

INFORME CIENTIFICO DE BECA

Legajo N°:

BECA DE Perfeccionamiento

PERIODO Primer año

1. APELLIDO: Riva

NOMBRES: Eliana

Dirección Particular: Calle:

Localidad: Tandil **CP:** 7000

Dirección electrónica (donde desea recibir información): eriva@vet.unicen.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACIÓN (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)

EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES PARASITARIAS DE LOS ANIMALES DOMESTICOS CON ÉNFASIS EN LA TRICHINELLOSIS

3. OTROS DATOS (Completar lo que corresponda)

BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO: Fecha de iniciación:

2º AÑO: Fecha de iniciación:

BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO: Fecha de iniciación: 1/6/2014

2º AÑO: Fecha de iniciación:

4. INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS

Universidad y/o Centro: UNCPBA

Facultad: Ciencias Veterinarias

Departamento: Sanidad Animal y Medicina Preventiva

Cátedra: Parasitología y Enfermedades Parasitarias

Otros:

Dirección: Calle: Paraje Arroyo Seco **Nº:** s/n

Localidad: Tandil **CP:** 7000 **Tel:** 4439850

5. DIRECTOR DE BECA

Apellido y Nombres: Steffan Pedro Eduardo

Dirección Particular: Calle:

Localidad: Balcarce **CP:** 7620

Dirección electrónica: steffan@vet.unicen.edu.ar

6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO. (Debe exponerse la orientación impuesta a los trabajos, técnicas empleadas, métodos, etc., y dificultades encontradas en el desarrollo de los mismos, en el plano científico y material).

Durante el primer período correspondiente la beca de perfeccionamiento se realizaron las siguientes labores relacionadas con el tema de beca

- Entrenamiento en el proceso de proceso de obtención del Antígeno de Excreción /Secreción de larvas de *T.spiralis* para su uso en el diagnóstico serológico

Se efectuó una actividad de capacitación en el Departamento de Parasitología, INEI-ANLIS "Carlos G. Malbrán", donde se desarrollaron las siguientes tareas:

- 1) Análisis del protocolo de obtención de Antígeno de E/S de *T. spiralis* actualmente utilizado para la producción a gran escala
- 2) Análisis de equipamiento e insumos específicos necesarios para implementar la producción

- Co-organización en el montaje del Laboratorio de Trichinellosis ANEXO

El trabajo de beca se desarrolla en el marco del Proyecto PFIP- ESPRO Vinculados "Diagnóstico in vivo de la trichinellosis en los cerdos en un contexto de industrialización de productos y derivados con denominación de origen (DOT)". Este Proyecto inició operativamente en octubre de 2014 contemplando en una primera etapa la instalación de un Laboratorio de Trichinellosis ANEXO destinado específicamente a la producción del Antígeno de E/S en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires. Para ello, se desarrollaron tareas orientadas al montaje y equipamiento completo de este laboratorio incluyendo: búsqueda, comparación de información y presupuesto de equipamientos, materiales de laboratorio, reactivos y mobiliarios necesarios.

El desarrollo de las tareas pertinentes a la beca de estudio sufrió ciertas dificultades en este punto relacionado a la demora en las modificaciones edilicias y las adquisiciones necesarias para poner en funcionamiento el laboratorio en todas sus aplicaciones. Estos pasos operativos para materializar la obra y la adquisición de equipamiento estuvieron sujetos a autorizaciones y consultoría internas y externas, demorando las tareas específicas de laboratorio propuestas en la beca otorgada.

- Mantenimiento de larvas de *T.spiralis* en animales de Laboratorio

Para la obtención de Ag E/S de *T. spiralis* se requiere del cultivo de una alta cantidad de larvas musculares. A tal fin, se realizaron infecciones experimentales en ratones Balb/c. Se realizan infecciones en forma continua de modo de amplificar el material biológico necesario para llevar a cabo los cultivos. La cepa de *T. spiralis* utilizada se aisló originalmente de un cerdo del partido de Gral. Lavalle.

- Organización, exposición y colaboración en cursos, talleres y charlas de capacitación

Durante el período de beca participé en la realización de cursos, talleres y charlas relacionadas al tema de beca, entre ellos:

- 1) Curso de "Diagnóstico y Control de la resistencia a los Antihelmínticos en ovinos y bovinos". Colaboración en la Necropsia parasitaria y diagnóstico de laboratorio: Técnicas HPG, Baerman, perfusión pulmonar, lavado intestinal, etc.

2) Trichinellosis."Actualización sobre epidemiología, diagnóstico y control". Organización de las actividades de laboratorio: Técnica de Digestión Artificial, triquinoscopia, ELISA.

3) Curso teórico-práctico. Trichinellosis. "Actualización en epidemiología, control y técnicas de diagnóstico". Exposición y organización de las actividades de laboratorio: Técnica de Digestión Artificial, triquinoscopia, ELISA.

-Dirección en el proyecto de Extensión PICADA SALUDABLE

El proyecto acreditado con subsidio por la Secretaría de Extensión de la UNCPBA, se inició operativamente en febrero de 2015 con actividades a desarrollarse a lo largo del año. Contempla actividades orientadas a la prevención integral de la triquinosis en el ámbito rural de Vela, partido de Tandil.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.

7.1. PUBLICACIONES. Debe hacerse referencia, exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se halla hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC. (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo, en el mismo orden que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde; asignándole a cada uno un número. En cada trabajo que el investigador presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación.

Riva E; Fiel C, Steffan P. The immature stages of *Dermestes maculatus*, *Sarcophaga* sp. and *Phaenicia sericata* as potential paratenic hosts for *Trichinella spiralis* in nature. *Parasitology Research*. DOI 10.1007/s00436-014-4171-7
Publicación on line: 28 octubre de 2014. Publicación en papel: Volume 114, Issue 1 (2015), Page 149-154

7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA. (Aceptados para su publicación. Acompañar copia de cada uno de los trabajos y comprobante de aceptación, indicando lugar a que ha sido remitido. Ver punto 7.1.)

7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACIÓN. (Adjuntar copia de cada uno de los trabajos. Ver punto 7.1.)

7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ENVIADAS PARA SU PUBLICACIÓN. (Adjuntar resúmenes de no más de 200 palabras)

Experimental infections in cattle and sheep with *Haemonchus contortus* resistant or susceptible to benzimidazole treatments.

