria. UNLP. <http://mvz.unipaz.edu.co/textos/biblioteca/parasitologia/parasitologia-practica-y-modelos-de-enfermedades-parasitarias-en-los-animales-domesticos.pdf>
- Walton.; Arjona. 1968. J. Parasitol. 54:1243-1244. En Shaw JJ.; Lainson R. 1973. Toxoplasmosis of the two-toed sloth, *Choloepus didactylus*, in Brazil. J. Parasitol. 59(1):206-207.
- Wolf A.; Cowen D.; Paige B. 1939. Human toxoplasmosis: occurrence in infants as an encephalomyelitis verification by transmission to animals. Science, 89:226-227, en Dubey JP. 2008. The history of *Toxoplasma gondii*. The first 100 Years. J. Eukaryot. Microbiol. 55(6):467-475.

CAPÍTULO IX: CHAGAS

1- INTRODUCCIÓN

Trypanosoma cruzi es un parásito causante de la enfermedad de Chagas-Mazza, zoonosis endémica en América Latina y ampliamente extendida, llegando hasta el sur de México (Acha y Szyfres 2003). El doctor Carlos Chagas fue quien describió la enfermedad, al parásito y al vector (vinchucas), como así también descubrió al primer hospedador silvestre del *T. cruzi*, un *Tatusia novemcincta* (actualmente *Dasypus novemcinctus*) (Ceballos 2010).

En el ciclo común de la enfermedad, el vector es la vinchuca y los reservorios del tripanosoma son el hombre y diversos animales domésticos y silvestres (Boero 1970) que incluyen a más de ciento cincuenta especies, entre ellos perros, gatos, ratas, ratones, quirópteros, carnívoros y primates (Benenson 1997), considerándose a los armadillos y zarigüeyas como los principales reservorios (Woo y Soltys 1970, Schweigmann et al. 1999).

En la naturaleza, la infección se mantiene en los mamíferos silvestres por intermedio de vinchucas de los géneros *Triatoma* y *Panstrongylus*, que viven en nidos y cuevas de Roedores, Marsupiales y Xenartros, siendo éstos últimos, entre ellos *Chaetophractus villosus*, *C. vellerosus*, *D. novemcinctus*, *Zaedyus pichiy*, *Cabassous unicinctus* y *Tolypeutes matacus*, reservorios específicos, que aparecen naturalmente infectados en varias regiones del país (Boero 1970). De todas las especies de Xenartros, *D. novemcinctus* sería la que, aparentemente, tendría mayor importancia como reservorio, debido a que frecuentemente se la halla infectada y, además, por su extensa distribución geográfica (Ceballos 2010).

1.1- Ciclo biológico

Se distinguen dos ciclos de transmisión de *T. cruzi*: el ciclo doméstico, que involucra al hombre, animales domésticos y sinantrópicos y triatominos domiciliarios, y el ciclo silvestre, que involucra animales y triatominos silvestres (Figura 1).

La infección se transmite por hemípteros de la familia Reduviidae, subfamilia Triatominae (vinchucas) infectados, que excretan los tripanosomas con sus heces, mientras

succionan sangre; a través de las heridas en la piel (sitio de la picadura), membranas mucosas o conjuntivas, ingresa el tripanosoma (Benenson, 1997).

Los insectos se infectan con el tripanosoma al succionar sangre de un humano o animal infectado con el protozoo. El hombre y los animales también se infectan por contaminación o ingestión de alimentos contaminados con excrementos de los insectos que contienen tripanosoma (Acha y Szyfres 1997, Rodríguez Coura et al. 2007). En el hombre, la transmisión también puede producirse por transfusión de sangre o a través de la placenta (Benenson 1997).

En los mamíferos se encuentran los tripomastigotes, delgados, de unos 20 μm de largo, en sangre y los amastigotes, intracelulares, ovales, de unos 2 x 3 μm , en tejidos; en el vector existen dos formas, ambas extracelulares: los epimastigotes (fusiformes, de unos 20 μm de largo) en el intestino y los tripomastigotes, más largos, delgados y rectos que los tripomastigotes sanguíneos, en el intestino terminal (Acha y Szyfres 2003).

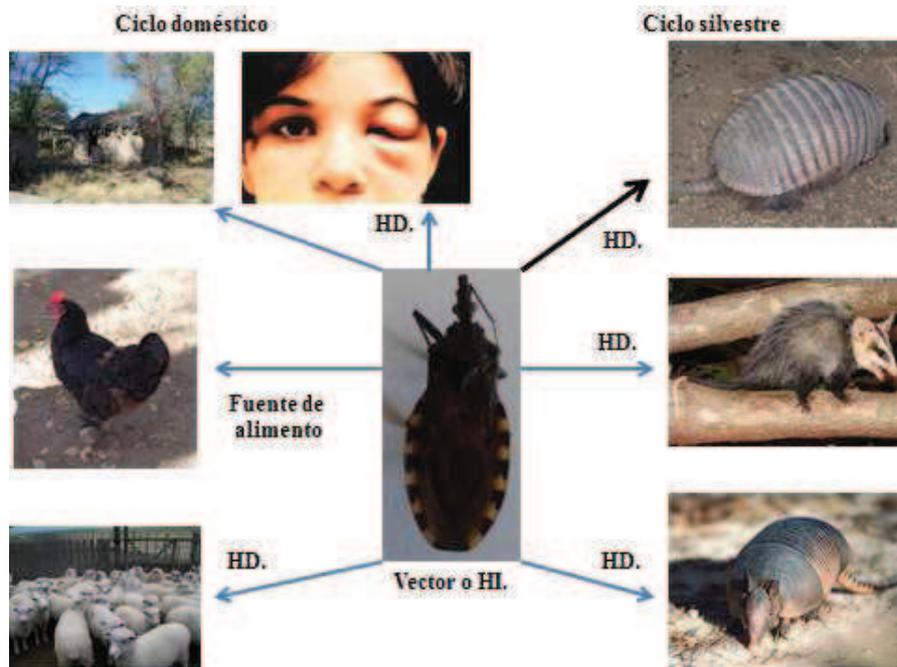


Figura 1: Ciclo de *Tripanosoma cruzi*, HD (hospedador definitivo), HI (hospedador intermediario).

1.2- Resistencia

Los huevos de los triatominos son resistentes a los insecticidas como el hexacloruro de benceno –gamexano- (Acha y Szyfres 1997).

Asimismo, *Triatoma infestans* presenta resistencia elevada a los insecticidas piretroides como deltametrina, β -cipermetrina, β -ciflutrina y lambda-cihalotrina, asociada,

recientemente, con tratamientos ineficaces en los campos, en el norte de Argentina y en el sur de Bolivia (Picollo et al. 2005, Zaidenberg 2012).

1.3- Síntomas

En los animales y en muchas personas infectadas con *T. cruzi* la infección transcurre en forma clínicamente inaparente. En algunos humanos y en los perros, se puede observar una fase aguda y una crónica similares; la fase aguda, se caracteriza por fiebre variable, con o sin edema palpebral, hepatomegalia pronunciada, alteraciones nerviosas, malestar generalizado, linfadenopatía y hepatoesplenomegalia. En la fase crónica ocurren miocarditis, arritmias, afección de las vías gastrointestinales y del sistema nervioso central (Benenson 1997, Acha y Szyfres 2003).

En *Rattus rattus* naturalmente infectadas con *T. cruzi* se observaron arritmias auriculares y ventriculares, bloqueos de segundo grado y dilatación de las cámaras cardíacas derechas (Acha y Szyfres 2003).

1.4- Chagas en animales silvestres no Xenartros en Argentina

En la Tabla 1 se muestran algunos antecedentes conocidos para la Argentina, previos a esta tesis. Se han hallado infectados con *T. cruzi* Chiropteros, Primates, Carnívoros, Roedores, Marsupiales, entre otros (Mazza 1949, Teixeira et al. 2011), los cuales no se detallan en su totalidad por ser extensa la lista.

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *T. cruzi* en Argentina.

Especies analizadas	Nº	Positivos n	%	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
		25 a 45			Santa Fe	Mazza y Schreiber (1938)
<i>Didelphys albiventris</i>	72	23	32	Xenodiagnóstico, Bioquímicas, MO (microscopio óptico)	Santiago del Estero	Wisnivesky-Colli et al. (1992)
	409	143	35	Xenodiagnóstico Bioquímicas, MO	Santiago del Estero	Schweigmann et al. (1999)
	38	3	7,9	MO, PCR, Xenodiagnóstico	Santiago del Estero	Ceballos et al. (2006)
	48	4	9,1	Xenodiagnóstico	Santiago del Estero	Ceballos (2010)
	18	2	11	Xenodiagnóstico PCR	Chaco	Orosco et al. (2011)
	11	4	36	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Alvarado-Otegui et al. (2012)
	41	12	29,3	Xenodiagnóstico	Pampa del Indio	Orosco et al. (2013)

	42	15	35	kDNA-PCR	(Chaco, 2008-2011)	
			21	Xenodiagnóstico y PCR	Chaco húmedo (2008-2011)	Orosco et al. (2014b)
			9		Chaco seco (2002-07)	
<i>Lutreolina crassicaudata</i>					Santa Fe	Mazza (1991)
<i>Octodontomys gliroides</i>	8	2	25	Xenodiagnóstico	Jujuy	Schweigmann et al. (1992)
<i>Conepatus chinga</i>	36	2	5,5	Xenodiagnóstico Bioquímicas, MO	Santiago del Estero	Wisnivesky-Colli et al. (1992)
	91	1	1,1	MO, PCR, Xenodiagnóstico	Santiago del Estero	Ceballos et al. (2006)
	107	1	0,9	Xenodiagnóstico	Santiago del Estero	Ceballos (2010)
		1	88	Xenodiagnóstico, PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2014b)
			infectados	Xenodiagnóstico, PCR	Chaco seco y Chaco húmedo	Orosco et al. (2014b)
<i>Galictis cuja</i>	1	1	100	Xenodiagnóstico Bioquímicas, MO	Santiago del Estero	Wisnivesky-Colli et al. (1992)
<i>Lagostomus maximus</i>	10	0	0	Xenodiagnóstico Hemocultivo	Chaco árido	Ferreira et al. (2007)
<i>Calomys musculinus</i>	115	8	6,9	Aislamiento, MO, PCR	San Luis	Brigada et al. (2010)
<i>Graomys griseoflavus</i>	66	9	13,6			
<i>Phyllotis darwini</i>	16	3	18,7			
<i>Akodon molinae</i>	49	5	10,2			
<i>Thylamys pusilla</i>	20	5	25	PCR	Pampa del Indio (Chaco, 2008-2011)	Orosco et al. (2013)
			infectados	Xenodiagnóstico kDNA-PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2014b)
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	25	0	0	MO, inoculación	Esteros del Iberá, Corrientes	Corriale et al. (2013)
<i>Akodon montensis</i>	(a)	2	(a)	kDNA-PCR	Pampa del Indio (Chaco, 2009-2011)	Orosco et al. (2014a)
<i>Akodon toba</i>	(a)	1	(a)			
<i>Graomys chacoensis</i>	(a)	5	(a)			
<i>Oligoryzomys chacoensis</i>	(a)	2	(a)			
<i>Oligoryzomys nigripes</i>	(a)	1	(a)			
<i>Calomys callosus</i>	(a)	5	(a)			
<i>Necomys lasiurus</i>	(a)	6	(a)			
<i>Oecomys sp.</i>	(a)	2	(a)			
<i>Desmodus rotundus</i>		1		Xenodiagnóstico, PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2014b)
<i>Myotis sp.</i>		1		Xenodiagnóstico	Chaco húmedo	
<i>Microcavia australis</i>	50	23	46	Xenodiagnóstico PCR	Tafi del valle, Tucumán	Cecere et al. (2015)

kDNA= kinetoplasto ADN

(a) Los autores mencionan que el total de roedores fue 148 y la prevalencia 16,2%; no mencionan el número de individuos muestreados por especie, ni la prevalencia para cada uno de ellos.

1.5- Chagas en Xenartros

Armadillos infectados se han reportado desde los EE.UU. hasta la Argentina, variando la tasa de infección de una región a otra (Noireau et al. 2009).

Los armadillos cumplen un papel importante como reservorios y hospederos del protozoario y como fuente de alimento para los vectores (Barreto y Barreto 1985, 2011).

Desde los trabajos iniciales del Dr. Carlos Chagas (1912) hasta la fecha, se han encontrado con infección natural unas 12 especies de Xenartros (Tablas 2 y 3).

Tabla 2: Xenartros investigados para *T. cruzi* excepto en Argentina.

Especies analizadas	N°	Positivos n %	Agente infeccioso	Test	Localidad	Referencia bibliográfica	
<i>Dasypus (Tatusia) novemcinctus</i>			<i>Trypanosoma cruzi</i>	MO	Brasil	Chagas (1912)	
		46 a 50	<i>T. cruzi</i>	MO	Brasil	Chagas (1918)	
	28	6 21,4	<i>T. cruzi</i>	MO	Panamá	Clark y Dunn (1932)	
	5	0 0	<i>T. cruzi</i>	MO	Do Aurá, Brasil	Almeida y Melo (1942)	
	3	1 33,3	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Do Aurá, Brasil	Almeida y Melo (1942)	
	15	1 7	<i>T. cruzi</i>	Cultivo	Texas	Packchianian, (1942)	
		16	<i>T. cruzi</i>		Mina Gerais, Brasil	Martins et al. (1945)	
			<i>T. cruzi</i>	MO	Venezuela	Mayer et al. (1946)	
			<i>T. cruzi</i>	MO	Estado de Leon México	Aguirre-Pequeño (1947)	
		1	<i>Trypanosoma</i>	MO	Colima, México	Perrin et al. (1947)	
			<i>T. cruzi</i>		México	Mazzotti y Díaz (1949)	
			5,6	<i>T. cruzi</i>	MO	Guayana Francesa	Floch y Abonnenc (1949)
				<i>T. cruzi</i>		Colombia	Renjifo y Osorno (1950)
	22	4 18,2	<i>T. cruzi</i>	MO	Estado do Pará, Brasil	Deane (1961)	
	4	0 0	<i>Trypanosoma</i>	MO Xenodiagnóstico	Salgado, Estado do Pará, Brasil	Deane y Damasceno (1961)	
			<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Colombia	Corredor y Gaitán (1963)	
	4	2 50	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Pará, Brasil.	Deane (1964)	
			21,4	<i>T. cruzi</i>	MO	Venezuela	Pifano (1969)
				<i>T. cruzi</i>	MO	Costa Rica	Zeledon et al. (1970)
	3	0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Paraguay	Canese (1978)	
			5,6	<i>T. cruzi</i>	MO	Costa Rica	Zeledón et al. (1975)
			0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Cultivo	Colombia	Wells et al. (1981)
	16	0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Colombia	Barreto et al. (1985)	
			2	<i>T. cruzi</i>	MO	Salto, Uruguay	Salvatella y González (1986)
80	23 28,8	<i>T. cruzi</i>	Cultivo	Nueva Orleans, Louisiana	Yaeger (1988)		
		1	<i>T. cruzi</i>	Cultivo, tipificación de isoenzimas	Bolivia	Valette et al. (1988)	
1	1 100	<i>T. cruzi</i>	MO. Cultivo Xenodiagnóstico	Estado de Pará, Brasil	Barrett y Naif (1990)		

	98	1	1,1	<i>T. cruzi</i>	Serología	Louisiana	Barr et al. (1991)
	1	0	0	<i>T. cruzi</i>	Aglutinación directa, hemocultivo	San Pedro, Paraguay	Fujita et al. (1994)
	1	0	0	<i>T. cruzi</i>	Cultivo Aislamiento	Estado Río de Janeiro, Brasil	Fernandes et al. (1999)
	2	0	0		MO, Cultivo	Guaiana Francesa	Dereure et al. (2001)
	415	16	3,9	<i>T. cruzi</i>	HAI	Louisiana	Paige et al. (2002)
	38	17	2,6	<i>Trypanosoma</i>	Hemocultivo, Xenodiagnóstico	San Pedro y Chaco Central, Paraguay	Yeo et al. (2005)
		1	3,2	<i>T. cruzi</i> Z3	Hemocultivo, PCR	Cachoeiro do Arari (Estado Pará, Brasil)	Roque et al. (2008)
	9	2	22,2	<i>T. cruzi</i>	MO Serología	Gran Chaco, Bolivia	Deem et al. (2009)
	33	8		<i>Trypanosoma</i>	MO	Colombia	Cañizales y Guerrero (2010)
	61	4	6,5	<i>T. cruzi</i>	PCR	Estado do Espírito Santo, Brasil	Antunes et al. (2013)
	17	1	5,88	<i>T. cruzi</i>	MO Cultivo PCR	Centro para la Conservación de la Fauna Silvestre (CCWF), Ilha Solteira, São Paulo, Brasil	Tenorio et al. (2014)
<i>Euphractus sexcinctus</i>				<i>T. cruzi</i>	MO		Torres (1915)
			50	<i>T. cruzi</i>	MO	Venezuela	Pifano (1969)
	29	10	34,5	<i>Trypanosoma peba</i>	MO. Cultivo Xenodiagnóstico	Estado de Bahía, Brasil	Barrett y Naif (1990)
	2	1	50	<i>T. cruzi</i>	Frotis, Cultivo, Aglutinación directa	Paraguay	Fujita et al. (1994)
	23	4	17,4	<i>Trypanosoma</i>	Hemocultivo, Xenodiagnóstico	San Pedro y Chaco Central, Paraguay	Yeo et al. (2005)
			5		<i>T. cruzi</i> linaje II	Aislamiento, PCR	Estado Río Grande, Brasil
<i>Cabossous unicinctus</i>				<i>T. cruzi</i>	MO		Torres (1915)
<i>T. tetradactylus</i>	12	3	25	<i>Schizotrypanum</i>	MO Xenodiagnóstico	Do Aurá, Brasil	Almeida y Melo (1942)
<i>Dasybus kappleri</i>				<i>T. cruzi</i>	MO	Venezuela	Mayer et al. (1946)
				<i>T. cruzi</i>	MO Cultivo	Colombia	Wells et al. (1981)
	7	2	28,5	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Colombia	Barreto et al. (1985)
	1	0	0	<i>Trypanosoma</i>	MO. Cultivo Xenodiagnóstico	Estado de Pará, Brasil	Barrett y Naif (1990)
	2	0	0		MO, Cultivo	Guaiana Francesa	Dereure et al. (2001)
<i>Tamandua tetradactyla</i>	20	5	25	<i>T. legeri</i>	MO Xenodiagnóstico	Estado do Pará, Brasil	Deane (1961)
	1	0	0	<i>Trypanosoma</i>	MO Xenodiagnóstico	Salgado, Estado do Pará, Brasil	Deane y Damasceno (1961)
	2	0	0	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Pará, Brasil.	Deane (1964)
	2	2	100	<i>Trypanosoma legeri</i>	MO Xenodiagnóstico	Pará, Brasil	Deane (1967)
	17	8	47,1	<i>T. legeri</i>	MO	Panamá	Walton y Sousa

			<i>T. rangeli</i> <i>T. cruzi</i>			(1967)
		14,2	<i>T. cruzi</i>	MO	Panamá	Pipkin (1968)
		14,2	<i>T. cruzi</i>	MO	Panamá	Sousa (1972)
	1	1 100	<i>Trypanosoma rangeli</i>	MO, Cultivo, (MLEE) electroforesis de enzimas multilocus	Guayana Francesa	Dereure et al. (2001)
<i>Cloloepus didactylus</i>	25	2 8 13 52	<i>T. mesnilbrimonti</i> <i>Endotrypanosum schaudinni</i>	MO	Estado do Pará, Brasil	Deane (1961)
<i>Cyclopes didactylus</i>	12	0 0	<i>Trypanosoma</i>	MO	Estado do Pará, Brasil	Deane (1961)
	20	10 50	<i>Endotrypanosum schaudinni</i>	MO Xenodiagnóstico	Salgado, Estado do Pará, Brasil	Deane y Damasceno (1961)
	1	0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Pará, Brasil	Deane (1967)
	4	3 75	<i>Endotrypanum schaudinni</i>	MO, Cultivo, (MLEE)	Guayana Francesa	Dereure et al. (2001)
<i>Bradypus tridactylus</i>	46	0 0	<i>Trypanosoma</i>	MO	Estado do Pará, Brasil	Deane (1961)
	5	0 0	<i>Trypanosoma</i>	MO Xenodiagnóstico	Salgado, Estado do Pará, Brasil	Deane y Damasceno (1961)
	13	0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Pará, Brasil.	Deane (1964)
	12	1 8,33	<i>Trypanosoma rangeli</i>	MO, Cultivo, (MLEE)	Guayana Francesa	Dereure et al. (2001)
<i>Cabassous unicinctus</i>	5	0 0	<i>Trypanosoma</i>	MO	Estado do Pará, Brasil	Deane (1961)
<i>Bradypus infuscatus</i>		14,2	<i>T. cruzi</i>	MO	Panamá	Pipkin (1968)
		14,2	<i>T. cruzi</i>	MO	Panamá	Sousa (1972)
<i>Choloepus hoffmanni</i>			<i>T. cruzi</i>	MO	Panamá	Sousa (1972)
			<i>T. cruzi</i>	MO	Panamá	Sousa y Galindo (1972)
<i>Tolypeutes matacus</i>	4	0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Paraguay	Canese (1978)
	16	0 0	<i>Trypanosoma</i>	Hemocultivo, Xenodiagnóstico	San Pedro y Chaco Central, Paraguay	Yeo et al. (2005)
	9	0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Serología	Gran Chaco, Bolivia	Deem et al. (2009)
<i>Tamandua longicaudata</i>		0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Cultivo	Colombia	Wells et al. (1981)
<i>D. sabanicola</i>		0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Cultivo	Colombia	Wells et al. (1981)
	14	1 7,1	<i>T. cruzi</i>	MO Xenodiagnóstico	Colombia	Barreto et al. (1985)
<i>Priodontus giganteus</i>		0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Cultivo	Colombia	Wells et al. (1981)
<i>Myrmecophaga trydactila</i>		0 0	<i>T. cruzi</i>	MO Cultivo	Colombia	Wells et al. (1981)
<i>Priodontus maximus</i>	16	1 16,6	<i>Trypanosoma</i> sp.	MO Xenodiagnóstico	Colombia	Barreto et al. (1985)
<i>D. hybridus</i>		1	<i>T. cruzi</i>	MO	Artigas, Uruguay	Salvatella y González (1986)
	1	0 0	<i>T. cruzi</i>	Frotis, Cultivo, Aglutinación directa	Paraguay	Fujita et al. (1994)
<i>Bradypus torquatus</i>	2	1 50	<i>T. cruzi</i>	Cultivo Aislamiento	Estado Río de Janeiro, Brasil	Fernandes et al. (1999)
<i>Chaetophractus</i> sp.	28	1 3,6	<i>Trypanosoma</i>	Hemocultivo, Xenodiagnóstico	San Pedro y Chaco Central, Paraguay	Yeo et al. (2005)

Tabla 3: Xenartros investigados para *T. cruzi* en Argentina.

Especies analizadas	N	Positivos n	%	Agente infeccioso	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Chaetophractus vellerosus</i>				<i>T. cruzi</i>		Argentina, Jujuy	Mazza (1929)
				<i>T. cruzi</i>		San Juan	Mazza (1931)
				<i>T. cruzi</i>		Argentina	Mazza (1936)
				<i>T. cruzi</i>		Jujuy	Mazza (1949)
	2	0	0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Santiago del Estero	Wisnivesky-Colli et al. (1992)
				<i>Triatoma Panstrongylus</i>		Varias regiones de la Argentina	Boero (1970)
	1	0	0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Corrientes	Bar et al. (1999).
	9	0	0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Chaco, Impenetrable	Martínez et al. (1983)
	2	0	0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Corrientes	
	3	0	0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Formosa	
	12	1	8	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco (área perturbada)	Orosco et al. (2011)
	16	1	6,3	<i>T. cruzi</i> III	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2013)
		35	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2014b)	
<i>Dasypus hybridus</i>				<i>T. cruzi</i>		Chaco	Mazza (1930)
<i>Dasypus novemcinctus</i>	7		8,26	<i>T. cruzi</i>	MO., Histopatología e inoculación	Santa Fe	Mazza et al. (1931)
				<i>T. cruzi</i>		Santa Fe	Mazza (1949)
				<i>Triatoma Panstrongylus</i>		Varias regiones de la Argentina	Boero (1970)
	5	0	0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Corrientes	Martínez et al. (1983)
	3	0	0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Formosa	Martínez et al. (1983)
	20	10	50	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco (área perturbada) 2008-2010	Orosco et al. (2011)
		1		<i>T. cruzi</i>		Chaco (área protegida) 2008-2010	
		10		<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco (área perturbada)	Orosco et al. (2012)
		1		<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco (área protegida)	Orosco et al. (2012)
	9	6	67	<i>T. cruzi</i> III	Xenodiagnóstico kDNA-PCR	Pampa del Indio (Chaco húmedo)	Alvarado-Otegui et al. (2012).
	26	14	53,8	<i>T. cruzi</i> III	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2013)
			70	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2014b)
<i>Zaedyus pichiy</i>				<i>T. cruzi</i>		Mendoza	Mazza y Miyara (1935)
				<i>T. cruzi</i>		Argentina	Mazza (1949)
				<i>Triatoma Panstrongylus</i>		Varias regiones de la Argentina	Boero (1970)
	25	2	8	<i>T. cruzi</i>	MO, HAI	Mendoza	Superina et al.

						(2009)
<i>C. vellerosus pannosus</i>			<i>T. cruzi</i>		San Juan	Mazza y Driollet (1935)
			<i>T. cruzi</i>		Argentina	Mazza (1949)
<i>Tolypeutes matacus</i>	33	0 0	<i>T. cruzi</i>	MO. Histopatología	Formosa, Chaco Salteño	Mazza (1936)
	12	9 8,3	<i>T. cruzi</i>	MO. Histopatología	Formosa, Chaco Salteño	Mazza (1936)
			<i>T. cruzi</i>		Argentina	Mazza (1949)
			<i>Triatoma Panstrongylus</i>		Varias regiones de la Argentina	Boero (1970)
	8	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Chaco	Martínez et al. (1983)
	3	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Corrientes	
	14	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Formosa	
	15	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Santiago del Estero	Wisnivesky-Colli et al. (1992)
	13	1 8	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco (área perturbada) 2008-2010	Orosco et al. (2011)
		1	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico y PCR	Chaco (área perturbada)	Orosco et al. (2012)
	16	1 12,5	<i>T. cruzi</i> III	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2013)
	8	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2014b)	
<i>C. villosus</i>			<i>T. cruzi</i>		Formosa	Mazza y Oribe (1939)
			<i>T. cruzi</i>		Argentina (no en La Pampa, ni en Misiones)	Mazza (1949)
			<i>Triatoma Panstrongylus</i>		Varias regiones de la Argentina	Boero (1970)
			<i>T. cruzi</i>		Buenos Aires	Carcavallo y Cellis (1975)
	1	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Santiago del Estero	Wisnivesky-Colli et al. (1992)
	1	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Corrientes	Bar et al. (1999).
	1	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2013)
<i>Cabassous unicinctus</i>			<i>T. cruzi</i>		Argentina	Mazza (1949)
			<i>Triatoma Panstrongylus</i>		Varias regiones de la Argentina	Boero (1970)
<i>E. sexcintus</i>		0 0	<i>T. cruzi</i>		Jujuy	Mazza et al. (1931)
	1	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Jujuy	Wisnivesky-Colli et al. (1992)
	1	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Jujuy	Schweigmann et al. (1992)
	1	0 0	<i>T. cruzi</i>	Xenodiagnóstico	Corrientes	Bar et al. (1999)
	5	1 20	<i>T. cruzi</i> III	Xenodiagnóstico PCR	Chaco húmedo	Orosco et al. (2013)

1.6- Chagas en Xenartros en la Provincia de La Pampa

No hay registros previos de la presencia de *T. cruzi* en Xenartros en la provincia de La Pampa. El objetivo general de esta tesis es determinar si *C. villosus* está expuesto a *T. cruzi* y, de estarlo, cuál es su prevalencia.

2- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados así como el área de estudio se indicó en el capítulo 1.

El diagnóstico para la determinación de anticuerpos contra *T. cruzi* se realizó por medio de la prueba de Hemaglutinación Indirecta (Chagatest HAI, Wiener Lab.), de acuerdo a la especificación del fabricante y por medio de ELISAI recombinante v.4.0. (Chagatest, Wiener Lab.).

3- RESULTADOS

De las 150 muestras de suero analizadas por Hemaglutinación Indirecta en *C. villosus*, se encontraron anticuerpos contra *T. cruzi* en el 4% (6/150) de los individuos ($IC_{95\%}=0,8-7,2$). Los títulos a los cuales reaccionaron fueron 1/4 (4), 1/16 (1) y 1/32 (1) (Figura2). Por ELISAI de un total de 14 muestras analizadas, 6 resultaron positivas (las mismas eran positivas por Hemaglutinación) y 8 negativas.



Figura2: Prueba de Hemaglutinación Indirecta: margen derecho inferior (remarcado con línea negra) anteúltima fila control positivo, última fila control negativo.

En cinco sitios de captura (B, B1, C, D1, E) hubo algún *C. villosus* positivo a *T. cruzi*, con prevalencias que variaron entre 3,45% a 12,5% (Tabla 4).

Tabla 4: Presencia de anticuerpos a *T. cruzi* (Tc.), según los distintos sitios de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a Tc.	25	8	15	15	28	5	4	7	2	8	23	4
Cv. pos. a Tc.	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	2	0
Total Cv.	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%)	0	0	6,25	6,25	3,45	0	0	12,5	0	0	8	0

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados, ninguno fue positivo a *T. cruzi* y de las 80/150 hembras, el 4% (6) fueron positivas IC_{95%}: 0,16-1,34, siendo las hembras las más susceptibles a contraer la enfermedad ($p=0,019$; Figura 3).

