



**ATN/RF-18136-RG (RG-T3584) Modelo  
Agroecológico para la Coccidiosis Aviar**

**Producto 4. Dos comunicaciones científicas y  
protocolos de producción**

**Rodriguez Anabel y Mariela Tomazic**



Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por Rodríguez Anabel Elisa<sup>1</sup> y Tomazic Mariela Luján<sup>1,7</sup>

Copyright © 2024 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

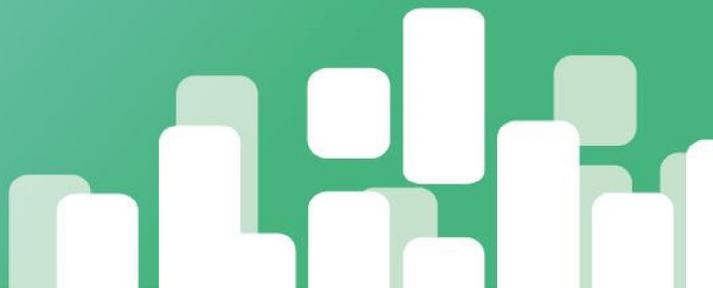
Esta publicación puede solicitarse a:

**FONTAGRO**

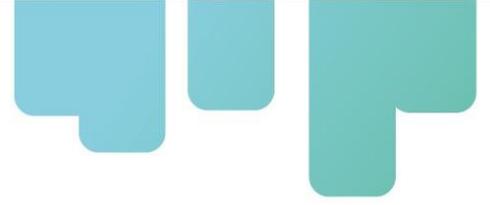
Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org) [www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)



# Tabla de Contenidos



PRODUCTO 4: Dos comunicaciones científicas y protocolos de producción.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
RESUMEN .....	4
TABLA DE PUBLICACIONES .....	5
DESCRIPCIÓN DE LAS PUBLICACIONES .....	5
Comunicación científica 1: Aislamiento de <i>Eimeria tenella</i> a partir de una muestra de campo variando la dosis infectiva. ....	5
Comunicación científica 2: Efecto de la ruptura de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp. en la identificación de especies mediante PCR múltiple. ....	7
Comunicación científica 3: Case of clinical coccidiosis in family poultry farm.....	9
Comunicación científica 4: Epidemiological Characterization of Isolates of <i>Salmonella enterica</i> and Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> from Backyard Production System Animals in the Valparaíso and Metropolitana Regions.....	11
TABLA DE PROTOCOLOS .....	13
DESCRIPCIÓN DE LOS PROTOCOLOS.....	13
Protocolo 1: Biopreparado- producción de microorganismos locales o nativos .....	13
Protocolo 2: Producción de carne aviar en pollos camperos.....	16
FILIACIONES de las y los coautores de las contribuciones.....	18
INSTITUCIONES PARTICIPANTES .....	20



## RESUMEN

Este producto pertenece a la actividad 2.1 “Ensayo experimental de un modelo AE alternativo a los anticoccidiales” del segundo componente “Diseño de la estrategia de intervención”. El resultado esperado es la reducción de la coccidiosis y la consiguiente mejora en los parámetros productivos en alguno de los sistemas agroecológicos alternativos. En esta actividad se realizó un ensayo experimental con 200 pollos camperos, en el que se probaron 3 sistemas de producción con acciones tendientes a mejorar el confort de los animales y en donde se evaluó el efecto de 2 alternativas naturales para mejorar los parámetros productivos. Estos resultados contribuyen al conocimiento científico sobre la coccidiosis aviar. Como producto de la actividad se muestra el protocolo de producción de carne de pollo campero que logró mejorar en un 20 % la conversión alimenticia con respecto al control y el protocolo de la producción agroecológica del bioinsumo aplicado. Cabe destacar que para estos ensayos se acondicionaron las salas experimentales de los boxes de seguridad del INTA Argentina y que todos los ensayos contaron con el aval del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación.

Aquí se presentan tres publicaciones en jornadas científicas, publicadas en una revista de libre acceso InVet, indexada en: SciELO, ReviVec, Latindex, AGRIS (FAO) dónde se muestran los resultados del caso clínico de coccidiosis en una granja de avicultura familiar utilizado para los ensayos experimentales del proyecto; del aislamiento y purificación de la especie más patogénica del mismo caso; y de la puesta a punto de métodos de biología molecular para la identificación de especies de *Eimeria* spp.. Asimismo, se presenta una publicación científica en Animals, una revista internacional de acceso libre y alto impacto (Q1) indexada a PubMed, que muestra el diagnóstico bacteriológico realizado en los sistemas de producción de traspatio ubicados en las regiones de Metropolitana y Valparaíso, Chile en donde se utilizó parte del muestreo realizado en el componente 1. Todas las publicaciones muestran que fueron financiadas en parte por este proyecto. Cumpliendo con el producto 4 y adicionando artículos que aumentan la difusión de conocimientos, se muestran en detalle cada publicación y protocolo.



## TABLA DE PUBLICACIONES

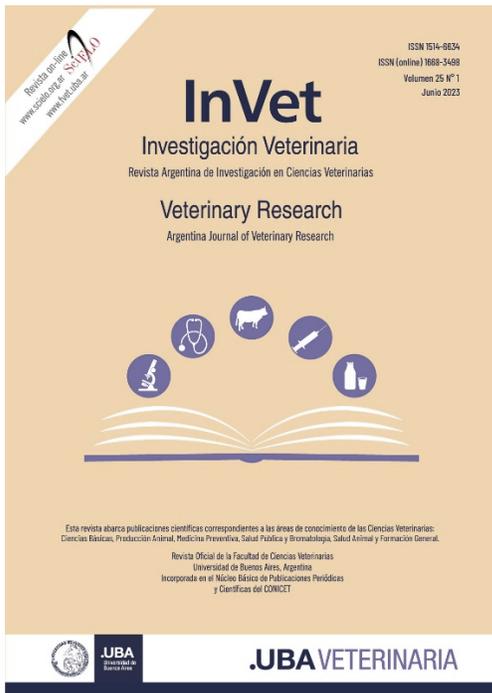
No	Título	Autor	Coautores	Año de Publicación	Revista	Proceso de publicación	Tipo de Acceso	Link
1	Aislamiento de <i>Eimeria tenella</i> a partir de una muestra de campo	Britez JD	Pisón Martínez ML, Barbano P, Balbiani F, Delgado F, Tomazic ML, Schapiro J, Morici G, Rodríguez AE	2023	InVet, UBA	PUBLICADO	Revista de libre acceso	<a href="http://invet.fvet.uba.ar/ojs/index.php/revista1/article/view/38/3">http://invet.fvet.uba.ar/ojs/index.php/revista1/article/view/38/3</a>
2	Efecto de la ruptura de ooquistes de <i>Eimeria</i> spp. en la identificación de especies mediante PCR múltiple	Pisón Martínez ML,	Britez JD, Rodríguez AE, Tomazic ML	2023	InVet, UBA	PUBLICADO		<a href="http://invet.fvet.uba.ar/ojs/index.php/revista1/article/view/38/3">http://invet.fvet.uba.ar/ojs/index.php/revista1/article/view/38/3</a>
3	Case of clinical coccidiosis in family poultry farm	BRITEZ, JD1	Pisón Martínez, ML, Barbano, P; Tomazic, ML; Rodríguez, AE	2023	InVet, UBA	PUBLICADO	Revista de libre acceso	<a href="http://invet.fvet.uba.ar/ojs/index.php/revista1/article/view/40/5">http://invet.fvet.uba.ar/ojs/index.php/revista1/article/view/40/5</a>
4	Epidemiological Characterization of Isolates of <i>Salmonella enterica</i> and Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> from Backyard Production System Animals in the Valparaíso and Metropolitana Regions	Constanza Urzúa-Encina	Bastían Fernández-Sanhuez, Erika Pavéz-Muñoz, Galia Ramírez-Toloza, Mariela L. Tomazic, Anabel E. Rodríguez and Raúl Alegría-Morán	2023	Animals, MDPI	PUBLICADO	Revista de libre acceso	<a href="https://www.mdpi.com/2076-2615/13/15/2444">https://www.mdpi.com/2076-2615/13/15/2444</a>