Guzmán Maricel, Steffan Pedro Eduardo, Riva Eliana, Scarcella Silvana, Murno Graciela, Giudici Claudio, Rodríguez Edgardo and Fiel César Alberto

7.5. COMUNICACIONES. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores)

Riva, E; Fiel, C; Steffan, P. 2014. Transmisión vertical de *Trichinella spiralis* en cobayos infectados experimentalmente. Trabajo en formato Poster presentado en la IX Reunión Argentina de Patología Veterinaria y 8º Seminario de la Fundación Charles Louis Davis. 29, 30 y 31 de octubre de 2014. Tandil, Bs. As. Argentina.

7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN. (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)

8. OTROS TRABAJOS REALIZADOS. (Publicaciones de divulgación, textos, etc.)

8.1. DOCENCIA

8.2. DIVULGACIÓN

8.3. OTROS

9. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTÍFICAS. (Se indicará la denominación, lugar y fecha de realización y títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas)

IX Reunión Argentina de Patología Veterinaria y 8° Seminario de la Fundación Charles Louis Davis. 29, 30 y 31 de octubre de 2014. Tandil, Bs. As. Argentina.

Trabajo presentado: Transmisión vertical de *Trichinella spiralis* en cobayos infectados experimentalmente.

10. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. (Señalar características del curso o motivo del viaje, duración, instituciones visitadas y si se realizó algún entrenamiento)

Jornada de capacitación en el INEI-ANLIS " Carlos G Malbran " en el proceso de obtención del antígeno de excreción/secreción de *Trichinella spiralis* para su empleo en diagnóstico serológico.

11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO

12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO

Ayudante ad-honorem en el Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias desde el año 2006. Curso de Grado dictado en el primer cuatrimestre. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. Tandil.

13. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES (Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período)

-Integrante del equipo de trabajo en el proyecto: "Diagnóstico in vivo de la trichinellosis en los cerdos en un contexto de industrialización de productos y derivados con denominación de origen (DOT)" Proyectos Federales de Innovación Productiva, Eslabonamientos Productivos Vinculados, PFIP-ESPRO Vinculados, Ministerio de Ciencia y Tecnología, PFIP-ESPRO VINCULADOS 2012 - Expte. MINCYT 0238/12-, Resolución MINCYT N° 169/14 – Fecha: 31/03/2014 Convenio de Subvención N° 26/14 – Fecha: 16/06/2014, Expte. DGA N° 1637/14, Director: Dr. Pedro Steffan, Monto: \$ 744.000 en dos años.

-Directora en el Proyecto "PICADA SALUDABLE: Prevención integral de la triquinosis en el ámbito rural". 3° Convocatoria de Proyectos de Extensión 2014-2015. Secretaría de Extensión de la UNCPBA. Resolución N°1709 , 20/12/2014, Monto \$10.000

-Expositora en la "Jornada de prevención de zoonosis" en el marco de la XII Semana Nacional de la Ciencia y la Tecnología. Promovido por MINCYT. ES N°1 de Napaleofú el 30 de junio de 2014.

-Colaborador en el Curso Internacional sobre "Diagnóstico y control de la resistencia a los antihelmínticos en ovinos y bovinos" organizado por el CEBASEV en Tandil, entre el 25 y 27 de noviembre de 2014.

-Coorganizadora en los siguientes cursos y talleres:

Riva, E. "Jornada de Actualización de leptospirosis, carbunco y triquinosis, organizada en el marco del Proyecto de Voluntariado: Prevención de la Leptospirosis, de la Escuela Superior de Ciencias de la Salud de la UNCPBA. Realizada el 31 de mayo de 2014 en paraje Mapis, Olavarría.

Steffan, P. y Riva, E. Trichinellosis. "Actualización en epidemiología, control y técnicas de diagnóstico". Curso teórico-práctico, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, 3 de julio de 2014.

Steffan, P. y Riva, E. Trichinellosis. "Una zoonosis que evoluciona en Argentina y el mundo". Taller de Trichinellosis organizado por SENASA, Tandil, 4 de julio de 2014.

Steffan, P. y Riva, E. Triquinosis. "Una zoonosis de importancia en salud pública y en el negocio porcino". Jornadas de Triquinosis organizadas por Asociación de Criadores de Cerdos de Tandil, Teatro de la Confraternidad, Tandil, 7 de agosto de 2014.

Steffan, P. y Riva, E. Trichinellosis. "La importancia de su prevención en la salud pública y en el negocio de la producción porcina". Curso de Acreditación para Veterinarios Privados para el Programa de Porcinos del SENASA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, 16 de septiembre de 2014.

Steffan, P. y Riva, E. Trichinellosis. "Actualización sobre epidemiología, diagnóstico y control". Curso teórico práctico, Diplomatura Universitaria Superior en Producción Porcina, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, 24 de octubre de 2014.

Steffan, P. y Riva, E. Trichinellosis. "La importancia de su prevención en la salud pública y en el negocio de la producción porcina". Curso de Acreditación para Veterinarios Privados para el Programa de Porcinos del SENASA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, 11 de noviembre de 2014.

14. TITULO DEL PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PERIODO DE PRORROGA O DE CAMBIO DE CATEGORÍA (Deberá indicarse claramente las acciones a desarrollar)
EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES PARASITARIAS DE LOS ANIMALES DOMESTICOS CON ÉNFASIS EN LA TRICHINELLOSIS

Condiciones de Presentación

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Becario, la que deberá incluir:
- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
 - b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
 - c. Informe del Director de tareas con la opinión del desarrollo del becario (en sobre cerrado).
-

Nota: El Becario que desee ser considerado a los fines de una prórroga, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.

.....
Firma del Director

.....
Firma del Becario

PLAN Y LUGAR DE TRABAJO

DEL PLAN DE TRABAJO

1. EPIDEMIOLOGÍA Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES PARASITARIAS DE LOS ANIMALES DOMESTICOS CON ÉNFASIS EN LA TRICHINELLOSIS

2. El plan de trabajo abarca distintas líneas de investigación que se definen a continuación:

1. Mejoramiento del control de la Trichinellosis en la provincia de Buenos Aires
2. Estudio de la epidemiología parasitaria en rumiantes puntualizando en el fenómeno de hipobiosis de *Ostertagia ostertagi*
3. Estudio de la resistencia antihelmíntica
4. Ejecución de pruebas biológicas para el desarrollo de nuevos compuestos con propiedades antiparasitarias.
5. Desarrollo y aplicación de alternativas de control de nematodos en sistemas tradicionales y en producciones orgánicas
6. Programa Control Parasitario Sustentable (CPS)

1. Mejoramiento del control de la Trichinellosis en la provincia de Buenos Aires

La trichinellosis es una enfermedad transmitida por los alimentos y causada por la ingestión de larvas infectivas de *Trichinella* spp. Los animales salvajes y domésticos, porcinos en particular, así como el hombre, pueden ser huéspedes definitivos del parásito (Murrell et al., 2000; Riva et al., 2007).

