EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON QUESO DE BÚFALA SOBRE EL DESARROLLO DE NEOPLASIAS Y FOCOS DE CRIPTAS DISPLÁSICAS EN COLON DE RATAS

Se utilizaron 20 ratas Wistar, machos, de 6 semanas de edad, de 160 g de peso corporal, alojados en jaulas metálicas individuales y mantenidos a temperatura de 21ºC, con agua y dieta con alimento balanceado comercial (ABC). Los animales fueron divididos al azar en 2 grupos: Grupo Control (GC): (n=10) dieta con ABC. Grupo Dieta Queso (GQ): (n=10) dieta con ABC, suplementado con 25% de queso de búfalas. La experiencia duró 7 meses. La inducción al cáncer de colon fue realizada mediante la inoculación por vía SC de 20 mg de DMH/kg/semana, totalizando 10 inoculaciones. En la necropsia el aparato digestivo completo fue retirado para su examen macroscópico, histológico y ultraestructural mediante microscopia electrónica de barrido (MEB) donde secciones de intestino fueron fijados en glutaraldehido al 3%, deshidratados, montados sobre cabos de aluminio y cubiertos con oro paladio. Los tumores y las secciones del intestino grueso fueron procesados según la técnica histológica clásica para bloques parafinados, cortados a 5 µm y coloreados con H-E. En el estudio macroscópico se determinó, el número, el tamaño, el aspecto macroscópico y la localización de las neoplasias en los diferentes segmentos anatómicos del intestino grueso.

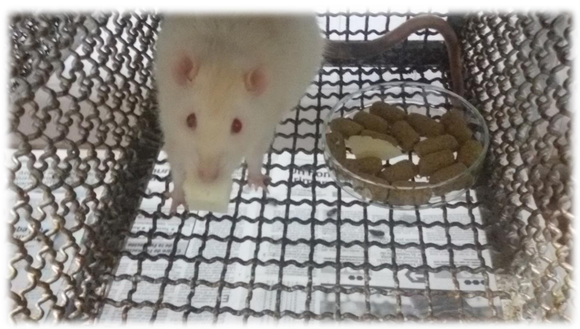


Figura 1: Rata alimentada con ABC y queso de búfala.

Estudios epidemiológicos en seres humanos y experimentales en animales de laboratorio, sugieren que la leche y productos lácteos pueden ejercer efectos inhibitorios sobre el desarrollo de varios tipos de tumores. Nuestro grupo de investigación, ha realizado varias experiencias con leche de vaca y de búfala demostrando su efecto inhibidor sobre el desarrollo de cáncer de colon en ratas. En su composición química, la leche bubalina presenta mayores valores de sólidos totales, grasa, proteína y lactosa que la leche de vaca. Por esto resulta importante evaluar el efecto de la administración de queso elaborado con leche de búfala sobre el desarrollo del cáncer de colon en ratas, inducido con 1,2 dimetilhidrazina (DMH). Estos datos serán utilizados como valores basales para una próxima experiencia en la que se evaluará el efecto de un queso de búfala con alto contenido de ácido linoleico conjugado y omega 3 y bajas concentraciones de ácidos grasos saturados y de omega 6 sobre el desarrollo de cáncer de colon en ratas.

En este trabajo, se destaca el uso de la rata debido a su gran susceptibilidad a desarrollar neoplasias y FCD inducidas con el carcinógeno DMH. El consumo de queso de búfala no modificó la frecuencia, el tamaño, la localización y el tipo histológico de tumores, como así tampoco la frecuencia de FCD en este modelo. Estos resultados permitirán evaluar en una segunda experiencia, el efecto anticancerígeno de un queso bubalino funcional, con alto contenido de ácido linoléico conjugado y omega 3 y bajas concentraciones de ácidos grasos saturados sobre el desarrollo del cáncer de colon en ratas.

El estudio macroscópico registró 26 tumores en GC y 32 en GQ, sin diferencia significativa entre ambos grupos (p>0,05). Para el tamaño, los tumores fueron agrupados en 5 categorías o rangos expresados en mm. El mayor número de neoplasias observadas macroscópicamente (Tabla 2) correspondió al tipo Polipoide con base sésil (TPS) (Figura 2), sin diferencias significativas en los TPS (p= 0,0681) y en los tumores tipos Polipoide pediculado (p>0,999) entre GC y GQ. En ambos grupos, el mayor número de neoplasias se localizó en colon distal, sin diferencias significativas entre los grupos (p>0,05). El tipo histológico hallado con mayor frecuencia en ambos grupos fue el adenocarcinoma tipo túbulo velloso (28 neoplasias), seguido por el adenocarcinoma tubular (17 neoplasias) y 8 adenocarcinomas tipo velloso. Se observó 4 tumores del tipo carcinoma mixto y solo 1 carcinoma de células en anillo de sello sin diferencias significativas entre los grupos (p>0,05). Se registraron 66 focos de criptas displásicas (FCD) (Figura 3) en los animales del GC y 93 en GQ, sin significancia estadística entre ambos grupos (p= 0,1999).