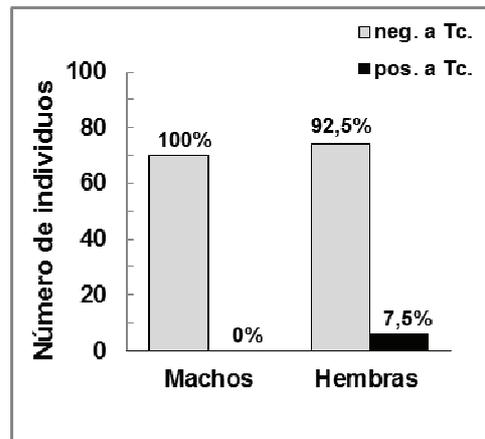


Figura 3: *C. villosus* (Cv.) negativos (neg.) y positivos (pos.) a *T. cruzi* (Tc.) según el sexo de los individuos, en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, 8,7% (2) fueron positivos a *T. cruzi*, en tanto que de los 127 adultos, 3,1% (4) fueron positivos. La infección por *T. cruzi* en *C. villosus* no es afectada por la edad ($p=0,212$; OR: 0,341; Figura 4).

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se hallaron 3,8% (4/106) *C. villosus* positivos a *T. cruzi*, en tanto que en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se hallaron 4,5% (2/44).

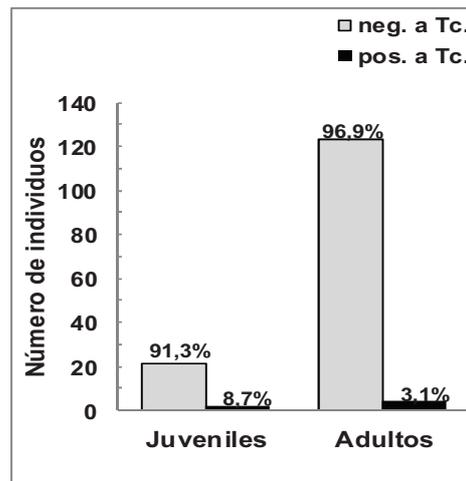


Figura 4: Presencia de anticuerpos a *T. cruzi* (Tc.) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

De los 6 *C. villosus* positivos a *T. cruzi*, 33,3% (2) correspondieron a sitios de captura con presencia de tambo. No se hallaron evidencias estadísticas de asociación entre la presencia de tambo o no con la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en *C. villosus* ($p=0,826$; OR: 1,214; Figura 5).

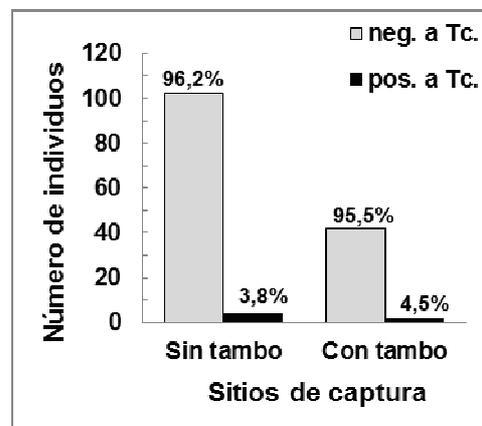


Figura 5: Presencia de anticuerpos a *T. cruzi* (Tc.) según presencia o no de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura donde no había presencia de cerdo (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se hallaron 3,8% (5/132) de los *C. villosus* positivos a *T. cruzi*, en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) se hallaron 5,5% (1/18). De los 6 individuos positivos, el 16,7% (1) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. No se hallaron evidencias estadísticas de asociación entre la presencia o no de cerdos en el sitio de captura y la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en *C. villosus* ($p=0,720$; OR: 1,494; Figura 6).

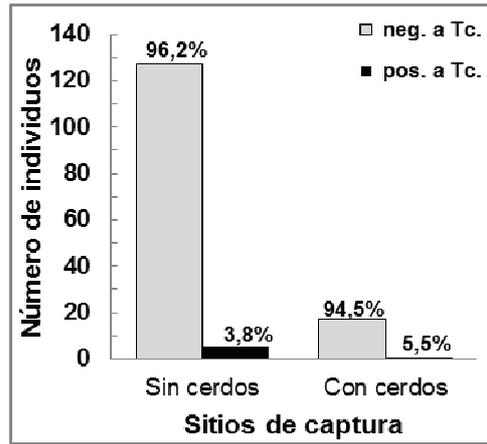


Figura 6: Presencia de anticuerpos a *T. cruzi* (Tc.) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura sin presencia de ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 3,44% (2/58) de los *C. villosus* positivos a *T. cruzi*, mientras que en sitios con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 4,34% (4/92). De los 6 *C. villosus* positivos, 66,67% (4) correspondieron a sitios de captura con presencia de ovinos. No se hallaron evidencias estadísticas de asociación entre la presencia o no de ovinos y la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en *C. villosus* ($p=0,784$; OR: 1,273; Figura 7).

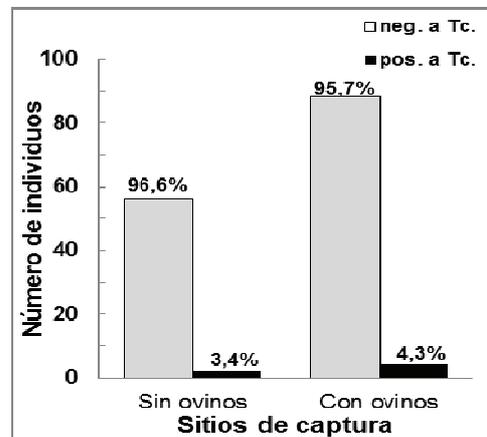


Figura 7: Presencia de anticuerpos a *T. cruzi* (Tc.) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 3,77% (2/53) de los *C. villosus* positivos a *T. cruzi*, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 4,12% (4/97). De los 6 *C. villosus* positivos, 66,67% (4) correspondieron a sitios de captura con presencia de aves de corral. No se hallaron evidencias estadísticas de asociación entre la presencia o

ausencia de aves de corral y la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en *C. villosus* ($p=0,917$; OR: 1,097; Figura 8).

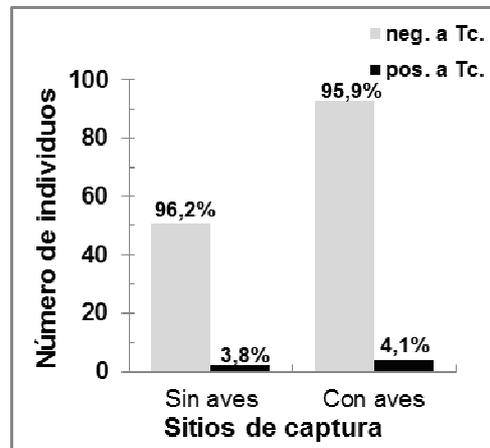


Figura 8: Presencia de anticuerpos a *T. cruzi* (Tc.) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

4- DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran que *C. villosus* se encuentra expuesto al protozoo *T. cruzi*, constituyendo éste el primer registro de la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* en armadillos, en la provincia de La Pampa.

El hallazgo de casos positivos para *T. cruzi* sugiere que *C. villosus* también puede actuar como un posible reservorio de la zoonosis en dicha provincia.

Estos resultados tienen particular significado, dado que, si bien la presencia de anticuerpos detectada en *C. villosus* es baja (4%), se pone de manifiesto por primera vez que el protozoo se encuentra circulando en la provincia de La Pampa (por lo que podría considerarse provincia endémica para la enfermedad de Chagas). Al respecto, cabe destacar que en esta provincia, la Comisión Evaluadora Internacional del INCOSUR certificó la interrupción de la transmisión vectorial de la enfermedad en el 2001 (Blanco 2002) y se recertificó en el 2011 (Mitelman 2011, Ministerio de Salud 2011, OPS/OMS 2012, Gorla 2014).

Asimismo, llamamos la atención respecto a que en el año 1936, el M.E.P.R.A. (Misión de Estudios de Patología Regional Argentina, Mazza 1949) realizó diversas investigaciones en *C. villosus*, para detectar la presencia de *T. cruzi* en gran parte de Argentina, encontrándolos infectados en forma natural, pero en ese momento no se

llevaron a cabo estudios en el Territorio Nacional de La Pampa, ni tampoco en Misiones, para la detección del protozoo, siendo los estudios realizados en esta tesis, los primeros para *C. villosus* (y Xenartros en general) en la provincia de La Pampa.

La mayor predisposición de las hembras de *C. villosus* a estar en contacto con *T. cruzi* podría deberse a que pasan más tiempo en la misma cueva durante la etapa de cuidados de sus crías y es en ese momento donde podrían infectarse, como mencionan Barreto y Barreto (2011).

Si bien la presencia de animales domésticos podría ser un elemento atrayente para que las vinchucas se acerquen a las viviendas humanas, en nuestros resultados no surgió como un factor determinante en la provincia de La Pampa, lo cual podría deberse a las campañas de erradicación del vector que se han llevado a cabo en los últimos años, en donde la presencia de los triatomíneos se ha visto reducida en número (Aguado com. pers.).

Varios autores destacan a los Xenartros como especies importantes como reservorios y hospederos del protozoario. Si bien el consumo de la sangre de armadillos no es un hábito muy frecuente, en algunas regiones se cree que tiene propiedades medicinales, en especial para los asmáticos, por lo que se le suministra a niños, jóvenes y adultos (Barreto y Barreto 2011), con lo cual la ruta oral sería, en estos casos, el medio de contagio para los humanos, y podría poner en grave riesgo la salud de esas personas.

5- CONCLUSIÓN

- Se obtuvo el primer registro de presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* para *Chaetophractus villosus* (y Xenartros) en la provincia de La Pampa.
- Se confirmó la hipótesis que los *C. villosus* están expuestos a *T. cruzi*.
- La presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* sólo se detectó en hembras.
- La presencia de tambo, cerdos, ovinos o aves de corral en los sitios de muestreo no influye en la presencia de *T. cruzi* en *C. villosus* en la provincia de La Pampa.
- Deberá revisarse la certificación de interrupción de transmisión vectorial de la enfermedad de Chagas para la provincia de La Pampa.

6- BIBLIOGRAFÍA

- Acha PN.; Szyfres B. 1977. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica N° 580, Washington Pg. 708.
- Acha PN.; Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 1ra ed. Vol III. Parasitosis. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica N° 580, Washington Pg. 413.
- Aguirre-Pequeño E. 1947. Presencia de *Trypanosoma cruzi* en mamíferos y triatomídeos de Nuevo León. Arch. Med. Mex. 5:350-358. En Velasco-Castrejón O.; Rivas-Sánchez B. 2008. Apuntes para la historia de la enfermedad de chagas en México. Notes for the history of chagas' disease in México. Bol. Med. Hosp. Infant Mex. 65:57-79. <http://www.medigraphic.com/pdfs/bmhim/hi-2008/hi081j.pdf>
- Alvarado-Otegui JA.; Ceballos LA.; Orozco MM.; Enriquez GF.; Cardinal MV.; Cura C.; Schijman AG.; Kitron U.; Gürtler RE. 2012. The sylvatic transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* in a rural area in the humid Chaco of Argentina. Acta Trop. 124:79-86.
- Almeida R.; Melo GB. 1942. Contribuição ao estudo da Tripanosomiase Americana. Mem. I. Oswaldo Cruz 37(1):77-93.
- Antunes JMAP.; Demoner L. de C.; Martins IVF.; Zanini MS.; Deps P. 2013. *Trypanosoma cruzi* infection in nine-banded armadillos from Espírito Santo State, Brazil infecção por *Trypanosoma cruzi* em tatus-galinha no estado do Espírito Santo, Brasil. Revista Científica eletrónica de Medicina Veterinaria. XI N° 20. <http://www.revista.inf.br/veterinaria20/artigos/AE201209.pdf>
- Barr SC.; Brown CC.; Dennis VA.; Klei TR. 1991. The lesions and prevalence of *Trypanosoma cruzi* in opossums and armadillos from Southern Louisiana. J. Parasitol. 77(4):624-627.
- Bar ME.; Alvarez BM.; Oscherov EB.; Damborsky MP.; Jörg ME. 1999. Contribución al conocimiento de los reservorios del *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) en la provincia de Corrientes, Argentina. Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 32(3):271-276.
- Barreto M.; Barreto P.; D'alessandro A. 1985. Colombian Armadillos: Stomach Contents and Infection with *Trypanosoma cruzi*. J. Mamm. 66(1):188-193.

- Barreto M.; Barreto P. 2011. *Trypanosoma cruzi* en armadillos. En Basualdo J.; Cacchione R.; Durlach R.; Martino P.; Seijo A. (eds.) Temas de zoonosis 5, AAZ. Ed. Ideográfica, Argentina. 21:189-194.
- Barrett TV.; Naiff RD. 1990. Trypanosomes of the subgeneres *Megatrypanum* from armadillos (Xenarthra: Dasypodidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz 85(4):407-411.
- Benenson AS. (ed.). 1997. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. OPS. 16ª edición. Washington. Publicación Científica N° 564. Pg. 541.
- Blanco SB. 2002. Programa Nacional de Control de la Enfermedad de Chagas en Argentina. <http://www.fac.org.ar/fec/chagas2/llave/md2/md202/blanco.htm>
- Boero JJ. 1970. Parasitosis animales. Protozoosis. Tomo II. Editorial Universitaria de Buenos Aires Pg. 89-264.
- Brigada AM.; Doña R.; Caviedes-Vidal E.; Moretti E.; Basso B. 2010. American tripanosomiasis: a study on the prevalence of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma cruzi*-like organisms in wild rodents in San Luis province, Argentina. Tripanosomiasis americana: um estudo sobre a prevalência do *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma cruzi*-like em roedores silvestres da provincia de San Luis, Argentina. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 43(3):249-253.
- Canese A. 1978. Datos actualizados sobre conocimiento epidemiológico de la enfermedad de Chagas en el Paraguay. Rev. Parag. Microb. 13:7-19. En Acosta N.; López E. 2013. Reservorios mamíferos del *Trypanosoma cruzi* en Paraguay. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud 11(2):90-96.
- Cañizalest I.; Guerrero R. 2010. Parásitos y otras enfermedades transmisibles de la fauna cinegética en Venezuela. Simposio: Investigación y Manejo de la Fauna Silvestre en Venezuela, Homenaje al " Dr. Juhuni Ojasti". Agosto 2010. Pg. 97-108.
- Carcaballo RU.; Cellis R. 1975. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos- Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds.) Carcaballo RU.; Rabinovich JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>
- Ceballos LA.; Cardinal MV.; Vazquez-Prokopec GM.; Lauricella MA.; Orozco MM.; Cortinas R.; Schijman AG.; Levin MJ.; Kitron U.; Gürtler RE. 2006. Long-term reduction of *Trypanosoma cruzi* infection in sylvatic mammals following deforestation and sustained vector surveillance in northwestern Argentina. Acta Trop. 98(3):286-296.

- Ceballos LA. 2010. Ciclo silvestre de transmisión de *Trypanosoma cruzi* en el noroeste de Argentina. Tesis Doctoral. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_4703_Ceballos.pdf
- Cecere MC; Cardinal MV.; Arrabal JP.; Moreno C.; Gürtler RE. 2015. *Microcavia australis* (Cavidae, Rodentia), a new highly competent host of *Trypanosoma cruzi* in rural communities of northwestern Argentina. *Acta Trop.* 142:34-40
- Chagas C. 1912. Sobre un trypanosome do tatu (*Tatusia novemcincta*), transmitido pela *Triatoma geniculata*, Latr (1811). Possibilidade de ser o tatu un depositirio do *Tripanosoma cruzi* no mondo exterior. *Brasil Méd.* 26:305-306. En Escobar Gutiérrez A.; Amescua de Bernés ME. 1983. El armadillo: un nuevo animal de experimentación para el estudio de las zoonosis. *Ciencia Veterinaria* 3:199-229. <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol3/CVv3c07.pdf>
- Chagas C. 1918. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos- Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds.) Carcaballo RU.; Rabinovich JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>
- Clark HC.; Dunn LH. 1932. Experimental studies on Chagas disease in Panamá. *Am. J. Trop. Med.* S1-12(1):49-77.
- Corredor A.; Gaitán A. 1963. *Dasybus novemcinctus* infestado con *Schizotrypanum cruzi* en condiciones naturales. *Rev. Fac. Med. (Bogotá)* 31:59-64. En Barreto M.; Barreto P.; D'alessandro A. 1985. Colombian Armadillos: Stomach Contents and Infection with *Trypanosoma cruzi*. *J. Mamm.* 66(1):188-193.
- Corriale MJ.; Orozco MM.; Jiménez Pérez I. 2013. Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los Esteros del Iberá. *Mastozoología Neotropical* 20(1):31-45.
- Deane LM. 1961. Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. I- Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3(1):15-28. http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/memo_iec/v7p287-317.pdf
- Deane LM.; Damasceno RG. 1961. Tripanosomídeos de mamíferos de Região Amazônica. II- Tripanosomas de macacos da zona do Salgado, Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 3(2):61-70.

- Deane LM. 1964. Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. III- Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres dos arredores de Belém, Pará. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 6(5):225-232.
- Deane LM. 1967. Tripanosomídeos de mamíferos da Região Amazônica. IV- Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres da Estrada Belém-Brasília. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 9(3):143-148.
- Demm SL.; Noss AJ.; Fiorello CV.; Manharth AL.; Robbins RG.; Karesh WB. 2009. Health assessment of free-ranging three-banded (*Tolypeutes matacus*) and nine-banded (*Dasypus novemcinctus*) armadillos in the Gran Chaco, Bolivia. J. Zoo Wild. Med. 40(2):245-256.
- Dereure J.; Barnabé C.; Vié JC.; Madélenat F.; Raccurt C. 2001. Trypanosomatidae from wild mammals in the neotropical rainforest of French Guiana. Ann. Trop. Med. Parasit. 95(2):157-166.
- Fernandes O.; Mangia RH.; Lisboa CV.; Pinho AP.; Morel CM.; Zingales B.; Campbell DA.; Jansen AM. 1999. The complexity of the sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi* in Rio de Janeiro state (Brazil) revealed by the nontranscribed spacer of the miniexon gene. Parasitol. 118:161-166.
- Ferreira H.; Uhart MM.; Romano MC.; Beldoménico PM.; Sanmartino L.; Paolicchi F.; Lauricella M.; Jorge MC.; Schettino A.; Guida N.; Martín AM. 2007. Inmovilización química y evaluación de salud de vizcachas salvajes (*Lagostomus maximus*) en el Chaco árido argentino. Arq. Ciénc. Vet. Zool. Unip. Umuarama 10(2):91-99.
- Floch; Abonnenc. 1949. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos- Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds.) Carcaballo RU.; Rabinovich JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>
- Fujita O.; Sanabria L.; Inchausti A.; De Arias AR.; Tomizawa Y.; Oku Y. 1994. Animal reservoirs for *Trypanosoma cruzi* infection in an endemic area in Paraguay. J. Vet. Med. Sci. 56:305-308.
- Gorla DE. 2014. Ecología y control de *Triatoma infestans* en comunidades rurales del noreste Argentino. III Congreso Panamericano de Zoonosis y VIII Congreso Argentino de Zoonosis. Del 4 al 6 de junio de 2014. La Plata. CD.
- Marcili A.; Lima L.; Valente VC.; Valente SA.; Junqueira ACV.; Batista JS.; Souza AI.; da Rosa JA.; Campaner M.; Lewis MD.; Llewellyn MS.; Miles MA.; Teixeira MMG.

2009. Comparative phylogeography of *Trypanosoma cruzi* TCHc: New hosts, association with terrestrial ecotopes, and spatial clustering. *Infect. Genet. Evol.* 9:1265-1274.
- Martínez FA.; Gauna-Añasco LG.; Resoagli EH. 1983. Las especies de Dasypodidae como reservorios de la enfermedad de Chagas en el nordeste argentino (Mammalia: Edentata). *Gaceta Veterinaria.* 45: 376-383.
- Martins AV.; Versiani V.; Tupinambá A. 1945. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos- Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds.) Carcaballo RU.; Rabinovich JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>
- Mayer M.; Pifano FC.; Medina R. 1946. Aspectos epidemiológicos de la enfermedad de chagas en Venezuela. Editorial Grafoli Caracas. N° 30. Pg. 1-57.
- Mazza S. 1929. Chagas disease in the Argentine Republic. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 47(1-2):289-302.
- Mazza S. 1930. Acerca de la infección espontánea de la mulita por el *Trypanosoma cruzi* en el Norte Argentino. Comprobación en el miocardio y pulmón de los "gigantocitos quísticos" de Magarinos Torres. *La Prensa Médica Argentina* 17:49-54. En Bar ME.; Alvarez BM.; Oscherov EB.; Damlorsky MP.; Jörg ME. 1999. Contribución al conocimiento de los reservorios del *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) en la provincia de Corrientes, Argentina. *Rev. da Soc. Brasil. Med. Trop.* 32(3):271-276.
- Mazza S. 1931. Chagas disease in the Argentine Republic. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 47(1-2):289-302.
- Mazza S.; Romaña C.; Schurmann K. 1931. Nuevas observaciones sobre la infección espontánea de armadillos del país por el *Trypanosoma cruzi*. Hallazgo de este flagelado en *Dasypus novemcinctus* Lin. Del Chaco santafecino. Cuarta nota. *Prensa Méd. Arg.* 17:1350-1357.
- Mazza S.; Driollet E. 1935. Comprobación de otras especies de armadillos en San Juan con infección por *Schizotrypanum cruzi*. *Mepra* 25:3-11.
- Mazza S.; Miyara JS. 1935. Sobre el hallazgo de un nuevo edentado huésped natural, de *Schizotrypanum cruzi* en la provincia de Mendoza. *Mepra* 22:11-16. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos- Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds.) Carcaballo RU.; Rabinovich

- JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>
- Mazza S. 1936. Comparaciones de casos agudos de enfermedad de Chagas en nuevas partes de la zona biológica chaqueña (Formosa, Chaco Salteño). Hallazgo epidemiológico especial de la región. *Mepra*, 27:3-47.
- Mazza S.; Schreiber F. 1938. Hallazgos en el Departamento de Obligado, Santa Fé, de otra especie de mustélido infectado con *Schizotrypanum cruzi*, de *Triatoma infestans* infectados en nidos de comadrejas; de *Triatoma platensis* infectados en nidos de psitácidos y de *Psammolestes coreodes* sin infestación en nidos de dendrocoláptidos. Misión de Estudios de Patología Regional Argentina. Universidad de Buenos Aires 34:17-35. En Bar ME.; Alvarez BM.; Oscherov EB.; Damlorsky MP.; Jörg ME. 1999. Contribución al conocimiento de los reservorios del *Tripanosoma cruzi* (Chagas, 1909) en la provincia de Corrientes, Argentina. *Rev. da Soc. Brasil. Med. Trop.* 32(3):271-276.
- Mazza S.; Oribe HR. 1939. Distribución en Formosa de vectores, depósitos parasitarios y casos clínicos de enfermedad de Chagas. VII Congr. Nac. Med, Córdoba 3:114-121.
- Mazza S. 1949. La enfermedad de Chagas en la República Argentina. *Mem. I. Oswaldo Cruz* 47(1-2):273-288.
- Mazza S. 1949. Chagas disease in the Argentine Republic. *Mem. I. Oswaldo Cruz* 47(1-2):289-302.
- Mazzotti L.; Dias E. 1949. Resumen de los publicados sobre enfermedad de Chagas y México. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 10(1-4):103-111. En Tay J.; Oni-iveros D.; Ortega M.; Torres J. 1969. Estado actual de los conocimientos sobre infección en vertebrados por la enfermedad de Chagas en México. *B. Ofi. Sanit. Panam.* 310-314.
- Ministerio de Salud. 2011. Expertos Internacionales certifican a Misiones como libre de Chagas. <http://www.msal.gov.ar/chagas/index.php/component/content/article/4-destacados-slide/84-las-enfermedades-vectoriales-en-la-agenda-internacional>
- Mitelman JE. 2011. Consenso de enfermedad de Chagas-Mazza. *Rev. Arg. Card.* 79(6):544-564.
- Noireau F.; Diosque P.; Jansen AM. 2009. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. *Vet. Res.* 40:26. DOI: 10.1051/vetres/2009009
- OPS/OMS (Organización Panamericana de la Salud y Ministerio de Salud de la Nación. 2012. Siete provincias de Argentina interrumpieron la transmisión del Chagas.

- http://www.paho.org/arg/index.php?option=com_content&view=article&id=1013:siete-provincias-argentina-interrumpieron-transmision-chagas&Itemid=268
- Orozco MM.; Enriquez G.F.; Albarado-Otegui JA.; Ceballos LA.; Maffey L.; Cardinal MV.; Gurtler RE. 2011. *Trypanosoma cruzi* en mamíferos silvestres del Chaco Argentino: ambientes rurales perturbados vs. Áreas protegidas. I Congreso Internacional de Zoonosis y enfermedades Emergentes. VII Congreso Argentino de Zoonosis. Resumen.
- Orozco MM.; Enriquez G.; Albarado-Otegui J.; Maffey L.; Cardinal MV.; Gurtler RE. 2012. *Trypanosoma cruzi* en mamíferos silvestres del Chaco Argentino: ambientes rurales perturbados vs. Áreas protegidas. RAZ y EIE. 7(3):35-36.
- Orozco MM.; Enriquez GF.; Alvarado-Otegui JA.; Cardinal MV.; Schijman AG.; Kitron U.; Gürtler RE. 2013. New sylvatic hosts of *Trypanosoma cruzi* and their reservoir competence in the humid Chaco of Argentina: a longitudinal Study. Am. J. Trop. Med. Hyg. 88(5):872-882.
- Orozco MM.; Piccinali RV.; Mora MS.; Enriquez GF.; Cardinal MV.; Gürtler RE. 2014a. The role of sigmodontine rodents as sylvatic hosts of *Trypanosoma cruzi* in the Argentinean Chaco. Infect. Genet. Evol. 22:12-22.
- Orozco MM.; Enriquez GF.; Ceballos LA.; Cardinal MV.; Gürtler RE. 2014b. Reservorios silvestres de *Trypanosoma cruzi* en el Chaco Argentino. 2002-2011. RAZyEIE 9(3):35-36.
- Packchianian A. 1942. Reservoir hosts of Chagas diseases in the State of Texas. Natural infection of nine banded armadillo (*Dasypus novemcinctus texanus*), house mice (*Mus musculus*), opossum (*Didelphis virginiana*), and wood rats (*Neotoma micropus micropus*), with *Trypanosoma cruzi* in the state of Texas. Am. J. Trop. Med. 22:623-631.
- Paige CF.; Scholl DT.; Truman RW. 2002. Prevalence and incidence density of *Mycobacterium leprae* and *Trypanosoma cruzi* infections within a population of wild nine-banded armadillos. Am. J. Trop. Med. Hyg. 67(5):528-532.
- Perrin TG.; D'as E.; Brenes M. 1947. Nota prévia sôbre as primeiras comprovações sorológicas da doença de Chagas no México. Mem. Inst. Os. Cruz 45(2):398-400.
- Picollo MI.; Vassena C.; Orihuela PS.; Barrios S.; Zaidemberg M.; Zerba E. 2005. High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. J. Med. Entomol. 42(4):637-642.

- Pifano. 1969. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos- Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds.) Carcaballo RU.; Rabinovich JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>
- Pipkin. 1968. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos- Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds.) Carcaballo RU.; Rabinovich JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>
- Renjifo S.; Osorno E. 1950. *Dasyopus novemcinctus* procedente de Ocoa, Villavicencio, Meta, naturalmente infectado con *Trypanosoma cruzi* Chagas. Rev. Academia Ciencias Exactas Físicas Naturales (Bogotá), 7:548-550. En Barreto M.; Barreto P.; D'alessandro A. 1985. Colombian Armadillos: stomach contents and infection with *Trypanosoma cruzi*. J. Mamm. 66(1):188-193.
- Rodríguez Coura J.; Veríssimo Junqueira AC.; de Carcalho Moreira CJ.; Borges Pereira J.; Viñas PA. 2007. La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral. (ed. OPS y Mundo Sano). Capítulo Historia y futuro de la enfermedad de Chagas. Uma visão sistémica da endemia chagásica. Pg. 25-36.
- Roque ALR.; Xavier SCC.; da Rocha MG.; Duarte ACM.; D'Andrea PS.; Jansen AM. 2008. *Trypanosoma cruzi* transmission cycle among wild and domestic mammals in three areas of orally transmitted Chagas disease outbreaks. Am. J. Trop. Med. Hyg. 79(5):742-749.
- Salvatella R.; González J. 1986. Reservorios animales de *Trypanosoma cruzi* en Uruguay. Rev. Méd. Uruguay 2:101-105.
- Schweigmann NJ.; Alberti A.; Pietrokovsky S.; Conti O.; Riarte A.; Montoya S.; Wisnivesky-Colli C. 1992. A new host de *Trypanosoma cruzi* from Jujuy, Argentina. *Octodontomys gliroides* (Gervais and D'orbigny, 1844) (Rodentia, Octodontidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 87:217-220.
- Schweigmann NJ.; Pietrokovsky S.; Bottazzi V.; Conti O.; Bujas MA.; Wisnivesky-Colli C. 1999. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in opossum (*Didelphis albiventris*) in Santiago del Estero, Argentina. Rev. Panam. Salud Pública/ Pan. Am. J. Public. Health 6(6):371-377.

