

VETERINARIA



Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay

Año LXXIII - Volumen 49 - N° 191 - Julio-Setiembre de 2013

ISSN 1688-4809 - Indizada en: VET-CD/BEASTCD, Latindex

CONTENIDO:

SOBRE LA REVISTA **2**

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS:

Efectos sobre la fermentación in vitro de la inclusión de proporciones crecientes de pulpa de citrus, maíz o cebada a una pastura de alta calidad

Britos A., Pomiés N., Repetto J.L., Cajarville C. **4**

Comparación de dos formulaciones de progesterona en un protocolo de inducción de celos con inseminación artificial a tiempo fijo en vacas de carne en anestro posparto

de Olarte C, Cavestany D, de Nava G..... **14**

ARTÍCULOS TÉCNICOS:

Leucosis Bovina Enzoótica en cuencas lecheras de productores familiares del Uruguay.

Furtado A., Rosadilla D., Franco G., Piaggio J., Puentes R. **29**

Meningoencefalitis trombótica (TME) por *Histophilus somni* en ovinos en Uruguay

Romero A., Quinteros, C., Marinho, P., O'Tool, D., Dutra, F. **38**

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES..... **48**

SOBRE LA REVISTA:

Veterinaria (Montevideo) es la revista oficial de la Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay (SMVU) que tiene el objetivo de publicar artículos en idioma español sobre temas científicos, técnicos y otras comunicaciones de interés a las Ciencias Veterinarias. Es una publicación trimestral (versión electrónica – página web de la revista). El volumen completo de cada año (cuatro números) se imprime a fin de año y es distribuido gratuitamente a los socios de la SMVU. La versión electrónica de los números publicados se mantiene en la página oficial de la revista (<http://www.revistasmvu.com.uy>), la que permite la consulta gratuita de los ejemplares de los últimos años. Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores. Se autoriza la reproducción parcial o total de lo editado mencionando la fuente. Por convenio de la SMVU y Facultad de Veterinaria (16 de diciembre de 1988), el Departamento de Documentación y Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.

La revista tiene dos secciones diferenciadas, Científica y Técnica. La inclusión de trabajos enviados en una u otra sección se hará de acuerdo a las especificaciones detalladas más abajo. Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.

REDACTOR RESPONSABLE:

Dr. Ramiro Díaz (Presidente SMVU).

Cerro Largo 1895, Montevideo teléfono-fax (+598) 2408 6174 - 2409 9458

SECCIÓN CIENTÍFICA:

Editor Jefe:

Dr. Daniel Cavestany (PhD), Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay (UdelaR), Lasplaces 1620, CP 11600, Montevideo, Uruguay

Consejo Editorial:

Dra. Cecilia Cajarville (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Ing. Agr. Pablo Chilibroste (PhD), Facultad de Agronomía (UdelaR), Uruguay

Dr. Guillermo Couto (MV, dipl. ACVIM), Ohio State University, EE.UU

Dr. Luzbel de la Sota (PhD), Facultad de Veterinaria, Universidad de La Plata, Argentina

Dr. Andrés Gil (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dr. Roberto Kremer (MSc), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dr. Carlos Larsson (PhD), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USP, Brasil

Dra. Jacqueline Maisonnave (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dra. Ana Meikle (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dr. José Luis Repetto (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR), Uruguay

Dr. Franklin Riet (PhD), CSTR, UFCG, Patos PB, Brasil

Dr. Rodolfo Rivero (MSc), DILAVE “Miguel C. Rubino”, MGAP, Uruguay
Dr. Heriberto Rodríguez-Martínez (PhD), CBR, Linköping University, Suecia
Dr. Jorge Tórtora, FES Cuautitlán UNAM, México
Ing. Agr. Jorge Urioste (PhD), Facultad de Agronomía (UdelaR), Uruguay
Dra. Carolina Viñoles (PhD), INIA, Uruguay
Dr. Pablo Zunino (PhD) IIBCE, Uruguay

Secretario:

Dr. Rodrigo Puentes (MSc), Facultad de Veterinaria (UdelaR)

SECCIÓN TÉCNICA:

Editor:

Dra. María A. Solari, DILAVE “Miguel C. Rubino” - MGAP

Consejo Editorial

“Profesor Walter García Vidal”:

Dr. Luis Barros (PhD), Facultad de Veterinaria (UdelaR)
Dr. Uruguaysito Benavides, Facultad de Veterinaria (UdelaR)
Dr. Ulises Cuore, DILAVE “Miguel C. Rubino” - MGAP
Dra. Valeria Gayo (MSc), DILAVE “Miguel C. Rubino” - MGAP

CONTACTO:

Email: editor@revistasmvu.com.uy

Website: www.revistasmvu.com.uy

Publicación trimestral (versión electrónica)

El volumen completo (números 189 - 192) será impreso a fin de año y será distribuido a los socios de la SMVU.

Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.

Se autoriza la reproducción parcial o total de lo editado mencionando la fuente.

Por convenio de la SMVU y Facultad de Veterinaria (16 - 12 - 1988), el Dpto. de Documentación y

Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.

Efectos sobre la fermentación *in vitro* de la inclusión de proporciones crecientes de pulpa de citrus, maíz o cebada a una pastura de alta calidad

Effects of the inclusion of increasing proportions of citrus pulp, corn or barley to a high quality pasture on the *in vitro* fermentation

Britos A.^{1*}, Pomiés N.¹, Repetto J.L.²,
Cajarville C.¹

Recibido: 24/10/2012
Aprobado: 01/03/2013

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar los efectos de la inclusión de proporciones crecientes (desde 0 a 100%) de pulpa de citrus, maíz o cebada a una pastura de alta calidad sobre la fermentación *in vitro*. Se utilizó la técnica de producción de gas *in vitro* y los datos de volumen de gas fueron ajustados a un modelo exponencial simple con tiempo de latencia. El efecto de la proporción de los concentrados fue estudiado utilizando PROC MIXED de SAS[®] incluyendo como efectos fijos el concentrado, la proporción en el sustrato y la interacción entre ambos. Debido a que las interacciones concentrado*proporción fueron significativas, para describir el impacto del aumento de la proporción de cada concentrado en el sustrato se realizaron regresiones lineales y cuadráticas mediante PROC GLM de SAS[®].

SUMMARY

The aim of this work was to evaluate the effect of inclusion of increasing proportions (from 0 to 100%) of citrus pulp, corn or barley to high quality pasture on *in vitro* fermentation. The *in vitro* gas production technique was used and the gas volume data were fitted to a simple exponential model with lag time. The effect of the proportion of the concentrates was studied using PROC MIXED of SAS[®] including as fixed effects the concentrate, the proportion into the substrate and the interaction among them. Since interactions concentrate*proportion were significant, linear and quadratic regression analysis were performed to describe the impact of increasing the proportion of each concentrate in the substrate using PROC GLM of SAS[®]. Increasing concentrate proportion enhanced the gas volume (mL/g OM

¹Departamento de Nutrición, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Lasplacas 1550, Montevideo, Uruguay;

²Departamento de Bovinos, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República. *britos.arcaus@gmail.com

El aumento de la proporción de concentrado incrementó el volumen de gas (mL/g MO incubada) y disminuyó la velocidad de producción, de forma diferente según el concentrado incluido. El tiempo de latencia se incrementó hasta el nivel máximo de inclusión de los cereales, pero la pulpa de citrus aumentó el tiempo hasta el 48% de inclusión. El aumento de la proporción de diferentes concentrados en el sustrato causó comportamientos similares de la producción potencial y de la tasa de producción de gas, aunque con características propias según el concentrado incluido. Aunque la pulpa de citrus no afecte la adherencia de la microbiota ruminal en la misma extensión que los cereales podría sustituirlos al suplementar pasturas de alta calidad y causar efectos similares a nivel ruminal.

PALABRAS CLAVE:

Concentrados fibrosos, almidón, suplementación.

INTRODUCCIÓN

La suplementación de dietas forrajeras con granos ocasiona efectos asociativos con importantes consecuencias a nivel productivo (Dixon y Stockdale, 1999). Los efectos asociativos positivos están vinculados al aporte de nutrientes limitantes para el rumiante o para la microbiota ruminal; estos efectos usualmente suceden cuando los concentrados suplementan forrajes de baja calidad y están ligados

incubated) and decreased the production rate, in different ways according to the concentrate included. Lag time increased up to the maximum level of inclusion of the cereals, but citrus pulp increased the lag time until 48% of inclusion. Increasing the proportion of different concentrates into the substrate caused similar behaviors of the potential gas production and the gas production rate, even though with own characteristics according to the concentrate included. Although citrus pulp does not affect ruminal microbiota adhesion at the same extent as cereals, it could replace them in the supplementation of high quality pastures producing similar effects in the rumen.