Argentina se encuentra entre los países del mundo con mayor casuística de trichinellosis en los cerdos y en el hombre (ICT, 2004). En la provincia de Buenos Aires, en 10 años consecutivos (período 2001 – 2010) se han detectado un total de 429 focos porcinos afectando 87 partidos, de los cuales Tandil, Azul, Rauch, Benito Juárez, Ayacucho, Necochea y Gral. Pueyrredón figuran entre los más afectados con 20 a 34 focos por partido en el período 2001 -2010 (Ministerio de Asuntos Agrarios). La enfermedad está en crecimiento a causa, entre otras, de las condiciones higiénicas y sanitarias precarias de las pequeñas unidades de producción que recientemente se han establecido en cercanía de las ciudades, como consecuencia de la situación social y económica del país (Gamble et al., 2000). Las autoridades sanitarias intentan controlar el cumplimiento de las normas de higiene durante las actividades de cría y engorde de porcinos a nivel industrial, sin embargo las campañas de difusión no son regulares y el alcance de las acciones de prevención y control queda limitado, en particular, debido a que las medidas de saneamiento son posteriores al diagnóstico post-mortem (Caracostantogolo et al., 2007).

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos, Área de Sanidad Animal, ha reglamentado a través de la Resolución 555/2006 las Pautas Técnicas en la Atención de Focos de Trichinellosis estableciendo que ante un foco el establecimiento o chacra deben ser interdictados y todos los animales de la piara deben ser sacrificados en matadero con inspección veterinaria oficial. La información disponible indica que menos del 10% de los animales de las piaras interdictadas resultan luego con diagnóstico positivo a *Trichinella* spp. en el matadero (M.A.A., Provincia de Buenos Aires, 2010). En este sentido, la práctica de la mencionada reglamentación ha infligido pérdidas económicas muy importantes para los productores, principalmente en los sistemas en que han invertido recursos en el mejoramiento genético de sus animales y en su adaptación a los requerimientos del mercado de carnes porcinas (ej. cerdos incorporados a la Denominación de Origen Tandil -DOT – Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, Resol. 986/2011).

Por esta razón, la aplicación de la técnica de diagnóstico indirecta en escala sobre los animales vivos - Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) complementado con Western Blot (WB)- para confirmar los animales positivos (Ruiz y Martínez, 2007) podría contribuir con eficacia y anticipadamente a minimizar las pérdidas en los sistemas de producción porcina. El antígeno de excreción-secreción (Ag E/S) a partir del cultivo del parásito es el recomendable debido a su alta especificidad, permitiendo además, detectar positivos aun en animales con infecciones parasitarias muy bajas (Gamble et al., 1983). En Argentina, no hay proveedor de antígeno y los Kits importados tienen un alto costo, por lo que se está avanzando en la elaboración propia del Ag E/S para ser utilizado no solamente en nuestro laboratorio, sino también, en otros centros de diagnóstico oficiales y privados a nivel provincial.

2. Estudio de la epidemiología parasitaria en rumiantes puntualizando en el fenómeno de hipobiosis de *Ostertagia ostertagi*

Una característica de *O. ostertagi*, y de muchos géneros de nematodos, es la detención temporaria del ciclo parasitario, o inhibición del desarrollo, como larva 4 inicial (L4i). Este fenómeno se conoce como hipobiosis y juega un rol importante en la epidemiología del parásito. En el Hemisferio Sur el proceso de hipobiosis ocurre durante los meses de primavera e inicios del verano (Fernandez et al., 2000). Estudios realizados bajo condiciones de laboratorio en el Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias de la UNCPBA demostraron que, para nuestro país, el incremento de la temperatura y la luminosidad actúan como inductores de la hipobiosis en las larvas 3 (L3) infectantes de *O. ostertagi*, durante su fase de vida libre (Dopchiz et al., 2000). Posteriormente se demostró que el tiempo de exposición, de las L3 a las condiciones ambientales, necesario para inducir la posterior hipobiosis como L4 inicial en el huésped bovino, era diferente para cada mes primaveral (Lützelschwab et al., 2005). Si bien se conoce el patrón de inhibición, los factores que la inducen, y su fluctuación relacionada a las características ambientales (Fiel et al., 2009), poco o nada se sabe acerca de las características de la desinhibición y que factores la gobiernan (Chaparro et al., 2011).

3. Estudio de la resistencia antihelmíntica

El desarrollo de resistencia a los antihelmínticos por parte de los nematodos que parasitan a los bovinos se incrementa rápidamente. En nuestro país, los primeros hallazgos de nematodos bovinos resistentes a los antihelmínticos fueron informados en forma casi simultánea durante el segundo semestre del 2000 en las provincias de Santa Fe (Fiel et al., 2001a) y Buenos Aires (Fiel et al., 2001b). Desde entonces nuevos casos de resistencia de este género a las avermectinas fueron observados en las provincias de Buenos Aires, Entre Ríos, Santa Fe, Córdoba y La Pampa. Información obtenida en las provincias de Córdoba y Santa Fe amplían el espectro de la resistencia de Cooperia a los benzimidazoles orales e inyectables (Anziani y Fiel, 2004).

Desde el año 2003 hasta la fecha se realiza el seguimiento de un establecimiento ganadero ubicado al sur de la pcia. de Córdoba, donde se presenta resistencia antihelmíntica múltiple a benzimidazoles y lactonas macrocíclicas, y por ende la única droga activa corresponde al grupo de los imidazotiazoles (Levamisole). Por otro lado, se evalúa el comportamiento de Moxydectin (y otras drogas) como alternativa en el tratamiento de parásitos resistentes, en éste y otros establecimientos del país. Recientemente se inició un trabajo subsidiado por la SeCyT tendiente al estudio de cepas de *Haemonchus contortus* que parasitan a ovinos y bovinos (Fiel et al., 2011) manteniendo su resistencia a benzimidazoles, y en la cual participan otras instituciones como INTA Balcarce y Mercedes (Ctes.), las Facultades de Veterinaria de La Plata, Casilda y la de Biología de Santa Catarina (Brasil).