- Sousa OE. 1972. Anotaciones sobre la enfermedad de Chagas en Panamá. Frecuencia y distribución de *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. Rev. Biol. Trop. 20(2):167-197.
- Sousa OE.; Galindo. 1972. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos- Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds) Carcaballo RU.; Rabinovich JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>
- Superina M.; Garner MM.; Aguilar RF. 2009. Health evaluation of free-ranging and captive pichis (*Zaedyus pichiy*; Mammalia, Dasypodidae), in Mendoza. J. Wildlife. Diseases. 45(1):174-183.
- Tenório MS.; Oliveira e Sousa L.; Alves-Martin MF.; Paixão MS.; Rodrigues MV.; Starke-Buzetti WA.; Araújo Junior JP.; Luchei SB. 2014. Molecular identification of trypanosomatids in wild animals. Vet. Parasitol. 203-206.
- Teixeira ARL.; Hecht MM.; Guimaro MC.; Sousa AO.; Nitz N. 2011. Pathogenesis of Chagas' Disease: Parasite Persistence and Autoimmunity. Clin. Microbiol. Rev. 24(3):592-630.
- Torres M. 1915. Alguns fatos que interesan a epidemiologia da molestia de Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 7:120-138. En Escobar Gutiérrez A.; Amescua de Bernés ME. 1983. El armadillo: un nuevo animal de experimentación para el estudio de las zoonosis. Ciencia Veterinaria 3:199-229.
- Valette E.; Breniere SF.; Le Pont F.; Desjeux P. 1988. Zymodemes of *Trypanosoma cruzi* isolated from wild mammals in Bolivia. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 83(1):139-140.
- Walton BC.; Sousa OE. 1967. Trypanosomes of the lesser anteater, *Tamandua tetradactyla*, from Panamá. J. Parasitol. 53(5):956-961.
- Wells EA.; D'Alessandro A.; Morales GA.; Angel D. 1981. Mammalian wildlife diseases as hazards to man and livestock in an area of the llanos orientales of Colombia. J. Wildlife. Dis. 17(1):153-162.
- Wisnivesky-Colli C.; Schweigmann NJ.; Alberti A.; Pietrokovsky SM.; Conti O.; Montoya S.; Riarte A.; Rivas C. 1992. Sylvatic American trypanosomiasis in Argentina. *Trypanosoma cruzi* infection in mammals from the Chaco forest in Santiago del Estero. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 86(1):38-41.

- Woo PTK.; Soltys MA. 1970. Animals as reservoir hosts of human trypanosomes. J. Wildlife Dis. 6:313-322.
- Yaeger RG. 1988. The prevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in armadillos collected at a site near New Orleans, Louisiana. Am. J. Trop. Med. Hyg. 38:323-326.
- Yeo M.; Acosta N.; Llewellyn M.; Sanchez H.; Adamson S.; Miles GAJ.; López E.; González N.; Patterson JS.; Gaunt MW.; Rojas de Arias A.; Miles MA. 2005. Origins of chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II including hybridus. Int. J. Parasitol. 35(2):225-233.
- Zaidenberg M. 2012. Evolución de la infestación en un área de triatomíneos resistentes a piretroides, Salvador Mazza, Salta, Argentina. Rev. Arg. Zoonosis y Enf. Inf. Emergentes 7(3):3-13.
- Zeledón R.; Solano G.; Saenz G.; Swartzwelder JC. 1970. Wild Reservoirs of *Trypanosoma cruzi* with special mention of the opossum, *Didelphis marsupialis*, and its Role in the Epidemiology of Chagas' Disease in an endemic area of Costa Rica. J. Parasit. 56:38. En Woo PTK.; Soltys MA. 1970. Proceedings Annual Conference. Animals as reservoir hosts of human Trypanosomes. J. Wildlife Dis. 6:313-322.
- Zeledón R.; Solano G.; Burstin L.; Swartzwelder JC. 1975. En Pereira Barreto M. 1985. Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas. Tomo II Parásitos-Reservorios- control- Situación Regional. Capítulo XXII Reservorios del *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas-1909. (eds.) Carcaballo RU.; Rabinovich JE.; Tonn RJ. Pg. 275-288. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/eco/018882-II/018882-22.pdf>

CAPITULO X: TRIQUINELOSIS

1- INTRODUCCIÓN

El nematodo causante de la triquinelosis fue descubierto en el tejido muscular de cadáveres humanos en Londres, por James Paget y Richard Owen, quienes lo denominaron *Trichina spiralis*, pero posteriormente fue reclasificado como *Trichinella spiralis* (Steffan 2006). En Argentina, los primeros informes de triquinelosis humana se realizaron a partir de 1898 en Buenos Aires (Ribicich et al. 2005).

La triquinosis o trichinellosis es causada por el consumo de carne infectada con larvas de *Trichinella* que se encuentran en el tejido muscular. Se trata de una zoonosis cosmopolita, que sólo está ausente en Antártida (Pozio 2007).

En la actualidad se han descrito 9 especies asignadas al género *Trichinella*: *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. britovi*, *T. pseudospiralis*, *T. murrelli*, *T. nelsoni*, *T. papuae*, *T. zimbabwensis*, *T. patagoniensis* (Pozio 2000, Pence et al. 2001, Valencia et al. 2003, Boireau et al. 2007, Bruschi 2012, Krivokapich et al. 2012a, Krivokapich et al. 2015, Lopes et al. 2015) y tres genotipos: T6, T8, T9 (Murrel y Pozio 2000, Caracostantogolo y Martínez 2009). Solo *T. pseudospiralis* (T4), *T. papuae* (T10) y *T. zimbabwensis* (T11) son especies no encapsuladas, siendo el resto encapsuladas (Bruschi 2012).

La triquinelosis afecta principalmente a animales carnívoros. El hombre puede infectarse en forma natural por cualquiera de las especies de *Trichinella*, con excepción de *T. zimbabwensis* (Caracostantogolo y Martínez 2009).

T. spiralis (T1) se transmite y mantiene en el ciclo doméstico, aunque puede estar presente en la fauna silvestre, mientras que las otras especies se transmiten y mantienen solo en un ciclo silvestre (Pozio 2000). Las especies de ciclo silvestre pueden invadir el hábitat doméstico. Asimismo, las del hábitat doméstico pueden regresar al silvestre.

Se han descrito infecciones naturales en unas 150 especies de mamíferos Marsupiales, Insectívora, Xenarthra, Chiroptera, Lagomorpha, Rodentia, Cetácea, Carnívora, Perissodactyla, Artiodactyla y Primates (Caracostantogolo y Martínez 2009).

En los animales herbívoros no es común hallar este nematode en sus fibras musculares, pero se han reportados casos de infección natural y en forma experimental en *Lepus europaeus* (Zimmermann 1971, Krivokapich et al. 2012b).

En la actualidad, la triquinosis humana y animal es considerada como una enfermedad emergente o reemergente en varios países (Pozio 2001, Cui et al. 2013). Esta reemergencia podría relacionarse con la reciente descripción de nuevas especies de animales silvestres en su ciclo de vida, lo cual habría aumentado el riesgo de infección humana debido al consumo de carne de animales silvestres, como por ejemplo en Canadá, Estados Unidos, Rusia y Lituania; o de animales domésticos como el caballo, en Francia e Italia o por el consumo de perros, en China (García et al. 2005, Pozio 2015).

El hombre y diversos animales domésticos y sinantrópicos como cerdos, perros, gatos, caballos, roedores y otros animales silvestres, son los hospedadores susceptibles señalados con mayor frecuencia en la bibliografía (Ribicich et al. 2004).

En Argentina se ha registrado la presencia de tres especies de *Trichinella*, *T. spiralis*, hallada en el hombre y en una gran variedad de animales (Valencia et al. 2003), *T. patagoniensis*, encontrada en *Puma concolor* (Krivokapich et al. 2012a) y *T. pseudospiralis*, descubierta en un cerdo en El Calafate, Santa Cruz (Krivokapich et al. 2015).

En *Chaetophractus villosus* se ha reportado que es receptivo a *Trichinella* en condiciones experimentales (Niño 1937, Boero 1970), como así también casos de infección natural (Neghme y Schenone 1970, Tesón et al. 1997, Huici et al. 1999, Pozio y Murrell 2006, Krivokapich et al. 2006, Ribicich et al. 2010).

1.1- Ciclo biológico

Trichinella es un parásito de ciclo directo. En la naturaleza se han diferenciado tres ciclos biológicos: el doméstico, el sinantrópico y el silvestre (Pozio 2000). En el ciclo doméstico intervienen el cerdo y el caballo, en los países en que los caballos se crían para consumo humano. La infección en cerdos se mantiene mediante el suministro de carroña o de alimentos con residuos crudos de faena y por canibalismo (Hanbury et al. 1986). En el caso de los caballos criados para consumo humano, suelen recibir en la etapa previa a la comercialización un suplemento alimentario basado en carne y grasa de cerdo. De esta forma los caballos pueden adquirir la infección y así transformarse en fuente de contagio, si su carne se utiliza en alimentos sin cocción (Caracostantogolo y Martínez 2009).

En el ciclo sinantrópico participan ratas, perros, gatos, comadrejas y armadillos. Los cereales o ensilados que contengan restos de roedores contaminados con *Trichinella* pueden actuar como fuente de infección en criaderos de cerdos, aún en los bien manejados.

Las ratas pueden ser hospedadores accidentales de *Trichinella*, debido al consumo de restos de cerdos infectados (Stojcevic et al. 2004).

En el ciclo silvestre la infección se mantiene por depredación o por consumo de carroña. Cuando los animales silvestres se acercan a los poblados, pueden infectarse con las especies propias del ciclo doméstico, por depredación de animales sinantrópicos infectados (Pozio 2000, Pozio y Murrell 2006) o por el consumo de desechos de carne cruda infectada proveniente de los domicilios o industrias alimentarias (Figura 1).

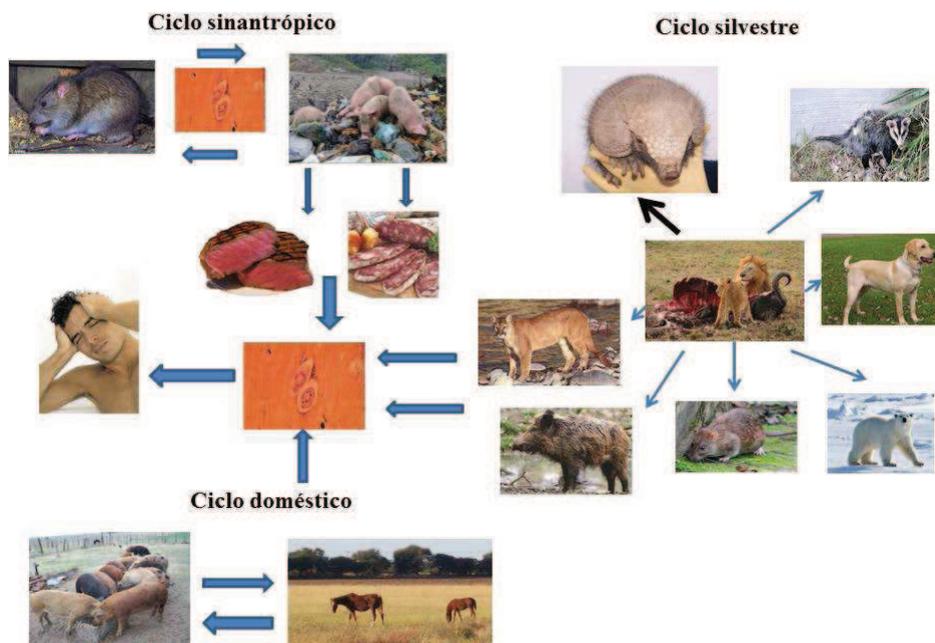


Figura 1: Ciclo de *Trichinella* sp.

El ciclo se inicia cuando un hospedador (humanos, cerdos, caballos, etc.) ingiere carne infectada con larvas enquistadas y viables de *Trichinella*, las que son liberadas en el estómago por medio de la acción del jugo gástrico, luego pasan al intestino delgado, de allí invaden la pared epitelial y después de cuatro mudas alcanzan la madurez sexual (unas 30 horas). A la semana de la infección se produce la copulación y posteriormente la hembra libera numerosas larvas, durante unas cuatro a dieciséis semanas; después de la reproducción, los adultos mueren y son digeridos (Aiello y Mays 2000).

Las larvas recién nacidas, que llegan a medir 0,08 mm a 1,2 mm de longitud por 0,05 a 0,06 mm de diámetro (Valenzuela 1981), penetran en la submucosa y se distribuyen a través del sistema circulatorio a diversos órganos, causando daño tisular, pero solo persisten aquellas que invaden las fibras musculares esqueléticas (Benenson 1997); en el músculo esquelético inducen la formación de una cápsula de colágeno, en cuyo interior se

enquistan, aumentando de tamaño (alrededor de 1 mm por 0,04 mm), desarrollándose así la fase infecciosa, aproximadamente entre los 21 y 30 días después de la infección (Valenzuela 1981, Bruschi 2012). La calcificación de los quistes ocurre a los 9 meses, pudiendo permanecer larvas viables dentro de ellos por espacio de 40 años en humanos y 11 años en el cerdo (Valenzuela 1981).

El hombre es biológicamente un hospedador accidental, en el que el parásito no encuentra salida para continuar el ciclo (Acha y Szyfres 2003). El ciclo cerdo/hombre es el que reviste mayor importancia epidemiológica.

1.2- Resistencia

Los adultos y las mudas de las larvas son destruidos por los jugos gástricos del hospedador (Boero 1970).

Bajo condiciones medioambientales adecuadas las larvas pueden seguir siendo infectivas (Barrientos y Torres 1982). Se ha observado que larvas de *T. spiralis* enquistadas en los músculos de cerdos que han sido enterrados, permanecen con capacidad infectante durante unos 90 días y, dentro de los cadáveres al aire libre, durante casi dos meses (Jovic et al. 2001).

Las larvas libres de *T. spiralis* permanecen viables a -30°C unos 61 días, a -20°C unos 160 días, a 4°C unos 280 días, a 20°C unos 465 días y la destrucción por calor se logra a los 90°C; mientras que en las larvas enquistadas la viabilidad a -30°C es de unos 95 días, a -20°C 180 días, a 4°C 330 días, a 20°C 590 días y la destrucción del 100% de las larvas se logra a los 100°C (Randazzo et al. 2011).

1.3- Síntomas

En humanos, cuando las infecciones se producen con un número bajo de larvas, normalmente pasan inadvertidas y las larvas solo son halladas cuando se realizan necropsias (Caracostantogolo y Martínez 2009).

En los humanos la sintomatología es variable, se puede observar en las etapas iniciales fiebre, eosinofilia, hemorragia subconjuntival, mialgias, diarrea, dolor abdominal, náuseas, cefaleas, edema facial, debilidad, malestar, erupción dérmica, tos, vómitos, dolor pectoral y, en la fase final del cuadro clínico, perturbaciones cardíacas y signos neurotóxicos (Boero 1970, Caracostantogolo y Martínez 2009).

En la mayoría de los animales salvajes y domésticos la enfermedad no es diagnosticada (Aiello y Mays 2000). En los roedores la presencia de *Trichinella* puede alterar su comportamiento, lo cual los haría más fácil de capturar, ya sea por cerdos o por mamíferos carnívoros. Estos, al ingerir los roedores infectados, reiniciarían el ciclo (Fariña et al. 2012).

1.4- Triquinelosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina

Se ha identificado la presencia de *Trichinella* en animales silvestres en diversas localidades de la Argentina (Tabla 1). En particular, la provincia de La Pampa es considerada provincia endémica para la triquinelosis.

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *Trichinella* en Argentina.

Especies examinadas	n	Positivos n	agente %	Test	Localidad	Referencia bibliográfica	
<i>Lycalopex gymnocercus</i> (= <i>Dusicyon gracilis</i>) (a)	8	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Provincia de Buenos Aires	Huici et al. (1999)
	3	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Ascasubi y Azul (Bs. As)	Ribicich et al. (2010)
<i>Sus scrofa</i>	8	4	50	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Departamento Lacar (Neuquén)	Tesón et al. (1997)
	12	3	25	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial PCR	Córdoba, Río Negro, Chubut, Neuquén y Bs. As	Ribicich et al. (2010)
	16			<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Neuquén	REC 1167 (2013)
	233	7	3	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Junín y San Martín de Los Andes	REC 1167 (2013)
	7	7	100	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial, PCR	Departamento Utracán (L.P.)	Villamil et al. (2013)
	80	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Bahía Samborombón (Bs. As.)	Carpinetti et al. (2014)
	422	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Valle Medio de Río Negro	Crowley et al. (2015)
	89	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	97 de Santa Fe, 5 de Corrientes, 1 de Entre Ríos y 2 de La Pampa.	Bono Battistoni et al. (2015)
<i>S. scrofa</i> cruza con cerdo doméstico	20						
<i>Didelphys azarae</i>	1	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Provincia de Buenos Aires	Huici et al. (1999)
<i>Mus musculus</i>	26	4	15,38	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial - PCR	Sierra Grande (Río Negro)	Larrieu et al. (2004)
<i>Rattus norvegicus</i>	152	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Exaltación de la Cruz, Bs. As.	Gómez Villafañe et al. (2004)
	66	9	13,6	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial PCR	Ascasubi, Azul y 9 de Julio (Bs. As.), Río Negro y Neuquén	Ribicich et al. (2010)
	150	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	General La Madrid (Bs. As.)	Fariña et al. (2012)
<i>Rattus rattus</i>	3	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión	Exaltación de la	Gómez Villafañe et

				artificial	Cruz, Bs. As.	al. (2004)	
<i>Didelphis albiventris</i>	16	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Exaltación de la Cruz, Bs. As.	Gómez Villafañe et al. (2004)
	100	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Provincia de Bs. As.	Ribicich et al. (2005)
	36	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Bs. As.	Ribicich et al. (2010)
<i>Lutreolina crassicaudata</i>	1	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Exaltación de la Cruz, Bs. As.	Gómez Villafañe et al. (2004)
Roedores	500	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Provincia de Bs. As.	Ribicich et al. (2005)
<i>Rattus</i> sp.	1	1	100	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial, PCR	Río Negro	Krivokapich et al. (2006)
	7	1	14,3	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial, PCR	Neuquén	
	1	1	100	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial, PCR	Bs. As.	
<i>Puma concolor</i>	1	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Santa Cruz	Krivokapich et al. (2012a)
	1	1	100	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial, PCR	Trapalcó (Río Negro)	
	1	1	100	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Santa Cruz	
	1	1	100	<i>T. patagoniensis</i>	Digestión artificial, PCR multiplex	Trapalcó (Río Negro)	
	1	1	100	<i>T. patagoniensis</i>	Digestión artificial, PCR multiplex	El Calafate (Santa Cruz)	
	1	1	100	<i>T. patagoniensis</i>	Digestión artificial, PCR multiplex	La Paz (Catamarca)	
	1	1	100	<i>Trichinella</i>	Consumo de carne	Mendoza, Monte Caseros	
	4	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Valle Medio de Río Negro	
<i>Lycalopex</i> sp.	1	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Catamarca	Krivokapich et al. (2006)
	1	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Bs. As.	
<i>Lepus europaeus</i>	1	0	0	<i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Bs. As.	Krivokapich et al. (2012b)
	115	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Ascensión (Bs.As.)	
	137	0	0	<i>Trichinella</i>		Ayacucho (Bs.As.)	
	110	0	0	<i>Trichinella</i>		Bahía Blanca (Bs. As), Azul (Bs. As.)	
	72	0	0	<i>Trichinella</i>			
	62	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial (Lenguas)	Intendente Alvear (L.P.)	
434	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial (Lenguas)	Áreas de la prov. de Bs. As.		
	2	2	100	<i>T. spiralis</i>	Infección experimental Dig. artificial		
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	9	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Delta (Bs. As.)	Ribicich et al. (2010)
<i>Myocastor coypus</i>	6	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Ascasubi y 9 de Julio (Bs. As)	
<i>Conepatus chinga</i>	6	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Ascasubi y 9 de Julio (Bs. As)	
<i>Galictis cuja</i>	2	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Ascasubi y 9 de Julio (Bs. As)	
<i>Mus musculus</i>	6	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Azul (Bs. As.)	

<i>Felis geoffroyi</i>	3	0	0	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	Azul y 9 de Julio (Bs. As.)	
<i>Tayassu tajacu</i>	1	1	100	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	La Paz, Catamarca	Soria et al. (2010)

(a) Neghme y Schenone (1970) mencionan para la Argentina y Acha y Szyfres (1977) para San Luis y Mendoza la presencia de *T. spiralis* en *Lycalopex gymnocercus*, *Graomys griseoflavus* pero no mencionan el número de muestras, el número de positivos, ni su prevalencia.

1.5- Triquinelosis en Xenartros

En los Xenartros sólo se ha estudiado la presencia de *Trichinella* en *C. villosus* (Tabla 2). Niño (1937) y Acha y Szyfres (1977) infectaron en forma experimental a *C. villosus* encontrándolos receptivos para *Trichinella*.

Huici et al. (1999) observaron en 7/16 *C. villosus* provenientes de distintas zonas de la provincia de Buenos Aires (Tres Arroyos, Bahía Blanca, Tornquist y Carlos Pellegrini), mediante la técnica de digestión artificial, concentraciones muy bajas de larvas (una o dos por animal), siendo la concentración de larvas mayor en los músculos de la parte posterior del cuerpo.

Tabla 2: *Chaetophractus villosus* investigados para *Trichinella* en Argentina.

n	Positivos n	agente %	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
(a)			Infección experimental	Argentina	Niño (1937)
	1	<i>Trichinella</i>	Digestión artificial	San Luis y Mendoza	Tesón et al. (1997)
16	7	43,7 <i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Tres Arroyos, Bahía Blanca, Tornquist y Carlos Pellegrini, (prov. de Bs. As.).	Huici et al. (1999)
11	7	63,7 <i>T. spiralis</i>	Digestión artificial	Diferentes localidades prov. Bs. As.	Krivokapich et al. (2006)
19	3	15,7 <i>Trichinella</i> sp.	Digestión artificial	Ascasubi y 9 de julio (Bs. As.)	Ribicich et al. (2010)

(a) Niño (1937) no menciona el número con el cual se realizó el experimento. Neghme y Schenone (1970), Boero (1970) y Acha y Szyfres (1977) mencionan la presencia de *T. spiralis* en *C. villosus*, pero no detallan el número total, ni cuantos eran positivos ni su prevalencia.

1.6- Triquinelosis en Xenartros en la provincia de La Pampa

Hasta la presente tesis no se registran datos de la presencia de *Trichinella* en *C. villosus* (ni en ningún otro Xenartro) en la provincia de La Pampa.

El objetivo general de este capítulo es determinar si *C. villosus* está expuesto a *Trichinella* sp. y, de estarlo, cuál es su prevalencia.

2- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados así como el área de estudio se indicó en el capítulo 1.

Para determinar si los *C. villosus* muestreados se encontraban infectados con larvas de *Trichinella* se utilizó la técnica de digestión artificial, siguiendo el procedimiento estándar. Es un método directo que permite el aislamiento, visualización y cuantificación de larvas de *Trichinella* en un trozo de tejido muscular.

La técnica se basa en digerir una muestra de tejido muscular en una solución compuesta por pepsina, ácido clorhídrico y agua, a temperatura de 40 a 45°C, con agitación, durante unos 40 minutos. Mediante este proceso las larvas son liberadas del tejido muscular, posteriormente son recuperadas por filtración y subsiguiente sedimentación, observando el contenido final al microscopio (Figura 2), para su detección (OIE- Organización Mundial de Sanidad Animal- 2012). El resultado se expresa como número de larvas encontradas por gramo de muestra (L/g).

Para la detección de larvas de *Trichinella* se utilizaron diafragma, masetero y base de la lengua, del mismo ejemplar, que en su conjunto totalizaban 20 gramos (Figura 2a). En aquellos individuos que resultaron positivos se procedió a digerir una segunda muestra, consistente en 20 gramos de tejido muscular de los miembros posteriores y 20 gramos de los miembros anteriores, que se digirieron por separado.

Para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos frente a larvas de *T. spiralis* se utilizó el test de enzimoimmunoensayo (ELISA-i) indirecto (ID Screen® *Trichinella* multiespecies IDVET, Francia) modificado, usando como solución de conjugado Proteína G (Lote 089K 1697 de USA, Lab. SIGMA).

Para la tipificación molecular se extrajo ADN mediante el método Fenol-cloroformo (Sambrook et al. 1989) con algunas modificaciones (Randazzo 2012). La determinación a nivel específico se realizó mediante PCR, utilizando un termociclador Biometra UNO-Thermoblock-TM. Software version 2.73.

3- RESULTADOS

Se detectó la presencia de larvas de *Trichinella* en el 25,3% (38/150; IC_{95%}:18,4-32,2) de los *C. villosus* estudiados. El número de larvas recuperadas luego de la digestión

enzimática fue variable (0,05- 1,2 L/g), predominando las muestras con una o dos larvas (Figura 3).



Figura 2: a- muestra de tejido muscular de *C. villosus*, b- digestión enzimática, c- decantación, d- observación al microscopio óptico.

De las segundas digestiones (miembro anterior y miembro posterior) realizadas, sólo en un macho, del que se habían recuperado 24 larvas de la primera digestión (diafragma, base de la lengua y masetero), se pudieron recuperar 3 larvas más, de la digestión de tejido muscular de los miembros posteriores (Figura 3).

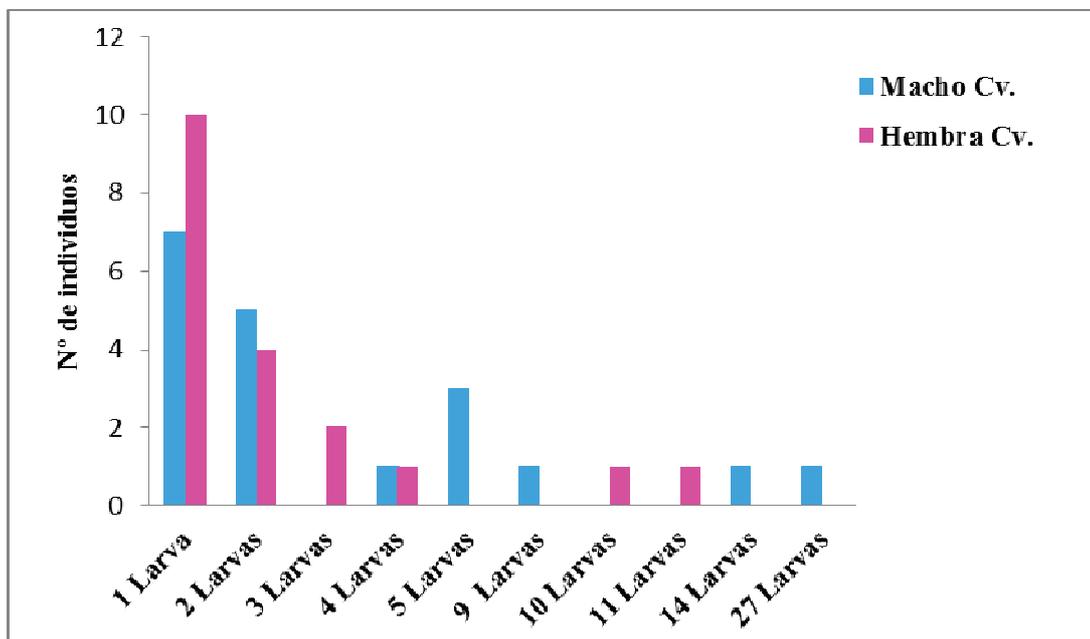


Figura 3: Número de *C. villosus* (Cv.) según el sexo y el número de larvas de *Trichinella* halladas en cada uno de ellos.

En todos los sitios de captura hubo algún *C. villosus* positivo a *Trichinella*, con excepción de los sitios A1, D y F; el porcentaje de infección en los sitios positivos varió entre 4% a 62,5% (Tabla 3).

Tabla 3: Presencia de anticuerpos contra *Trichinella* (T.) según los distintos sitios de captura, en *C. villosus* (Cv.) en la provincia de La Pampa.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a T.	24	8	10	14	18	3	4	5	1	3	18	4
Cv. pos. a T.	1	0	6	2	11	2	0	3	1	5	7	0
Total	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%)	4	0	37,5	12,5	37,9	40	0	37,5	50	62,5	28	0

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados, el 28,6% (20) fueron positivos a *Trichinella*, con IC_{95%}: 17,7-39,4; de las 80/150 hembras, el 22,5% (18) fueron positivas, con IC_{95%}: 13,1-31,9. El sexo de los armadillos no influye en la detección de larvas de *Trichinella* ($p=0,394$; OR: 0,726; Figura 4).

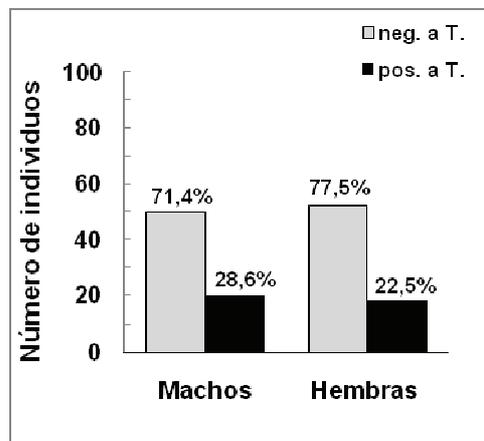


Figura 4: *C. villosus* (Cv.) positivos (pos.) y negativos (neg.) a *Trichinella* sp. (T.) según el sexo de los individuos, en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, el 21,7% (5) fueron positivos a *Trichinella*, en tanto que de los 127 adultos, el 26% (33) fueron positivos. La edad de los *C. villosus* no influye en la detección de larvas de *Trichinella* ($p=0,667$; OR: 1,264; Figura 5).

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se hallaron 21/106 *C. villosus* positivos a *Trichinella*, con 19,8% de infectados;

mientras que en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se halló un total de 17/44 *C. villosus* positivos, siendo la prevalencia del 38,6%.