KEYWORDS:

Fibrous concentrates, starch, supplementation.

al aumento de la digestibilidad de la materia orgánica (Moore y col., 1999). Los efectos negativos ocurren generalmente cuando es incluida en la dieta una gran proporción de concentrados de rápida fermentación y están ligados a una menor ingestión y digestión de forraje debido a la reducción de la tasa de degradación de la fibra por los microorganismos ruminales (Dixon y Stockdale, 1999). Algunos subproductos, como la pulpa de citrus, se catalogan como concentrados fibrosos y se ha indicado que podrían tener efectos

beneficiosos sobre el ambiente ruminal (Bampidis y Robinson, 2006). Además, se ha sugerido que el uso de concentrados fibrosos tendría mayores efectos beneficiosos sobre la producción de leche que los concentrados con alto contenido de almidón, al asociarlos con pasturas de alta calidad (Delahoy y col., 2003). A pesar de estos hechos, es escasa la información sobre el nivel más conveniente de suplementación para cada tipo de concentrado cuando la pastura es de alta calidad. Es así que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto sobre la fermentación *in vitro* de la inclusión de proporciones crecientes de pulpa de citrus, maíz o cebada a una pastura de alta calidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la Unidad de Digestión y Metabolismo Ruminal del Departamento de Nutrición Animal en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria-UdelaR (San José, Uruguay, 34° 41' S y 56° 32' O). Los análisis de composición química de los alimentos se realizaron en el laboratorio de análisis químicos del Departamento de Nutrición Animal de la Facultad de Veterinaria-UdelaR (Montevideo, Uruguay). El manejo del animal donante de líquido ruminal se ajustó a la Ordenanza sobre el uso de animales de experimentación, docencia e investigación universitaria de la UdelaR.

Diseño experimental

Se prepararon mezclas de pastura de alta calidad con pulpa de citrus, maíz o cebada. Cada concentrado fue incluido en niveles desde 0 a 100% con incrementos de 10%, lo que hizo un total de 31 mezclas. La pastura utilizada para las mezclas fue cortada a 5 cm del suelo y luego secada a 65° C en estufa de aire forzado. La composición química de los componentes individuales incluidos en las mezclas se presenta en el Cuadro 1. Cada mezcla fue utilizada como sustrato para estimar su fermentescibilidad mediante la técnica de determinación de la producción de gas *in vitro*. El líquido ruminal utilizado como inóculo fue colectado de una vaca Holstein en lactación (580 kg de PV), que consumía pastura templada de alta calidad por pastoreo directo (4 h en la mañana y 4 h en la tarde) y heno de pastura.

Técnica de producción de gas *in vitro*

Se introdujeron 0,5 g de sustrato en frascos de fermentación de 125 mL. Se agregó a cada frasco de fermentación 40,5 mL de medio de incubación libre de N (Williams y col., 2005) y a continuación fueron tapados con septos de goma butilo y se mantuvieron refrigerados a 4°C durante 8 horas antes de la inoculación para permitir la hidratación del sustrato. Previo a la inoculación los frascos fueron llevados a un baño María a 39°C donde se mantuvieron por todo el período de mediciones. Inmediatamente a la inoculación con 10 mL de fluido ruminal, cada

Cuadro I. Composiciones químicas de los alimentos, composición botánica y disponibilidad de la pastura utilizadas como sustratos en el experimento I

Alimento	MS (%)	MO (% MS)	PB (% MS)	FDN (% MS)	FDA (% MS)
pastura	13,67	89,46	18,70	37,51	19,91
pulpa de citrus	14,64	96,48	6,86	20,66	15,45
cebada	88,83	97,31	11,21	14,99	4,95
maíz	85,85	98,56	9,90	7,64	1,71

Composición botánica y disponibilidad de la pastura	
Leguminosas (% MS)	56,13
Gramíneas (% MS)	39,04
Restos secos (% MS)	2,46
Malezas (% MS)	2,38
Disponibilidad (kg MS/ha)	4180,3

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; FDN: fibra detergente neutro; FDA: fibra detergente ácido

frasco se tapó con septo de goma butilo y fue sellado con precintos de aluminio. Todas las manipulaciones se realizaron bajo un flujo de CO₂. Cada mezcla fue incubada por triplicado y además tres frascos de fermentación sin sustrato fueron incluidos como blancos para corregir la fermentación propia del inóculo.