4. Ejecución de pruebas biológicas para el desarrollo de nuevos compuestos con propiedades antiparasitarias

El control de las enfermedades parasitarias en las especies animales utilizadas para la producción de alimentos y derivados (carne, leche, lana, etc.) no ha podido prescindir hasta el presente, del empleo de quimioterápicos específicos. Si bien en la actualidad se cuenta con un número importante de principios activos contra endo y ectoparásitos, existe una preocupación permanente por parte de la industria farmacéutica mundial, para desarrollar nuevas moléculas que mejoren la eficacia, espectro, inocuidad y actividad metabólica de los tratamientos en los animales. Además, se intenta contrarrestar los problemas asociados al uso irracional de los productos y a los manejos en los sistemas intensivos de producción (resistencia a los antiparasitarios, alta carga animal, etc).

El Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA) considera como Grupo de Referencia al Área de Parasitología de ésta Facultad, en el desarrollo de los protocolos experimentales a tal fin. Por esta razón, desde hace unos 20 años se desarrollan investigaciones con grupos químicos tales como benzimidazoles (fenbendazole, albendazole, oxfendazole, ricobendazole), levamisoles y endectocidas (ivermectina, abamectina, doramectina y moxidectina) contra los parásitos internos y externos de mayor impacto económico (Steffan et al 1997a,b).

5. Desarrollo y aplicación de alternativas de control de nematodos en sistemas tradicionales y en producciones orgánicas

Los parásitos gastrointestinales constituyen la limitante sanitaria más importante en los sistemas de producción animal bajo condiciones de pastoreo. Su control es un desafío constante orientado a minimizar los efectos de la enfermedad en la producción global del sistema, ofreciendo a la vez alimentos con bajos residuos de compuestos derivados de síntesis química. En las últimas dos décadas, se han realizado progresos notables para cumplir con ambas finalidades, basados en un

mejor conocimiento de la bioecología y epidemiología de los nematodos, caracterización y consecuencias de la relación huésped/parásito y finalmente, por el desarrollo teórico y validación práctica de diferentes alternativas de control apoyadas fundamentalmente en quimioterapias específicas (Fiel et al., 1998; Steffan y Fiel, 1994; Steffan et al., 2006). Sin embargo, la adaptación de los sistemas de producción animal a las actuales exigencias productivas y de calidad, obliga al desarrollo continuo de investigaciones tendientes a resolver los problemas de control que se van asociando a dicho cambio (Steffan et al., 2006; Guzman et al., 2010).

6. Programa Control Parasitario Sustentable (CPS)

Los antecedentes del presente programa se establecen en el "Sistema de Alarma Parasitaria" (SAP) 1989-92, llevado a cabo en los partidos de Ayacucho, Azul y Benito Juárez; el plan piloto "Control de parásitos gastrointestinales en sistemas intensivos de producción de carne" 1993-94 realizado en el partido de Cnel. Pringles, el "Sistema Integrado de Alarma Parasitaria" (SIAPA) 1994-96 y El "programa parasitológico integrado (Pro.P.I.) 1998-2000. Se trata de una concepción de trabajo conjunto que involucra a la esfera oficial y privada en el control de las parasitosis internas de los bovinos, motorizada por el Área de Parasitología de la Fac. Cs. Veterinarias de Tandil (Fiel et al., 1998; 2000).

Actualmente, los sistemas de producción contemplan en la mayoría de las regiones la utilización de pasturas en las etapas de cría y recría de los animales con distintas expresiones en el manejo de los pastoreos a lo largo del año. En estas condiciones, el impacto económico de las parasitosis ha sido ampliamente documentado en nuestro país, variando desde la mortandad de animales hasta las pérdidas subclínicas en la producción de carne y leche, con significativos efectos sobre el desarrollo corporal y funcional de las hembras destinadas a reproducción del rodeo e impactos sobre la cantidad, calidad de la carne y rendimiento de la res de los machos faenados para consumo.

El control, se ha basado tradicionalmente en la utilización de antiparasitarios complementado, en algunos casos, por medidas de manejo que contribuyan a mejorar la eficiencia de los programas de control. Las principales clases de antiparasitarios han involucrado derivados de imidazothiazoles (LVM), benzimidazoles (BZD) y avermectinas (IVM), éste último también efectivo contra los ectoparásitos más importantes. Estos principios activos han sido utilizados durante los últimos 30-40 años y solo recientemente se lanzaron los derivados del aminoacetónitrilo (AAD's) –monepantel-, una nueva clase de antihelmíntico pero solamente disponible para su uso en ovinos y caprinos.

La gran antigüedad de los principios activos y el extenso uso en los animales, favorecido por la disminución del costo/dosis debido a la lógica reducción de los costos de producción y la irrupción de productos genéricos, ha generado un incremento paulatino de la resistencia de los parásitos a los distintos tratamientos.

Estudios abarcativos del país indican que, sobre 85 establecimientos ganaderos, en el 55% se demostró resistencia a IVM, 10% a BZD y 7% a LVM (Proy. TCP FAO 2904, 2005). En otro estudio realizado en la región de invernada más importante de la Pampa Húmeda se determinó la resistencia a alguno de los principios activos en el 64% de los 25 establecimientos relevados (Suarez y Cristel, 2006). En términos productivos, el fenómeno de la resistencia comienza a ser demostrado en recientes estudios, donde se determinó una merma de 52% en la ganancia de peso durante un período de 90 días de pastoreo o de 10% en un sistema de engorde a corral a los 75 días del encierre (Fiel et al., 2011).

A las fallas en la eficacia de los antiparasitarios asociadas al fenómeno de resistencia, se debe sumar el alto riesgo de los residuos químicos en los tejidos comestibles que frecuentemente están asociados a la utilización indiscriminada de los productos y fundamentalmente de las formulaciones de larga acción cuya persistencia no solamente ha contribuido al fenómeno de resistencia sino que también, han sido responsables del rechazo de carnes exportadas por países de la región por detectarse niveles no aceptables de residuos de antiparasitarios (Brasil, 2010). El presente programa apunta a atender las problemáticas surgidas después de 3-4 décadas en el control de las parasitosis de los bovinos y ovinos, con la consigna central de minimizar el efecto sanitario y productivo de las enfermedades parasitarias mediante la aplicación de programas racionales de control. Se orientan a garantizar en el tiempo la sustentabilidad productiva, económica y biológica del sistema, la eficacia de los antihelmínticos y aceptables niveles de residuos químicos en tejidos comestibles compatibles con las normativas locales e internacionales para el consumo seguro de carnes y derivados. Actualmente, se cuenta con el auspicio y apoyo económico del Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina (IPCVA) y del Programa Desparasitación Responsable del Laboratorio Pfizer Argentina.