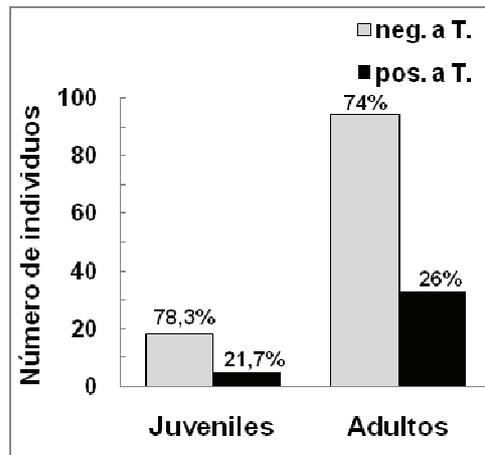


Figura 5: Presencia de larvas de *Trichinella* (T.) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

De los 38 *C. villosus* positivos, el 44,7% (17) correspondieron a sitios de captura con presencia de tambo. Se observaron diferencias estadísticas significativas, detectándose mayor cantidad de *C. villosus* con presencia de larvas de *Trichinella* en sitios con presencia de tambo ($p=0,016$; OR: 2,549; Figura 6).

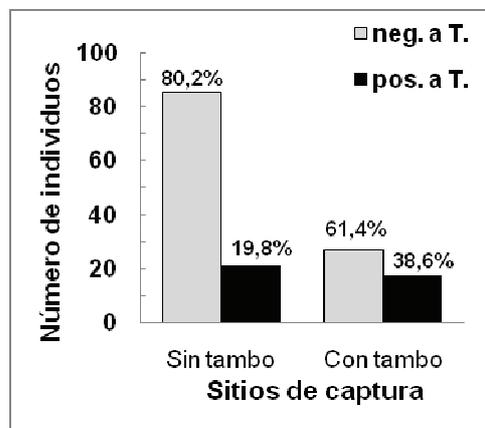


Figura 6: *C. villosus* con larvas de *Trichinella* (T.) según presencia o no de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de cerdos (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se halló 26,5% (35/132) de los *C. villosus* positivos a *Trichinella*; en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) se halló 16,7% (3/18). De los 38 individuos positivos a *Trichinella*, el 7,9% (3) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. La presencia o no de cerdos en los sitios de captura no influye en la detección de larvas de *Trichinella* en *C. villosus* ($p=0,367$; OR: 0,554; Figura7).

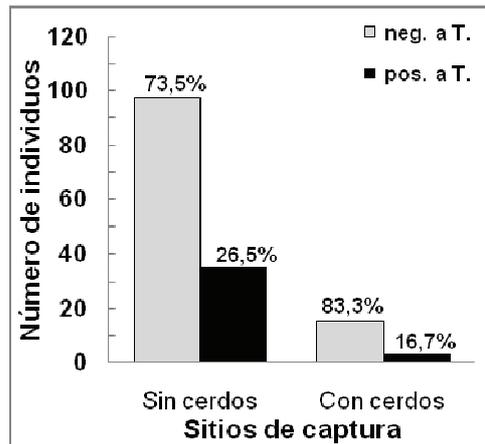


Figura 7: Presencia de larvas de *Trichinella* (T.) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 27,6% (16/58) de los *C. villosus* positivos a *Trichinella*, mientras que en sitios con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 23,9% (22/92). De los 38 *C. villosus* positivos, el 57,9% (22) fueron capturados en sitios con presencia de ovinos. La presencia o no de ovinos en los sitios de captura no influye en la detección de larvas de *Trichinella* en *C. villosus* ($p=0,614$; OR: 0,825; Figura8).

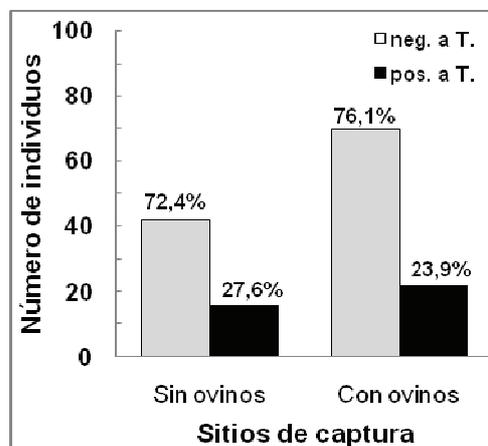


Figura 8: Presencia de larvas de *Trichinella* (T.) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 30,2% (16/53) de los *C. villosus* positivos a *Trichinella*, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 22,7% (22/97). De los 38 *C. villosus* positivos a *Trichinella*, 57,9% (22) correspondieron a sitios de captura con presencia de aves de corral. La presencia o no de aves de corral en los sitios de captura

no influye en la detección de larvas de *Trichinella* en *C. villosus* ($p=0,312$; OR: 0,678; Figura9).

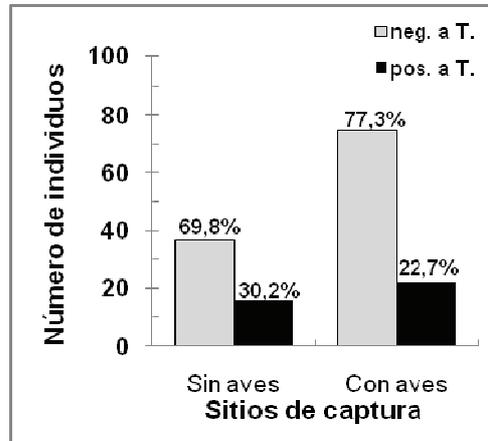


Figura 9: Presencia de larvas de *Trichinella* (T.) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Por serología se analizaron un total de 20 muestras, de las cuales se detectaron 15 positivas, estas eran coincidentes con los resultados obtenidos por digestión y 5 negativas (también negativas por digestión).

Mediante la técnica de PCR se determinó que la especie de *Trichinella* hallada en *C. villosus* fue *T. spiralis* (Figura 10).

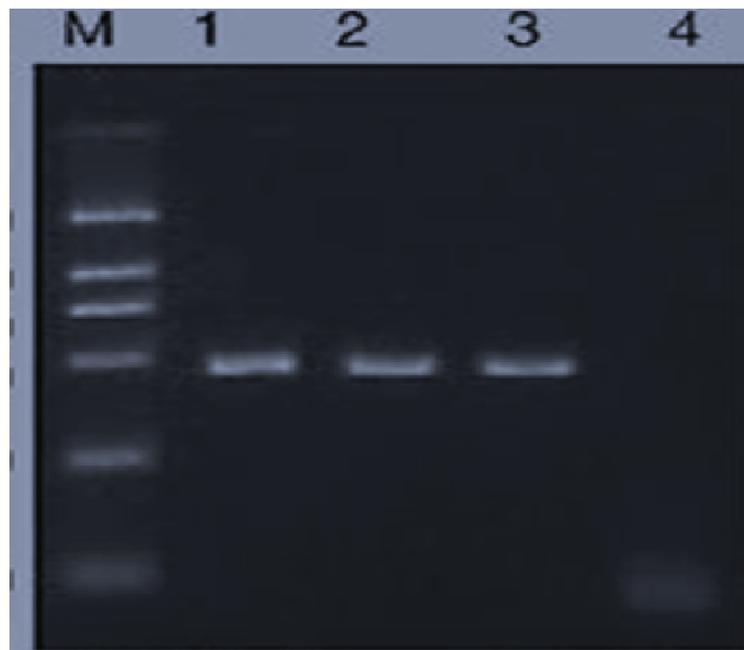


Figura 10: foto de la PCR.: Calle M: marcador peso molecular, calle 1: control positivo cepa de *T. spiralis* BBSC01, calle 2: Cepa aislada de *C. villosus*, calle 3: cepa aislada de jabalí, calle 4: control negativo.

4- DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran que *Chaetophractus villosus* se encuentra expuesto a larvas de *Trichinella spiralis*, siendo estos resultados los primeros registros para la provincia de La Pampa.

La presencia de larvas de *Trichinella* en *C. villosus* sugiere un ciclo silvestre de transmisión, el cual puede servir como reservorio para otros animales silvestres carroñeros, como así también para los seres humanos y animales domésticos que consuman su carne cruda o poco cocida.

La proporción de armadillos con presencia de larvas de triquina podría considerarse importante, ya que $\frac{1}{4}$ (38/150) de los animales muestreados resultó positivo. Si bien en tres de los sitios (A1, D y F) no se detectaron armadillos infectados, sería conveniente realizar nuevas capturas, ya que el número de individuos capturado por sitio fue relativamente escaso.

La baja carga parasitaria (1 ó 2 larvas) por animal, detectada mayoritariamente en esta tesis, es coincidente con los resultados obtenidos por Huici et al. (1999) para *C. villosus* provenientes de distintas zonas de la provincia de Buenos Aires. Cabe destacar que dichos autores observaron que la concentración de larvas era mayor en los músculos de la parte posterior del cuerpo, difiriendo ello de lo detectado en nuestros animales, en los que la mayor concentración se encontró en diafragma, base de la lengua y masetero.

De acuerdo a lo observado en esta tesis, la infección de *Trichinella* en los armadillos no estaría asociada a la presencia de cerdos domésticos en los sitios de captura, lo cual sugeriría un buen manejo sanitario de dichos animales en los sitios muestreados. Al respecto, conviene destacar que Fort et al. (2008) analizaron 300 muestras de sueros de cerdos para la provincia de La Pampa mediante ELISA, detectando 3 positivos (1%) y 4 sospechosos (1,3%). Por todo ello consideramos que otros mamíferos estarían involucrados en la infección de los armadillos, pero, al no haber estudios exhaustivos de esta problemática, no se puede saber cómo los *C. villosus* contraen la *Trichinella* en los distintos sitios de muestreo.

La mayor exposición de *C. villosus* a contraer larvas de *Trichinella* en tambos, podría estar relacionada con el suministro al ganado lechero de alimento balanceado, el que podría contener restos de roedores infestados con *Trichinella*, como fue sugerido por Oivanen et al. (2002), quienes experimentalmente observaron la posibilidad de que los animales de granja pudieran contraer la enfermedad a través de ratas u otro material

infectado con larvas de *Trichinella*, mezclado junto al alimento que se les suministra a los animales de granja.

La falta de relación entre la prevalencia de *Trichinella* en *C. villosus* y la presencia de aves de corral, podría deberse a la resistencia que presentan las gallináceas a la infección por este nematode, como mencionan Barriga (1981) y Theodoropoulos et al. (2003); estos últimos autores demostraron experimentalmente que la secreción de la bilis de los pollos actuaría como un inhibidor en la viabilidad de las larvas de *Trichinella*. Asimismo, Pasqualetti et al. (2014) mencionan que las larvas de *T. spiralis* no son capaces de desarrollarse experimentalmente en la fase muscular en los pollos, todo lo cual explicaría la no asociación entre la presencia de larvas de triquina en *C. villosus* y la presencia de aves de corral en los sitios de muestreo.

La falta de relación entre presencia de ovinos en los sitios de muestreo y presencia de larvas de *Trichinella* en *C. villosus*, podría deberse a la acción de los jugos biliares que, al igual que en los pollos, actuaría como un inhibidor en la viabilidad de las larvas de *Trichinella* (Theodoropoulos et al. 2003).

5- CONCLUSIÓN

- Se registró, por primera vez para la provincia de La Pampa, la presencia de larvas de *Trichinella* en *C. villosus*.
- Se confirmó la hipótesis que *C. villosus* está expuesto a larvas de *Trichinella*.
- Se determinó que la especie de *Trichinella* presente en *C. villosus* es *T. spiralis*.
- Se halló un 25,3% de los *C. villosus* con presencia de larvas de *Trichinella*, lo cual indicaría que los mismos forman parte del ciclo silvestre de la enfermedad.
- Mayoritariamente el número de larvas presente en *C. villosus* es de 1 ó 2 larvas.
- Hembras y machos de *C. villosus* se encuentran infectados por igual con larvas de *Trichinella*.
- Tanto los juveniles como los adultos de *C. villosus* presentan larvas de *Trichinella*, en sus tejidos.
- La presencia de cerdos, ovinos o aves de corral en el sitio de muestreo no influye en la presencia de larvas de *Trichinella* en *C. villosus*.

- Los *C. villosus* capturados en sitios con tambos tienen mayor probabilidad de tener larvas de *Trichinella* que aquellos provenientes de sitios en donde no hay tambos.
- La presencia de larvas infectivas de *T. spiralis* en *C. villosus* podría ser una fuente de infección para otros animales y para los humanos que consuman su carne poco cocida, cruda o salada.
- Se necesitan mayores estudios para comprender cuales son los factores que actúan como posibles vectores en la transmisión de la *Trichinella spiralis* en los *C. villosus*.

6- BIBLIOGRAFÍA

- Acha PN.; Szyfres, B. 1977. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica N° 580, Washington Pp. 708.
- Acha PN.; Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Vol III. Parasitosis. Sección B: Helmintiasis, 3. Acantocefaliasis y nematodiasis. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica y Técnica N° 580, Washington. 3ra. edición. Pg. 325-339.
- Aiello SE.; Mays A. (eds). 2000. El Manual Merck de Veterinaria. Quinta edición. Océano Grupo Editorial, S. A. Pg. 2558.
- Barrientos J.; Torres P. 1982. Sobrevida y capacidad infectante de *Trichinella spiralis* en el macro ambiente. Rev. Med. Chile 110:1059-1062.
- Barriga OO. 1981. Evidence, nature, and implications of the constitutive resistance to *Trichinella spiralis* in gallinaceous birds. Am. J. Vet. Res.42(11):1963-1965.
- Benenson AS. (ed.). 1997. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. OPS. 16ª edición. Washington. Publicación Científica N° 564. Pg. 541.
- Boero JJ. 1970. Parasitosis animales. Helmintiasis. Entomozoonosis. Tomo III: 265-526.
- Boireau P.; Bruschi F.; Dupouy-Camet J.; Ray Gamble H.; Nöckler K.; Kapel CMO.; Murrell KD.; Pozio E. (eds.) Dupouy-Camet J.; Murrell KD. 2007. FAO7WHO7OIE. Guidelines for the surveillance, management prevention and control of trichinellosis. Pg. 119. <http://www.oie.int>.

- Bono Battistoni MF.; Marengo R.; Orcellet V.; Peralta JL.; Plaza D.; Ronchi D.; Chiaraviglio J.; Bolatti N.; Imoberdorf Y.; Pujato A. 2015. Determinación de *Trichinella* spp. en jabalí (*Sus scrofa*). Vet. Arg. 32(321):1-6. http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_jabalies/63-determinacion-de-trichinella-spp-en-jabali.pdf
- Bruschi F. 2012. Trichinellosis in developing countries: is it neglected? J. Infect. Dev. Ctries. 6(3):216-222.
- Caracostantogolo J.; Martínez ML. 2009. Epidemiología de la trichinellosis y situación en la Argentina. Vet. Argentina. 26:257. http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_cerdos/08-Trichinellosis.pdf
- Carpinetti BN.; Castresana G.; Rojas P.; Grant J.; Marcos A.; Monterubbianesi M.; Borrás P. 2014. Vigilancia epidemiológica en poblaciones de cerdos silvestres (*Sus scrofa*). Implicancias para la salud pública, la producción animal y la conservación de la biodiversidad. SNS 5-6:67-76.
- Crowley PE.; Querejeta S.; Pavón F.; Larrieu E. 2015. Ciclo silvestre de *Trichinella* spp. En los departamento Avellaneda y Pichi Mahuida, provincial de Río Negro. RAZyEIE 10(1):10-12.
- Cui J.; Ren HJ.; Liu RD.; Wang L.; Zhang ZF.; Wang ZQ. 2013. Phage-displayed specific polypeptide antigens induce significant protective immunity against *Trichinella spiralis* infection in BALB/c mice. Vaccine 31(8):1171-1177.
- Fariña F.; Scialfa E.; Bolpe J.; Pasqualetti M.; Rosa A.; Ribicich M. 2012. Study of *Trichinella* spp. in rodent that live near pig farms in an endemic región of the province of Buenos Aires, Argentina. J. Bacteriol Parasitol 3: 140doi; 10.4172/2155-9597.1000140.
- Fort M.; Giménez H.; Baldone V.; Fuchs L.; Rojas M.; Esain F.; Pérez L. 2008. Detección de Anticuerpos contra *Trichinella spirallis* en porcinos de la Provincia de La Pampa durante el período 2005-2006. Boletín de Divulgación Técnica. EEA. Anguil. 94:67-68. <http://www.ciap.org.ar/ciap/Sitio/Materiales/Produccion/Sanidad%20y%20Bioseguridad/Enfermedades%20de%20Afecciones%20Generales/bol94.pdf>
- García E.; Mora L.; Torres P.; Jercic MI.; Mercado R. 2005. First record of human trichinosis in Chile associated with consumption of wild boar (*Sus scrofa*). Mem. Inst. Oswaldo Cruz 100(1):17-18.
- Gómez Villafañe IE.; Miñarro F.; Ribicich M.; Rossetti CA.; Rossotti D.; Busch M. 2004. Assessment of the risks of rats (*Rattus norvegicus*) and opossums (*Didelphis*

- albiventris*) in different poultry-rearing areas in Argentina. *Braz. J. Microbiol.* 35:359-363.
- Hanbury RD.; Doby PB.; Millar HO.; Murrell KD. Trichinosis in a herd of swine: cannibalism as a major mode of transmission. *J. Am. Vet. Assoc.* 188(10):1155-1159.
- Huici N.; Tesón M.; Macazaga A.; Loverde V. 1999. Triquinelosis en algunos animales autóctonos argentinos. *Vet. Argent.* 16(155):358-360.
- Jovic S.; Djordjevic M.; Kulisic Z.; Pavlovic S.; Radenkovic B. 2001. Infectivity of *Trichinella spiralis* larvae in pork buried in the ground. *Parasite* (2):S213-215.
- Krivokapich SJ.; Molina V.; Bergagna HFJ.; Guarnera EA. 2006. Epidemiological survey of *Trichinella* infection in domestic, synanthropic and sylvatic animals from Argentina. *J. Helminthol.* 80:267-269.
- Krivokapich SJ.; Gonzalez Prous CL.; Gatti GM.; Confalonieri V.; Molina V.; Matarasso H.; Guarnera E. 2008. Molecular evidence for a novel encapsulated genotype of *Trichinella* from Patagonia, Argentina. *Vet. Parasitol.* 156:234-240.
- Krivokapich SJ.; Pozio E.; Gatti GM.; Prous CL.; Ribicich M.; Marucci G.; La Rosa G.; Confalonieri V. 2012a. *Trichinella patagoniensis* n. sp. (Nematoda), a new encapsulated species infecting carnivorous mammals in South America. *Int. J. Parasitol.* 42(10):903-910.
- Krivokapich SJ.; Bolpe J.; Gonzalez Prous C.; Gatti G.; Genzano M.; Ponassi A.; Molina V.; Guarnera EA. 2012b. Estudio sobre la infección de *Trichinella* en la liebre europea (*Lepus europaeus* Pallas, 1778). *Vet. Arg.* 29(285):1-5.
- Krivokapich SJ.; Gonzalez Prous CL.; Gatti GM.; Saldía L. 2015. First finding of *Trichinella pseudospiralis* in the Neotropical region. *Vet. Parasitol.* 208:268-271.
- Larrieu E.; Molina V.; Albarracin S.; Mancini S.; Bigatti R.; Ledesma L.; Chiosso C.; Krivokapich S.; Herrero E.; Guarnera E. 2004. Porcine and rodent infection with *Trichinella* in the Sierra Grande area of Rio Negro province, Argentina. *Annals Trop. Med. Parasitol.* 98:728-735.
- Lopes AP.; Vila-Viçosa MJ.; Coutinho T.; Cardoso L.; Gottstein B.; Müller N.; Cortes HCE. 2015. *Trichinella britovi* in a red fox (*Vulpes vulpes*) from Portugal. *Vet. Parasitol.* 210:260-263.
- Murrell KD.; Pozio E. 2000. Trichinellosis: the zoonosis that won't go quietly. *Int. J. Parasitol.* 30:1339-1349.

- Neghme A.; Schenone H. 1970. Trichinosis in Latin America. En Gould SE. Trichinosis in Man and Animals, Charles C Thomas Publisher, Illinois Pg. 407-422.
- Niño FL. 1937. Triquinosis experimental en el peludo. Novena Reunión de la Sociedad Argentina de Patología, Región 2. Pg. 630. En Escobar-Gutiérrez A.; Amescua de Bernés ME. 1981. El armadillo: un nuevo animal de experimentación para el estudio de las zoonosis. Ciencia Vet. 3:199-229.
- OIE. 2012. Trichinellosis. Terrestrial Manual. Chapter 2. 1. 1. 6 Pg. 1-9. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.01.16_TRICHINELLOSIS.pdf RESULTADOS.
- Oivanen L.; Mikkonen T.; Haltia L.; Karhula H.; Saloniemi H.; Sukura A. 2002. Persistence of *Trichinella spiralis* in rat carcasses experimentally mixed in different feed. Acta Vet. Scand. 43:203-210.
- Pasqualetti M.; Farina F.; Falzoni E.; Cardillo N.; Aronowicz T.; Krivokapich S.; Rosa A.; Ribicich M. 2014. Susceptibility of chickens (*Gallus gallus domesticus*) to *Trichinella patagoniensis*. Vet.Parasitol.205:397-400.
- Pence DB.; La Rosa G.; Mancini Barbieri M.; Amati M.; Casulli A.; Pozio E. 2001. Sylvatic trichinellosis in Texas. Parasite. 8(2):S81-82.
- Pozio E. 2000. Factors affecting the flow among domestic, synanthropic and sylvatic cycles of *Trichinella*. Vet. Parasitol. 93:241-264.
- Pozio E. 2001. New patterns of *Trichinella* infection. Vet. Parasitol. 98:133-148.
- Pozio E.; Murrell KD. 2006. Systematics and epidemiology of *Trichinella*. Adv. Parasitol. 63:367-439.
- Pozio E. 2007. World distribution of *Trichinella* spp. infections in animals and humans. Vet. Parasitol. 149:3-21.
- Pozio E. 2007. *Trichinella* spp. imported with live animals and meat. Vet. Parasitol. En prensa.
- Randazzo VR.; La Sala LF.; Costamagna SR. 2011. Efecto de la temperatura sobre la viabilidad de larvas de *Trichinella spiralis*. Rev. Arg. Microbiol. 43(4):256-262.
- Randazzo V. 2012. Trichinellosis: aspectos biológicos, estudios experimentales con probióticos y determinantes de infestación en un brote humano. Tesis Doctoral, 5 de noviembre 2012. Universidad Nacional del Sur. Buenos Aires, Argentina. Pp. 189.
- REC 931 (Reporte Epidemiológico de Córdoba) Argentina. 2012. Mendoza, Montecaseros: una familia contrajo triquinosis tras consumir embutidos de carne de puma. (ed.) Mínguez, A. Del 2 de julio de 2012.

- REC 1167 (Reporte Epidemiológico de Córdoba) Argentina. 2013. Neuquén: Alertan de una alta incidencia de triquinellosis en jabalíes. (ed.) Mínguez, A. Del 7 de julio de 2013.
- Ribicich M.; Chavez N.; Carfagnini J.; Basso N.; Rosa A. & Franco A. 2004. Estudio de las alteraciones histopatológicas en cerdos infectados experimentalmente con *Trichinella spiralis*. In. Vet. 6(1):61-69.
- Ribicich M.; Gamble HR.; Rosa A.; Bolpe J.; Franco A. 2005. Trichinellosis in Argentina: An historical review. Vet. Parasitol. 132:137-142.
- Ribicich M.; Gamble HR.; Bolpe J.; Scialfa E.; Krivokapich S.; Cardillo N.; Betti A.; Holzmann ML.; Pasqualetti M.; Fariña F.; Rosa A. 2010. *Trichinella* infection in wild animals from endemic regions of Argentina. Parasitol. Res. 107:377-380.
- Sambrook JFEF.; Fritsch EF.; Maniatis T. 1989. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Soria C.; Mozo G.; Camaño C.; Saldaño B.; López E.; Malandrini J.; Soria J. 2010. Aislamiento de Larvas de *Trichinella* spp. en Pecarí (*Tayassu tajacu*) de Icaño, Departamento La Paz, Catamarca. Rev. Elect. Iberoam. Educ. Cs. Tecnol. 2(1):153-163.
- Steffan P. 2006. Trichinellosis en el cono sur de América: situación actual y prospectiva de una zoonosis parasitaria ancestral. http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_cerdos/01-trichinellosis.pdf
- Stojcevic D.; Zivicnjak T.; Marinculic A.; Marucci G.; Andelko G.; Brstilo M.; Pavo L.; Pozio E. 2004. The epidemiological investigation of *Trichinella* infection in Brown rats (*Rattus norvegicus*) and domestic pigs in Croatia suggests that rats are not a reservoir at the farm level. J. Parasitol. 90(3):666-670.
- Tesón M.; Regis A.; Huici N.; Novak F. 1997. Triquinellosis en jabalíes (*Sus scrofa*) en el departamento Lacar, Neuquén. República Argentina. Vet. Argent. 14(133):187-190.
- Theodoropoulos G.; Styliara M.; Petrakos M.; Kapel CM. 2003. Effect of fox, pig, sheep, and poultry bile on the establishment of domestic and sylvatic species of *Trichinella* in rats. Parasitol. 126(5):461-464.
- Valencia VC.; Muñoz AH.; Torres HM. 2003. Triquinosis: entre el temor y el deber de informar la fuente de infección. Rev. Chil. Infect. 20(2):99-103.
- Valenzuela MR. 1981. Epidemiología de la triquinellosis. Ciencia Vet. 3:277-334.

- Villamil J.; Krivokapich S.; Ribicich M. 2013. Análisis epidemiológico de trichinellosis en humanos y jabalíes del Departamento de Utracán, La Pampa, Argentina. RAZyEIE 8(2):16-19.
- Zimmermann WJ. 1971. Trichinosis. En Krivokapich SJ.; Bolpe J.; Gonzalez Prous C.; Gatti G.; Genzano M.; Ponassi A.; Molina V.; Guarnera EA. 2012. Estudio sobre la infección de *Trichinella* en la liebre europea. Vet. Arg. 29(285).

CAPÍTULO XI: HIDATIDOSIS

1- INTRODUCCIÓN

La hidatidosis o equinococosis es una zoonosis endoparasitaria producida por el cestodo *Echinococcus* (Larrieu et al. 2004). Es conocida desde los tiempos de Hipócrates (470-375 a. C.), quien describió quistes hidatídicos en vacas, ovejas, cerdos y en el hombre. En el año 1853, Von Stebold descubre el ciclo biológico de *Echinococcus* infectando perros con quistes ovinos, mientras que en 1862, Leuckart contagia cerdos con proglotis y un año más tarde Nauny infecta perros con quistes humanos (Pérez Martín et al. 2010).

La equinococosis es causada por varias especies de *Echinococcus*, entre ellas, *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis*, *E. vogeli*, *E. oligarthrus* y posiblemente *E. shiquicus* (Dubarry et al. 2011).

La equinococosis quística, equinococosis unilocular o hidatidosis quística (*E. granulosus*) es uno de los mayores problemas de salud pública; anualmente entre 2 a 3 millones de personas y numerosos animales domésticos (ovinos, bovinos, caprinos, cerdos, equinos) en todo el mundo se ven afectadas por esta enfermedad, que es la forma más común, menos severa y más tratable; sin embargo, cuando los quistes son grandes o múltiples pueden causar daños irreversibles en los órganos o pueden provocar reacciones anafilácticas (Turnes 2009, IICAB 2011).

Echinococcus granulosus se clasifica en cepas, algunas de las cuales llevan el nombre del hospedador intermediario más importante para la perpetuación del ciclo de vida. Entre las cepas se encuentra G1 en ovejas, G2 en ovejas de Tasmania, G3 en búfalo, G4 en équidos (*E. equinus*), G5 en bovinos (*E. ortleppi*), G6 en camello, G7 en cerdos, G8 en cérvidos, G9 detectada en humanos en Polonia y G10 en renos (Negro et al. 2007, IICAB 2011, Grosso et al. 2012). Se ha reportado además una cepa (*E. felidis*) en leones en África, cuyo hospedador definitivo son los felinos, a diferencia de las cepas anteriores para las cuales el hospedador definitivo son los cánidos (IICAB 2011, Grosso et al. 2012). De todas las cepas mencionadas, en la República Argentina se han identificado G1, G2, G5, G6 y G7. No está esclarecido aún si la cepa porcina es infectiva para el hombre (Negro et al. 2007).

La equinococosis alveolar, causada por *E. multilocularis*, se distribuye en el Hemisferio Norte, siendo el hospedador definitivo los cánidos, como los zorros, y los

hospedadores intermediarios los roedores, siendo el hombre también afectado por este cestodo (Defra 2010).

Las infecciones por *E. vogeli* y *E. oligarthrus*, especies encontradas en América Central y del Sur, generalmente se conocen como equinococosis poliquísticas o poliquísticas neotropicales, a partir de la forma en que se desarrolla la enfermedad en los hospedadores intermediarios. No obstante, debido a que en los seres humanos se desarrollan sólo uno o pocos quistes, a *E. oligarthrus* también se la llama equinococosis unikuística (IICAB 2011). *E. oligarthrus* tiene como hospedadores definitivos a felinos como puma, jaguar, ocelotes, yaguareté y gato montés (Turnes 2009).

En Argentina la hidatidosis es considerada endémica, si bien no tiene una distribución geográfica homogénea. El anfitrión principal en la Patagonia y en la Región Mesopotámica es el ganado ovino, mientras que en la región Pampeana y en el norte del país es el bovino (Andresiuk et al. 2009), en el sur de Santa Fe y Córdoba *E. granulosus* persiste a través del ciclo perro-cerdo y en la puna mediante el ciclo perro-llamas (Negro et al. 2007).

La hidatidosis es una enfermedad de evolución crónica, que representa un importante problema de salud pública y económico, ya que se realizan unas 1000 cirugías por año en humanos a causa de la misma, siendo el número de defunciones entre 20 a 30 individuos por año (Alonso et al. 2012).