## DESCRIPCIÓN DE LAS PUBLICACIONES

InVet (Investigación Veterinaria) es una publicación periódica editada, desde 1999, por la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires, Argentina. Publica artículos y comunicaciones cortas originales y revisiones orientados a la difusión de las investigaciones básicas, aplicadas y clínicas en el área de la medicina veterinaria en todos sus aspectos. Revisada por pares. ISSN (soporte papel): 1514-6634 ISSN (on line): 1668-3498. Las siguientes tres comunicaciones, publicadas en esta revista Vol 25, Número 1 (junio 2023) y 2 (diciembre 2023) fueron financiadas en parte con fondos de FONTAGRO desde este proyecto, ATN/RF-18136-RG.

### Comunicación científica 1: Aislamiento de *Eimeria tenella* a partir de una muestra de campo variando la dosis infectiva.

Britez JD, Pisón Martínez ML, Barbano P, Balbiani F, Delgado F, Tomazic ML, Schapiro J, Morici G, Rodríguez A E. InVet, Vol. 25 Núm. 1 (2023): (Junio), pág. 40.  
<http://invet.fvet.uba.ar/ojs/index.php/revista1/article/view/38/3>



## Aislamiento de *Eimeria tenella* a partir de una muestra de campo variando la dosis infectiva

BRITZÉ JD<sup>1</sup>, PISÓN MARTÍNEZ ML<sup>1</sup>, BARBANO P<sup>1</sup>, BALBIANI P<sup>1</sup>, DELGADO P<sup>1</sup>, TOMAZIC ML<sup>1</sup>, SCHAPIRO J<sup>2</sup>, MORICI G<sup>3</sup>, RODRIGUEZ AF<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), INTA-CONICET, Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Parasitología, Estación Experimental Agropecuaria, Área Metropolitana de Buenos Aires (EEA-AMBA); <sup>2</sup>Instituto de Patobiología, IPVET, INTA-CONICET, Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Bacteriología;

La coccidiosis es producida por parásitos del género *Eimeria*. Siete especies infectan pollos y gallinas, generalmente cada una afecta un sitio intestinal específico, pero ante una severa infección pueden infectar otras regiones intestinales. *E. tenella* (Et) es una de las especies más patógenas y *E. mitis* (Emi) es subclínica; sin embargo, está demostrado que su presencia puede potenciar a otras especies como Et. El objetivo de este trabajo fue aislar Et a partir de una muestra de campo. Se recibieron 2 muestras de intestinos y 2 de materia fecal (MF) de aves parrilleras. A partir de ooquistes esporulados (esp) de MF se realizó un ensayo in vivo (P1). Se inocularon 4 aves con 50.000 ooquistes esp/ave vía oral. Luego, se realizó un segundo ensayo in vivo (P2), se inocularon 4 aves con 6.000 ooquistes esp/ave vía oral aislados de los ciegos de P1. Ambos ensayos fueron realizados con aves hembras línea Cobb de un día de vida y se sacrificaron a los 7 días post-inoculación (dpi) por dislocación cervical. Se realizaron recuentos de ooquistes por gramo de MF (OPG), raspajes seriados de la mucosa intestinal (RSMI), valoración de lesiones macroscópicas y PCR múltiple (PCRm). El diagnóstico de las muestras de MF recibidas arrojó un valor de OPG de 3.390, mientras que en los ciegos se observaron petequias, pared engrosada y escaso contenido, ajustándose a un

grado 2. El intestino anterior y medio presentaba engrosamiento y contenido anormal. Los resultados de PCRm revelaron *E. acervullina*, *E. maxima*, Et y Emi. Luego de P1, el OPG más elevado se obtuvo al quinto dpi: 74.123. Las lesiones cecales eran de grado 3 ya que se observó contenido hemorrágico, engrosamiento de la pared y moldes cecales. En el intestino medio se observó leve engrosamiento y contenido cremoso. La PCRm de los ciegos detectó Et y Emi, y para la MF colectada 5, 6 y 7 dpi expuso diferencias cualitativas en la excreción de especies. Respecto a P2, los ciegos presentaban lesiones grado 2 y en intestino medio se observaron lesiones leves. Microscópicamente se evidenciaron formas paraxistarias y ooquistes en todos los ciegos evaluados. Los resultados de PCRm detectaron sólo Et en los ciegos de P2, pero en MF se detectaron Et y Emi. Finalizando, se aisló Et a partir de una muestra de 4 especies luego de dos propagaciones y variando la dosis infectiva, observándose una disminución en la patogenicidad de ambas especies. También, se demostró que, ante una severa infección, las especies pierden especificidad. Los resultados de PCRm son los esperados. Además, se destaca su valor ya que, solamente con las demás técnicas mencionadas no se pudo observar la coinfeción de Et y Emi en los ciegos.