Las mediciones de presión de gas se realizaron mediante un medidor de presión con transductor (RZ-68601-00, Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, USA) a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 48, 72 y 96 h luego de la inoculación. Luego de medida la presión se dejaba insertada una aguja para permitir el escape de gas y se agitaba suavemente para mezclar el contenido de los frascos. La cantidad de gas en mL fue estimada

de acuerdo a la ecuación $V = 4,40P + 0,09P^2$ (V es el volumen de gas en mL y P es la presión observada en psi) obtenida en un experimento previo bajo condiciones similares.

El volumen de gas obtenido de cada frasco de fermentación fue ajustado por regresión no lineal mediante PROC NLIN de SAS® (versión 8.02, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) al modelo:

$$V = a (1 - e^{-kd(t-L)})$$

donde “V” (mL/g MS incubada) denota la producción de gas acumulada a tiempo t, “a” (mL/g MO incubada) es la producción potencial de gas; “kd” (h⁻¹) es la tasa fraccional de producción de gas y “L” (h) es el tiempo de latencia de la producción de gas.

Análisis químicos

Las muestras de alimentos se secaron en estufa durante 48 h a 60°C para determinar Materia Seca (MS) y luego se molieron en un molino de rotor provisto de criba de 1 mm (Fritsch GMBH, Idar-Oberstein, Alemania). Se determinaron Cenizas y Proteína Bruta (PB) según los métodos 942.05 y 984.13 respectivamente de AOAC (1990). La Materia Orgánica (MO) se calculó por diferencia (% MO = 100 - % de Cenizas). Las determinaciones de Fibra Detergente Neutro (FDN) y Fibra Detergente Ácido (FDA) se realizaron de acuerdo al método propuesto por Robertson y Van Soest (1981) usando un analizador de fibra ANKOM²²⁰ (ANKOM Technology Corp., Macedon, NY, USA) con α -amilasa termoestable, y fueron expresadas con la ceniza residual incluida.

Análisis estadísticos

Los resultados de la inclusión creciente de cada concentrado sobre la producción potencial, la tasa fraccional y el tiempo de latencia de la producción de gas *in vitro* fue analizado utilizando el procedimiento PROC MIXED de SAS[®] (versión 8.02, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + P_j + (C*P)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

donde Y es el parámetro de producción de gas *in vitro* estudiado, μ es la media general, C_i es el efecto fijo del concentrado i (i = pulpa de citrus,

maíz o cebada), P_j es el efecto fijo de la proporción de concentrado en el sustrato j ($j = 0$ a 100%, en incrementos de 10%), $(C*P)_{ij}$ es la interacción entre el concentrado i y la proporción de concentrado en el sustrato j y ϵ_{ijk} es el error residual. La unidad experimental fue el frasco de fermentación.

En los casos en que la interacción entre concentrado y la proporción de concentrado en el sustrato fueron significativas, se utilizaron regresiones lineales y cuadráticas para describir el impacto de la proporción creciente de cada concentrado mediante PROC GLM de SAS[®] (versión 8.02, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). La unidad experimental fue el frasco de fermentación. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando $P < 0,05$ y se consideraron tendencias cuando $0,05 < P < 0,10$.

RESULTADOS

En la Figura 1 se muestran las respuestas del volumen de gas (1A), de la tasa de producción de gas (1B) y del tiempo de latencia (1C) al incremento de la proporción de pulpa de citrus, maíz o cebada en el sustrato. Las respuestas fueron diferentes según el concentrado incluido, ya que se observaron interacciones significativas entre el concentrado y el nivel utilizado. Por lo tanto, el efecto del aumento de la proporción de concentrado fue analizado mediante regresiones lineales