3. En el Área de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNCPBA) intervino en el período 2004-2006 en un Proyecto de Cooperación Técnica con la Organización de las Naciones

Unidas para la Agricultura y la Alimentación -FAO- (TCP FAO ARG /3003) en conjunto con el Laboratorio de Parasitología del INTA Castelar y el Servicio Nacional de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria (SENASA) denominado "Mejoramiento del Control de la Trichinellosis en Argentina". El objetivo general del proyecto fue lograr un nivel eficiente de prevención y control de la trichinellosis en Argentina, para disminuir las pérdidas ocasionadas por la enfermedad y mejorar la producción porcina, logrando una mayor seguridad para los consumidores.

Los logros se tradujeron en la puesta a punto de la técnica ELISA para el diagnóstico serológico de la trichinellosis en cerdos, relevamientos puntuales en animales silvestres (zorro y jabalí) y digestión enzimática en caballos. Se realizaron talleres teóricos prácticos para profesionales y productores con una asistencia total de 753 asistentes. Los mismos se llevaron a cabo en las provincias de Buenos Aires, Chubut, La Pampa, Córdoba, San Luis y Santiago del Estero. También, se brindó entrenamiento en técnicas de diagnóstico directas e indirectas para Trichinellosis a profesionales de universidades, direcciones de bromatología municipales, direcciones de ganadería provinciales y de laboratorios privados de diagnóstico.

Las acciones del proyecto fueron publicadas por FAO América Latina y El Caribe, Mejoramiento del Control de la Trichinellosis, 2007, Roma, 136 Pág.

La información resultante es utilizada en los cursos de grado y postgrado – Doctor en Ciencia Animal - de nuestra Facultad y en el curso de post grado Master Science de la Unidad Integrada FCA-INTA Balcarce. Además, anualmente se realiza un Curso de Capacitación y Actualización en técnicas de diagnóstico para profesionales y técnicos de distintos sectores involucrados en bromatología e inspección en la industria de chacinados y embutidos de la región.

En investigación se desarrolló una Tesis Doctoral bajo título "Estudios epidemiológicos y prevención de la trichinellosis mediante la aplicación de técnicas de diagnóstico directas e indirectas". En ella se realizaron estudios básicos sobre la epidemiología de *Trichinella spiralis* y sobre la aplicación de métodos directos e indirectos de diagnóstico con el fin de contribuir a la prevención y control de la infección en animales domésticos, sinantrópicos y silvestres, y de la enfermedad en el hombre.

Se evaluó la situación del ganado de consumo involucrado en la transmisión de la trichinellosis mediante técnica indirecta ELISA y directa de digestión artificial en muestras de cerdos proveniente de distintos sistemas de producción. La sensibilidad y especificidad calculada para la técnica ELISA utilizando antígeno de E/S de *T. spiralis* fue de 100 % y 97,1%, respectivamente.

Se realizaron estudios iniciales para desarrollar la técnica de ELISA utilizando jugo muscular porcino como muestra alternativa de diagnóstico, analizándose distintas formas de obtención de las muestras y pruebas de dilución óptima. Por otro lado, se investigó la influencia de las condiciones ambientales naturales sobre la viabilidad y capacidad infectiva de larvas musculares de *T. spiralis* en cadáveres expuestos a las condiciones de verano e invierno en la provincia de Buenos Aires y la capacidad de distintos insectos necrófagos de actuar como potenciales hospedadores paraténicos de *T. spiralis*. Se demostró que las larvas musculares de *T. spiralis* son capaces de sobrevivir en la naturaleza y mantenerse infectivas por al menos una semana en verano y 6 semanas en invierno, transformándose en una importante fuente de infección para animales carroñeros. Además, se demostró que los estadios larvales de *Phaenicia sericata*, *Sarcophaga* sp. y *Dermestes maculatus* son capaces de ingerir y mantener larvas musculares de *T. spiralis* vivas e infectivas al menos durante los primeras etapas de la descomposición cadavérica (Riva et al.,2011;2012).

4. Objetivos generales

- Disminuir el impacto económico que producen los focos de trichinellosis en piaras de la región, a través de la faena sanitaria programada en base a diagnóstico serológico de la enfermedad.
- Implementar sistemas permanentes de vigilancia epidemiológica en ecosistemas donde la zoonosis parasitaria ha alcanzado altos niveles de prevalencia e incidencia.
- Establecer un sistema de servicio para establecimientos de producción intensiva de cerdos basado en el monitoreo continuo a través del serodiagnóstico para minimizar los riesgos de transmisión de la parasitosis en el sistema de producción y su entorno.
- Mejorar la aplicación de las técnicas de diagnóstico utilizadas en la inspección rutinaria de carne
- Realizar investigación básica que aporte al mejor conocimiento de la trichinellosis
- Actualizar la información epidemiológica de las enfermedades parasitarias de los animales domésticos en el área de influencia
- Determinar las fluctuaciones mensuales de inhibición y desinhibición de *Ostertagia ostertagi* y su posible asociación con variables climáticas (temperatura, humedad, horas luz) o de otro tipo (período/lapso de inhibición, necesidades metabólicas, etc.)
- Estudiar los factores que influyen el desarrollo de resistencia, junto al desarrollo de metodologías diagnósticas, de estrategias que retarden su aparición, y de manejo de la resistencia una vez instalada.

- Evaluar a través de una metodología apropiada y estandarizada de investigación, las distintas propiedades vinculadas a los compuestos antiparasitarios en sus diferentes etapas de desarrollo, con la finalidad de certificar que los productos que se presentan para su aprobación en el SENASA, reúnan los requisitos mínimos de eficacia e inocuidad, para ser utilizados en el control a campo de las enfermedades parasitarias con mayor impacto económico.