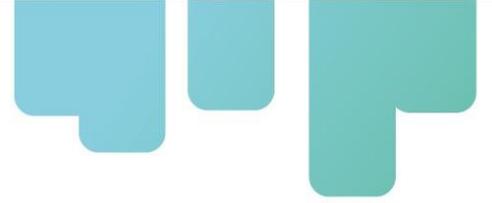
Financiamiento: FONTAGRO, ATN/RF-18136/RG, PICT 2018-00834, INTA PEI078

40

InVet Vol. 25 Nº1, 2023

**Resumen:** La coccidiosis es producida por parásitos del género *Eimeria*. Siete especies infectan pollos y gallinas, generalmente cada una afecta un sitio intestinal específico, pero ante una severa infección pueden infectar otras regiones intestinales. *E. tenella* (Et) es una de las especies más patógenas y *E. mitis* (Emi) es subclínica; sin embargo, está demostrado que su presencia puede potenciar a otras especies como Et. El objetivo de este trabajo fue aislar Et a partir de una muestra de campo. Se recibieron 2 muestras de intestinos y 2 de materia fecal (MF) de aves parrilleras. A partir de ooquistes esporulados (esp) de MF se realizó un ensayo in vivo (P1). Se inocularon 4 aves con 50.000 ooquistes esp/ave vía oral. Luego, se realizó un segundo ensayo in vivo (P2), se inocularon 4 aves con 6.000 ooquistes esp/ave vía oral aislados de los ciegos de P1. Ambos ensayos fueron realizados con aves hembras línea Cobb de un día de vida y se sacrificaron a los 7 días post-inoculación (dpi) por dislocación cervical. Se realizaron recuentos de ooquistes por gramo de MF (OPG), raspajes seriados de la mucosa intestinal (RSMI), valoración de lesiones macroscópicas y PCR múltiple (PCRm). El diagnóstico de las muestras de MF recibidas arrojó un valor de OPG de 3.390, mientras que en los ciegos se observaron petequias, pared engrosada y escaso contenido, ajustándose a un grado 2. El intestino anterior y medio presentaba engrosamiento y contenido anormal. Los resultados de PCRm revelaron *E. acervullina*, *E. maxima*, Et y Emi. Luego de P1, el OPG más elevado se obtuvo al quinto dpi: 74.123. Las lesiones cecales eran de grado 3 ya que se observó contenido hemorrágico, engrosamiento de la pared y moldes cecales. En el intestino medio se observó leve engrosamiento y contenido cremoso. La PCRm de los ciegos detectó Et y Emi, y para la MF colectada 5, 6 y 7 dpi expuso diferencias cualitativas en la excreción de especies. Respecto a P2, los ciegos presentaban lesiones grado 2 y en intestino medio se





hemorrágica y una de las más patógenas. Si bien los métodos de diagnóstico tradicionales son muy utilizados y son de vital importancia no permiten diferenciar de forma certera y específica las distintas especies. A partir de vacunas vivas comerciales con una composición de especies conocida, se buscó evaluar el efecto que posee la ruptura de ooquistes en la especificidad y sensibilidad de la detección molecular con el fin de optimizar la técnica. Las vacunas empleadas fueron V1 con una composición de *E. acervullina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. tenella* y *E. mitis*, V2 con *E. acervullina*, *E. maxima* y *E. tenella* y V3 que posee las 7 especies. A las mismas se les realizaron un primer lavado con agua deionizada estéril y se incubaron con una solución de hipoclorito de sodio 10 minutos a 4°C. Cada vacuna fue sometida a distintas potencias de ruptura utilizando bolillas de vidrio y el disruptor celular Genie: i. “suave”: 5 ciclos de un minuto a 1.000 rpm y ii. “fuerte”: 6 ciclos de dos minutos a 2.700 rpm. Entre cada uno de los ciclos se colocaron en baño de hielo dos minutos. Posteriormente, se realizó la extracción de ADN utilizando el kit de extracción Wizard (Biorad) y se midió la concentración y calidad del ADN por espectrofotometría (NanoDrop) y electroforesis en geles de agarosa. Luego, se procedió a la identificación de las distintas especies a través de la técnica PCR múltiple donde se evidencian *E. acervullina*, *E. tenella* y *E. maxima* MTX 1 y *E. brunetti*, *E. mitis*, *E. preacox* y *E. necatrix* en la MTX 2. Para el caso de V1 con ruptura suave no se logra identificar ninguna especie mientras que para la ruptura fuerte, se detectan cualitativamente las cinco especies. Lo mismo ocurre con la ruptura fuerte de V2. En ambos patrones de ruptura se observó degradación del ADN pero no afectó la sensibilidad ni especificidad de la PCR-m. Para evaluar sensibilidad, se realizaron diluciones seriadas del ADN extraído de V2 tanto con la ruptura suave y fuerte. En ambos casos, a medida que el ADN se encuentra más diluido, la sensibilidad de detección de la PCR-m disminuye. Se seleccionó el método de ruptura fuerte y se evaluó la sensibilidad de la vacuna V3, que contiene las 7 especies. En conclusión, implementando ciclos de ruptura fuerte permite una mejor ruptura y mayor extracción de ADN de buena calidad, lo que resulta en un aumento de la sensibilidad en la PCR-m para detectar las distintas especies. Esto es especialmente importante en muestras con una baja cantidad de ooquistes. Con respecto a la especificidad, no encontramos variaciones entre ambos ciclos de ruptura y la detección de especies esperadas.

**XII Jornadas de Jóvenes Investigadores**

**Efecto de la ruptura de ooquistes de *Eimeria* spp. en la identificación de especies mediante PCR múltiple**

Pisón Martínez María Luz<sup>1</sup>, Jesica D. Britéz<sup>1,2</sup>, Anabel E. Rodríguez<sup>3</sup>, Mariela L. Tomazic<sup>1,4</sup>;

<sup>1</sup> Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), INTA-CONICET; <sup>2</sup> Cátedra de Parasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires (UBA); <sup>3</sup> Instituto de Patobiología, IPVET, INTA-CONICET; <sup>4</sup> Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

**Introducción**  
La coccidiosis aviar es una parasitosis intestinal causada por especies del género *Eimeria*. Actualmente se encuentran identificadas siete especies en pollos y gallinas domésticas que parasitan distintos sitios del intestino. Las más frecuentes son *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. tenella*. Los métodos de diagnóstico tradicionales son muy utilizados y son de vital importancia pero no permiten diferenciar de forma certera y específica las distintas especies. Por lo tanto, utilizando vacunas comerciales y aislamientos propios que contenían distintas combinaciones de especies, se evaluó el efecto que posee la ruptura de ooquistes en la especificidad y sensibilidad de la detección molecular (PCR múltiple) con el fin de optimizar la técnica.

**Materiales y métodos**

Tabla 1. ADN de vacunas vivas comerciales y aislamientos propios usados en el trabajo.

	<i>E. acervulina</i> (Ea)	<i>E. tenella</i> (Et)	<i>E. maxima</i> (Emx)	<i>E. brunetti</i> (Eb)	<i>E. mits</i> (Em)	<i>E. praecox</i> (Ep)	<i>E. necatrix</i> (En)	Total sp.
V1	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	5
V2	✓	✓	✓	x	x	x	x	3
V3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	7
V4	✓	✓	✓	✓	x	x	✓	5
ADN 1	x	x	x	x	x	x	x	1
ADN 2	✓	x	x	x	✓	x	x	2
ADN 3	✓	x	✓	x	x	x	x	2

1. Limpieza: Lavados con agua destilada e incubación con hipoclorito de sodio a 4°C por 10'.  
2. Ruptura: Bolas de vidrio y disruptor: -Suave: S: 5 ciclos, 1', 1000 rpm -Fuerte: F: 4 ciclos, 2', 2700 rpm Fii: 6 ciclos, 2', 2700 rpm.  
3. Extracción de ADN: Kit comercial.  
4. Medición de ADN: En Nanodrop se mide la concentración y calidad del ADN.  
5. PCR múltiple: Se hacen dos PCR múltiples (MTX1 y MTX2) con primers específicos para las siete especies y se visualiza en geles de agarosa con bromuro de etidio.