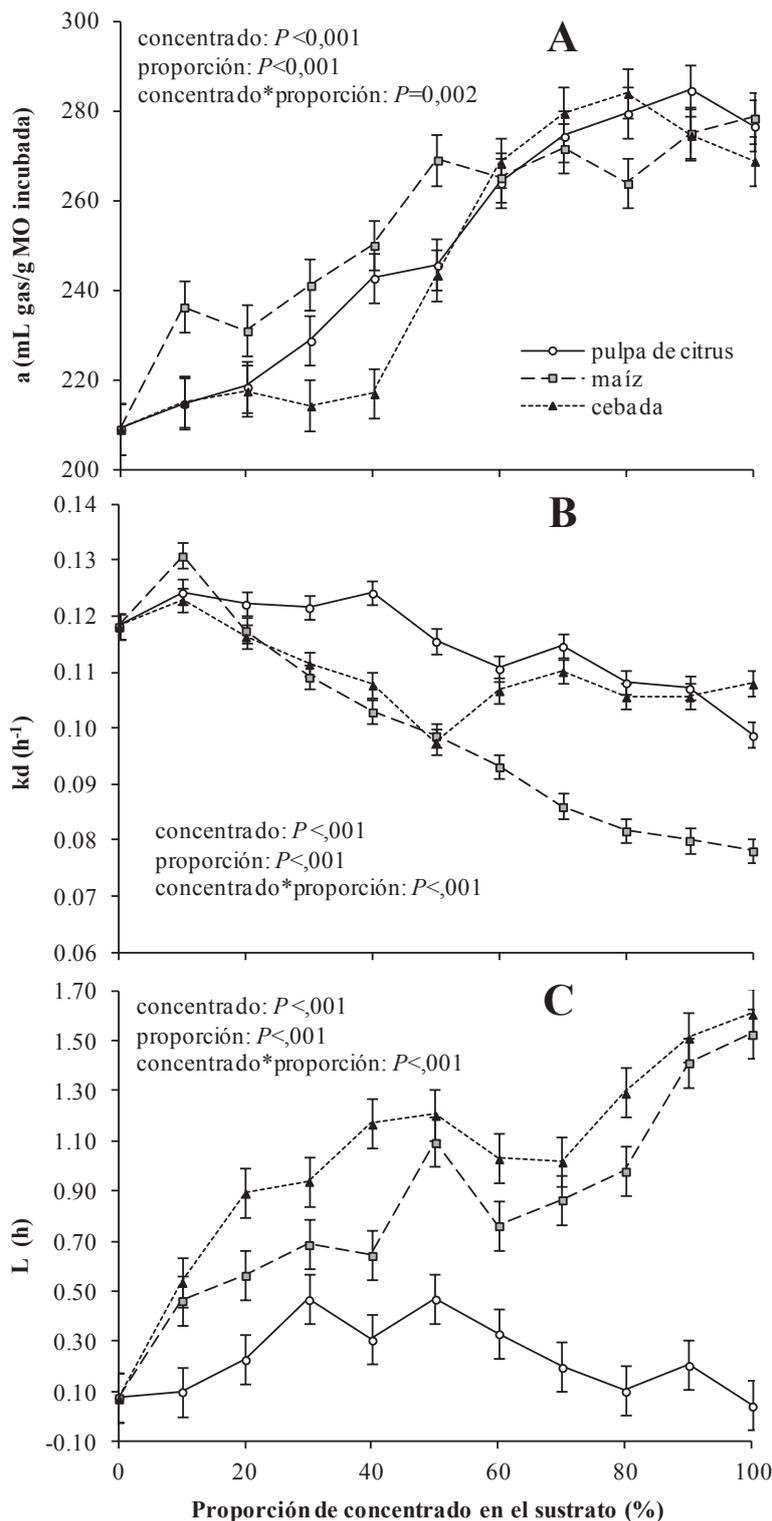


Figura 1. Respuestas de los parámetros de producción de gas *in vitro* al incremento de la proporción de pulpa de citrus, maíz o cebada en el sustrato. **A:** Producción potencial de gas (“a”). **B:** Tasa de producción de gas (“kd”). **C:** Tiempo de latencia (“L”).

y cuadráticas de cada concentrado separadamente (Cuadro 2).