Tabla 1: Número de neoplasias por rango en ambos grupos tratados con DMH.

Milímetros	GC	GQ	p valor
1 a 5 mm	7	10	0,3823
6 a 10 mm	12	16	0,5234
11 a 15 mm	6	3	0,279
16 a 20 mm	0	2	0,3434
Más de 20 mm	1	1	>0,999

Tabla 2: Frecuencia de los diferentes tipos de neoplasias en ambos lotes tratados.

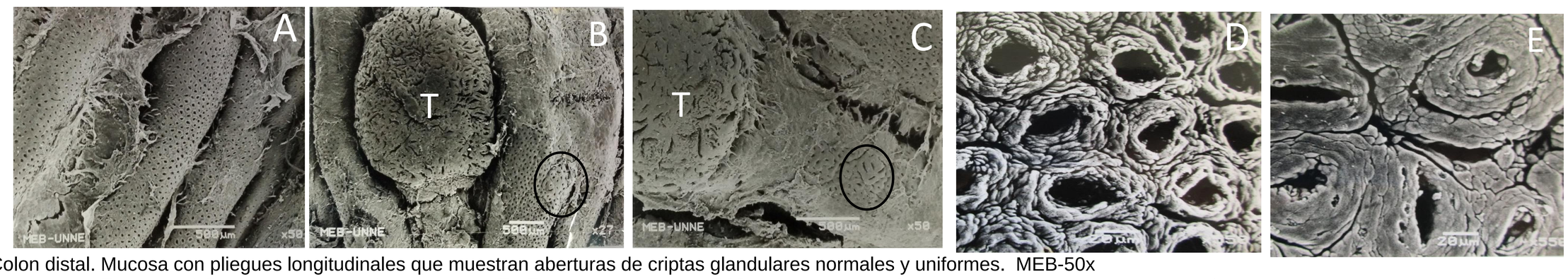
Tipos	Polipoide Sésil	Polipoide Pediculado	Plano	Observados Microscópicamente
GC	10	11	3	2
GQ	21	11	-	-

Tabla 3: Localización de neoplasias en los segmentos del intestino .

Localización	Recto	Colon distal	Colon Proximal	Ciego
GC	2	22	2	-
GQ	1	27	3	1

Figura 2: Sección de intestino grueso de rata, con neoplasias, de aspecto polipoide de base sésil en Colon Distal (flechas).

Figura 3: Focos de criptas displásicas de bajo grado, con basofilia, seudoestratificacion y moderada dilatación de la luz y disminución de células mucosas. En A se observa un FCD en la superficie de la mucosa. En B y C FCD en la profundidad de la mucosa de colon distal en rata de GC.



A- Colon distal. Mucosa con pliegues longitudinales que muestran aberturas de criptas glandulares normales y uniformes. MEB-50x
B- Colon distal. Tumor de 1,5 x 3mm, con superficie irregular (T). El circulo destaca un FCD, compuesto por 8 criptas, que sobresalen de la superficie mucosa, con aberturas irregulares, y paredes engrosadas. MEB-27x
C- Colon distal. El circulo delimita un Foco de criptas displásicas, formada por numerosas criptas glandulares, con aberturas irregulares, agrandadas y paredes engrosadas. A la izquierda se observa un tumor (T), nótese la intensa irregularidad de las superficies glandulares. MEB-50x
D- Superficie mucosa normal, se observan criptas con paredes y aberturas uniformes.
E- Con el mismo aumento (550x) se observan menor número de criptas, con aberturas irregulares y paredes engrosadas.

•Sánchez Negrette, M., Montenegro, M. A., Catuogno, M. S., Lértora, W. J.,; Guanziroli, M. C. 2007. Decrease of intestinal tumors induced by 1, 2-dimethylhydrazine in rats fed with cow milk and buffalo milk. *Biocell*, 31(3): 391-396.
•Patiño, E.M. 2009. El Búfalo. Leche bubalina: Producción mundial. Comparación con la leche bovina. Alimentos funcionales derivados de la leche. On line: *http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/razas_de_bufalos/65-bufalo.pdf*

Villordo GI[1], Lértora JW[1], Montenegro M[1], Catuogno MS[1], Sánchez Negrette M[1].