**Resultados**

Comparación de rupturas y detección de especies:

A Suave MTX1 Fuerte MTX2  
B Suave MTX2 Fuerte MTX2

Fig 1. Evaluación de la ruptura suave y fuerte de la vacuna 1 (V1) y 2 (V2) para la MTX 1 (A) y para la MTX 2 (B). Mk: marker múltiple.

Curva de sensibilidad con diluciones seriadas del ADN de la V2 a partir de la ruptura suave y fuerte utilizando una ADN polimerasa 1:

A Suave B Fuerte

Fig 2. Límite de detección en la dilución 1/10 para la ruptura suave (A) y en la dilución 1/100 para la ruptura fuerte (B). SD: sin diluir.

Tabla 2. Especies de *Eimeria* esperadas y obtenidas en los distintos tipos de ruptura.

	MTX 1							MTX 2							Total sp.
	Ea	Et	Emx	Eb	Em	Ep	En	Ea	Et	Emx	Eb	Em	Ep	En	
V1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	x	x	x	x	x	5	
S	x	x	x	x	x	x	x	0	0	0	0	0	0	0	
F1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	x	x	x	x	x	2	
Fii	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	x	x	x	x	x	5	
V2	✓	✓	✓	x	x	x	x	3	3	3	3	3	3	3	
S	✓	✓	✓	✓	✓	✓	x	x	x	x	x	x	x	3*	
Fii	✓	✓	✓	x	x	x	x	3	3	3	3	3	3	3	
V3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	7	7	7	7	7	7	7	
Fii	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	7	7	7	7	7	7	7	

Elección de ruptura fuerte para la V3:

A MTX1 B MTX2

Fig 3. Evaluación de la ruptura fuerte para la MTX 1 (A) y para la MTX 2 (B). Se visualizan las 7 especies esperadas.

Curva sensibilidad de la V3 con una ADN polimerasa más eficiente (enzima 2):

A B

Fig 4. Límite de detección en la dilución 1/32 para la MTX 1 (A) y en la dilución 1/16 para la MTX 2 (B).

Integridad del ADN de V2 en ambas rupturas:

Distinta masa de ADN Misma masa de ADN

Fig 5. Se observa el ADN genómico correspondiente a la vacuna 2 con ambas rupturas (flechas) y la degradación del mismo (recuadro), sembrando distinta e igual masa de ADN.

Ensayo de especificidad con ADN de distinta composición de especies:

ADN 1 ADN 2 ADN 3 V2 V4 MK1 MTX1  
ADN 1 ADN 2 ADN 3 V2 V4 MK2 MTX2

Fig 6. Composición de especies de los distintos ADNs evaluados. ADN 1 presenta *E. tenella*; ADN 2 *E. acervulina* y *E. mits*; ADN 3 *E. acervulina* y *E. maxima*; V2 *E. acervulina*, *E. tenella* y *E. maxima*; V4 *E. acervulina*, *E. tenella*, *E. maxima*, *E. brunetti* y *E. necatrix*.

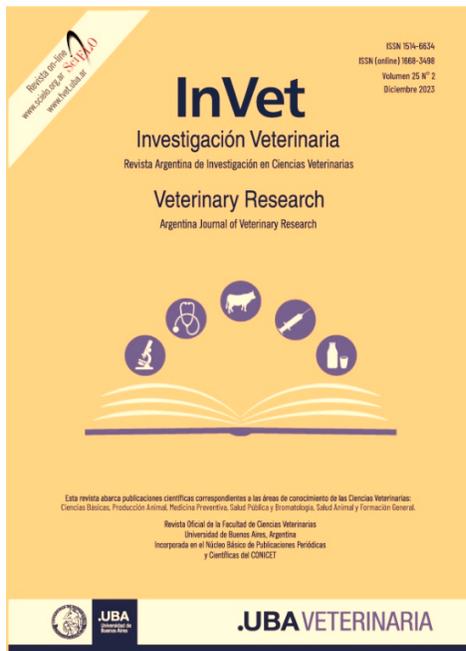
**Conclusiones:**

- Tanto con la ruptura suave como con la fuerte se observó degradación de ADN
- Implementando una ruptura fuerte de los ooquistes, se obtiene una mayor extracción de ADN (medida en concentración) y de calidad adecuada para la amplificación de las siete especies
- Se incrementa casi 4 veces (3,75) la sensibilidad de la PCRm para detectar las distintas especies con la ruptura fuerte comparada con la suave
- Especificidad: utilizando como templado ADN de especies en diferentes combinaciones se detectaron las especies esperadas
- Estos resultados son claves para la detección de especies cuando se parte de muestras con baja cantidad de ooquistes de *Eimeria* sp.

**Se logró mejorar la sensibilidad de la detección molecular de *Eimeria* sp. aumentando la potencia de la ruptura de los ooquistes sin comprometer la especificidad**

### Comunicación científica 3: Case of clinical coccidiosis in family poultry farm.

Britéz, JD; Pisón Martínez, ML; Barbano, P; Tomazic, ML; Rodríguez, A E. InVet Vol. 25 Núm. 2 (diciembre, 2023), pag 52., II JORNADAS INTERNACIONALES INCLIVET Instituto de Investigaciones Clínicas Veterinarias FCV UBA Indexada en: SciELO



## Case of clinical coccidiosis in family poultry farm

BRITZ, JD<sup>1</sup>; PISÓN MARTÍNEZ, ML<sup>1</sup>; BARBANO, P<sup>2</sup>; TOMAZIC, ML<sup>3</sup>; RODRÍGUEZ, AE<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET), INTA-CONICET; <sup>2</sup>Instituto de Patobiología (IP), IPVET, INTA-CONICET; Centro de Investigaciones de Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVA), Agencia de Extensión Rural Luján-Estación Experimental Agropecuaria, Área Metropolitana de Buenos Aires; INTA, Universidad de Buenos Aires; Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Parasitología, Buenos Aires, Argentina; <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires; Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Bacteriología, Buenos Aires, Argentina. E-mail: britz.josic@inta.gov.ar