Objetivos particulares

- Instalar y poner a punto el equipamiento, la metodología y las técnicas de laboratorio para la producción a gran escala de Antígeno de Excreción y Secreción a partir del cultivo in vitro de larvas musculares de *Trichinella spiralis*
- Atender a la demanda del sector productivo de cerdos, basada en la necesidad de contar con el diagnóstico in vivo de la trichinellosis a partir de muestras de sangre extraídas a los animales de cría o engorde
- Establecer un esquema de faena sanitaria progresiva y programada de los cerdos involucrados en focos de trichinellosis de la región, a través del diagnóstico serológico por las técnicas de Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) y Western Blot (WB), complementado por el análisis de los factores de riesgo en la transmisión de la enfermedad
- Determinar la presencia directa o indirecta de *Trichinella* spp. en poblaciones de animales involucrados en el ciclo doméstico, sinantrópico y silvestre en focos de la enfermedad en cerdos
- Desarrollar y establecer la técnica ELISA para el diagnóstico de trichinellosis en jugo muscular a partir de muestras de animales muertos o faenados.
- Evaluar la dinámica de recuperación de la eficacia de las avermectinas y derivados benzimidazólicos sobre poblaciones de nematodos trichostrongylideos de ovinos y bovinos resistentes luego de la dispersión natural de cepas sensibles a ambos compuestos.
- Desarrollar e implementar técnicas moleculares (PCR) para la identificación y diferenciación de cepas de nematodos trichostrongylideos resistentes a los antihelmínticos

5. La producción de antígeno de E/S se realizará según los siguientes pasos:

- a) Aislamiento y mantenimiento de una cepa de *T. spiralis* en animales de laboratorio
- b) Obtención de larvas musculares de *T. spiralis* por digestión enzimática.
- c) Cultivo in-vitro de larvas musculares de *T. spiralis* para la obtención del antígeno de excreción / secreción.
- d) Calidad y cuantificación del antígeno
- e) Almacenamiento y conservación del antígeno

Las larvas aisladas por digestión enzimática serán lavadas con DMEM suplementado con antibióticos, y se incubarán a una concentración de 5000 L1 / ml en frascos de cultivo en estufa de CO₂ (10 % CO₂; 37° C; 20 hs.). Luego de la incubación, se recuperará el sobrenadante conteniendo el Ag E/S y se filtrará por membrana de 0,22 µm. Se almacenará a - 18° C. Los productos de E/S se concentrarán posteriormente hasta alcanzar un cut - off de 5000 Da. La concentración proteica se determinará por el método de Bradford y se verificará su calidad mediante SDS- PAGE. El Ag E/S se fraccionará y almacenará a - 80° C hasta el tiempo de su utilización.

La caracterización epidemiológica se efectuará según la siguiente metodología

- a) Los cerdos serán identificados y se realizará un registro con información de razas, sexos y edades, acompañado por la descripción general del tipo de explotación contemplando el lugar de emplazamiento, instalaciones e infraestructura para el manejo, tipo de alimentación, etc.
- b) Las reses objeto del diagnóstico y denuncia del foco serán analizadas para determinar el nivel de infección y recuperar la cepa de *Trichinella* a partir de la digestión enzimática de muestras de músculo diafragmático, masetero e intercostales.
- c) Se extraerán muestras de sangre de la población de cerdos que quedan en el establecimiento/chacra interdictada para detectar anticuerpos anti-*Trichinella* a través de la técnica de ELISA.
- d) Se realizarán capturas de roedores en las zonas circundantes a los predios porcinos muestreados. A tal fin se dispondrán trampas vivas tipo Sherman y los roedores trapeados serán identificados a partir de las medidas estándar (peso, largo total, largo de cola). Se obtendrán muestras de tejido muscular y sangre de los ejemplares capturados para detectar la presencia del parásito.
- e) Para mejorar el conocimiento en la transmisión de *Trichinella* spp. en animales del ciclo silvestre se realizarán capturas de otros animales silvestres (peludos, zorros, jabalíes, roedores silvestres) en áreas más alejadas del foco. Se tomarán muestras de tejido muscular de los sitios de predilección de cada animal, ej. masetero, base de la lengua, miembros anteriores, etc. y sangre para detectar la presencia del parásito.

f) Los predios estudiados se clasificarán por categoría y tipo de explotación analizándose las condiciones higiénicas y sanitarias de la misma para establecer junto a la información epidemiológica, los niveles de riesgo en que se desempeña el sistema de producción y las medidas a tomar para controlar de manera sustentable la infección parasitaria

Para implementar el programa progresivo de saneamiento y de vigilancia epidemiológica:

- 1) Se realizará la confirmación y caracterización del foco de trichinellosis como se describió anteriormente
- 2) Si la explotación porcina presenta ciertas características ej. instalaciones e infraestructura apropiadas, condiciones higiénicas, sanitarias y alimenticias aceptables, mejoramiento genético de la piara, etc, y la transmisión del parásito a la población de cerdos puede prevenirse o controlarse, entonces se podrá comenzar con el programa de vigilancia y faena sanitaria programada de los animales portadores del parásito.
- 3) Se extraerán muestras de sangre de la población de cerdos que quedan en el establecimiento/chacra interdictada al comienzo (día 0) y nuevamente a los 60 días para detectar anticuerpos anti-Trichinella a través de la técnica de ELISA.
- 4) Ambos muestreos serológicos permitirán la extracción primaria de los cerdos positivos a la presencia de anticuerpos anti-Trichinella en el sistema de producción y su envío a matadero con inspección oficial para validar la información de la serología con la digestión enzimática del tejido muscular de los animales.
- 5) Esta metodología se repetirá cada 6 meses durante 2 años consecutivos, incluyendo en los muestreos a los cerdos que ingresan en el sistema.
- 6) Se establecerán las ventajas y eventuales desventajas del sistema progresivo y racional de saneamiento del sistema de producción.

Técnicas de laboratorio a emplearse:

A partir de las muestras de sangre, se extraerán sueros por centrifugación a no más de 3000 rpm., se dividirá en alícuotas y se mantendrán congelados a -20 °C hasta el momento de su utilización.

Técnica ELISA: El antígeno de E/S (50 µg/ml) de larvas musculares de *T. spiralis*, se preparará en buffer carbonato-bicarbonato (0.5 µg/ µl) y 100 µl se utilizará para sensibilizar cada pocillo de la microplacaplaca. Para cada ensayo las microplacas sensibilizadas se bloquearán con PBS-leche. Los sueros problema, controles positivos y negativos serán diluido 1:100 en buffer PBS-leche y sembrados por duplicado. Luego de una incubación a 37° C se añadirá el anticuerpo conjugado peroxidasa anti-pig (Sigma) diluido 1:2500 y se incubará nuevamente a la misma temperatura. Para el revelado se utilizará o-phenylenediamine/ H₂O₂ en buffer citrato como sustrato, luego del revelado en oscuridad la reacción se detendrá con ácido sulfúrico. La densidad óptica será leída en Lector de ELISA (Bio-Tek) a 450 nm. El cut-off utilizado se calculará como el promedio de las muestras negativas más tres veces su desvío estándar.