La provincia de La Pampa es considerada endémica para *E. granulosus*, con notificación de casos en humanos y en perros (Lamberti et al. 1999, 2000, REC 2014).

Distintos autores han reportado la infección por *E. granulosus* en *Lycalopex*, en diferentes localidades de Argentina, si bien aún no se ha establecido la importancia de estos carnívoros en la transmisión del cestodo; también, se ha reportado la infección en *Lepus europaeus* (Schantz et al. 1976).

1.1- Ciclo biológico

Echinococcus granulosus requiere de dos hospederos mamíferos para completar su ciclo de vida: la fase adulta se desarrolla en el intestino del perro y otros carnívoros como el zorro, lobos, coyotes, que actúan como hospedadores definitivos (Benenson 1997, Olsen 1977, Larrieu et al. 2004) y la fase larvaria se desarrolla en forma de quiste (“quiste hidatídico”) en las vísceras de animales como ovinos, caprinos, bovinos o porcinos (Larrieu et al. 2004).

El estado adulto varía entre 2 a 11 mm y posee 2 ó 7 segmentos, siendo el penúltimo segmento el maduro y el último el grávido. Presenta ganchos rostelares en el protoescólex formado por dos corona de dientes de tamaño variable, los dientes (22) de la primera corona miden entre 25 a 49 μm mientras que los de la segunda corona (18) miden entre 17 a 31 μm (Acha y Szyfres 2003, OIE. 2008).

El metacestodo, “quiste hidatídico” o fase larvaria, puede alcanzar un diámetro de 30 cm y se localiza principalmente en el hígado y pulmón, pudiendo también ubicarse en otros órganos (Acha y Szyfres 2003, OIE 2008, Grosso et al. 2012). Su diámetro generalmente aumenta desde un cm a 5 cm cada año, pudiendo algunos persistir sin cambios durante años. Cada quiste hidatídico está lleno de un líquido claro y transparente. El quiste está formado por tres membranas: adventicia, laminada y germinal. La membrana adventicia es de naturaleza fibrosa y está constituida por tres capas. La membrana laminada es propia de la vesícula hidatídica, y protege al quiste de la reacción inmunitaria del hospedador y la membrana germinativa es aquella a partir de la cual se forman las vesículas prolíferas en cuyo interior, por gemación, se forman los protoescólex, que pueden convertirse en tenias adultas cuando son ingeridas por el hospedador definitivo. Con el tiempo, las vesículas prolíferas se desprenden de la membrana germinativa y flotan libremente en el interior del quiste (vesículas hijas), algunas de las vesículas se rompen y liberan los protoescólex, los cuales constituyen lo que se denomina “arena hidatídica” (Sánchez Acedo 2002, Brés et al. 2007). Si un quiste se rompe, la arena hidatídica puede originar un nuevo quiste (IICAB 2011).

Los hospedadores definitivos se infectan al ingerir los quistes hidatídicos localizados en vísceras de los hospedadores intermediarios. Seis horas después de la ingestión, se produce la liberación de los protoescólices, debido a la acción de la pepsina gástrica y de la bilis, que disuelven la membrana quística. Los protoescólices se fijan a la mucosa intestinal a través de sus ventosas y ganchos, desarrollándose las proglótidas. A los 30 días comienzan a formarse los huevos, en la última proglótida, la cual se desprende entre los 47 y 52 días, siendo la vida media del adulto de 180 a 240 días, luego alcanza el estado senil y finalmente es eliminado junto a las heces del animal (González González y Olivera Pertusso 2011). Otros investigadores mencionan que los adultos de *E. granulosus* pueden vivir entre 6 y 24 meses (Sánchez Acedo 2002) o entre 10 meses y 4 años (Larrieu et al 2004).

Los adultos eliminan los proglótidos grávidos, que se desintegran en el medio ambiente, liberando cientos de huevos. Estos miden de 30 a 40 micras de diámetro,

conteniendo un embrión hexacanto (oncósfera o primer estado larval) envueltos en varias membranas, incluyendo una gruesa pared queratinizada. Los huevos son dispersados por el viento, el agua o insectos, contaminando así grandes extensiones y, al ser ingeridos por los hospedadores intermediarios (ovinos, caprinos, bovinos, porcinos o el hombre), eclosionan en el intestino delgado, liberando los embriones hexacantos, que dan lugar a las oncósferas, las que atraviesan la pared intestinal y son llevadas por la corriente sanguínea a distintos órganos, en los que se desarrolla el estadio larval, hidátide o quiste hidatídico (Acha y Szyfres 2003, Larrieu et al. 2004, Grosso et al. 2012).

El ciclo de este parásito se puede interrumpir fácilmente evitando que los hospedadores definitivos ingieran vísceras crudas con quistes hidatídicos o bien desparasitando a los mismos (Alonso et al. 2012).

El hombre es un hospedador intermediario accidental que se infecta por el contacto de perros infectados o por ingerir alimentos y agua contaminados con huevos de *E. granulosus* (Benenson 1997, Acha y Szyfres 2003, Alonso et al. 2012).

El ciclo perro-ovino-perro es el más común, pero existe un ciclo silvestre de hidatidosis que se da, por ejemplo, entre el lobo (*Canis lupus*) como hospedador definitivo y varias especies de cérvidos como hospedadores intermediarios, el cual puede originar un ciclo doméstico cuando los perros, por ejemplo los destinados a trineos, son alimentados con vísceras crudas de cérvidos infectados (Acha y Szyfres 2003, Figura 1).

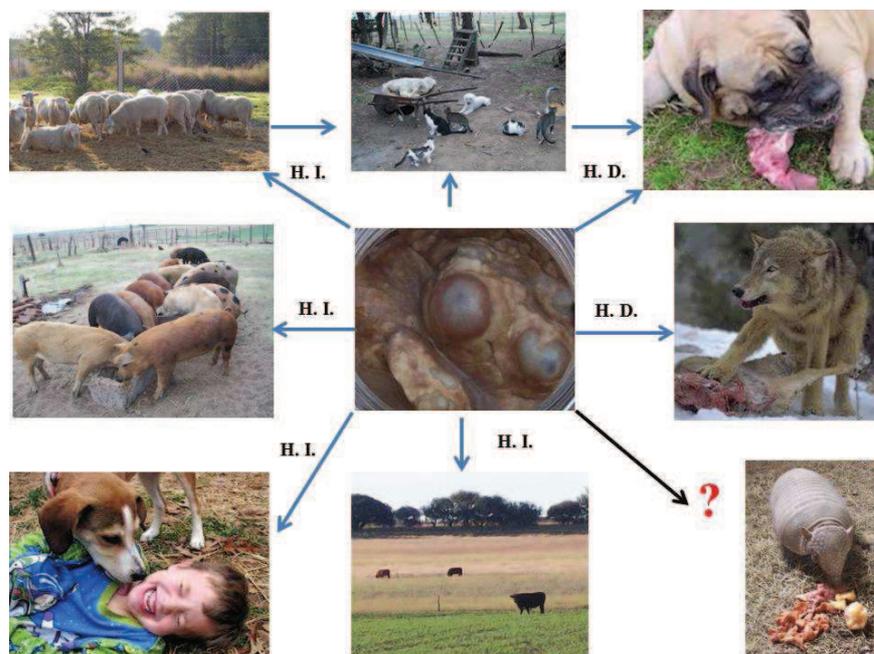


Figura 1: Ciclo de *E. granulosus*.

1.2- Resistencia

Los huevos de *Echinococcus* son muy resistentes y permanecen vivos e infectivos durante dos o más años, en las praderas con humedad adecuada en el terreno (Olsen 1977) o unos 41 meses en el medio ambiente, en Chubut (Sánchez Thevenet et al. 2005). Son viables en el agua y en la arena húmeda durante unos 225 días a 6 °C, unos 32 días entre 10 a 21 °C, unas tres semanas a 30 °C, sobreviviendo sólo períodos cortos de tiempo, cuando están expuestos a la luz solar directa y a condiciones ambientales secas (IICAB 2011).

La desinfección química no es fiable para las muestras clínicas, pero un porcentaje de los huevos puede ser destruido con hipoclorito de sodio (IICAB 2011). El calor es el único método eficaz para destruir los huevos, los cuales mueren a 60 °C en 10 minutos y a 100 °C en forma instantánea (Pérez Martín et al. 2010), o por congelación -80 °C durante 48 horas o -70 °C durante 4 días (IICAB 2011).

Bajo condiciones experimentales, la supervivencia de protoescolices de *E. granulosus* fue de 3 días a 10 °C con 50% de humedad relativa (HR), 36 días a 0 °C con 60% de HR, 28 días a 10 °C con 65% de HR, 12 días a 20 °C con 70% de HR, 4 días a 30 °C con 75% de HR y 3 días a 40 °C con 80% de humedad relativa (Diker et al. 2007).

1.3- Síntomas

El perro parasitado por *E. granulosus* no manifiesta signos clínicos de la enfermedad (Acha y Szyfres 2003), pero en los hospedadores intermediarios estos varían de acuerdo a la posición y al tamaño de los quistes, pudiendo causar desde pocos a muy serios daños (Lapage 1981).

Los humanos que presentan quistes de *E. granulosus* pueden tardar muchos años en originar síntomas, e incluso a veces pasan en forma asintomática y solo se descubre su presencia cuando se realiza una radiografía o ecografía debido a otra causa, o por una intervención quirúrgica o autopsia (Varela Díaz 1986, Acha y Szyfres 2003). Cuando causan presión en los tejidos circundantes, los síntomas que se presentan son semejantes a los de un tumor de crecimiento lento. Aunque la mayoría de las personas sólo tiene un quiste, se pueden encontrar quistes múltiples. Aproximadamente el 60-70% de los quistes de *E. granulosus* se localizan en el hígado y el 20-25% en los pulmones, el resto pueden

alojarse en huesos, riñones, bazo, músculos, sistema nervioso central y detrás del ojo (IICAB 2011).

Los signos pueden ser no específicos e incluyen anorexia, pérdida de peso y debilidad quística secundaria, producto de la fuga de líquido, en cuyo caso pueden ocurrir reacciones alérgicas, escalofríos y/o fiebre temblorosa, asma, prurito, urticaria o un shock anafiláctico y muerte (Acha y Szyfres 2003, IICAB 2011).

Cuando el quiste se encuentra en el hígado, los síntomas más comunes son dolor abdominal, náuseas, vómitos e indigestión y cuando el quiste obstruye el sistema biliar, produce ictericia colestásica, hepatomegalia, anemia, dolor. En los pulmones, los quistes pueden causar signos respiratorios como tos crónica, dolor en el pecho, disnea y hemoptisis, sobre todo si se rompen. Cuando se alojan en el cerebro o en la médula espinal causan efectos neurológicos, ceguera, convulsiones. Los quistes en los huesos pueden destruir la estructura del hueso y provocar fracturas espontáneas (IICAB 2011).

1.4- Hidatidosis en animales silvestres no Xenartros en Argentina

En Argentina, la presencia de *Echinococcus granulosus* ha sido escasamente investigada en los animales silvestres (Tabla 1).

Tabla 1: Animales silvestres investigados para *E. granulosus* en Argentina.

Especies analizadas	N	Positivos n	%	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Lycalopex culpaeus</i>	50	6	12	Observación directa (OD) (a)	Neuquén	Szidat (1960, 1963)
	34	9	26	OD	Neuquén	Schantz et al. (1972)
	6	6	100	Infeción experimental	Neuquén	Schantz et al. (1976)
	129	0	0	OD	Neuquén	Stein et al. (1994)
<i>L. griseus</i>	4	2	50	Infeción experimental	La Pampa	Schantz et al. (1976)
	81	1	1,2	OD	Tierra del Fuego	Zanini et al. (2006)
<i>L. gymnocercus</i>	9	4	44,4	Infeción experimental	Azul (Bs. As.)	Schantz et al. (1976)
	61	0	0	Coproparasitológico, OD Copro-ELISA, Copro-PCR	Buenos Aires	Scioscia et al. (2013)
	80	1	12,5	Coproparasitológico, OD	Buenos Aires	Scioscia et al. (2014)
<i>Lepus europaeus</i>	71	4	5,6		Neuquén	Schantz et al. (1972)
	6808 (b)	0	0	Coproparasitológico, Copro-ELISA, Copro-PCR Observación directa	Buenos Aires	Scioscia et al. (2013)
	3576 (c)	0	0	Coproparasitológico, Copro-ELISA, Copro-PCR Observación directa		
	3542 (d)	0	0	Coproparasitológico, Copro-ELISA, Copro-		

				PCR. Observación directa		
<i>Galictis cuja</i>	8	0	0	Infección experimental	Azul (Bs. As.)	Schantz et al. (1976)
<i>Leopardus geoffroyi</i>	7	0	0	Infección experimental	Azul (Bs. As.)	Schantz et al. (1976)
<i>Cuniculus paca</i>	1	1	100 (e)	Observación directa	Misiones	Vizcaychipi et al. (2013)

- (a) Los autores determinaron la presencia de *E. patagonicus*.
 (b) Los autores revisaron 6808 pulmones de *Lepus europaeus*.
 (c) Los autores revisaron 3576 hígados de *Lepus europaeus*.
 (d) Los autores revisaron 3542 corazones de *Lepus europaeus*.
 (e) Los autores confirmaron la presencia de *Echinococcus vogeli*

1.5- Hidatidosis en Xenartros

En Xenartros, la presencia de *E. granulosus* ha sido escasamente investigada, encontrándose todos los individuos negativos (Tabla 2).

Tabla 2: Xenartros investigados para *Echinococcus*.

Especies analizadas	N	Positivos n	%	Test	Localidad	Referencia bibliográfica
<i>Dasyus kappleri</i>	7	0	0	Observación directa	Colombia	Morales et al. (1979)
<i>D. novemcinctus</i>	1	0	0			
<i>D. sabanicola</i>	4	0	0			
<i>Priodontes giganteus</i>	5	0	0			
<i>Tamandua longicaudata</i>	2	0	0			

1.6- Hidatidosis en Xenartros en la provincia de La Pampa

En la provincia de La Pampa no existen datos previos de la presencia de *E. granulosus* en *C. villosus* (ni en ningún otro Xenartro) hasta la presente tesis.

El objetivo general de este capítulo es determinar si *C. villosus* está expuesto a *E. granulosus* y, de estarlo, cuál es su prevalencia.

2- MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología de captura de los individuos estudiados así como el área de estudio se indicó en el capítulo 1.

Para la detección de anticuerpos contra *E. granulosus* se realizó una prueba de hemoaglutinación indirecta (HAI, Hidatest Polychaco), kit elaborado por Laboratorio Lemos S.R.L., Argentina, siguiéndose las instrucciones especificadas por el fabricante.

Se inspeccionaron intestinos de *C. villosus* en búsqueda de la presencia del estadio adulto de *E. granulosus* y de distintos órganos para la detección de quistes hidatídicos.

3- RESULTADOS

De las 150 muestras de suero analizadas en *Chaetophractus villosus*, se encontraron anticuerpos contra *E. granulosus* en 12% (18/150) de los individuos ($IC_{95\%}=6,7-17,3$; Figura 2a y 2b).



Figura 2: a- Placa con muestra de sueros positivos (+) y negativos (-), b- Visor de aglutinación (Microserum).

En todos los sitios de captura hubo algún *C. villosus* positivo a *E. granulosus*, con excepción de los sitios C1, D, D2, D3 y F. La prevalencia en los sitios con serología positiva varió entre 3,5% a 50% (Tabla 3).

Tabla 3: Presencia de anticuerpos a *E. granulosus* (Eg.) según los distintos sitios de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Sitios Individuos	A	A1	B	B1	C	C1	D	D1	D2	D3	E	F
Cv. neg. a Eg.	24	7	13	8	28	5	4	7	2	8	22	4
Cv. pos. a Eg.	1	1	3	8	1	0	0	1	0	0	3	0
Total Cv.	25	8	16	16	29	5	4	8	2	8	25	4
Prevalencia (%).	4	12,5	18,7	50	3,5	0	0	12,5	0	0	12	0

De los 70/150 *C. villosus* machos muestreados, 5,71% (4) fueron positivos a *E. granulosus* con $IC_{95\%}$: 0,1-11,3 y de las 80/150 hembras, 17,5% (14) fueron positivas, con

IC_{95%}: 9-26. Se observaron diferencias estadísticas significativas entre los sexos, siendo las hembras las más susceptibles ($p=0,027$; OR: 3,5; Figura 3).

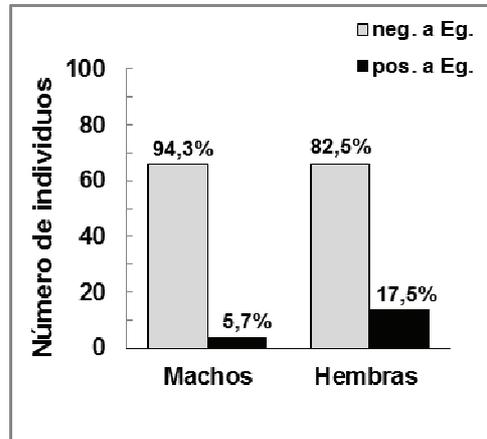


Figura 3: Prevalencia de anticuerpos a *E. granulosis* (Eg.) según el sexo de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

De los 23 ejemplares juveniles de *C. villosus* muestreados, el 13,04% (3) fueron positivos a *E. granulosis* en tanto que de los 127 adultos, 11,81% (15) fueron positivos. La edad de los *C. villosus* no influye en la presencia o no de anticuerpos contra *E. granulosis* ($p=0,867$; OR: 0,833; Figura 4).

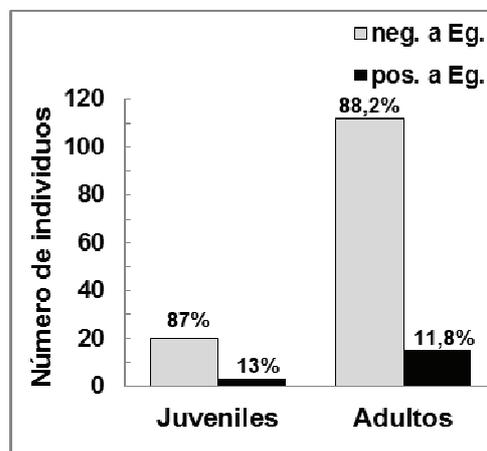


Figura 4: Prevalencia de anticuerpos a *E. granulosis* (Eg.) según la edad de los *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de tambo (A, A1, B, B1, D, D3, E y F) se hallaron 16/106 *C. villosus* positivos a *E. granulosis* con prevalencia 15,1%; en sitios con presencia de tambo (C, C1, D1 y D2) se halló 2/44 *C. villosus* positivos, siendo la prevalencia 4,54%. De los 18 *C. villosus* positivos a *E. granulosis*, 11,1% (2) correspondieron a sitios de captura con presencia de tambo. La presencia o ausencia de

tambo en el sitio de captura de los *C. villosus* no influye en el hallazgo de anticuerpos contra *E. granulosus* ($p=0,07$; OR: 0,268; Figura 5).

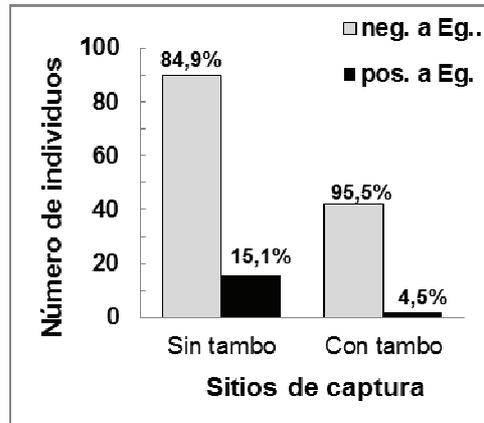


Figura 5: Prevalencia de anticuerpos a *E. granulosus* (Eg.) según presencia o ausencia de tambo en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura donde no había cerdos (A, A1, B, C, C1, D, D1, D3, E y F) se halló 7,57% (10/132) de los *C. villosus* positivos a *E. granulosus*, en sitios con presencia de cerdos (B1, D2) se halló 44,4% (8/18). De los 18 individuos positivos a *E. granulosus*, 44,4% (8) correspondieron a sitios de captura con presencia de cerdos. Se hallaron diferencias estadísticas significativas, siendo los *C. villosus* capturados en sitios con presencia de cerdos, los que están más expuestos a *E. granulosus*, con respecto a los que son capturados en sitios en donde no hay cerdos ($p=0,001$; OR: 9,76; Figura 6).

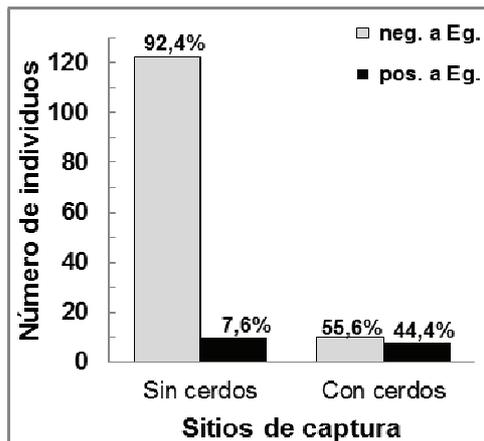


Figura 6: Prevalencia de anticuerpos a *E. granulosus* (Eg.) según presencia o no de cerdos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había ovinos (A1, C, C1, D, D1 y F) se halló 5,17% (3/58) de los *C. villosus* positivos a *E. granulosus*, mientras que en sitios con presencia de ovinos (A, B, B1, D2, D3 y E) se halló 16,3% (15/92). De los 18 *C. villosus*

positivos a *E. granulosus*, 83,3% (15) correspondieron a sitios de captura con presencia de ovinos. Se hallaron diferencias estadísticas significativas, siendo los *C. villosus* capturados en sitios con presencia de ovinos los que están más expuestos a contraer *E. granulosus* ($p=0,001$; OR: 3,571; Figura 7).

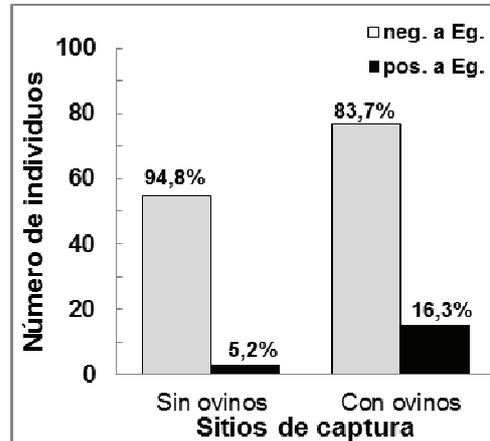


Figura 7: Prevalencia de anticuerpos a *E. granulosus* (Eg.) según presencia o no de ovinos en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

En los sitios de captura en donde no había presencia de aves de corral (A1, B, C1, D, D3 y F) se halló 7,55% (4/53) de los *C. villosus* positivos a *E. granulosus*, mientras que en sitios con presencia de aves de corral (A, B1, C, D1, D2 y E) se halló 14,43% (14/97). De los 18 *C. villosus* positivos a *E. granulosus*, 77,77% (14) correspondieron a sitios de captura con presencia de aves de corral. La presencia o ausencia de aves de corral no influye en la presencia de anticuerpos contra *E. granulosus* en los *C. villosus* ($p=0,475$; OR: 1,486; Figura 8).

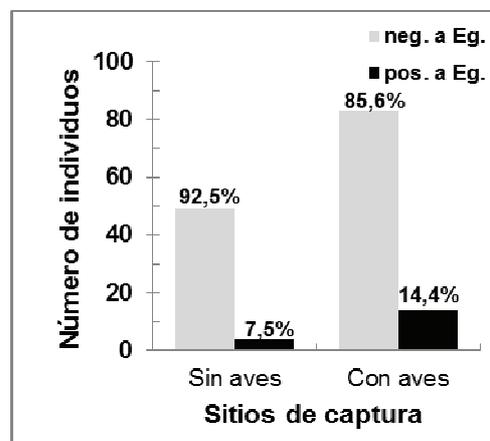


Figura 8: Prevalencia de anticuerpos a *E. granulosus* (Eg.) según presencia o no de aves de corral en el sitio de captura, en *C. villosus* (Cv.) en La Pampa.

Se procedió a revisar los intestinos de los 18 *C. villosus* que dieron positivos a *E. granulosus* en búsqueda de la presencia de cestodos adultos. En ningún caso se encontraron ejemplares adultos de *E. granulosus*. En cinco *C. villosus* (positivos por serología a *E. granulosus*) se encontraron ejemplares de *Mathevotaenia* sp. (Yamaguti 1959) en el intestino delgado; en el resto de los intestinos analizados no se encontró ningún cestodo.

Asimismo, se analizaron 45 *C. villosus* que dieron serología negativa a *E. granulosus*, de los cuales en 23 individuos se encontraron cestodos (*Mathevotaenia* sp.) (Figura 9 a y b) y en 22 no se halló ninguna especie de cestodo. No se hallaron quistes compatibles con la enfermedad en ninguno de los 150 *C. villosus* analizados.

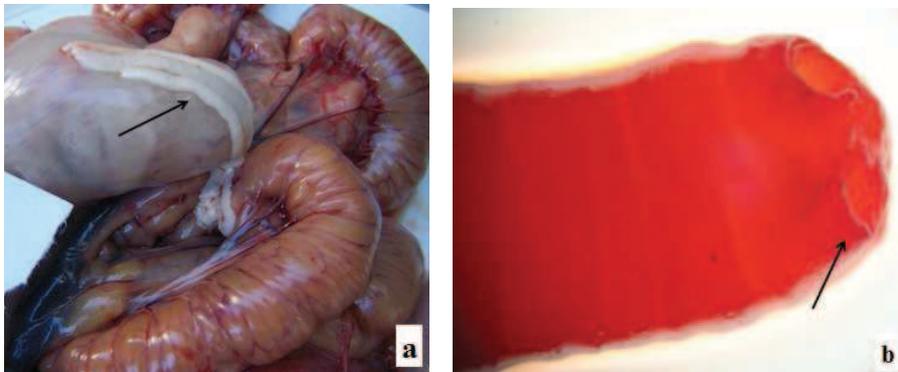


Figura 9: a- Cestodo (*Mathevotaenia* sp.) saliendo del intestino (→). b- escólex con ventosa de *Mathevotaenia* sp. (→).

4- DISCUSIÓN

Estos resultados son los primeros registros de la presencia de anticuerpos contra *E. granulosus* en *C. villosus* y en Xenartros.

E. granulosus es una zoonosis endémica en todo el territorio de Argentina, si bien la infección no tiene una distribución geográfica homogénea. La contribución del ganado vacuno, porcino, ovino en la transmisión de la enfermedad depende de la región: mientras que el ovino es el anfitrión principal en la zona patagónica y en la región mesopotámica, el ganado bovino es el principal implicado en la transmisión de esta enfermedad en la región Pampeana y en las regiones del norte del país (Andresiuk et al. 2009).

En esta tesis, los *C. villosus* capturados en sitios con presencia de bovinos presentaron una mayor prevalencia (15,1%) que la detectada en bovinos en La Pampa

(1,54%; 2,28%, Dal Bianco et al. 2011, Dubarry et al. 2011). Esta diferencia podría estar dada por el tipo de dieta que presentan los armadillos (omnívoros, carroñeros).

Por otra parte, nuestros resultados mostraron que la presencia de ovinos en los sitios de captura predispone significativamente a *C. villosus* a contraer *Echinococcus*. La prevalencia hallada (12%) es similar a la registrada por Suarez et al. (2011) en ovinos para La Pampa (11,5%). Con lo cual podríamos suponer que los *C. villosus* estarían consumiendo quistes hidatídicos provenientes de ovinos muertos infectados. También la infección podría deberse a la ingestión de huevos de *Echinococcus* disponibles en el medio ambiente, o de vísceras contaminadas, ya que es una práctica muy común en los predios rurales que éstas sean eliminadas al medio ambiente sin un tratamiento previo, al momento de faenar los ovinos, por lo cual las vísceras quedan disponible para ser ingeridas por parte de los *C. villosus* (observación personal).

Asimismo, la presencia de cerdos también predispone significativamente a *C. villosus* a contraer *Echinococcus*, pero esto es difícil de explicar dado que en La Pampa no hay datos de prevalencia de hidatidosis en cerdos, lo cual no nos permite realizar ninguna comparación con los datos obtenidos en esta tesis.

Otro hallazgo fue que las hembras de *C. villosus* están más predispuestas a contraer *Echinococcus* que los machos, no siendo tampoco posible explicar cuál es el factor que determina este hecho.

La no detección de ejemplares adultos de *Echinococcus* en los intestinos de los ejemplares examinados podría deberse al tiempo de vida de este cestodo, que se estima entre 4 ó 5 meses, con posterior muerte y eliminación con las heces o digestión en el intestino (Borchert 1964, OIE. 2008), lo cual podría haber ocurrido en los *C. villosus* muestreados.

Otra posible explicación de la no presencia del adulto en los intestinos de *C. villosus* podría relacionarse con algún factor que aún no hemos podido detectar. Al respecto, hemos observado en las heces de un armadillo que se encontraba en cautiverio la presencia de huevos del nematodo *Trichiuris pampeana*, pero a los 15 días posteriores al hallazgo el ejemplar fue necropsiado y en su intestino no se hallaron los adultos de *Trichiuris*, como así tampoco huevos en las heces (datos no publicados).

Por otra parte, en ninguno de los armadillos que dieron positivo por serología a *E. granulosus* se halló *Taenia ovis* ni *Taenia hydatigena*, por lo cual debe descartarse reacción cruzada, como menciona Larrieu et al. (2004) en ovinos, con esas especies. Asimismo, tampoco se explicaría como reacción cruzada la detección de *Mathevotahenia*

sp., ya que sólo se detectó en el intestino de cinco de los ejemplares *C. villosus* que resultaron positivos por serología, y, por otra parte, se encontró en individuos con serología negativa.

Serán necesarios nuevos estudios para determinar cuál es el rol que cumple *C. villosus* en el ciclo de *E. granulosus*.