Avian coccidiosis is caused by parasites of the genus *Eimeria*. Seven species that affect hens and chickens are recognized: each one affects a specific intestinal region, and three of them cause clinical disease. The objective of this work is to describe a case of avian coccidiosis in a family poultry farm in the perurban of Buenos Aires and to diagnose the disease (traditional and molecular diagnosis) given the potential outbreaks. A family poultry farm with 300 broilers of 2-week-old contacted INTA Luján rural extension agency to request assistance. The veterinarian registered: flies on the farm, the farmers do not apply vaccines and use sulfonamides, the density of the animals was 7 animals/m<sup>2</sup>, broilers with bloody diarrhea, decay uneven size, apathy, and two recent deaths. Thirteen intestines were obtained for coccidiosis diagnosis, including macroscopic and microscopic evaluation and fecal samples (FS) were collected. Macroscopically, petechiae and slight wall thickening were observed in the small intestine, corresponding to grade 2 according to Johnson & Reid lesion score, specific for each *Eimeria* species, and the caecum had bloody content and wall thickening, adjusting to grade 3. Microscopically, parasitic stages were observed in the small intestine, and oocysts were additionally observed in the caeca. Oocysts were obtained using the flotation technique with saline solution from the FS and counted in the McMaster chamber. The average was 3,390 oocysts per

gram (OPG) with a standard deviation of 424.26. Then, *Eimeria* spp. oocysts were isolated for DNA extraction and subsequent multiplex PCR for their typing. Four species were detected: *Eimeria tenella* (clinical species), *E. acervulina*, *E. maxima*, and *E. mitis* (subclinical species). Semicuantification: *Eimeria tenella* (30%), *E. acervulina* (25%), *E. maxima* (10%) and *E. mitis* (25%). The diagnosis of coccidiosis was informed to farmers. In addition, the implementation of more rigorous hygiene and safety measures was advised. The observed bloody diarrhea is in agreement with the result of the molecular diagnosis that showed the presence of *E. tenella*, one of the most pathogenic clinical species. The OPG obtained here is higher than the median OPG of 493.5 and 2,255.0 obtained from 55 positive samples of periurban farms and from samples of chicken meat production, respectively. The current case represents an important finding, given the very few clinical cases reported of coccidiosis in family poultry farming and its circulating species. A good diagnosis could avoid possible outbreaks and the consequent economic losses produced by the disease, especially in the breeding centers, in addition by adopting control measures, the potential dissemination risk can be avoided considering the presence of mechanical vectors.

FONTAGRO ATN-RF-18136 RG: INTA-PD-106-1114-PE-L05-1078

Resumen: La coccidiosis aviar es causada por parásitos del género *Eimeria*. Se reconocen siete especies que afectan a gallinas y pollos; cada una afecta a una región intestinal específica, y tres de ellas causan enfermedad clínica. El objetivo de este trabajo es describir un caso de coccidiosis aviar en una granja avícola familiar en la periferia de Buenos Aires y diagnosticar la enfermedad (diagnóstico tradicional y molecular) dadas las posibles apariciones. Una granja avícola familiar con 300 pollos de engorde de 2 semanas de edad contactó a la agencia de extensión rural INTA Luján para solicitar asistencia. El veterinario registró: moscas en la granja, los granjeros no aplican vacunas y usan sulfonamidas, la densidad de los animales era de 7 animales/m<sup>2</sup>, los pollos de engorde con diarrea sanguinolenta, decaimiento, tamaño desigual, apatía y dos muertes recientes. Luego, se obtuvieron dos intestinos para el diagnóstico de coccidiosis, incluyendo evaluación macroscópica y microscópica y se recolectaron muestras fecales (MF). Macroscópicamente, se observaron petequias y ligero engrosamiento de la pared en el intestino delgado, correspondiente al grado 2 según la escala de lesiones de Johnson & Reid, específica para cada especie de *Eimeria*, y el ciego tenía contenido sanguinolento y engrosamiento de la pared, ajustándose al grado 3. Microscópicamente, se observaron estadios parasitarios en el intestino delgado, y también se observaron ooquistes en el ciego. Los ooquistes se obtuvieron utilizando la técnica de flotación con solución salina de las MF y se contaron en la cámara de McMaster. El promedio fue de 3,390 ooquistes por gramo (OPG) con una desviación estándar de 424.26. Luego, se aislaron ooquistes de *Eimeria* spp. para la extracción de ADN y posterior PCR múltiple para su tipificación. Se detectaron cuatro especies: *Eimeria tenella* (especie clínica), *E. acervulina*, *E. maxima* y *E. mitis* (especies subclínicas). Semicuantificación: *Eimeria tenella* (30%), *E. acervulina* (25%), *E. maxima* (10%) y *E. mitis* (25%). Se informó a los granjeros del diagnóstico de coccidiosis. Además, se recomendó la implementación de medidas de higiene y seguridad más rigurosas. La observación de diarrea sanguinolenta está de acuerdo con el resultado del diagnóstico molecular que mostró la presencia de *E. tenella*, una de las especies clínicas más patógenas. El OPG obtenido aquí es más alto que el OPG medio de 493.5 y 2,255.0 obtenido a partir de 55 muestras positivas de granjas periurbanas y de muestras de producción de carne de pollo, respectivamente. El caso actual representa un hallazgo importante, dadas los muy pocos casos clínicos reportados de coccidiosis en la avicultura familiar y sus especies circulantes. Un buen diagnóstico podría evitar posibles brotes y las consiguientes pérdidas económicas producidas por la



enfermedad, especialmente en los centros de cría; además, adoptando medidas de control, se puede evitar el riesgo potencial de diseminación considerando la presencia de vectores mecánicos.

#### Comunicación científica 4: Epidemiological Characterization of Isolates of Salmonella enterica and Shiga Toxin-Producing Escherichia coli from Backyard Production System Animals in the Valparaíso and Metropolitana Regions

Constanza Urzúa-Encina, Bastián Fernández-Sanhueza, Erika Pavez-Muñoz, Galia Ramírez-Toloza, Mariela Lujan-Tomazic, Anabel Elisa Rodríguez and Raúl Alegría-Morán 2023, *Animals*, MDPI. <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/15/2444>