Cátedra Patología General y Sistemática. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Corrientes. gaby.villordo@gmail.com

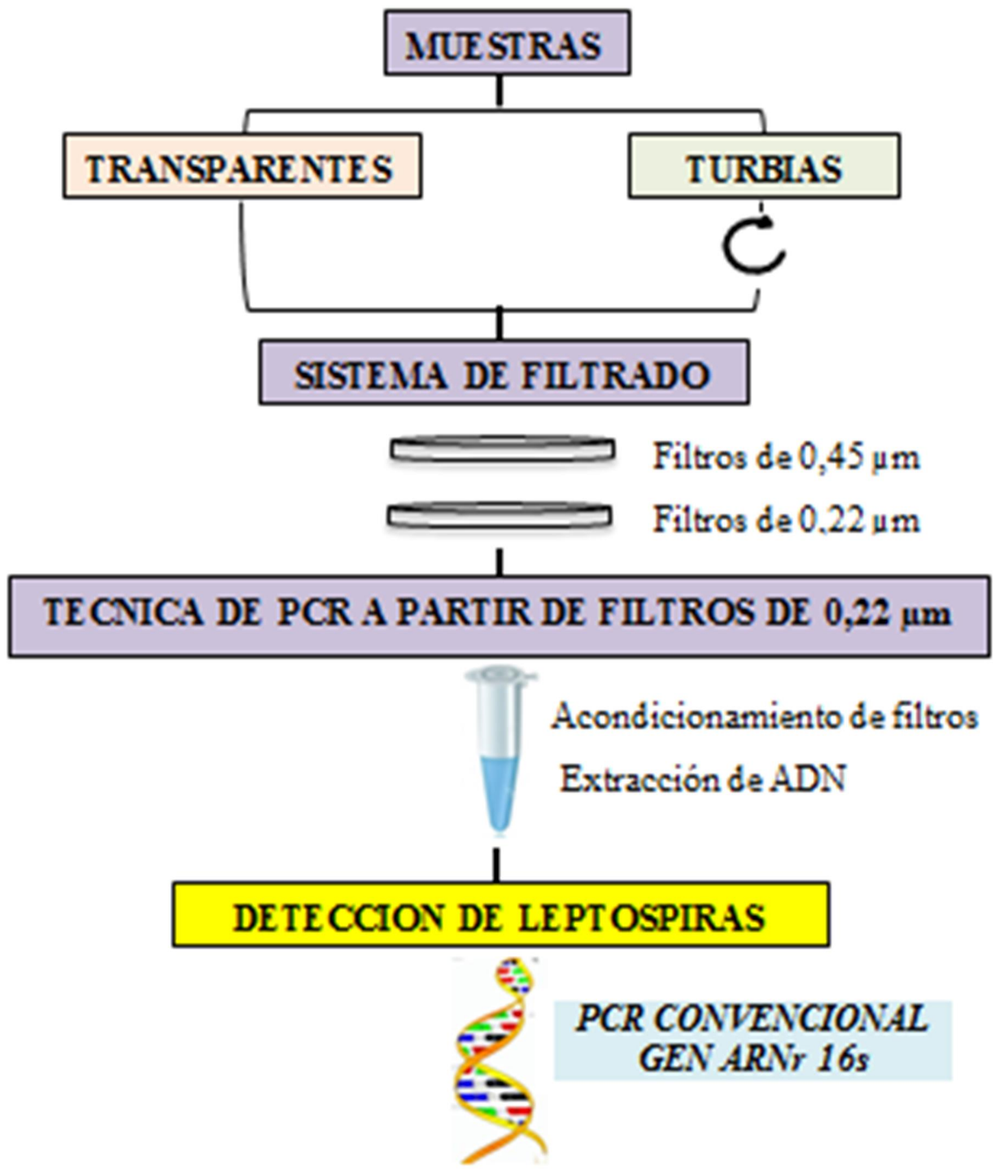
IDENTIFICACIÓN DE LEPTOSPIRAS POR TÉCNICA DE BIOLOGÍA MOLECULAR EN FUENTES DE AGUAS NATURALES EN LA CIUDAD DE CORRIENTES

Alegre Elsa A., Ruiz, Raquel M., Ramírez, Natalia N.

Cátedra de Salud Pública, Facultad de Ciencias Veterinarias (UNNE), Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina. Tel/Fax: 3794425753.
E-mail: agustina_ea@hotmail.com

Debido a la presencia de roedores positivos a leptospiras detectados en previos trabajos realizados por nuestro equipo de investigación en el área de estudio, nuestro presente objetivo fue detectar Leptospira sp. en fuentes de agua de la misma zona.