5- CONCLUSIÓN

- Estos son los primeros registros de la presencia de anticuerpos contra *E. granulosus* en *C. villosus* y en Xenartros.
- Se confirmó la hipótesis que los *C. villosus* están expuestos a *E. granulosus*.
- Las hembras de *C. villosus* son más susceptibles de estar en contacto con *E. granulosus*.
- La presencia de anticuerpos contra *E. granulosus* es independiente de la edad de los armadillos.
- La presencia de cerdos y ovinos incrementa la probabilidad de los armadillos de estar en contacto con *E. granulosus*, a diferencia de presencia de tambo o de aves de corral.
- No se encontraron quistes hidatídicos en los órganos de los *C. villosus* muestreados.
- No se halló al cestodo adulto en los intestinos de los ejemplares analizados.
- Nuevos estudios serán necesarios para determinar cuál es el rol que cumple *C. villosus* en el ciclo de *E. granulosus*.

6- BIBLIOGRAFÍA

- Acha PN.; Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: Parasitosis. Capítulo 2: Hidatidosis. Organización Panamericana de la Salud. Vol III. Publicación Científica y Técnica N° 580, 3° (ed.) Washington Pg. 195-211.
- Alonso N.; Carcedo J.; Misuinas S.; Fader O.; Dib M.; Macchiavelli L.; Torres G.; Peñaloza R.; Granada E.; Machado Bruno A.; Apostolo A.; Clausen L.; Moreira G.;

- Liberal M.; Jaular A.; Denis I.; Bovo E.; López Brizzio J.; Conesa A.; Murua L.; Hidalgo G.; Ludueña F.; Lofredo M.; Rodríguez P.; Ferrer N.; Morales S. 2012. Gestión de un plan de control de Hidatidosis en Pampa de Achala, provincia de Córdoba. Argentina. Vet. Arg. 29(288):1-10.
- Andresiuk MV.; Ponce Gordo F.; Cuesta Bandera C.; Elissondo MC.; Dopchiz M.; Denegri G. 2009. *Echinococcus granulosus*: biological comparison of cattle isolates from endemic regions of Argentina and Spain. Rev. Arg. Microb. 41:218-225.
- Benenson AS. (ed.). 1997. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Informe Oficial de la Asociación Estadounidense de Salud Pública. OPS. 16ª edición. Washington. Publicación Científica N° 564. Pg. 541.
- Borchert A. 1964. Parasitología veterinaria. (ed.) Acribia Zaragoza (España). Pg. 650.
- Brés SA.; Insaurralde JM.; Dozdor LA.; Joerin VN. 2007. Hidatidosis. Revista de Posgrado de la Vía Cátedra de Medicina 167: 29-33.
- Dal Bianco J.; Sago A.; Miranda A. 2011. Hidatidosis bovina en la provincia de La Pampa y San Luis, Argentina. Hallazgo en faena. Anuario INTA-SENASA 7-14.
- Defra. 2010. The change in likelihood of *Echinococcus multilocularis* (Alveolar Echinococcosis) introduction into the United Kingdom as a consequence of adopting the existing harmonised Community rules for the non-commercial movements of pet animals, (Toth B.; Frost A.; Roberts H.) Veterinary Science Team and Vendu, 17 Smith Square, London, SW1P 3JR, United Kingdom. Version 2.0, Released 21st April 2011, pg. 29. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/180934/qra-echinococcus-101101.pdf
- Diker AI.; Tinar R.; Senlik B. 2007. Viability of *Echinococcus granulosus* protoscolices at different conditions. Vet. Parasitol. 150:84-87.
- Dubarry JR.; Errea AL.; Maria AE.; Muñoz C.; Kenny O.; Véspoli Pucheu MV.; Lamberti R.; Vera OA.; Hierro JA.; Carne L.; Risi R. 2011. Hidatidosis Bovina: Contrastación de los diagnósticos macroscópico y microscópico. Ciencia. Veterinaria 13(1):52-55. http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/v13a08_dubarry.pdf
- González González D.; Olivera Pertusso E. 2011. Hidatidosis hepática. 62º Congreso Uruguayo de Cirugía. (ed. Pimesol S. A.) Montevideo, Uruguay. Cap.6. Pg. 38-54. http://www.scu.org.uy/publicaciones/articulos/Relato_Oficial-Congreso_Cirugia-2011_Hidatidosis-hepatica.pdf

- Grosso G.; Gruttadauria S.; Biondi A.; Marventano S.; Mistretta A. 2012. Worldwide epidemiology of liver hydatidosis including the Mediterranean area. *W. J. G.* 18(13):1425-1437.
- IICAB (Intitute for International Cooperation in Animal Biologics). 2011. Echinococcosis, Echinococcosiasis, Hydatidosis, Hydatid Disease. <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/echinococcosis.pdf>.
- Lamberti R.; Calvo C.; Pombar A.; Gino L.; Álvarez E.; Aguado C.; Larrieu A. 1999. Hydatidosis in the province of La Pampa, Argentina, 1998. *Bol. Chil. Parasitol.* 54:3-4.
- Lamberti R.; Calvo C.; Pombar A.; Gino L.; Álvarez E.; Larrieu E.; Aguado C. 2000. Estudio epidemiológico de la hidatidosis en el departamento Maracó en la provincia de La Pampa. *Cs. Vet. Fac. Cs. Vet. UNLPam.* 12-15.
- Lapage G. 1981. *Parasitología Veterinaria.* (ed.) Compañía Editorial Continental, S. A., México. Pg. 790.
- Larrieu E.; Belloto A.; Arámbulo III P.; Tamayo H. 2004. Echinococcosis quística: epidemiología y control en América del Sur. *Parasitol. Latinoam.* 59:82-89.
- Morales GA.; Guzman VH.; Wells E.A.; Angel D. 1979. Polycystic echinococcosis in Colombia: the larval cestodes in infected rodents. *J. Wildlife Dis.* 15(3):421-428.
- Negro PS.; Arduzzo GL.; Pagano FG.; Bonifacio DR.; Bassi AR.; Giudici CJ.; Ruiz CN.; Moriena R. A. 2007. Caracterización del quiste hidatídico en la especie porcina. *Rev. Med. Vet.* 88(6):237-241.
- OIE. 2008. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.1.4. Equinococosis/Hidatidosis. 1-16. http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.01.04.%20Equinococosis%20-%20Hidatidosis.pdf
- Olsen OW. 1977. *Parasitología Animal II Platelmino, Acantocéfalo y Nematelmintos.* Ed. Aedos. Barcelona. Traducción de la 3ra edición. Pg.721.
- Pérez Martín E.; Bernal RC.; Serrano Aguilera J. 2010 Hidatidosis porcina: distribución, frecuencia, profilaxis y programas de lucha. http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/parasitarias/parasitarias_cerdos/13-hidatidosis.pdf
- REC 1.443 (Reporte Epidemiológico de Córdoba) Argentina. 2014. Vigilancia de hidatidosis. (ed.) Mínguez, A. Del 22 de septiembre de 2014
- Sánchez Acedo C. 2002. Hidatidosis. *Pequeños rumiantes.* 3(2):9-15.
- Sánchez Thevenet P.; Jensen O.; Drut R.; Cerrone GE.; Grenóvero MS.; Alvarez EM.; Targovnik HM.; Basualdo JA. 2005. Viability and infectiousness of eggs of

- Echinococcus granulosus* aged under natural conditions of inferior arid climate. Vet. Parasitol. 133:71-77.
- Schantz PM.; Lord RD. 1972. *Echinococcus* in the South American red fox (*Dusicyon culpaeus*) and the European hare (*Lepus europaeus*) in the Province of Neuquén, Argentina. Ann. Trop. Med. Parasit. 66:479-485. En Advances in Parasitology APL. (eds.) Baker JR.; Muller R. 1988. Variation within the genus *Echinococcus* II Taxonomy A. species. Thompson RCA.; Lymbery AJ. Pg.213-258.
- Schantz PM.; Colli C.; Cruz-Reyes A.; Prezioso U. 1976. Sylvatic echinococcosis in Argentina. II Susceptibility of wild carnivores to *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) and host-induced morphological variation. Tropen. Med. Parasite. 27:70-78.
- Scioscia NP.; Beldomenico PM.; Pettrigh RS.; Pierangeli N.; Denegri GM. 2013. Epidemiological studies on *Echinococcus* in pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*) and european hare (*Lepus europaeus*) in Buenos Aires province, Argentina. Parasitol. Res. 112(10):3607-3613.
- Scioscia NP.; Beldomenico PM.; Denegri GM. 2014. Hallazgo de *Echinococcus granulosus* s. l. en el zorro gris pampeano, *Lycalopex gymnocercus* en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. III Congreso Panamericano de Zoonosis. VIII Congreso Argentino de Zoonosis. Fac. Cs Médicas UNLP. Del 4 al 6 de Junio, La Plata. Resúmenes. [http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/2014%20NPS%20con%20afiliaci%C3%B3n%20\(1\)%20\(1\).pdf](http://200.123.165.129/archivos/congreso_zoonosis/congreso/resumenes/2014%20NPS%20con%20afiliaci%C3%B3n%20(1)%20(1).pdf)
- Stein M.; Suriano DM.; Novaro AJ. 1994. Nematodes parásitos de *Dusicyon griseus*, *D. culpaeus* y *Conepatus chinga* (Mamífera: Carnívora) en Neuquén, Argentina. Sistemática y ecología. Bol. Chileno Parasitol. 49:60-65. En Novaro AJ. 1977. *Pseudalopex culpaeus*. Mammalian Species 558:1-8.
- Suarez VH.; Busetti MR.; Real Ortellado M. 2011. Prevalencia de enfermedades y manejo sanitario en los sistemas de producción ovina de lana y carne de La Pampa, Argentina. Sitio Argentino de Producción Animal, 1-11. http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina/134-Prevalencia_enfermedades.pdf
- Szidat L. 1960. *Echinococcus patagonicus* sp. nov. (Cestoda), parásito del zorro *Dusicyon culpaeus culpaeus* (MOL.) Neotrópica, 6:13-16.
- Szidat L. 1963. Studien über den Erreger der alveolaren Echinococckenkrankheit des Menschen in Sudamerika. Zeitschrift für Parasitenkunde. 23:80-91. En Novaro AJ. 1977. *Pseudalopex culpaeus*. Mammalian Species 558:1-8.

- Turnes A. 2009. La hidatidosis como problema de salud pública. Una mirada histórica. (ed. Tradinco S. A.). XXIII Congreso Mundial de Hidatidología. Colonia de Sacramento. Montevideo, Uruguay. Pg. 142.
- Varela Díaz VM.; Guarnera EA.; Coltorti EA. 1986. Ventajas y limitaciones de los métodos inmunológicos y de detección por imágenes para el diagnóstico de la hidatidosis. Bol of Sanit. Panam. 100(4):369-386. http://www.michigan.gov/dnr/0,4570,7-153-10370_12150_12220-117400--,00.html
- Vizcaychipi KA.; Helou M.; DeMatteo K.; Macchiaroli N.; Cucher M.; Rosenzvit M.; D'Alessandro A. 2013. Primera identificación de *Echinococcus vogeli* en una paca en la provincia de Misiones, Argentina. First report of *Echinococcus vogeli* in a paca in Misiones province, Argentina. Rev. Argent. Microbiol. 45(3):169-173.
- Yamaguti S. 1959. The cestodes of vertebrates. Vol. II. Intercience Publishers, Inc. New York. Pg. 880.
- Zanini F.; Laferrara M.; Bitsch M.; Pérez H.; Elisondo MC. 2006. Epidemiological studies on intestinal helminth parasites of the patagonian grey fox (*Pseudalopex griseus*) in Tierra del Fuego, Patagonia, Argentina. Vet. Parasitol. 136:329-334.

CAPÍTULO XII: ANÁLISIS DE LAS DISTINTAS ENFERMEDADES Y CONCLUSIÓN FINAL

En este capítulo se compara la prevalencia de las distintas enfermedades evaluadas en *C. villosus*, para ver cuál de ellas resulta con mayor predisposición a estar presente cuando en el mismo ejemplar se encuentran anticuerpos para otras enfermedades. La prueba de Chi-cuadrado (χ^2 p) y el *odd ratio* (OR, Tabla 1) se utilizaron para estimar la prueba de asociación y los factores de riesgo de las distintas enfermedades analizadas. Además, se sintetizan los diferentes resultados obtenidos para *C. villosus* en esta tesis.

1.1- Brucelosis

La presencia de anticuerpos contra *M. bovis* (p=0,844, OR=0,915), *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (p=0,326, OR=1,564), *Leptospira* (p=0,833, OR=1,115), *Neospora caninum* (p=0,879, OR=1,075), *Toxoplasma gondii* (p=0,223, OR=1,762), *Trypanosoma cruzi* (p=0,964, OR=1,052), *Echinococcus granulosus* (p=0,146, OR=2,287) no los predispone a contraer *Brucella*. En cambio, la presencia de larvas de *Trichinella spiralis* (p=0,045; OR=2,5) los predispone a contraer *Brucella*.

1.2- Tuberculosis

La presencia de anticuerpos contra *Brucella* (p=0,844, OR=0,915), *T. gondii* (p=0,451, OR=1,324), *T. cruzi* (p=0,763, OR=0,788), *E. granulosus* (p=0,641, OR=1,27), y/o larvas de *Trichinella spiralis* (p=0,628, OR=0,833) no los predispone a contraer *M. bovis*. En cambio, la presencia de anticuerpos contra *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (p=0,001, OR=8,647), *N. caninum* (p=0,001, OR=3,936) o *Leptospira* (p=0,013, OR=2,839) los predispone a contraer *M. bovis*.

1.3- Paratuberculosis

La presencia de anticuerpos contra *Brucella* (p=0,326, OR=1,564), *N. caninum* (p=0,058, OR=1,972), *T. gondii* (p=0,059, OR=2,038), *T. cruzi* (p=0,504, OR=1,789), *E. granulosus* (p=0,84, OR=1,107), y/o larvas de *T. spiralis* (p=0,514, OR=1,28) no los predispone a contraer *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. En cambio, la presencia de

anticuerpos contra *Mycobacterium bovis* ($p=0,001$, $OR=8,647$) o *Leptospira* ($p=0,014$, $OR=2,727$) los predispone a contraer *M. avium* subsp. *paratuberculosis*.

1.4- Leptospirosis

La presencia de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,833$, $OR=1,115$), *N. caninum* ($p=0,456$, $OR=1,351$), *T. gondii* ($p=0,851$, $OR=1,084$), *T. cruzi* ($p=0,168$, $OR=0$), *E. granulosus* ($p=0,905$, $OR=0,931$), y/o larvas de *T. spiralis* ($p=0,953$, $OR=1,027$) no los predispone a contraer *Leptospira*. En cambio, la presencia de anticuerpos contra *M. bovis* ($p=0,013$, $OR=2,839$), o *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ($p=0,014$, $OR=2,727$) los predispone a contraer *Leptospira*.

1.5- Neosporosis

La presencia de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,879$, $OR=1,075$), *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ($p=0,058$, $OR=1,972$), *Leptospira* ($p=0,456$, $OR=1,351$), *T. cruzi* ($p=0,943$, $OR=1,065$), *T. gondii* ($p=0,405$, $OR=0,714$), *E. granulosus* ($p=0,504$, $OR=1,412$), y/o larvas de *T. spiralis* ($p=0,459$, $OR=1,338$) no los predispone a contraer *N. caninum*. En cambio, la presencia de anticuerpos contra *M. bovis* ($p=0,001$, $OR=3,936$) los predispone a contraer *N. caninum*.

1.6- Toxoplasmosis

La presencia de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,223$, $OR=1,762$), *M. bovis* ($p=0,451$, $OR=1,324$), *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ($p=0,059$, $OR=2,038$), *Leptospira* ($p=0,851$, $OR=1,084$), *N. caninum* ($p=0,405$, $OR=0,714$), y/o larvas de *Trichinella* ($p=0,871$, $OR=0,933$) no los predispone a contraer *T. gondii*. En cambio, la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* ($p=0,027$, $OR=5,784$) o *E. granulosus* ($p=0,001$, $OR=5,343$) los predispone a contraer *T. gondii*.

1.7- Chagas

La presencia de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,964$, $OR=1,052$), *M. bovis* ($p=0,763$, $OR=0,788$), *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ($p=0,504$, $OR=1,789$), *Leptospira* ($p=0,168$, $OR=0$), *N. caninum* ($p=0,943$, $OR=1,065$), *E. granulosus* ($p=0,72$, $OR=1,494$),

y/o larvas de *T. spiralis* ($p=0,618$, $OR=0,578$) no los predispone a contraer *T. cruzi*. En cambio, la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* ($p=0,027$, $OR=5,784$) los predispone a contraer *T. cruzi*.

1.8- Triquinelosis

La presencia de anticuerpos contra *M. bovis* ($p=0,628$, $OR=0,833$), *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ($p=0,514$, $OR=1,28$), *Leptospira* ($p=0,862$, $OR=1,027$), *N. caninum* ($p=0,459$, $OR=1,338$), *T. gondii* ($p=0,871$, $OR=0,933$), *T. cruzi* ($p=0,618$, $OR=0,578$), *E. granulosus* ($p=0,799$, $OR=1,154$) no los predispone a contraer larvas de *T. spiralis*. En cambio, la presencia de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,045$, $OR=2,5$) los predispone a contraer larvas de *T. spiralis*.

1.9- Hidatidosis

La presencia de anticuerpos contra *Brucella* ($p=0,146$, $OR=2,287$), *M. bovis* ($p=0,641$ con un $OR=1,27$), *M. avium* subsp. *paratuberculosis* ($p=0,84$, $OR=1,107$), *Leptospira* ($p=0,905$, $OR=0,931$), *N. caninum* ($p=0,504$, $OR=1,412$), *T. cruzi* ($p=0,72$, $OR=1,494$), y/o larvas de *T. spiralis* ($p=0,779$, $OR=1,154$) no los predispone a contraer *E. granulosus*. En cambio, la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en *C. villosus* ($p=0,001$, $OR=5,343$) los predispone a contraer *E. granulosus*.

En la Tabla 1 se resume los distintos valores obtenidos de p del test χ^2 y su *Odds ratio* (OR) para cada una de las enfermedades analizadas.

Tabla1: Valores hallados del test estadístico χ^2 y los valores del Odds ratio (OR), en rojo los valores de p significativos.

OR \ χ^2	Bru	Tub	Parat	F. A.	Lep.	Tri	Neo	Cha	Toxo	Hid.
Bru	0	0.844	0.326	0	0.833	0.045	0.879	0.964	0.223	0.146
Tub	0.915	0	0.001	0	0.013	0.628	0.001	0.763	0.451	0.641
Parat	1.564	8.647	0	0	0.014	0.514	0.058	0.504	0.059	0.84
F. A.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lep.	1.115	2.839	2.727	0	0	0.953	0.456	0.168	0.851	0.905
Tri	2.5	0.833	1.28	0	1.027	0	0.459	0.618	0.871	0.799
Neo	1.075	3.936	1.972	0	1.351	1.338	0	0.943	0.405	0.504
Cha	1.052	0.788	1.789	0	0	0.578	1.065	0	0.027	0.72
Toxo	1.762	1.324	2.038	0	1.084	0.933	0.714	5.784	0	0.001
Hida	2.287	1.27	1.107	0	0.931	1.154	1.412	1.494	5.343	0

1.10- Presencia de anticuerpos contra distintas enfermedades según los sitios de captura de *Chaetophractus villosus*.

En todos los sitios en donde fueron muestreados los *C. villosus* hubo al menos un animal positivo para algunas de las enfermedades analizadas (Tabla 2). De los 150 *C. villosus* muestreados, 17 no presentaron anticuerpos a ninguna de las enfermedades, ni larvas de *Trichinella*; 31 presentaron anticuerpos contra una o tres enfermedades diferentes, 27 presentaron anticuerpos a dos enfermedades, 28 presentaron anticuerpos contra cuatro enfermedades, 11 presentaron anticuerpos a cinco enfermedades, 4 presentaron anticuerpos contra 6 enfermedades (sitio B, B1 y C) y un solo *C. villosus* proveniente del sitio C presentó anticuerpos contra 7 enfermedades diferentes [*Brucella*, *M. bovis*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *N. caninum*, *T. gondii*, *E. granulosus* y larvas de *T. spiralis* (Tabla 2)].

Tabla 2: Cantidad de *C. villosus* que presentaron o no, anticuerpos a una o más enfermedad (Enf.), o larvas de *Trichinella*, según los sitios de captura, en La Pampa. En rojo número máximo de individuos positivos a la presencia de una o varias enfermedades.

Enf. Sitios	0	1	2	3	4	5	6	7	Total
A	2	7	3	5	6	2	0	0	25
A1	2	1	1	4	0	0	0	0	8
B	1	4	4	3	2	1	1	0	16
B1	3	1	2	4	3	2	1	0	16
C	4	4	5	6	5	2	2	1	29
C1	0	2	1	1	1	0	0	0	5
D	1	2	0	1	0	0	0	0	4
D1	0	0	1	2	4	1	0	0	8
D2	0	0	1	0	1	0	0	0	2
D3	1	3	2	0	2	0	0	0	8
E	1	6	6	5	4	3	0	0	25
F	2	1	1	0	0	0	0	0	4
Total	17	31	27	31	28	11	4	1	150

1.11- Enfermedades no detectadas según los sitios de captura

En la Tabla 3 se resumen los sitios en los cuales no se detectaron las enfermedades investigadas.

Tabla 3: Enfermedades (Enf.) ausentes (X) según los sitios de captura de *C. villosus*, en La Pampa.

Enf. Ausente	Fiebre aftosa	<i>Brucella</i>	<i>Mycobacterium bovis</i>	<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	<i>Leptospira</i>	<i>Neospora caninum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>	<i>Trichinella spiralis</i>	<i>Echinococcus granulosus</i>
Sitio (n)										
A (25)	X							X		
A1 (8)	X						X	X	X	
B (16)	X									
B1 (16)	X									
C (29)	X									
C1 (5)	X							X		X
D (4)	X	X			X			X	X	X
D1 (8)	X									
D2 (2)	X				X	X		X		X
D3 (8)	X						X	X		X
E (25)	X									
F (4)	X	X			X		X	X	X	X

2- SÍNTESIS DE PRINCIPALES CONCLUSIONES

- En todos los sitios de captura hubo algún *C. villosus* positivo a una o más enfermedades analizadas.
- En el sitio F los *C. villosus* están menos expuestos a estar en contacto con las distintas enfermedades analizadas.
- En los sitios B, B1, C, D1 y E estuvieron presentes todas las enfermedades con excepción de Fiebre Aftosa.
- En el sitio C se detectó al *C. villosus* que más enfermedades presentó (7).
- Los *C. villosus* capturados en sitios con presencia de tambo estuvieron más expuestos a contraer *M. bovis* y a presentar larvas de *Trichinella spiralis*.
- Los *C. villosus* capturados en sitios con presencia de cerdos estuvieron más expuestos a contraer *T. gondii* y *E. granulosus*.
- Los *C. villosus* capturados en sitios con presencia de ovinos estuvieron más expuestos a contraer *T. gondii* y *E. granulosus*.
- Los *C. villosus* capturados en sitios donde hay aves de corral, resultaron más expuestos a contraer *M. avium* subsp. *paratuberculosis* y *Leptospira*.

- Los *C. villosus* adultos presentaron mayor predisposición a estar en contacto con las distintas enfermedades.
- Los *C. villosus* adultos son más susceptibles a contraer *Leptospira*, registrando títulos de anticuerpos altos (1/3200) y son positivos a más de un serovar.
- Los juveniles de *C. villosus* estuvieron menos expuestos que los adultos a contraer *M. bovis* y *M. avium* subsp. *paratuberculosis*.
- Los *C. villosus* juveniles no presentaron anticuerpos contra *Brucella*.
- La presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* solo se detectó en hembras.
- Las hembras de *C. villosus* resultaron más susceptibles a estar en contacto con *E. granulosus*.
- No se encontraron quistes hidatídicos en los órganos ni al cestodo *E. granulosus* adulto en los intestinos de los *C. villosus* en La Pampa.
- Se detectó la presencia del cestodo *Mathebotaenia* sp.
- En los *C. villosus* de la provincia de La Pampa, no se detectó la presencia de anticuerpos contra Fiebre Aftosa.
- Se registra por primera vez en *C. villosus* y en Xenartra la presencia de anticuerpos contra *Brucella suis* biovar 1, *Mycobacterium bovis*, *Neospora caninum* y *Echinococcus granulosus*.
- Se registra por primera vez en *C. villosus* la presencia de anticuerpos contra *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* y *Toxoplasma gondii*.
- Se registra por primera vez la presencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, Canicola y Hardjo y anticuerpos contra *Leptospira borgpetersenii* serovar Castellonis para *C. villosus* en la provincia de La Pampa.
- Se registra por primera vez la presencia de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en *C. villosus*, para la provincia de La Pampa.
- Se registra por primera vez para la provincia de La Pampa, la presencia de larvas de *Trichinella spiralis* en *C. villosus*.
- Los *C. villosus* pueden infectarse con *B. suis* biovar 1 en forma natural y experimental.
- Los *C. villosus* son reservorios de *Leptospira*. Los serovares que se hallaron con más frecuencia y con títulos más alto correspondieron a los serovares Canicola y Castellonis, ambos con títulos de 1:3200.

- Los *C. villosus* son transmisores de: *Brucella suis* biovar 1, *T. spiralis*, *Leptospira interrogans* serovar Icterohaemorrhagiae, Canicola y Hardjo y *Leptospira borgpetersenii* serovar Castellonis y *T. cruzi*.
- Los *C. villosus* son hospedadores intermediarios de *M. bovis*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *N. caninum*, *T. gondii* y *E. granulosus*.

La presencia de las zoonosis detectadas en esta tesis representa un riesgo para los vertebrados que predan sobre *Chaetophractus villosus*, para los animales domésticos con los cuales comparte el mismo hábitat, y para los seres humanos cuando lo manipulan o consumen. Asimismo, podrían afectar a sus poblaciones naturales. Los resultados de este trabajo proporcionan información de interés epidemiológico y para la elaboración de planes de manejo de la especie.

3- PUBLICACIONES ORIGINADAS DE ESTA TESIS

Los resultados presentados en este trabajo de Tesis Doctoral han dado origen a las siguientes publicaciones científicas:

Marta S. Kin, Marcelo Fort, Susana T. de Echaide, Emma B. Casanave. 2014. ***Brucella suis* in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina**. Veterinary Microbiology 170: 442-445. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.01.039

Marta S. Kin, Marcelo Fort, Hugo D. Giménez and Emma B. Casanave. 2015. **First record of *Toxoplasma gondii* in *Chaetophractus villosus* in Argentina**. Acta Parasitológica, 60(1):134-137. doi: 10.1515/ap-2015-0018.

Marta S. Kin, Bibiana Brihuega, Marcelo Fort, Fernando Delgado, Daniel Bedotti, Emma B. Casanave. 2015. **Presence of antibodies against *Leptospira* serovars in *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae), La Pampa province, Argentina**. Revista Argentina de Microbiología 47(1):41-46. doi.org/10.1016/j.ram.2015.01.005.

En etapa de redacción:

- **Presence of antibodies against *Neospora caninum* in *Chaetophractus villosus*.**

- Presencia de *Trichinella spiralis* en *Chaetophractus villosus* y sus factores de riesgo.
- Primer registro de *Trichuris pampeana* en *Chaetophractus villosus*.

3.1- Reportaje

La brucelosis tiene una alta incidencia en los armadillos de La Pampa. Reportaje realizado por la Agencia Iberoamericana para la difusión de la Ciencia y Tecnología (dcyt) 9/12/2014. www.dicyt.com

3.2- Participación en jornadas y congresos

Se ha contribuido con 22 presentaciones relacionadas con la tesis.

3.3-Tesinas realizadas

Se realizaron dos tesinas de Licenciatura en Cs. Biológicas (Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNLPam) bajo la dirección de Marta S. Kin, en relación con el material recolectado del muestreo de individuos provenientes de esta tesis.

Alumna Valeria Soledad Del Arco, Título: **Endoparásitos presentes en el intestino grueso y/o ciego del peludo (*Chaetophractus villosus*), en dos sitios de La Pampa, Argentina.** Res. 562/11 CD.. Defendida el 9 de abril de 2013. Nota 10 (Distinguido).

Alumna Aurora Parache Chaves, Título: **“Morfometría craneana y poscraneana como herramienta para la diferenciación de sexos en el peludo *Chaetophractus villosus* (Xenartra, Dasypodidae), La Pampa, Argentina.”** Res. 183/13 CD. Defendida el 17 de diciembre de 2014. Nota 10 (Distinguido).

4- LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN A DESARROLLARSE

- Analizar las medidas externas de los *C. villosus* registradas durante el muestreo de los individuos de esta tesis.
- Determinar los ectoparásitos colectados de los *C. villosus* durante el muestreo de los individuos de esta tesis.
- Determinar los endoparásitos presentes en el estómago e intestino delgado de los *C. villosus* colectados durante el muestreo de los individuos de esta tesis.
- Investigar si los *C. villosus* son hospedadores definitivos de *N. caninum*.
- Investigar si los machos de *C. villosus* se infectan con *T. cruzi*.

- Indagar que ocurre con los adultos de *E. granulosus*, cuando estos entran en contacto con *C. villosus*.
- Muestrear sitios al oeste, este, norte y sur de la provincia de La Pampa, para poder determinar si la prevalencia de las diferentes enfermedades analizadas en esta tesis se mantienen en sus valores o, en caso contrario, analizar cuáles son los factores que influyen en la diferencia de las mismas.

Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/authorsrights>



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Microbiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetmic

Short communication

Brucella suis in armadillos (*Chaetophractus villosus*) from La Pampa, Argentina



Marta S. Kin^{a,*}, Marcelo Fort^b, Susana T. de Echaide^c, Emma B. Casanave^{d,e}

^a Chordate Biology, Department of Natural and Exact Sciences, UNLPam, Uruguay 151, Santa Rosa, La Pampa, Argentina

^b Animal Health Laboratory, INTA, Anguil, Ruta Nacional 5 km 580, CC 11 6326 Anguil, La Pampa, Argentina

^c INTA EEA, Rafaela, Ruta 34 km, 227 2300 Rafaela, Santa Fe, Argentina

^d Animal Physiology, Department of Biology, Biochemistry and Pharmacy, National University of the South, Bahía Blanca, Argentina

^e CONICET, San Juan 670, Argentina

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 June 2013

Received in revised form 29 January 2014

Accepted 31 January 2014

Keywords:

Brucella suis biotype 1
wildlife
Chaetophractus villosus
Xenarthra
zoonosis

ABSTRACT

Brucellosis is a zoonotic disease transmitted from an animal reservoir to humans. Both, wildlife and domestic animals, contribute to the spreading of these zoonosis. The surveillance of the animal health status is strictly regulated for domestic animals, whereas disease monitoring in wildlife does not exist. The aim of the present study was to provide data on the prevalence of anti-*Brucella* antibodies in *Chaetophractus villosus* from a region of La Pampa, Argentina to assess public health risks. The *C. villosus* is endemic to South America, and in Argentina it represents a food resource for human consumption. A total of 150 sera of armadillos bleeding between 2007 and 2010 were tested using buffered plate antigen test (BPAT), serum agglutination test (SAT), 2-mercaptoethanol (2-ME) and complement fixation test (CFT), for the detection of anti-*Brucella* antibodies. Antibodies to *Brucella* sp. were found in 16% (24:150) of the armadillos tested using the BPAT test. All 24 positive samples were confirmed by the SAT, 2-ME and CFT tests. Strain isolation was attempted from liver and spleen samples of two animals with positive serology. Isolates were characterized by conventional biotyping and identification of specific DNA using polymerase chain reaction (PCR). A total of 2 isolates were recovered from spleen and liver. Both of them were identified as *Brucella suis* biovar 1. This preliminary study provides the first report on the seroprevalence of brucellosis and describes the first isolate of *B. suis* biovar 1 in *C. villosus* in Argentina.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Brucella is a genus of gram-negative bacteria that are facultative intracellular parasites infecting a wide range of species, including humans. In wild fauna, *Brucella suis* is associated with brucellosis in hares, caribou and rodents, (Godfroid et al., 2010); collared peccaries (Lord and Lord, 1991); and wild boars (Meng et al., 2009).

In human populations in Argentina blood cultures were performed in 40 patients, fielding positive results for 15 of them (37%). The species isolated were *B. suis* biovar1 in 8 (53%) and *Brucella abortus* in four (27%) patients, and three isolates remained as not typed (Aznar et al., 2012). Little is known about the prevalence of *B. suis* in Argentina's wild fauna. Szyfres et al. (1968) isolated *B. suis* biotype 1 from European hare (*Lepus europaeus*) in Buenos Aires province. Fort et al. (2012) identified hares infected by the pathogenic *B. suis* biovar 1 (5.6%) that exhibited typical lesions of the disease and were able to experimentally transmit it to rabbits (*Cuniculus orictolagus*).

* Corresponding author. Tel.: +54 2954 15580378;

fax: +54 2954 432535/+54 2954 245230.

E-mail address: kinsusana@yahoo.com.ar (M.S. Kin).

Fuchs et al. (2009) reported 11.8% (4/34) seroprevalence of *Brucella* sp. in the Pampas fox (*Lycalopex gymnocercus*).

Records of *Brucella* sp. are particularly scarce for the superorder Xenarthra. Miranda (2008) found *Brucella* antibodies in 4% (1/21) of the *Myrmecophaga tridactyla* animals studied. Another study of *M. Tridactyla* in Argentina did not find antibodies against *Brucella* sp. in any of the 11 tested animals (Marc et al., 2009).

Chaetophractus villosus is a member of the superorden Xenarthra, and its distribution range extends from the arid Gran Chaco region, which is located between Bolivia, Paraguay and northern Argentina, to as far south as the Argentine Tierra del Fuego and Magallanes in Chile (Gardner, 2005). *C. villosus* is an omnivore that feeds on insects, invertebrates, small vertebrates, plants and carrion (fetus, placentals) of infected animals. Due in part to the fact that *C. villosus* shares its habitat with domestic livestock and is eaten by local residents, *C. villosus* needs to be studied as a possible spill-over host of zoonotic disease.

The aims of this study were to determine the apparent seroprevalence of brucellosis in armadillos sampled in the Pampa province and attempt isolation of *Brucella* in *C. villosus* in Argentina.

2. Materials and methods

Blood was extracted from the caudal vein of 150 armadillos of hunting animals, captured animals between 2007 and 2010 in the province of La Pampa, Argentina. The blood samples were centrifuged for 15 min at 2500 rpm. The sera were separated and stored at -20°C until the time of analysis and testing for the presence of *Brucella* sp. antibodies.

Brucella sp. antibodies were detected using the buffered plate antigen test (BPAT), (Biotandil, Lab. Biológico de Tandil SRL). Positive samples to BPAT were confirmed by serum agglutination test (SAT), 2-mercaptoethanol (2-ME) agglutination test and complement fixation test (CFT), the results were expressed in International Units (IU) according to Alton et al. (1988).

Two armadillos (male and female) were capture, tested seropositive and then euthanized. Their organs were macroscopically examined to locate lesions typical of brucellosis. It should be noted that the species is not endangered (Ojeda et al., 2012). Spleen and liver samples were also collected from the two animals (OIE, 2012). Plates were inoculated with sample material and incubated aerobically and in the presence of 5–10% carbon dioxide at 37°C . These plates were examined 3–7 days post-inoculation for bacterial growth. Suspected colonies were sub cultured for purity on *Brucella* agar. Identification of these isolates was done according to standard procedures (Alton et al., 1988). The colonies were initially examined using Gram stained. Subsequent biochemical tests for oxidase, catalase, urease production, hydrogen sulphide production, carbon dioxide requirement, growth on media containing basic fuchsin (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and thionin (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$), and agglutination by monospecific antisera were carried out. For DNA extraction one loopful of bacteria was suspended in 50 ml 0.1 M NaOH, boiled for

10 min, cooled on ice and neutralized with 18 mL of 0.5 M Tris-HCl, pH 8.0. The volume was brought to 400 ml, centrifuged and 2 ml of supernatant were used as template for PCR assays.

Positive samples were subjected to AMOS PCR for species identification (Bricker and Halling, 1994). AMOS PCR was performed in 25 μl reaction volume having 19.3 μl of HPLC water, 2.5 μl of PCR buffer (10 \times), 1 μl dNTP mix (10 mM), 1 μl primer mix (10 pmol/ μl), 0.2 μl Taq polymerase (5 U/ μl), and 1 μl of DNA template. Amplification was carried out with initial denaturation for 5 min at 95°C , followed by 30 cycles (denaturation for 1 min at 95°C , annealing for 2 min at 58°C , elongation for 2 min at 72°C , and final elongation for 7 min at 72°C). The PCR product was electrophoresed on a 1.5% agarose gel for 90 min at 105 V, stained with ethidium bromide (1 mg/ml) and visualized under UV light. Molecular marker of 100 bp (Invitrogen) was included.

Statistical analysis was tested using Chi-square test for variables age and sex. Statistical significance in this study was defined at the $p \leq 0.05$ levels (Epi Info 6.0.4 software).

3. Results

The BPAT test detected *Brucella* antibodies in 24 of the 150 (16%, 95% confidence intervals 10.1–21.8) armadillos sampled. Positive results were confirmed by the SAT, 2ME tests and CFT. Twelve of the positive animals were male, and 12 were female. The serological test showed 100% of agreement and the prevalence was 16%. Level of antibodies was recorded as 50 IU in two serum samples and ≥ 200 IU in 22 serum samples for SAT; 25 IU in three serum samples, 50 IU in one serum sample and ≥ 200 IU in 20 serum samples for 2-ME. The level of antibodies in CFT ranged between 40 and 640 ICFTU/ml in 11 serum samples and ≥ 1280 ICFTU/ml. in 13 serum samples.

Significant differences in the prevalence of antibody were detected between age groups. Among these 150 samples, 23 of them were from juveniles, and 127 from adults. All of the 24 positive sera came from adults ($p = 0.012$).

Tissue samples were removed from the liver and spleen of two seropositive animals (one male and one female) for bacteriological analysis. Though at first inspection these organs did have absence of observable lesions, dissection revealed small internal abscesses (1 mm) in the parenchyma of both the liver and spleen. Bacterial culture of these samples in specific media revealed colonies with morphology of *Brucella* sp.

The two isolates were gram-negative. Biochemical tests showed that these isolates were positive for oxidase and catalase production. The isolates were also positive for urease and hydrogen sulphide production. The isolates grew on media containing thionin (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) but failed to grow on basic fuchsin (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) media. Colonies did not require carbon dioxide for growth. Both isolates showed agglutination with *Brucella*-monospecific antiserum A, while no agglutination was observed with antisera M and R. On the basis of these tests, the isolates were confirmed to be *B. suis* biovar 1. Furthermore, AMOS-PCR confirmed these results were every isolated showed a

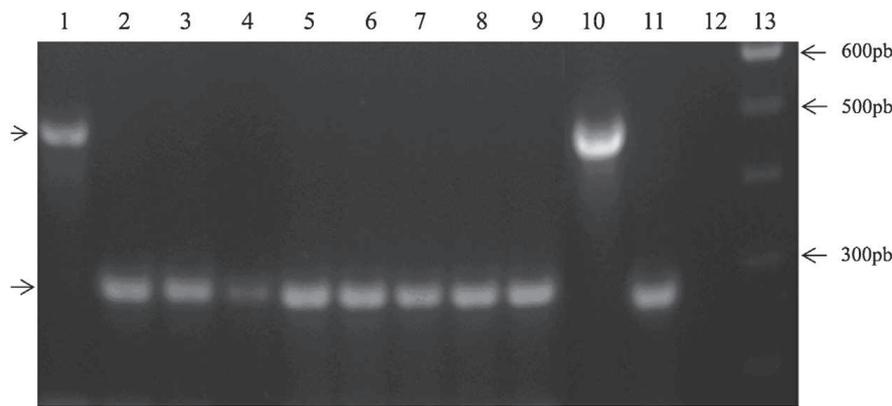


Fig. 1. AMOS-PCR performed with *Brucella* isolates from infected *C. villosus* Lane 1: *B. abortus* (natural isolate), Lanes 2–7: *B. suis* biovar 1 (natural isolate) from hares, Lanes 8–9: *B. suis* isolated from *C. villosus*, Lane 10: *B. abortus* 2308, Lane 11: *B. suis* biovar 1 1330, Lane 12: blank (no DNA) and Lane 13: 100 bp DNA ladder.

single band of about 285 bp typical of *B. suis* biovar 1 (Fig. 1).

4. Discussion

Seroprevalence studies in *C. villosus* show that brucellosis is endemic in this specie in Argentina. The results we have obtained with conventional serological tests showed that animals infected were detected by all using tests. The 2-ME detects IgG1 and IgG2. These immunoglobulins are present in the later stage of infection and persist over a long period of time (Godfroid et al., 2010). The CFT mainly detect IgG1. In this study, the large proportion of *C. villosus* showing positive results in the 2-ME and CFT suggests that brucellosis is chronic in armadillo populations in the investigated area.

Juveniles animals were all serologically negative indicating that most became infected with *B. suis* at a relatively adult age. The present study provides the first evidence for the presence of *B. suis* biovar 1 in Xenarthra on the basis of species-specific PCR and biochemical tests.

B. suis biovar 1, the same biovar that was isolated from *L. europaeus* by Fort et al. (2012) in La Pampa, was isolated from both of the *C. villosus* studied.

Regarding *B. suis* in other domestic and wild animals in the region, Castro et al. (2006) reported a 8% of seroprevalence to *Brucella* sp. in swine in a region located southwest of Buenos Aires and east of La Pampa. In *L. europaeus*, the seroprevalence of *B. suis* biovar 1 in the province of Buenos Aires was reported to be 0.2% (1/500) (Szyfres et al., 1968), while in La Pampa, the seroprevalence of *Brucella* spp. was 6% (Baldone et al., 2007). All of the seroprevalence rates in these species which shares the same habitat are lower than the seroprevalence found in *C. villosus*.

In Argentina, as in many countries, there are an underestimation and a sub notification of human cases of brucellosis. From January 2009 to November 2011, 1040 sera for human patients resulted positive to the serological diagnostic tests for brucellosis. Only 2.8% of them were confirmed through bacteriological tests. Blood cultures were performed in 40 patients, yielding positive

results for 15 of them (37%). The species isolated were *B. suis* biovar 1 en eight patients (53%), *B. abortus* in four patients (27%), and three *Brucella* sp. isolated were not typed (Aznar et al., 2012).

Although the source of infection is unknown in all of these cases, the high incidence of *B. suis* infection in *C. villosus* indicates that this species could represent a risk to humans.

Armadillos may have become infected through contact with wild or domestic animals, including animals in which *Brucella* is as yet unknown, however given the high prevalence of *Brucella* found in *C. villosus* it would suggest that transmission between them would be possible. This question will need to be addressed in future studies. There is no available evidence indicating *C. villosus* effectively transmit brucellosis to domestic animals, humans or other wild animals. Although wild animals can be victims of infection spill-over from domestic animals and human activities, the region sampled here does not have important pig farms or abattoirs leading to suspect human activities as the source of armadillos infection.

Because the present study is restricted to limited geographical area more studies are needed to explore the presence of Brucellosis in armadillos population in other parts of the country as well as in others countries.

5. Conclusion

The high infection rate (16%) indicates an important segment of the armadillos population was infected with *Brucella*. Prevalence was significantly affected by age but not by sex of *C. villosus*.

This is the first report of *B. suis* biovar 1 isolated from *C. villosus* in Argentina. Armadillos are widely distributed in Argentina and likewise throughout many Latin American countries where brucellosis is a problem. These animals live on ranches with domestic animals such as swine, equines, bovines, and numerous wild animals, many of which may be adversely affected by *B. suis*.

The high seroprevalence of brucellosis in armadillos indicates that natural foci of these zoonoses are present in wildlife in Argentina. However, the impact of transmission

of zoonotic pathogens from wildlife to livestock and human is unknown. Only careful and systematic monitoring will help to know the impact of this zoonotic disease.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgments

The authors acknowledge UNLPam, UNS, INTA for funding this work (Research grant UNLPam 2009 Res CS 156/09 and Research project UNLPam 208 Res CS 161/09, PGI 24B152 SGCyT UNS); the farmers, for allowing access to their rural properties; and all those who collaborated with the animal capture.

References

- Baldone, V.N., Fuchs, L.I., Fort, M.C., Rojas, M.C., Bedotti, D.O., Samartino, L., Giménez, H.D., Kin, M.S., 2007. Presencia de anticuerpos contra *Brucella* sp. en la liebre europea (*Lepus europaeus*, Pallas 1778) en la provincia de La Pampa, Argentina. *Rev. Med. Vet.* 88, 242–245.
- Bricker, B.J., Halling, S.M., 1994. Differentiation of *Brucella abortus* bv 1, 2 and 4 *Brucella melitensis*, *brucella ovis*, and *Brucella suis* bv. 1 by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 32, 2660–2666.
- Castro, H.A., González, S.R., Prat, M.I., Baldi, P.C., 2006. Detección de anticuerpos anti *Brucella* spp. en cerdos mediante técnicas de aglutinación y ELISA indirecto en las provincias de Buenos Aires y La Pampa, Argentina. *Rev. Arg. Microbiol.* 38, 75–78.
- Fort, M., Baldone, V., Fuchs, L., Giménez, H., Rojas, M., Breccia, J.D., Oyhenart, J., 2012. Experimental infection of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with *Brucella suis* biovar 1 isolated from wild hares (*Lepus europaeus*). *Vet. Microbiol.* 156, 439–442.
- Fuchs, L., Baldone, V., Fort, M., Rojas, M.C., Samartino, L., Giménez, H., 2009. Brucelosis en el zorro gris pampeano (*Pseudalopex gymnocercus*) en la provincia de La Pampa (Argentina). *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* 43 (2) 227–231.
- Gardner, A.L., 2005. Orden Cingulata en Wilson y Reeder. In: *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*, third ed. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, pp. 94–103.
- Godfroid, J., Nielsen, K., Saegerman, C., 2010. Diagnosis of brucellosis in livestock and wildlife. *Croat. Med. J.* 51 (4) 296–305.
- Lord, V.R., Lord, R.D., 1991. *Brucella suis* infections in collared peccaries in Venezuela. *J. Wildl. Dis.* 27, 477–481.
- Marc, L., Gualtier, C., Di Nucci, D., Pérez Jimeno, G., Molteni, H., . Relevamiento serológico de *Brucella abortus* en una población cautiva de osos hormigueros (*Myrmecophaga tridactyla*) In: En 10th International Mammalogical Congress Abstract Mendoza, Argentina, 9–14 August 2009, pp. 235, <http://digitalcommon-s.unl.edu/intthercongabs/>
- Meng, X.J., Lindsay, D.S., Sriranganathan, N., 2009. Wild boars as sources for infectious diseases in livestock and humans. *Philos. Trans. R. Soc. London, Ser. B* 364, 2697–2707.
- Miranda, F.R., 2008. Pesquisa de anticorpos contra bactérias do gênero *Brucella* sp., *Leptospira* sp., *Chlamydomphila* sp. em Tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga trydactyla*, Linnaeus, 1758), da RPPN SESC Pantanal, Parque Nacional da Serra da Canastra e Parque Nacional das Emas (PNE) (en línea). Piracaiba: Ecología de Agroecosistemas In: *Dissertação de Maestrado en Ecología de Agroecosistemas*. Universidad de São Paulo, São Paulo, <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/91/91131/tde-24072008-121253/>
- OIE, 2012. Código sanitario para los animales terrestres. In: *Utilización de los animales en la investigación y educación*. OIE, , pp. 1–14 (Capítulo 7.8) http://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmfile=chapitre_1.7.8.htm.
- Ojeda, R.A., Chillo, V., Díaz Isenrath, G.B. (Eds.), 2012. *Libro rojo de mamíferos amenazados de la Argentina*. SAREM, Argentina, p. 63.
- Szyfres, B., González Tomé, J., Palacio Mendieta, T., 1968. Aislamiento de *Brucella suis* de la liebre europea (*Lepus europaeus*) en la Argentina. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.* 441–445.



BRIEF REPORT

Presence of antibodies against *Leptospira* serovars in *Chaetophractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae), La Pampa province, Argentina

Marta S. Kin^{a,*}, Bibiana Brihuega^b, Marcelo Fort^c, Fernando Delgado^b, Daniel Bedotti^c, Emma B. Casanave^d

^a Chordate Biology, Department of Natural and Exact Sciences, UNLPam, Santa Rosa, La Pampa, Argentina

^b Institute of Pathobiology, CICVyA – CNIA, INTA, Morón, Buenos Aires, Argentina

^c Animal Health Laboratory, INTA, Anguil, Anguil, La Pampa, Argentina

^d Chair Animal Physiology, Department of Biology, Biochemistry and Pharmacy, Universidad Nacional del Sur, CONICET, INBIOSUR, Bahía Blanca, Argentina

Received 2 April 2014; accepted 3 January 2015

Available online 6 March 2015

KEYWORDS

Leptospira;
Serovars;
Wildlife;
Xenarthra;
Chaetophractus villosus

Abstract Leptospirosis is a zoonosis of worldwide distribution. The aim of this study was to examine the presence of antibodies against 21 *Leptospira* reactive serovars in *Chaetophractus villosus* in La Pampa province, Argentina, using the microscopic agglutination test (MAT). Pathologic changes compatible with leptospirosis and *in situ* detection of the agent by immunohistochemistry were studied in 24 and 3 individuals respectively. Only 35/150 (23.3%) serum samples had antibodies against *Leptospira* sp. Six percent of the samples reacted with serovar Canicola, 4.7% with serovar Castellonis, 1.3% with serovar Icterohemorrhagiae and 0.7% with serovar Hardjo. Sixteen (10.6%) serum samples agglutinated with Castellonis–Icterohemorrhagiae and Canicola–Castellonis serovars, both with 4.7%, and Canicola–Hardjo and Castellonis–Canicola–Icterohemorrhagiae both with 0.6%. Fourteen animals had variable degrees of lesions, which were more severe in animals with higher serological titers (3200), and *Leptospira* sp. was detected in 3 animals by immunohistochemistry. These results represent the first record of the presence of *Leptospira* in *C. villosus* in La Pampa. © 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Corresponding author.

E-mail address: kinsusana@yahoo.com.ar (M.S. Kin).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.01.005>

0325-7541/© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

PALABRAS CLAVE

Leptospira;
 Serovares;
Chaetopractus villosus;
 Animales silvestres;
 Xenarthra

Presencia de anticuerpos contra serovares de *Leptospira* en *Chaetopractus villosus* (Mammalia, Dasypodidae) en la provincia de La Pampa, Argentina

Resumen La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial. Nuestro objetivo fue examinar la presencia de anticuerpos contra 21 serovares reactivos de *Leptospira* en *Chaetopractus villosus* en la provincia de La Pampa, Argentina, mediante la prueba de aglutinación microscópica (MAT). Se realizó el estudio histopatológico y la detección *in situ* del agente por inmunohistoquímica en 24 y 3 individuos, respectivamente. Solo 35/150 (23,3%) muestras de suero presentaron anticuerpos contra *Leptospira* sp. Seis por ciento reaccionaron al serovar Canicola; 4,7% a Castellonis; 1,3% a Icterohemorrhagiae y 0,7% a Hardjo. Dieciséis (10,6%) sueros aglutinaron con Canicola-Castellonis y Castellonis-Icterohemorrhagiae, ambos con 4,7%, y con Canicola-Hardjo y Castellonis-Canicola-Icterohemorrhagiae, ambos con 0,6%. En 14 animales se encontraron lesiones compatibles, las que resultaron más graves en animales con títulos serológicos elevados (3200). En 3 animales estudiados se detectó el agente causal por inmunohistoquímica. Estos resultados constituyen los primeros registros de la presencia de *Leptospira* en *C. villosus* en La Pampa.

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Leptospirosis is an infectious disease of great public health concern. It is considered the zoonosis with the largest global distribution¹. This disease is generally caused by two major pathogenic genomospecies: *Leptospira borgpetersenii* and *Leptospira interrogans sensu stricto*³. Each serovar has one or more preferred host animals; however, each animal species can be a host to one or more serovars, whereas humans can be hosts to many serovars.

Domestic and wild animals are important reservoirs of *Leptospira*, which is always excreted through the urine in a discontinuous way and in varying periods of time. The transmission to humans is the result of exposure to the urine of infected animals by direct contact or through the water. The rural areas are at a greater risk because of the manipulation of domestic and wild animals for meat consumption; armadillos (*Xenarthra*, *Dasypodidae*) are a clear example of this situation. *Chaetopractus villosus* is a member of the superorder *Xenarthra*, and its distribution range extends from the arid Gran Chaco region, which is located between Bolivia, Paraguay and northern Argentina, to as far south as the Argentine Tierra del Fuego and Magallanes in Chile⁵. *C. villosus* is an omnivore that feeds on insects, invertebrates, small vertebrates, seeds and carrion (infected animal tissues such as fetuses and placentas) of infected animals. *Leptospiras* in *C. villosus* have been detected only in Buenos Aires province, Argentina. Different serovars have been isolated, including Paidjan, Argentinensis, Hardjo, Canicola, Bataviae and *Leptospira biflexa*^{2,4,8,13,14}. In addition, the following serovars were identified by serology: Hardjo, Wolffi, Paidjan, Argentinensis, Bataviae, Canicola, Sejroe, Hebdomadis, Pomona, Castellonis, *Gripotyphosa* and *Icterohaemorrhagiae*^{4,8}.

No updated information has been published since the end of the 70s, and no publications are available from La Pampa province about *Leptospira* in *C. villosus* populations, except for the province of Buenos Aires^{10,11}.

For this reason, the aim of this study is to know the seroprevalence of antibodies against *Leptospira* serovars in *C. villosus* from La Pampa province, Argentina, through the microscopic agglutination test (MAT) and to describe the presence of histopathological lesions compatible with the detection of *Leptospira* by immunohistochemistry.

The capture site is located in central La Pampa, where the weather is characterized by hot, rainy summers with temperatures over 35 °C and cold winters with average temperatures of 10 °C, including frequent and severe ground frosts. Rains are common in spring and autumn, with winter being the driest season. Annual rainfall varies from 450 mm to 800 mm. Beef is the most important production in the region. Management is extensive and cows are free-range year round, with stocking rates depending on the available pasture, which in turn depends on the season and weather conditions. Cattle stocking rates have an average of 0.75 cows per hectare.

C. villosus were captured with permission of the Ministry of Production, Secretariat of Agricultural and Natural Resources Directorate of La Pampa province, and the agreement of farm owners. The armadillos were trapped and carried to the laboratory under adequate care. In order to determine the age, the specimens were measured (from snout to tail tip), and their general appearance was evaluated. Armadillos with a length equal to or less than 460 mm were considered juveniles, whereas longer specimens were classified as adults.

Blood was extracted from the caudal vein of 150 armadillos captured between 2007 and 2010 in La Pampa province. The blood samples were centrifuged for 15 min at 2500 rpm. Sera were separated and stored at -20 °C until the time of analysis and testing for the presence of *Leptospira* sp. antibodies. The MAT was used in the analysis of antibodies against *Leptospira* sp., using the following serovars as antigens: Castellonis, Canicola, Celledoni, *Icterohaemorrhagiae*, Hardjo, Pomona, *Gripotyphosa*,

Pyrogenes, Ranarum, Hebdomadis, Sarmin, Bataviae, Mini, Autumnalis, Cynopteri, Panama, Australis, Javanica, Djasiman, Wolffi and Tarassovi. Initial serum dilution was 1:25, and sera with a titer of 50 or higher were considered positive.

Twenty four *C. villosus*, with previous serological tests for *Leptospira* (14 positive and 10 negative) were euthanized under anesthesia (tiletamine and zolazepam, 5.0 mg/kg/I.M), respecting the guidelines of the Canadian Council of Animal Care referring to working with experimental animals used in scientific research. Kidneys were extracted for renal histology in order to look for lesions compatible with leptospirosis and fixed in 10% formaldehyde solution. Then, kidney samples were embedded in paraffin, sectioned and stained with hematoxylin–eosin. Finally, three samples with lesions compatible with leptospirosis infection were used for *in situ* detection of *Leptospira* by immunohistochemistry following already described procedures⁵. Rabbit polyvalent antibody reactive against serovar Canicola, Pomona and Icterohaemorrhagiae (USDA) was used as conjugate and positive results were revealed with AEC (aminoethylcarbazole solution) as chromogenic substrate. Finally samples were stained with hematoxylin.

The sacrificed animals were deposited in the mammalian collection of the Universidad Nacional de La Pampa (UNLPam MA under the following numbers: UNLPam MA609; UNLPam MA639; UNLPam MA651; UNLPam MA652; UNLPam MA653; UNLPam MA660; UNLPam MA661; UNLPam MA664; UNLPam MA673; UNLPam MA676; UNLPam MA697; UNLPam MA698; UNLPam MA703; UNLPam MA704; UNLPam MA706; UNLPam MA709; UNLPam MA727; UNLPam MA739; UNLPam MA742; UNLPam MA744; UNLPam MA773; UNLPam MA776; UNLPam MA786; UNLPam MA788; UNLPam MA789; UNLPam MA793; UNLPam MA795; UNLPam MA799; UNLPam MA800; UNLPam MA803; UNLPam MA810; UNLPam MA815; UNLPam MA825; UNLPam MA836; UNLPam MA843). It is worth noting that *C. villosus* is not an endangered species⁹.

Statistical analyses were performed using the Chi-square test for two variables: age and sex. Statistical significance in this study was defined at the $p \leq 0.05$ levels (Epi Info 6.0.4 software).

Out of the 150 *C. villosus* analyzed, 35 (23.3%) had antibodies against *Leptospira* (95% confidence intervals 16.5–30.2, Table 1).

Seventy of the 150 samples corresponded to male specimens, 18 (25.7%) of which were positive for *Leptospira*, whereas the remaining 80 samples were obtained from females, 17 (21.3%) of which showed positive results. Based on their length, 127 of the *C. villosus* examined were adults, 34 (26.7%) of which had positive results for *Leptospira*, whereas only 1/23 (4.3%) juveniles showed positive results.

Of the 150 serum samples tested, 6% resulted positive to serovar Canicola, 4.7% to Castellonis, 1.3% to Icterohaemorrhagiae and 0.7% to Hardjo. Finally, 10.6% of the serum samples agglutinated with two or more serovars, being the Castellonis–Icterohaemorrhagiae and Canicola–Castellonis serovars the most frequently observed patterns, both with 4.7%, and Canicola–Hardjo and Castellonis–Canicola–Icterohaemorrhagiae with 0.6%. The highest titers were observed with serovars Canicola, Castellonis (3200) and Icterohaemorrhagiae (800). No

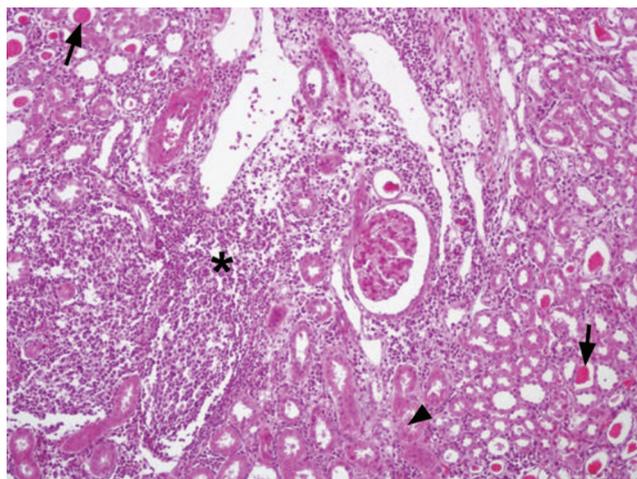


Figure 1 Kidney, multifocal infiltrations of mononuclear cells especially in cortical zone (*) and presence of eosinophilic material in proximal tubules are observed (→) as well as deposits of hyaline material in distal tubules and collecting duct (►). Staining haematoxylin-eosin. 200×.

antibodies were detected against serovars Grippotyphosa, Pomona, Pyrogenes, Ranarum, Celledoni, Hebdomadis, Sarmin, Bataviae, Autumnalis, Cynopteri, Panama, Australis, Mini, Javanica, Djasiman, Wolffi and Tarasovi.