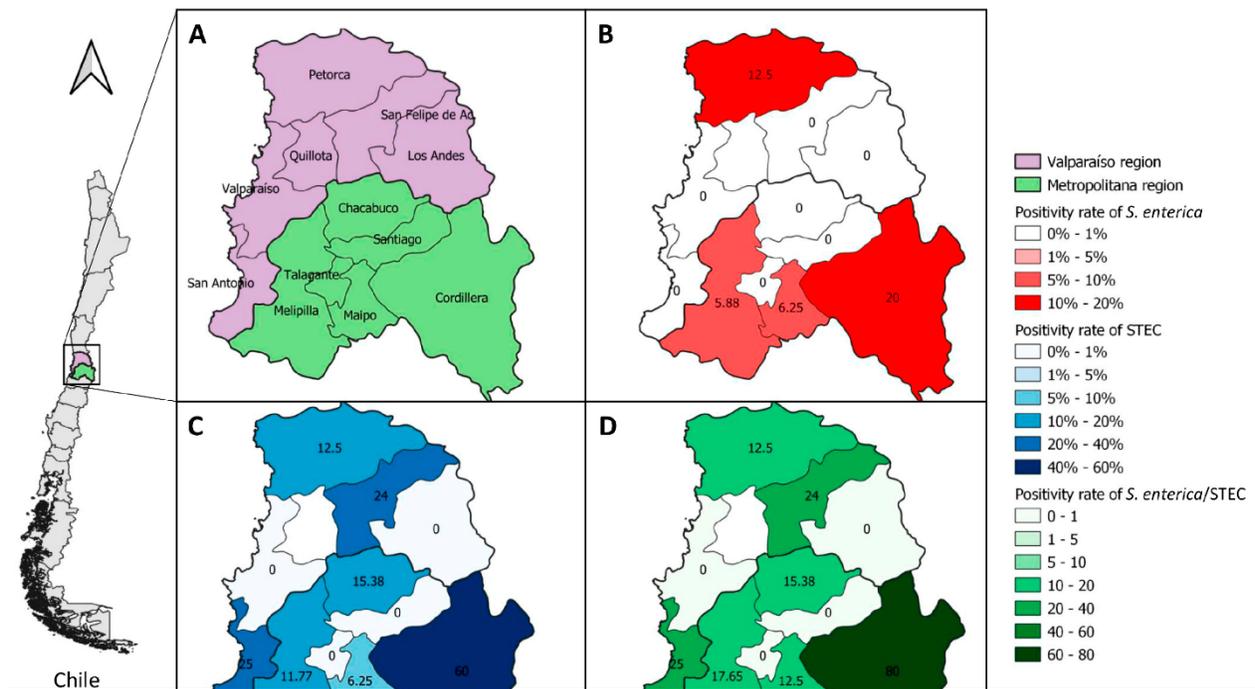
*Animals* (ISSN: 2076-2615) es una revista científica internacional, revisada por pares y de acceso abierto, dedicada íntegramente a los animales, incluyendo la zoología y las ciencias veterinarias, publicada por Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), Suiza. La Asociación Mundial de Zoológicos y Acuarios (WAZA), el Colegio Europeo de Bienestar Animal y Medicina del Comportamiento (ECAWBM) y la Federación de Asociaciones Europeas de Ciencia de Animales de Laboratorio (FELASA) están afiliados a *Animals*. La revista posee en el área temática de Ciencias Veterinarias un H Index de 60 con un SJR de 0,68 en 2022 por lo que le pertenece al cuartil 1, Impact Factor: 3.0 (2022); 5-Year Impact Factor: 3.2 (2022) siendo este cuartil el de mayor impacto. La publicación está indexada a PubMed, comprende 15 páginas y posee una figura original que muestra las regiones en dónde se realizó el estudio transversal que comprendió sistemas de producción de traspatio ubicados en las regiones de Metropolitana y Valparaíso, Chile. Estas regiones están comprendidas dentro del proyecto y de los muestreos realizados en las mismas se realizó tanto el diagnóstico bacteriológico mostrado en este trabajo, como el parasitológico mostrado en el producto 1. Este artículo fue financiado en parte con fondos de FONTAGRO proyecto ATN/RF-18136-RG.

Article

## Epidemiological Characterization of Isolates of *Salmonella enterica* and Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* from Backyard Production System Animals in the Valparaíso and Metropolitana Regions

Constanza Urzúa-Encina <sup>1,2</sup>, Bastián Fernández-Sanhueza <sup>1,2,3</sup>, Erika Pavez-Muñoz <sup>1,2</sup>,  
Galia Ramírez-Tolosa <sup>1,2</sup>, Mariela Lujan-Tomazic <sup>4,5</sup>, Anabel Elisa Rodríguez <sup>4</sup> and Raúl Alegría-Morán <sup>3,\*</sup>

Resumen: Los sistemas de producción de traspatio (BPS por sus siglas en inglés) están distribuidos en todo el mundo, criando animales reconocidos como reservorios de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* productores de toxina Shiga (STEC), ambos patógenos zoonóticos. El objetivo de este estudio fue caracterizar aislamientos de ambos patógenos obtenidos de animales criados en BPS de dos regiones centrales de Chile. La presencia de patógenos se determinó mediante cultivo bacteriano y PCR confirmatoria para cada BPS muestreado, calculando tasas de positividad. Se utilizó regresión logística multivariada para determinar los factores de riesgo. Además, se determinó la resistencia antimicrobiana fenotípica. Se determinó una tasa de positividad del 2.88% para *S. enterica* y del 14.39% para STEC para la región de estudio completa (regiones de Valparaíso y Metropolitana). El análisis de factores de riesgo sugiere que la presencia de rumiantes (OR = 1.03; IC del 95% = 1.002–1.075) aumenta el riesgo de BPS positivos para STEC, y la presencia de rumiantes (OR = 1.05; IC del 95% = 1.002–1.075) y que los manipuladores de animales sean exclusivamente mujeres (OR = 3.54; IC del 95% = 1.029–12.193) aumentan el riesgo de positividad para *S. enterica*/STEC. El ochenta por ciento de los aislamientos de *S. enterica* fueron resistentes a múltiples fármacos, y todos los STEC fueron resistentes a la cefalexina. Este estudio evidencia la circulación de cepas bacterianas zoonóticas multirresistentes en animales mantenidos en BPS y la presencia de factores que modifican el riesgo de positividad de BPS para ambos patógenos.



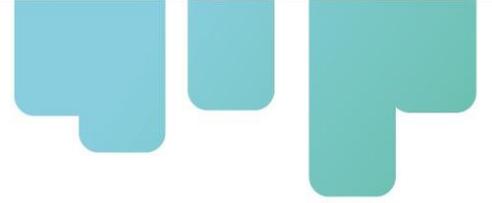
## TABLA DE PROTOCOLOS

No	Título	Autores/as	Año	Proceso de publicación
1	Propagación de microorganismos eficientes	Cesar Gramaglia	2023	PUBLICADO
2	Producción de carne aviar en pollos camperos	Barbano Pablo, Berardo Cecilia, Canet Zulma, Tomazic Mariela Rodriguez Anabel	2023	NO PUBLICADO

## DESCRIPCIÓN DE LOS PROTOCOLOS

Protocolo 1: Biopreparado- producción de microorganismos locales o nativos

[https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/12509/INTA\\_CRCordoba\\_EEAManfredi\\_Gramaglia\\_C\\_Suplementacion\\_animal\\_con\\_un.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/12509/INTA_CRCordoba_EEAManfredi_Gramaglia_C_Suplementacion_animal_con_un.pdf?sequence=1&isAllowed=y)



Para la producción de los microorganismos locales o nativos, se necesitan los siguientes ingredientes y materiales:

- 2 bolsas de hojarasca o mantillo de bosque nativo (ecosistema natural) o material verde (pasto fresco recién cortado, gramíneas o pastura de alfalfa)
- 4 bolsas de afrechillo de cereales o granos de cereales molidos (maíz, trigo, arroz)
- 10 kg de melaza o azúcar común o miel
- 1 tambor plástico de 200 litros de capacidad con tapa y suncho metálico
- 1 balde plástico de 20 litros de capacidad
- 1 pisón de madera (de 15 cm de diámetro y 1 m de largo, tipo rollizo o poste)
- 1 lona plástica (tipo silo bolsa) de 3 m x 3 m

#### Procedimiento para su elaboración:

Sobre la lona plástica se coloca el mantillo de bosque nativo. Se separan los restos vegetales verdes y los materiales secos de mayor tamaño (palos, piedras). Luego, se agrega el afrechillo o granos de cereales (trigo, maíz, arroz). En un balde plástico de 20 litros se colocan 10 litros de agua y se disuelve la melaza o azúcar común.

Posteriormente, con la ayuda de una pala ancha se mezclan los ingredientes y, en forma simultánea, se va agregando la solución líquida enriquecida con melaza o azúcar común.

Se va mezclando para lograr un material uniforme y se realiza la prueba del puño para determinar el contenido de humedad óptimo. Para ello, se toma una muestra del material que quede en la palma de la mano. Se ejerce una leve presión y se debería comprobar que no se produce una liberación de agua entre los dedos y, además, al abrir la mano debería quedar formado un bollo de los materiales, sin llegar a desintegrarse. Esta prueba nos estaría indicando que se ha logrado la humedad apropiada (aproximadamente un 30 % de humedad).

Una vez alcanzado el contenido de humedad adecuada, se incorpora el material en un tambor plástico en forma secuencial y en capas delgadas. De esta manera, se agregan algunas paladas del material obtenido y se va compactando con la ayuda del pisón de madera, de tal forma, que se va eliminando las cámaras de aire que se generan en el interior del recipiente plástico. Se continúa de esta manera hasta introducir el 100 % del material elaborado. Se procede a colocar la tapa plástica con el suncho metálico y se lo deja en un lugar agradable (ambiente templado), bajo una sombra natural, en la galería de una vivienda, para que se inicie el proceso de la fermentación anaeróbica.

Transcurrido unos 30 días, el producto estaría en condiciones de comenzar a utilizarse de diferentes maneras.



1

Recolección del mantillo del monte nativo



2

Agregado de semilla de trigo



3

Incorporación del agua con la melaza



4

Mezclado manual de los ingredientes



5

Agregado del bioinsumo al tambor



6

Compactado del material en el tambor



7

Capa de bioinsumo en el interior del tambor



8

Cierre hermético con la tapa plástica y el suncho

### Formas de conservación:

Este material rico en microorganismos vivos (similar a un silo) es conservado en el mismo recipiente plástico, herméticamente sellado, para evitar el ingreso de aire y agua y, de esta manera, reducir las posibilidades de que se produzcan procesos que alteren la calidad del biopreparado, por ejemplo, una putrefacción. Una manera práctica para determinar la calidad del producto final es utilizar nuestros órganos sensoriales. Pasado el período de tiempo mínimo de fermentación anaeróbica, se retira la tapa del tambor y se debería percibir un aroma agradable como resultado de una fermentación ácida, olor a



silo, a una conserva de verduras en vinagre. En la parte superior, se podría formar una capa de hongos de colores claros (blancos, amarillos).

Por el contrario, si abrimos el tambor y sale un olor desagradable, huele a huevo podrido o desagüe de cañería y, además, la parte superficial se encuentra cubierta por una capa de hongos de colores oscuros (negra, marrón, gris), son indicadores de que la calidad del producto final es mala y se debería evitar su utilización para la producción animal y vegetal. En estos casos, es conveniente elaborar nuevamente el biopreparado y revisar algunos aspectos importantes relacionados con la calidad de los ingredientes utilizados y el procedimiento implementado, tales como un correcto mezclado y su contenido de humedad.

## Protocolo 2: Producción de carne aviar en pollos camperos

Infraestructura: Lugar cerrado de techo alto, con buen drenaje, acceso y ventilación; servicio de agua potable y electricidad. Iluminación natural y artificial.

### Materiales:

- Corrales redondos de chapa de 50 cm de altura y con diámetro regulable
- Campanas regulables en altura con lámparas de calor (250 w y 125w)
- Bebederos plásticos de 5 litros, regulables en altura
- Comederos tipo lineales
- Comederos tipo tolva de 3 kg, regulable en altura
- Viruta de madera (blanca y blanda, no curada)
- Fardo
- Elementos de pica: Maderas y Piedras
- Elementos de leva: Canastos o perchas (las mismas se colocarán horizontales entre sí, realizado con material circular que permita el cierre de la garra animal.
- Mallas antipájaro, mallas plásticas para delimitar corrales
- Termómetros
- Pediluvio
- Elementos de limpieza
- Ropa descartable
- Bioinsumo (ver protocolo bioinsumo)
- Alimento balanceado iniciador para pollos
- Alimento balanceado terminador para pollos
- Amonio cuaternario
- Balanza



### Procedimiento

Colocar los pollos bb de 1 día de edad en el corral regulable (16 aves/m<sup>2</sup>) con cama de viruta (20 cm), 1 comedero lineal con alimento iniciador y 20 % de bioinsumo (40 aves/m de comedero), 1 bebedero limpio con agua de red (1 bebedero/20 aves) y 1 campana de 60 cm con lámpara IR (1 campana/m<sup>2</sup> de corral). Elementos de pica (1 elemento/4 aves), elemento de leva (1 elemento/8 aves), adicionarle 200g de fardo/8 aves. Realizar los controles diarios. Mantener la temperatura bajo borde de campana no menos de 32°C regulando la altura, luego, en el transcurso de los días ir regulando la temperatura según la tabla.

A la segunda semana, agrandarle el corral para que tenga una densidad de 6 aves/m<sup>2</sup>, agregar viruta a la cama para que quede con 20cm de altura, cambiar el comedero por uno tipo tolva (1 comedero/8 aves) y agregarle 200 g de fardo, colocar semanalmente una cantidad similar de fardo. Agregarle la cantidad de elementos de pica/leva según tabla.

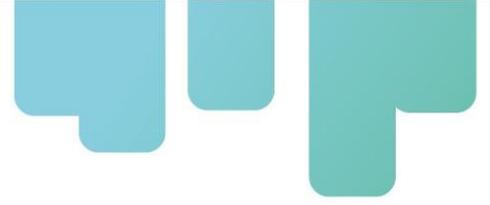
A los 21 días ya no necesita las lámparas con calor, pero si es deseable mantener la temperatura ambiental entre 22-25°C. A los 36 días, agrandar corral para que quede una densidad de 3 aves/m<sup>2</sup>, agregar viruta a la cama para que quede con 20 cm de altura. Agregarle la cantidad de elementos de pica/leva según tabla. Mezclar el balanceado iniciador con terminador en partes iguales y el bioinsumo. Chequear que la cama esté siempre seca, sino reemplazarla. A partir de los 61 días se les dará sólo el alimento balanceado terminador con el bioinsumo.