Técnica WB: El antígeno E/S se separará en geles SDS 10% para luego transferirlas e inmovilizarlas en una membrana de nitrocelulosa (poro de 0.22 µm). Se incluirá un marcador de peso molecular. La membrana se bloqueará con buffer PBS-Tween y se incubarán los sueros problema, controles positivos y negativos diluidos en buffer. Posteriormente se añadirán los anticuerpos anti-pig conjugados con peroxidasa a dilución 1:10000. Luego de una 1 hora de incubación a temperatura ambiente se revelará mediante kit AEC Chromogen (Sigma) utilizando PBS para detener la reacción. Los casos positivos se detectarán por visualización de un triplete de bandas con pesos moleculares de 42 a 60 kDa.

Técnica Digestión Artificial (D.A.): Se utilizará la técnica de D.A. de acuerdo con la descripción del protocolo del Servicio Nacional de Sanidad Animal y Alimentos (SENASA, Decreto 790/99) con agitador magnético de placa térmica utilizando pepsina 1:10.000 NF al 1% y HCl 37% al 1% para detectar el número de larvas musculares de *Trichinella* por gramo de tejido analizado.

La determinación de la resistencia a benzimidazoles se realizará mediante la técnica de ARMS-PCR donde serán amplificados los sectores de β-tubulina que contienen las mutaciones responsables de conferir resistencia (Guzmán et al., 2011; Méo Niciura et al., 2012).

6. Cronograma

6 meses	Puesta a punto del proceso de fabricación de Ag E/S y las técnicas de inmunodiagnóstico
3 meses	Diagnóstico <i>in-vivo</i> : "Validación de la Técnica" Muestreo de animales en producción
3 meses	Transferencia y difusión: Cursos, Talleres, Charlas de capacitación
9 meses	Estudios de campo: Muestreo de animales en sistemas de producción, identificación de reactores positivos, estudios de riesgos poblacionales

7. Bibliografía

- Anziani, OS y Fiel, CA. 2004. Estado actual de la resistencia antihelmíntica (nematodos gastrointestinales de la Argentina. *Vet. Arg.* 21 (202): 122-133.
- Caracostantógolo, J; Steffan, P; Dillon, P; de la Sota, M; Belgrano, D; Veneroni, R; Ruíz, M; Schapiro, J; Castaño, Martínez, M; Morici, G; Balbiani, G; Castro, M; Eddi, C. 2007. Mejoramiento del control de la Trichinellosis en Argentina: Proyecto TCP ARG 3003 entre la FAO y el Gobierno Argentino. En: Mejoramiento del control de la Trichinellosis. FAO América Latina y el Caribe. ISBN 878-92-5-305737-5: 5-66.
- Dopchiz, MC; Parma, AE; Fiel, CA. 2000. Hypobiosis induction alters the protein profile of *Ostertagia ostertagi* (Nematoda: Trichostrongylidae). *Folia Parasitologica* 47: 135-140.
- Fernandez, AS; Fiel, CA; Steffan, PE. 2000. Study on the inductive factors of hypobiosis of *O. ostertagi* in cattle. *Vet. Parasitol.* 81: 295-307.
- Fiel, CA; Fernández, AS; Fusé, LA; Sominson, PA; Steffan, PE. 1993. Servicio de alarma parasitaria (SAP) en tres partidos del centro de la pcia de Buenos Aires. *Memorias 91 92 del SAMP Fac. Cs. Vet. U.N.C.P.B.A.*: 45 46.
- Fiel, CA; Ferreyra, D; Steffan, PE. 1998. Manual para el diagnóstico de nematodos en bovinos: técnicas de frecuente utilización en la práctica veterinaria: su interpretación. Edición auspiciada por la División de Sanidad Animal de Bayer Argentina S.A: 1-61.
- Fiel, CA; Steffan, PE; Ferreyra, DA. 2000. Programa Parasitológico Integrado (PRO.P.I.) Informe de actividades 1998-1999. Página Web de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.C.P.B.A.: 1-64.
- Fiel, CA; Steffan, PE; Freije, E; Rodríguez, E; Roán, P; Gonzalez, F; Ferreyra, D. 1998. El control estratégico de las endoparasitosis en vaquillonas de recría mediante el uso de un bolo de liberación prolongada de fenbendazole o de tratamientos antihelmínticos convencionales. *Therios.* (27) 144: 308-316.
- Fiel, CA; Steffan, PE; Roán, PE; Bonnet, P; Sominson, P. 1997. Sistema Integrado de Alarma Parasitaria (SIAPA). Publicación de exposiciones de la Jornada para profesionales "Control de la parasitosis gastrointestinales en invernada". 12 de junio INTA Marcos Juarez: 1-6.
- Fiel, C; Guzmán, M; Steffan, P; Rodríguez, E; Prieto, O; Bhushan, Ch. 2011. The Efficacy of Trichlorophon and Naphthalophos against Multiple Anthelmintic-Resistant Nematodes of Naturally Infected Sheep in Argentina. *Parasitol. Res.* 109: 139-148.
- Fiel, CA; Saumell, CA; Fusé, LA; Seguí, R; Freije, E; Steffan, PE; Iglesias, LE. 2005. Resistencia antihelmíntica en bovinos. Dos escenarios diferentes como resultado de: 1) el sistema de manejo y 2) la excesiva frecuencia de tratamientos antiparasitarios. En: Resistencia a los antiparasitarios en Argentina. FAO: 53-59, Roma, Italia.
- Fiel, CA; Anziani, OS; Suarez, V; Vazquez, R; Eddi, C; Romero, J; Caracostantogolo, J; Saumell, C; Mejía, M; Costa, J; Steffan, P. 2001b. Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. *Vet. Arg.* 18: 21-32.
- Gamble, HR; Anderson, WR; Graham, CE; Murrell, KD. 1983. Diagnosis of swine trichinosis by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using an excretory-secretory antigen. *Vet Parasitol.* (13) 349-361.
- Gamble, HR; Bessonov, AS; Cuperlovic, K; Gajadhar, AA; van Knapen, F; Noeckler, K; Schenone, H; Zhu, X. 2000. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Vet. Parasitol.* 93, 393-408.
- Guzmán, M.; Fiel, C.; Steffan, P. 2010. La infección cruzada de *Haemonchus contortus* de ovinos a bovinos y el riesgo de transmisión de resistencia antihelmíntica. Una revisión. *Vet. Arg. Vol. XXVII - N° 272.*
- Guzmán, M; Fiel C; Steffan, P; Riva, E; Scarcella, S; Luchesi, P. 2011. Genotype characterization of strains of *Haemonchus contortus* susceptible or resistant to benzimidazole treatments in Argentina. 23° International Conference WAAVP.
- International Commission for Trichinellosis. 2004. Evaluation of human cases reported in 2004 (ICT Survey, OIE data), www.med.unipi.it/ict
- Méo Niciura, S; Veríssimo, CJ; Gromboni, JGG; Rocha, MIP; de Mello, SS; Barbosa, CMP; Chiebao, DP; Cardoso, D; Silva, GS; Otsuk, IP; Pereira, JR; Ambrosio, LA; Nardon, RF; Ueno, THE; Molento, MB. 2012. F200Y polymorphism in the β -tubulin gene in field isolates of *Haemonchus contortus* and