Out of the 24 kidney samples, 10 had no histological lesions (they belonged to individuals with negative serological tests) and 14 kidneys had lesions which belonged to animals that presented specific antibodies to *Leptospira*, with serological titers from 50 to 3200 for serovars Canicola, Castellonis, Icterohaemorrhagiae and Hardjo. Animals which were serologically positive had a gradient of histopathological changes that were more severe in the animals with the highest titers. In the less severe cases the lesions found consisted of infiltrations of mononuclear cells, mostly lymphocytes and plasmatic cells around the renal corpuscles, whereas in the most severe cases the lesions had spread to the rest of the cortex, producing a cortical interstitial nephritis that could compromise the medullary area. In 9 of the 14 animals that tested positive there was a lymphocytic infiltration of plasmatic cells to the level of the submucosa in the renal pelvis. The parietal layer of Bowman's capsule was thicker in the most severe cases, with a retraction of the glomerular tuft and a dilation of the capsular space. In the renal tubules, especially in the collecting duct, there were cylindrical or teardrop-shaped deposits of hyaline material showing different levels of tubular degeneration (Fig. 1). Immunostaining was detected mainly inside the proximal tubules, added to the surface of epithelial cells, and between those cells in the three tested animals (Fig. 2).

The results of this study recognized positive serology of *Leptospira* in *C. villosus* in La Pampa province, where serovars Canicola (11.3%) and Castellonis (10%) were more prevalent and Hardjo (1.3%) and Icterohaemorrhagiae (1.3%) were less common. No significant differences of prevalence between males and females ($p=0.519$) were found; however, they were significant between juveniles and adults ($p=0.019$).

Table 1 Agglutination titers according to the MAT (microscopic agglutination test) of different *Leptospira* serovars reactants (Castellonis, Canicola, Hardjo, Icterohaemorrhagiae) in *C. villosus*, segregated by sex (F: female, M: male), age (adults, juvenile) and lesion presence.

Samples	Sex	Serovar Castellonis	Serovar Canicola	Serovar Hardjo	Serovar Icterohaemorrhagiae	Histopathological lesions
609	F	50	50		50	n/p ^a
639	M		50			n/p
651	M		1600	100		YES
652	M		800			YES
653	F	3200	1600			n/p
660	F		100			YES
661	M	50	200			YES
664	M	100	800			YES
663	F			50		n/p
676	M		50			n/p
697	M	100			200	YES
698	M				50	n/p
703	M				50	YES
704	F	100	3200			YES
706	F	3200				YES
709	M		100			YES
727	M	400				n/p
739	M		800			n/p
742	F	50				n/p
773	F	50				n/p
776	F	100	100			n/p
786	F		800			n/p
788	M	400	800			n/p
789	M		200			n/p
791	F	400			200	YES
795	M	400				n/p
799	M	200				YES
800	F	800			200	YES
803	F	3200			800	n/p
810	F	1600	800			YES
815	F	800			200	n/p
825	M		800			n/p
836	M	1600			400	n/p
843	F	800			400	n/p
Juveniles						
744	f	50				n/p

^a Histopathology was not performed (n/p).

Cuba-Caparó⁴ identified serovars Hardjo, Wolffi, Sejroe, Hebdomadis, Bataviae and Canicola, with a prevalence of 17.9%. Myers *et al.*⁸ analyzed 89 *C. villosus* in Azul (Buenos Aires), resulting in 47.2% of animals that tested positive to different serovars including 1.1% for Pomona, 21.3% for Hardjo, Wolffi, Sejroe, Hebdomadis, 15.7% for Argentinensis, Paidjan and Bataviae, and 2.2% for Canicola; 6.7% of armadillos reacted to more than one serovar and antibodies against *L. biflexa* were found in one animal. These authors also mention the presence of serovar Argentinensis with 11.2%; however, this serovar could not be analyzed in armadillo sera from La Pampa because the strain is not currently available.

Scialfa *et al.*¹⁰ analyzed five *C. villosus* from the province of Buenos Aires that tested negative to serovars Icterohaemorrhagiae, Canicola, Castellonis, Tarassovi,

Pomona, Wolffi, Pyrogenes, Grippytyphosa, Hardjo and Hebdomadis, while another study in 2013¹¹ analyzed six *C. villosus*, two of which tested positive to serovars Canicola, Castellonis, Grippytyphosa and Icterohaemorrhagiae (there was no discrimination of the serovars present in each animal). All samples were negative to serovars Tarassovi, Pomona, Wolffi, Pyrogenes, Hardjo and Hebdomadis.

Motie *et al.*⁷ mention serovar Canicola for *Dasyus novemcinctus* in central Florida (EEUU) with a prevalence of 2.4% (7/86). The prevalence found by Myers *et al.*⁸ (2.2%) was lower than the one found in this study (6%) for *C. villosus* in La Pampa.

The microscopic lesions observed in the kidneys of *C. villosus* agree with the ones described for leptospirosis in other armadillos^{8,12} and farm animals⁶. Detection of *Leptospira* in all tested animals confirmed the etiology

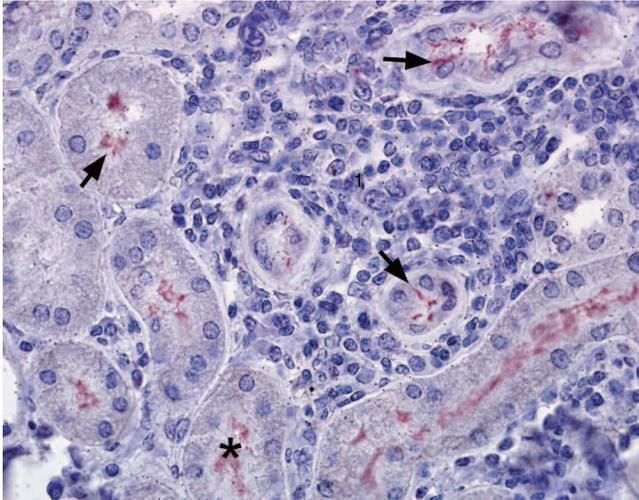


Figure 2 Kidney, immunostaining can be found as thin fibers between tubular cells and over the epithelial cells (arrows →), and with a diffuse pattern within the tubules (*). The interstitial tissue appeared infiltrated with lymphocytic cells (1). Immunohistochemistry, AEC (solution aminoethylcarbazole) – haematoxylin-eosin. 400×.

of detected changes, and suggested that histopathology was useful for diagnosing the disease in the untested armadillos.

C. villosus adults presented the highest prevalence against *Leptospira* (26.7%) with respect to juveniles (4.3%). The difference could be a consequence of greater exposure time of adults to an environment contaminated with *Leptospira*.

Our results represent the first record of the presence of antibodies against *L. interrogans*, Icterohaemorrhagiae, Canicola and Hardjo serovars and antibodies against *L. borgpetersenii* Castellonis serovar for *C. villosus* in La Pampa, being the Castellonis and Canicola serovars those with the highest prevalence and the highest titers (3200). The presence of different serovars of pathogenic *Leptospira* in *C. villosus* shows a potential risk. Since *Leptospira* are mainly shed in urine, contaminating water, food and soil, new questions about other domestic and wild species should be answered. Furthermore, the importance of health education should be highlighted in order to raise awareness of the dangers involved in hunting, manipulating and ingesting armadillo meat, especially in areas where these habits are more frequent.

Ethical disclosures

Protection of human subjects

The authors declare that no experiments were performed on humans for this study. Experiments involving animals were performed respecting the guidelines of the Canadian Council of Animal Care, with the authorization of the Ministry of Production of La Pampa province, and with the permission of the farm owners.

Confidentiality of data. The authors declare that no patient data appear in this article.

Right to privacy and informed consent. The authors declare that no patient data appear in this article.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors are thankful to UNLPam, UNS, INTA for funding this work (Research Grant UNLPam 2009 Res CS 156/09 and Research Project UNLPam 208 Res CS 161/09; PGI 24B152 SGCyT UNS), to the farmers, for allowing access to their rural properties and to all those who collaborated in animal capture. The authors would also like to thank Graciela Romero for technical assistance, Mr Daniel Funes for preparing the tissue slides and PhD Analia Pugener for critically reviewing the text of this manuscript.

References

- Brihuega B, Tealdo M, Temas de zoonosis V. Capítulo 19. Importancia de los animales silvestres en la leptospirosis. AAZ; 2011. p. 169–74.
- Cacchione RA, Cascelli E, Martínez ES, Zuberbuhler J. Leptospirosis en animales silvestres: aislamiento de una cepa de *Leptospira canicola* de un peludo (*ChaetophRACTUS villosus*). Rev Med Vet. 1966;47:363–6 [On-line]. <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1179-2.pdf>
- Carrizo A, Brihuega B, Etchechoury I, Arese A, Romero S, Gioffré A, Romano MI, Caimi K. Identificación de antígenos inmunorreactivos de *Leptospira interrogans*. Rev Argent Microbiol. 2009;41:129–33.
- Cuba-Caparó A. The armadillo in biomedical research. In: Pan American Health Organization PAHO/ACMR 15/17. Fifteenth Meeting of the Advisory Committee on Medical Research. 1976. p. 1–43 [On-line]. <http://hist.library.paho.org/English/ACHR/ACMR15.17.pdf>
- Delgado F, Capellino F, Venzano A, Funes D, Blanco Viera FJ, Auteri C, Romero G, Brihuega B. Adaptación de un protocolo de inmunohistoquímica para la detección de *Leptospira* spp. en muestras de tejido en formaldehído. Rev Cubana Med Trop. 2007;59:14–8.
- Gardner AL. Orden Cingulata en Wilson y Reeder. Mammal species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference. Third Edition Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 2005. p. 94–103.
- Jubb KVF, Kennedy PC. Patología de los Animales Domésticos. Agropecuaria Hemisferio Sur. Tomo II. Cap, vol. 6; 1980. p. 343–404.
- Motie A, Myers DM, Storrs EE. A serologic survey for leptospires in nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus* L.) in Florida. J Wildlife Dis. 1986;22:423–4.
- Myers DM, Caparo AC, Moreno JP. Aislamiento del serotipo Hardjo y otras leptospirosis de armadillos de Argentina. Bol Sanit Panam. 1977;83:56–65 [On-line]. <http://hist.library.paho.org/spanish/Bol/v83n1p56.pdf>
- Ojeda RA, Chillo V, Diaz Isenrath GB, editors. Libro rojo de mamíferos amenazados de la Argentina. Argentina: SAREM; 2012.

11. Scialfa EA, Brihuega B, Morris WE, Recavarren M, Quintana S, Grune S, Romero G, Bolpe J, Schettino M. First isolation of *Leptospira interrogans* from *Conepatus chinga*. *Afr J Appl Microbiol Res.* 2012;1:1–5.
12. Scialfa E, Brihuega B, Venzano A, Morris WE, Bolpe J, Schettino M. First isolation of *Leptospira interrogans* from *Lycalopex griseus* (South American gray fox) in Argentina shows new MLVA genotype. *J Wildlife Dis.* 2013;49:168–72.
13. Stuart BP, Crowell WA, Adams WV, Carlisle JC. Spontaneous renal disease in Louisiana Armadillos (*Dasypus novemcinctus*). *J Wildlife Dis.* 1977;13:240–4.
14. Szyfres B, Sulzer CR, Galton MM. Nuevo serotipo de *Leptospira* del grupo *Bataviae* aislado en la Argentina. *Bol Sanit Panam.* 1968;64:225–7 [On-line] <http://hist.library.paho.org/Spanish/BOL/v64n3p225.pdf>.

First record of *Toxoplasma gondii* in *Chaetophractus villosus* in Argentina

Marta S. Kin^{1*}, Marcelo Fort², Hugo D. Giménez² and Emma B. Casanave³

¹Professor of Chordate Biology, Department of Natural and Exact Sciences, UNLPam, Uruguay 151, Santa Rosa, La Pampa, Argentina.

CP. 6300; ²Animal Health Laboratory, INTA, Anguil, Ruta Nacional 5 km 580. CC 11 (6326) Anguil, La Pampa, Argentina;

³Catedra Animal Physiology, Department of Biology, Biochemistry and Pharmacy. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, 670 San Juan, Argentina. CONICET, INBIOSUR

Abstract

Toxoplasma gondii is an obligate intracellular apicomplexan parasite that causes abortion and reproductive disorder in domestic animals. *T. gondii* is a common worldwide disease in homeothermic animals, including birds and humans. The aim of the present study was to determine the presence of antibodies against *T. gondii* in the armadillo *Chaetophractus villosus* in the province of La Pampa, Argentina. Serum samples were collected from 150 individuals (70 males and 80 females). For serological detection of *T. gondii*, a latex agglutination test was first performed and then positive sera were confirmed with an indirect hemagglutination test, using 1:4 to 1:64 dilutions. Results showed that 27% (41) of the samples presented titers for antibodies against *T. gondii*. There were not significant differences between the presence of antibodies against *T. gondii* and age or sexes of the armadillos. Results show that presence of *T. gondii* antibodies in armadillos were associated with presence of pigs, and sheep, however there was not association with chickens and dairy cattle in capture site. *T. gondii* has an important presence in *C. villosus* population, suggesting a potential zoonotic risk for humans and wildlife animals when *C. villosus* meats are consumed raw or undercooked. This is the first record of the presence of antibodies against *T. gondii* in *C. villosus*.

Keywords

Antibodies, *Toxoplasma gondii*, *Chaetophractus villosus*, zoonosis, Argentina-La Pampa

Introduction

Toxoplasmosis is a worldwide distributed zoonosis that affects man and most warm-blooded animals, with a great economic impact in animal and public health.

Toxoplasma gondii is an obligate intracellular apicomplexan parasite associated with abortions and reproductive disorders in domestic animals. In sheep, toxoplasmosis causes fetal resorption, abortion at any stage of pregnancy, fetal mummification, stillbirth, or birth of live but weak offspring in sheep and goats (Caldas *et al.* 2006). For pigs disease, in general courses as subclinical however in some cases weak born animals or stillborn (Basso and Venturini 2014) may be observed.

Animals and humans become infected with this protozoan after ingesting oocysts present in the environment, in food contaminated with infected feces, or in tissues of intermediate hosts. Then *T. gondii* can be transmitted between domestic and wild animals through ingestion of infected carcasses further

avored by the overlap of animal distribution. In this way armadillos infected with these protozoa represent a potential risk, whether as a reservoir or spillover of disease.

Taking into account the economic loss caused in domestic livestock and the problems they cause to human health, armadillos infected with these protozoa represent a potential risk.

An important risk factor in rural areas in Argentina is the consumption of meat of wild animals such as armadillos (Kawazoe, 2009). Popularly, their meat is prized and is part of the rural population diet. Hereafter the importance of investigates the presence of antibodies to *T. gondii* in *C. villosus* (Xenarthra). Antibodies against *T. gondii* have been investigated from various species of Xenarthra from Florida (Burridge *et al.* 1979), French Guiana (Carme *et al.* 2002; Thoisy *et al.* 2003), Brazil (Shaw and Lainson 1973; Schenk *et al.* 1976; Sogorb *et al.* 1977; Salata *et al.* 1985; Vieira da Silva *et al.* 2006; Costa da Silva *et al.* 2008) and Bolivia (Deem *et al.* 2009).

*Corresponding author: kinsusana@yahoo.com.ar

In Argentina studies about Xenarthra infected with *T. gondii* are scarce, where levels of prevalence were 0% in *Chaetophractus vellerosus* and *Zaedyus pichiy* and 6.25% for *Dasyopus novemcinctus* (Ramírez *et al.* 1984; Superina 2007). However, there is no information about *T. gondii* in *C. villosus*.

Chaetophractus villosus is a member of the superorden Xenarthra, and its distribution range extends from the arid Gran Chaco region, which is located between Bolivia, Paraguay and northern Argentina, to as far south as the Argentine Tierra del Fuego and Magallanes in Chile (Gardner, 2005). Is an omnivore that feeds on insects, invertebrates, seeds, small vertebrates and habitually carrion (pigs, sheep, cattle, chickens) of infected animals. Tissue cysts of *T. gondii* contained in meat from domestic animals that died may be important sources of infection for *C. villosus*. However the number of tissue cysts produced varies with the intermediate host species. In livestock, *T. gondii* tissue cysts are most frequently observed in various tissues of infected pigs, sheep and goats, and less frequently in infected poultry, rabbits, dogs and horses. By contrast, tissue cysts are found only rarely in skeletal muscles of cattle or buffaloes (Tenter, 2009).

Considering the importance of toxoplasmosis in wildlife and the lack of epidemiological information in Argentina, this study aimed to determine the prevalence of infection caused by *T. gondii* in *C. villosus* in the province of La Pampa, Argentina, as well as to identify risk factors associated to the infection.

Materials and Methods

Chaetophractus villosus were manually captured with the authorization of the Ministry of Production, Secretariat of Agricultural and Natural Resources Directorate of La Pampa province, and with the permission of the farm owners. The capture sites are located in central La Pampa (R1: 36°47'37"S to 64°10'03"W; R2: 36°29'37"S to 64°15'44"W; R3: 36°22'16"S to 65°02'48"W; R4: 36°51'41"S to 64°29'16"W; R5: 36°41'34"S to 64°11'10"W; R6: 36°46'18"S to 64°06'54"W; R7: 36°32'32"S to 63°59'26"W.)

Blood was extracted from the caudal vein of 150 armadillos captured between 2007 and 2010 in the province of La Pampa, Argentina. The blood samples were centrifuged for 15 minutes at 2,500 rpm. The sera were separated and stored at -20°C until the time of analysis and testing for the presence of *T. gondii* antibodies.

For the serological detection to *T. gondii*, we first performed an agglutination test with Toxotest latex (Wiener Lab., Argentina). This test has 91.0% sensitivity and 96.4% specificity. Then positive sera to latex were confirmed with an indirect haemagglutination test (IHA, Wiener Lab.). Each serum sample was diluted 2-fold in a diluting buffer and 25 µL of each diluted test sample was re-diluted with an equal volume of buffered saline to obtain serial 2-fold dilutions from 1:4 to 1:64. Whereas serum samples had been positive in the Latex test for IHA, serum dilutions of 1:4 or above were regarded as positive.

Statistical analysis of *T. gondii* seroprevalence in the animals was performed by Chi-square tests. Statistical significance in this study was defined at the $p \leq 0.05$ levels (Epi Info 6.0.4 software).

Results

Of 150 sera samples analyzed, 41 (27%, CI_{95%}: 20.4–35.2) were positive for *T. gondii* (latex and IHA ≥ 4) with titers ranging from 1:4 to 1:64 for IHA. Four (10%) *C. villosus* had a titer of 1:4, 12 armadillos (29%) of 1:8, seventeen (41%) of 1:16, four (10%) of 1:32 and four armadillos (10%) had a titer of 1:64.

The prevalence found in males was 26% (18/70), in females 29% (23/80), in young 21.7% (5/23) and in adult 28.3% (36/127). Presence of *C. villosus* with *T. gondii* antibodies was 22.7% (10/44) and 29.2% (31/106) in captures sites with dairy and beef herds respectively. In places where free-range chickens were present 32% (31/97) had *T. gondii* antibodies while in places without free-range chickens the prevalence was 18.8% (10/53). There were no statistical differences between sex ($p = 0.716$), age ($p = 0.617$), presence of dairy ($p = 0.103$) and chickens at the capture site ($p = 0.086$).

Presence of *C. villosus* with *T. gondii* antibodies was 55.5% (10/18) and 23.5% (31/132) in captures sites with pigs presence or not respectively. In places where sheep were not present 17.2% (10/58) had *T. gondii* antibodies while in places with sheep the prevalence was 33.7% (31/92). A significant statistical differences has been observed for the presence of pigs ($p = 0.004$, OR: 4.073) and sheep ($p = 0.028$, OR: 2.439) in the capture site.

Discussion

The presence of antibodies against *T. gondii* is a good indicator of exposure of the animal to the parasite. The results of this study show that *C. villosus* is exposed to protozoa, constituting the first record of antibodies against *T. gondii*.

C. villosus showed a higher seroprevalence for *T. gondii* than those recorded for *D. novemcinctus* in São Paulo, in Minas Gerais (Brazil) and in Florida (USA) where the prevalence ranged from 13% to 19% (Costa da Silva *et al.* 2008; Schenck *et al.* 1976; Burrige *et al.* 1979) whereas in French Guiana (Carme *et al.* 2002) reported a seropositive rate of 46% in *D. novemcinctus*. This higher prevalence may be attributable to a greater abundance of oocysts in the environment. Oocysts are highly resistant to environmental conditions and contaminate water, soil, dust, vegetables and fruits (Hill and Dubey 2002).

Differences found among authors can be related also to laboratory techniques, and to positivity criteria established in each study.

In Argentina the prevalence found in Xenarthra for *T. gondii* ranged from 0% in *C. vellerosus* and *Z. pichiy* to

6.25% in *D. novemcinctus* (Ramírez *et al.* 1984; Superina 2007), both being lower than that found in *C. villosus*. However these two species are essentially insectivores, on the contrary *C. villosus* in La Pampa region feeds habitually carrion (pigs, sheep, cattle, chickens) of infected animals.

Prevalence of antibodies against *T. gondii* in free-range chickens from Argentina was 65.5% (Dubey *et al.* 2003). However in this study the presence of chickens was not significantly associated with *T. gondii* in *C. villosus*, probably because *T. gondii* tissue cysts are less frequently observed in infected chickens (Tenter 2009).

The prevalence of antibodies against *T. gondii* in domestic pigs from La Pampa was 58.7% (Venturini *et al.* 2004). Similar prevalence of *T. gondii* antibodies was recorded in *C. villosus* (55.5%) captured in sites with pigs presence, conversely the prevalence was significantly lower (23.5%) in places with absence of pigs. For sheep was the same, in places where sheep were present the prevalence was significantly higher ($p = 0.028$, OR: 2.438). At this point it is important to note that the organotropism of *T. gondii* and the number of tissue cysts produced in a certain organ vary with the intermediate host species. In livestock, *T. gondii* tissue cysts are most frequently observed in various tissues of infected pigs, sheep and goats, and less frequently in infected poultry, rabbits, dogs and horses. By contrast, tissue cysts are found only rarely in skeletal muscles of cattle (Tenter 2009). Considering that a significant part of *C. villosus* diet is carrion (pigs, sheep, cattle, chickens) of infected animals, it is easy to understand that the presence of pigs and sheep predisposes to *C. villosus* toxoplasmosis and conversely not the presence of cattle or chickens.

The presence of cats was not evaluated as a factor risk because in all places, where the capture was conducted the presence and/or circulation of domestic and wild cats was frequent.

The route of infection with *T. gondii* in man and animals is by incidental ingestion of oocysts from the feces of cats and the oocysts are highly resistant to environmental conditions. However, infection through the ingestion of tissue cysts in meat is considered one of the main sources of infection to humans. Between 30% and 60% of pregnant women who consumed inadequately cooked meat may suffer from acute toxoplasmosis (Cook *et al.* 2000).

The findings reported here have important public health implications as they suggest that *C. villosus* meat is a source of contamination with great potential for transmission of *T. gondii*. Based on the results of this study, it may be assumed that men should be careful when eating armadillos meat, since these animals may transmit toxoplasmosis by means of the ingestion of raw or undercooked meat.

Conclusion

The presence of antibodies against *T. gondii* in *C. villosus* has been registered for the first time. Thus, it represents a relevant

contribution to expand the scarce knowledge about the health state of wild *Xenarthra*.

Forty one of the 150 (27.3%) *C. villosus* in this study were antibody positive to *T. gondii*, suggesting that this species may be a health threat to humans if undercooked armadillo meat, harboring cysts, was consumed.

The seroprevalence observed suggest frequent contamination in the environment, which may indicate that *C. villosus* is common participant in the cycle of *T. gondii*, and could thus be a source of infection for other animals and humans.

The presence of pigs and sheep predisposes to *C. villosus* toxoplasmosis. Further studies should be carried out to determine the importance of this parasite from the point of view of the conservation of wildlife populations and their potential risk to human health mostly in areas where hunting and ingestion of their meat is a frequent habit.

Acknowledgements. The authors would thank the farmers for allowing access to their rural properties and people who helped in the catches. The funding for this study was provided through a grant UNLPam (Research Grant Res. CS 156/09, Research Project 208 Res. 161/09), UNS (PGI 24B/152 SGCyT) and INTA.

References

- Basso W.U., Venturini M.C. 2014. Toxoplasmosis en los animales domésticos y silvestres criados en cautiverio: aspectos epidemiológicos. *Revista Veterinaria Argentina*, 310, 1–7
- Burridge M.J., Bigler W.J., Forrester D.J., Hennemann J.M. 1979. Serologic survey for *Toxoplasma gondii* in wild animals in Florida. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 175, 964–967
- Caldas P.J., Chávez A.V., Casas E.A. 2006. Seroprevalencia del *Toxoplasma gondii* en borregos de una empresa ganadera de la Sierra Central. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 17, 14–19
- Carne B., Aznar C., Motard A., Demar M., de Thoisy B. 2002. Serologic survey of *Toxoplasma gondii* in noncarnivorous free-ranging neotropical mammals in French Guiana. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 2, 11–17. DOI:10.1089/153036602760260733
- Cook A.J.C., Gilbert R.E., Buffolano W., Zufferey J., Petersen E., Jenum P.A., Foulon W., Semprini A.E., Dunn D.T. 2000. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case control study. European Reserarch Natworf on congenital toxoplasmosis. *British Medical Journal*, 321, 127–128
- Costa da Silva R., Ballarini Zetun C., Gimenes Bosco de Moraes S., Bagagli E., Sammarco Rosa P., Langoni H. 2008. *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp. infection in free-ranging armadillos. *Veterinary Parasitology*, 157, 291–293. DOI:10.1016/j.vetpar.2008.08.004
- Deem S.L., Noss A.J., Fiorello C.V., Manharth A.L., Robbins R.G., Karesh W.B. 2009. Health assessment of free-ranging three-banded (*Tolypeutes matacus*) and nine-banded (*Dasybus novemcinctus*) armadillos in the Gran Chaco, Bolivia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 40, 245–256
- Dubey J.P., Venturini M.C., Venturini L., Piscopo M., Graham D.H., Dahl E., Sreekumar C., Vianna M.C., Lehmann T. 2003. Isolation and Genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Argentina. *Journal of Parasitology*, 89, 1063–1064. DOI: 10.1645/GE-126

- Gardner A.L. 2005. Orden Cingulata. In (Eds. Wilson and Reeder). Mammal species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference. The Johns Hopkins University Press. Third Edition. Baltimore, 94–103
- Hill D., Dubey J.P. 2002. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis, and prevention. *Clinical Microbiology and Infection*, 8, 634–640
- Kawazoe U. 2000. *Toxoplasma gondii*. In: (Eds. Neves D. P., Melo A. L., Genaro O., Linardi P. M.) *Parasitologia Humana*. Publishing and Atheneu, 10th ed. Rio de Janeiro, 147–156
- Ramírez M.M., Resoagli E.H., Martínez A.R. 1984. Detección de toxoplasmosis en armadillos. *Veterinaria Argentina* 1, 135–140
- Salata E., Yoshida E.L.A., Pereira E.A., Corrêa F.M.A. 1985. Toxoplasmosis em animais silvestres e domésticos da região de Botucatu, Estado São Paulo, Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 27, 20–22
- Schenk M.A.M., Ávila F.A., Lima J.D., Schenk J.A.P. 1976. Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in armadillos (*Dasyprocta novemcinctus*) trapped in Minas Gerais, Brazil. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte*, 28, 33–35
- Shaw J.J., Lainson R. 1973. Toxoplasmosis of the two-toed sloth, *Choloepus didactylus*, in Brazil. *Journal of Parasitology*, 59, 206–207
- Sogorb S.F., Jamra L.F., Guimarães E.C. 1977. Toxoplasmosis em animais de São Paulo, Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 19, 191–194
- Superina M. 2007. Natural history of the pichi (*Zaedyus pichiy*) in Mendoza province, Argentina. PhD Theses and dissertations in: University of New Orleans. Paper 604. <http://scholarworks.uno.edu/td/604>
- Tenter A.M. 2009. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Memoria Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 104, 364–369
- Thoisy B., Demar M., Aznar C., Carme B. 2003. Ecologic correlates of *Toxoplasma gondii* exposure in free-ranging Neotropical Mammals. *Journal of Wildlife Diseases*, 39, 456–459
- Venturini M.C., Bacigalupe D., Venturini L., Rambeaud M., Basso W., Unzaga J.M., Perfumo C.J. 2004. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sows from slaughterhouses and in pigs from an indoor and an outdoor farm in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 124, 161–165. DOI:10.1016/j.vetpar.2004.07.003
- Vieira da Silva A., Gimenes Bosco S.M., Langoni H., Bagagli E. 2006. Study of *Toxoplasma* infection in Brazilian wild mammals: serological evidence in *Dasyprocta novemcinctus* Linnaeus, 1758 and *Euphractus sexcinctus* Wagler, 1830. *Veterinary Parasitology*, 135, 81–83. DOI:10.1016/j.vetpar.2005.08.013

Received: September 3, 2014

Revised: October 7, 2014

Accepted for publication: October 10, 2014