Controles diarios: Ingreso del personal: Cambiarse la ropa al ingresar y al salir (ambo y calzado). Lavarse las manos al ingresar, antes de colocarse los guantes, y al egresar. Mojar los pies en el pediluvio al entrar y al salir del sector de cría.

- Temperatura (según tabla temperatura)
- Agua *ad libitum* (limpieza diaria de los bebederos con cepillado)
- Alimento *ad libitum* (balanceado y bioinsumo según tabla alimento)
- Chequear altura de los bebederos y comederos para que todas las aves tengan acceso
- Humedad de la cama (mantener la cama seca, hasta un 65% de humedad)
- Comportamiento de las aves (chequear que estén activas frente a estímulos y que coman y beban)
- Observación de animales (presencia o ausencia diarreas, plumaje y patas)

### Alimento balanceado para pollos

- 0-35 días de vida - Iniciador +20 % bioinsumo
- 36-60 días de vida – Mezcla de Alimento (partes iguales de iniciador y terminador) + 15 % bioinsumo
- 61-75 días de vida -Alimento terminador+ 10 % bioinsumo



Densidad animal libre de implementos (comederos, bebederos, implementos para leva y pica, etc).

- 15 aves/m<sup>2</sup> (1-7er hasta el 7mo día de vida)
- 6 aves/m<sup>2</sup> (7-35 días de vida)
- 3 aves/m<sup>2</sup> (36-75 días)

### Temperatura

Los animales deberán tener una fuente de calor externa que garantice la temperatura óptima según su edad, la misma se retirara al momento del completo emplume. De la 4<sup>a</sup> a 11<sup>a</sup> semana, se mantiene la temperatura ambiente entre 22-25°C preferentemente

Temperaturas al borde de la campana

- 1<sup>a</sup> semana 32 °C
- 2<sup>a</sup> semana 28-30 °C
- 3<sup>a</sup> semana 22-25 °C

### Comederos y bebederos

- Comederos lineales para bb (40 aves/m de comedero), 1er semana
- Comederos tipo tolva (1 comedero/8 aves), Regular la altura
- Bebederos plásticos (1 bebedero/20 aves). Regular la altura

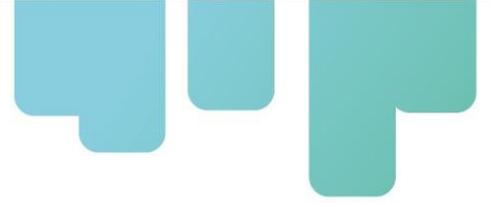
Considerar que, al momento de abrevar y alimentarse, todos los animales deben tener acceso libre a los implementos. Los comederos y los bebederos se deberán mantener a una altura equidistante entre el ojo y el buche de las aves

### Manejo lumínico:

Las aves se mantienen con unas 14 h de luz diaria natural y/o artificial.

## **FILIACIONES de las y los coautores de las contribuciones**

Dentro del grupo de mujeres autoras de las comunicaciones se encuentran las Veterinarias Jesica Britez y M. Luz Pisón Martínez, las cuales son tesis doctorales beneficiadas por el proyecto y primeras autoras de comunicaciones. La Vet. Cecilia Berardo es extensionista con gran conocimiento en el campo veterinario. La Dra. Zulma Canet es especialista en pollos camperos y está a cargo del mantenimiento de las líneas de pollos y gallinas INTA. La Dra. Galia Ramírez Toloza es la colaboradora principal de la UChile, la Dra. Constanza Urzúa-Encina es primera autora de la publicación de epidemiología en Chile y está en el mismo equipo de expertas que Erika Pavez-Muñoz. Las Dras. Mariela L. Tomazic y Anabel E. Rodríguez, especialistas en coccidiosis son las investigadoras asistente y líder del proyecto respectivamente. Se cuenta



con la colaboración de Facundo Balbiani como técnico, el Dr. Fernando Delgado como patólogo y el Vet. Pablo Barbano y como expertos avicultura, el Dr. Schappiro como parasitólogo, el Ing. Morici Gabriel como Zootecnista, y los Doctores Bastián Fernández-Sanhueza y Raúl Alegría-Morán como especialistas en epidemiología y estadística. El Ing. Cesar Gramaglia es experto en agroecología. En todas las comunicaciones las mujeres tienen un rol relevante aportando a la igualdad de género en el ámbito científico.

Alegría-Morán R.<sup>1</sup>; Balbiani F.<sup>2</sup>; Barbano P.<sup>3</sup>; Berardo C.<sup>3</sup>; Brites J.D.<sup>2,4</sup>; Canet Z.<sup>5</sup>; Delgado F.<sup>2,6</sup>; Fernández-Sanhueza B.<sup>7,8,1</sup>; Gramaglia C.<sup>9</sup>; Morici G.<sup>2</sup>; Pavez-Muñoz E.<sup>7,8</sup>; Pison Martínez, M.L.<sup>2</sup>; Ramirez-Tolosa G.<sup>7,8</sup>; Schappiro J.<sup>2</sup>; Urzua-Encina C.<sup>7,8</sup>; Rodríguez A.E.<sup>2</sup>; Tomazic M.L.<sup>2,10</sup>

1. Escuela de Medicina Veterinaria, Sede Santiago, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Ejercito Libertador 146, Santiago 8370003, Chile;
2. Instituto de Patobiología Veterinaria (IPVET -INTA-CONICET), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Área Parasitología, Laboratorio de Coccidiosis. Buenos Aires (BA), Hurlingham, Argentina;
3. Estación Experimental Agropecuaria (EEA), INTA Luján, BA, Argentina;
4. Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Veterinaria, Cátedra de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA). Argentina;
5. Estación Experimental Agropecuaria (EEA), INTA Pergamino, Argentina;
6. Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Facultad de Ciencias Agrarias, Lomas de Zamora, BA, Argentina;
7. Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santa Rosa 11735, La Pintana, Santiago 8820808, Chile;
8. Laboratorio Centralizado de Investigación Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santa Rosa 11735, La Pintana, Santiago 8820808, Chile;
9. Estación Experimental Agropecuaria INTA Manfredi, Córdoba, Argentina;
10. Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Av. Junín 954, Buenos Aires C1113 AAD, Argentina



**INSTITUCIONES PARTICIPANTES**



Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



[www.fontagro.org](http://www.fontagro.org)

Correo electrónico: [fontagro@fontagro.org](mailto:fontagro@fontagro.org)