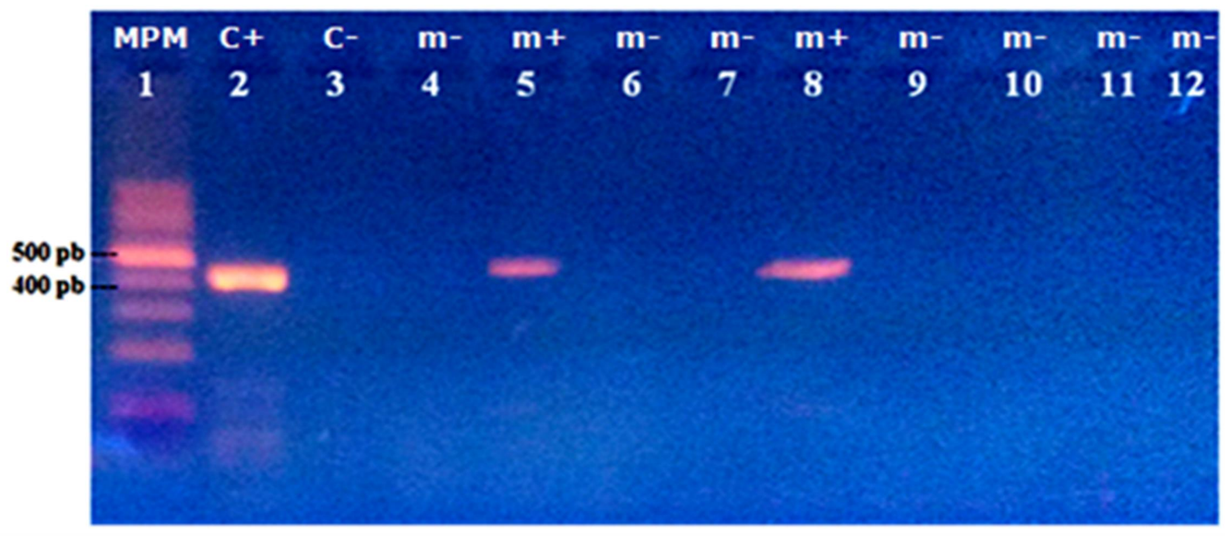
La leptospirosis es una enfermedad zoonóticas de distribución mundial, causada por diversos serovares de leptospiras. El hombre puede adquirir la enfermedad al entrar en contacto directo con orina de animales infectados con la bacteria o indirectamente con aguas y suelos contaminados con la orina de estos animales. La detección de este patógeno por métodos convencionales a partir de fuentes de agua ha demostrado ser una metodología tediosa y complicada. Este hecho es atribuible, al menos en parte, al tiempo que requiere en medios de cultivo o el crecimiento de microorganismos de morfología similar, lo que dificulta el aislamiento de los mismos. Por esta razón, han surgido técnicas moleculares que permiten superar estas limitaciones ofreciendo resultados con un alto grado de sensibilidad y de fácil reproducibilidad.



De un total de 30 muestras de agua (20 claras y 10 turbias) se logró extraer ADN a partir de filtros de agua, 2 de ellas revelaron bandas de 430 pb considerándolas detectables a leptospiras por esta técnica (figura 1).

Para las reacciones de PCR simple se emplearon controles positivos elaborados por nuestro equipo de trabajo en el laboratorio del Servicio de Biología Molecular a partir de L. Icteroahemorrágiae, cultivos provenientes del Instituto de Patobiología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICV y A) INTA Castelar (Buenos Aires).

Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa al 2%. Técnica de PCR Simple ARNr 16s



Calle 1 (MPM): marcador de peso molecular (cienmarker). **Calle 2 (C+):** control positivo ADN/RE-RE-BOILING L. Icteroahemorrágiae. **Calle 3 (C-):** control negativo. **Calles 4- 6- 7- 9 al 12 (m-):** ADN/muestras de Agua no detectables. **Calles 5 y 8 (m+):** ADN/muestras de Agua detectables.

Para comprender el ciclo de vida de las leptospiras, uno de los mayores desafíos están dirigidos al monitoreo de sus reservorios, vías de contagio y fuentes de contaminación como lo es el agua, esta última, estas importantes por el constante contacto con la población humana y también animal. En Argentina pocos son los reportes de estudios de aislamiento de Leptospiras a partir de muestras de agua, probablemente vinculado a la alta contaminación que presentan las muestras y su alta complejidad en el aislamiento. El empleo de un sistema de filtración como paso previo a la aplicación de técnicas de PCR demostró ser un método práctico y eficaz que permite eliminar las impurezas más groseras y retener las espiroquetas en estudio teniendo en cuenta que de este paso depende el éxito de la detección de la bacteria. Así mismo, los resultados obtenidos en este trabajo a partir de PCR convencional, confirman la existencia de Leptospira en el área de estudio, aportando un gran avance en el conocimiento epidemiológico de este microorganismo y el desafío de implementar técnicas de PCR dirigidas a la identificación de especies patógenas, responsables de grandes brotes en animales y en el hombre.

XVII SIMPOSIO INTERNACIONAL
SOBRE ENFERMEDADES DESATENDIDAS
24 y 25 de agosto Academia Nacional de Medicina.
Mundo Sano
www.mundosano.org