- risk factors of sheep flock management practices related to anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 190: 608–612.
- Murrel, KD; Lichtenfels, R; Zarlenga, D; Pozio, E. 2000. The systematics of *Trichinella* with a key to the species. *Vet. Parasitol.* 93, 293-307.
- Riva, E; Steffan, P; Fiel, C. 2007. Trichinellosis: aspectos múltiples de una zoonosis global. En: *Mejoramiento del control de la Trichinellosis. FAO América Latina y el Caribe.* ISBN 878-92-5-305737-5: 94-109.
- Riva, E; Steffan, P; Fiel, C. 2009. Trichinellosis porcina: Manual de Laboratorio. 1ª ed. Tandil: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Área de Parasitología. 23 p. ISBN 978-95-0-658225-8.
- Riva, E; Steffan, P; Fiel, C. 2011. Supervivencia de *Trichinella spiralis* (L1) en tejido muscular de ratones cadavéricos y el rol potencial de larvas de *Dermestes maculatus* (De Geer, 1774) (Coleoptera: Dermestidae) en la transmisión de la enfermedad. *Vet. Arg.* Vol. 28 Nº 274
- Riva, E; Steffan, P; Guzmán, M; Fiel, C. 2012. Persistence of *Trichinella spiralis* muscle larvae in natural decaying mice. *Parasitol Res.* 111 (1): 249-255.
- Ruiz, M.L. y Martínez, M.L. 2007. Trichinellosis: Técnica inmunoenzimática de diagnóstico (ELISA). En *Mejoramiento del control de la trichinellosis. FAO América Latina y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación* (ed.), Roma.
- Steffan, PE y Fiel, CA. 1994. Plan piloto "Control de parásitos gastrointestinales en sistemas intensivos de producción de carne-Cnel. Pringles": 1-49.
- Steffan, PE; Fiel, CA; Saumell, CA; Fusé, LA; Iglesias, LE. 2005. El uso de antihelmínticos en los programas de control y riesgo potencial de resistencia. En: *Resistencia a los antiparasitarios en Argentina.* FAO, 85-92, Roma, Italia.
- Steffan, PE; Fiel, CA; Saumell, CA; Fusé, LA; Iglesias, LE. 2006. El uso de antihelmínticos en los programas de control y riesgo potencial de resistencia. En: *Resistencia a los antiparasitarios en Argentina.* FAO, 85-92, Roma, Italia.
- Steffan, PE; Ferreyra, DA.; Maliandi, F; Fiel, CA; Billaudots, A. 2006. Control estratégico de nematodos gastrointestinales mediante el uso de Levamisole o Ivermectina en la recría de vaquillonas sobre pasturas permanentes. *Rev. Soc. Medicina Veterinaria Argentina*, Vol 87 - Nro 5: 118-124
- Steffan, PE y Fiel, CA. 1994. Efecto en producción y control de nematodos gastrointestinales en bovinos. En: *Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control en Argentina y Uruguay.* Ed: Nari, A; Fiel, C. Editorial Hemisferio Sur, Montevideo (R.O.U): 131-153.
- Steffan, PE; Fusé, LA; Fiel, CA; Maliandi, F; Ferreyra, DA. 1997a. Prueba controlada de eficacia antihelmíntica de la Ivermectina –formulación acuosa- sobre parásitos gastrointestinales de equinos infectados naturalmente. X Seminario Brasileiro de Parasitología Veterinaria y I Seminario de Parasitología Veterinaria dos países do Mercosul. Itapema, Brasil. 5-9 de octubre: H63.
- Steffan, PE; Fiel, CA; Ferreyra, DA. 1997b. Eficacia del ricobendazole Inyectable contra nematodos Trichostrongylideos de bovinos infectados naturalmente. X Seminario Brasileiro de Parasitología Veterinaria y I Seminario de Parasitología Veterinaria dos países do Mercosul. Itapema, Brasil. 5-9 de octubre: H24.
- Suarez, VH. y Cristel, SL. 2006. Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina. *Vet. Parasitol.* 144 (1–2): 111-117.
- Wood, IB; Amaral, NK; Bairden, K; Duncan, JL; Kassai, T; Malone, JB Jr.; Pankavich, JA; Reinecke, RK; Slocombe, O; Taylor, SM; Vercruyse, J. 1995. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). Guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine). *Vet. Parasitol.* 10: 205-264.

DEL LUGAR DE TRABAJO

9. Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva, UNCPBA.

10. A través del TCP ARG FAO/ 3003 el Área de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA estableció el Laboratorio de Trichinellosis con estructura y equipamiento esencial para el diagnóstico y la investigación aplicada en esta zoonosis parasitaria incluyendo: Lectora de ELISA (Biotek), microscopios, lupas binoculares estereoscópica, freezers de –20°C y de –80°C, heladeras, estufas eléctricas, centrifugas, equipos para digestión, balanzas analíticas, baño María, aspirador a diafragma y suministros de laboratorio. Equipo completo de PC, impresora y scanner. Red de Computación con conexión a Internet. La Facultad de Veterinaria posee en sus dependencias cabinas de flujo laminar y un Bioterio con sala aislada para animales infectados /en experimentación y personal capacitado.