El incremento de las proporciones en el sustrato de pulpa de citrus y cebada provocó aumentos lineales del volumen de gas, mientras que la inclusión de maíz causó un incremento de la producción de gas a tasas decrecientes (lineal: $P < 0,001$; cuadrático: $P = 0,008$). La pendiente de la regresión lineal de la inclusión de maíz fue visiblemente menor que la de cebada y pulpa de citrus ($0,61x$, $0,82x$ y $0,83x$ respectivamente; datos no presentados en el cuadro). Inesperadamente, las velocidades de producción de gas disminuyeron a medida que aumentaba la proporción de concentrados, en el

caso de la inclusión de pulpa de citrus disminuyó una tasa creciente (lineal: $P < 0,001$; cuadrático: $P < 0,001$), con cebada disminuyó a una tasa decreciente (lineal: $P < 0,001$; cuadrático: $P = 0,003$) y el agregado de maíz disminuyó la velocidad a una tasa constante (lineal: $P < 0,001$). El tiempo de latencia aumentó linealmente a medida que se incrementó la proporción de maíz y aumentó a una tasa decreciente cuando se incluyó cebada (lineal: $P < 0,001$; cuadrático: $P < 0,05$). A su vez, la inclusión de pulpa de citrus provocó una respuesta cuadrática del tiempo de latencia, presentando su máxima extensión cuando la proporción de pulpa de citrus alcanzó el 48%.

Cuadro 2. Efectos del incremento del nivel de inclusión de pulpa de citrus, maíz o cebada a una pastura de alta calidad sobre los parámetros de producción de gas *in vitro*

Parámetro	Concentrado	Lineal		Cuadrático	
		P	DER	P	DER
a (mL de gas/g de MO incubada)	pulpa de citrus	<,001	9,037	0,088	8,735
	maíz	<,001	11,798	0,008	10,612
	cebada	<,001	15,841	0,571	16,021
kd (h ⁻¹)	pulpa de citrus	<,001	0,005	<,001	0,004
	maíz	<,001	0,006	0,365	0,006
	cebada	<,001	0,006	0,003	0,006
L (h)	pulpa de citrus	0,879	0,179	<,001	0,131
	maíz	<,001	0,244	0,849	0,248
	cebada	<,001	0,234	0,036	0,221

a: Producción potencial de gas (ml de gas /g MO incubada); kd: tasa fraccional de producción de gas (h⁻¹); L: tiempo de retardo en la producción de gas (h); P: nivel de significación; R²: coeficiente de determinación; DER: desviación estándar de la regresión

DISCUSIÓN

A pesar de que se utilizó una sola fuente de inóculo y que la totalidad de las réplicas se realizaron en una misma corrida, los resultados del trabajo indican diferencias importantes en la fermentación *in vitro* debido a la inclusión de proporciones crecientes de diferentes concentrados. Si bien la inclusión de los 3 concentrados a una pastura de alta calidad provocó aumentos del volumen de gas, el concentrado fibroso (cascarilla de soja) y el cereal de rápida degradación (cebada) presentaron respuestas lineales similares de este parámetro. Esta similitud podría deberse a las altas proporciones de pectinas y FDN fermentable de la pulpa de citrus que llevan a una elevada producción de CH₄ y a una mayor proporción relativa de ácido acético. En ese sentido, Getachew y col. (1998) indican que si la fermentación ruminal *in vitro* produce mayor proporción de ácido acético habrá concomitantemente una mayor producción de gas. Este fenómeno es coincidente con lo reportado por Ariza y col. (2001), que no encontraron diferencias en la digestión de la MO y en la producción de AGV *in vitro* entre dietas con pulpa de citrus o una fuente de almidón. Sin embargo, Barrios-Urdaneta y col. (1997) observaron que el volumen de gas producido por una paja de cebada no fue afectado por la inclusión de cantidades crecientes de pectina, pero la adición de almidón o celulosa lo deprimió de forma lineal; probablemente ese resultado se debe a la muy baja calidad del forraje que los autores utilizaron en

contraste con este trabajo.

Con respecto a la disminución de la velocidad de producción de gas, podría ser atribuida a los orígenes del líquido ruminal, que procedió de una vaca en lactación alimentada exclusivamente con forraje y por lo tanto con una microbiota ruminal más adaptada a la degradación de la fibra que a la de otras fuentes de carbohidratos. A pesar de ello, la inclusión de pulpa de citrus también redujo la velocidad de producción de gas; evidenciando que estos subproductos tienen efectos semejantes a los concentrados altos en almidón. De igual forma, Barrios-Urdaneta y col. (2003) observaron que la incorporación en un concentrado de niveles hasta 83% de pulpa de citrus o cebada causó efectos similares sobre la fermentación ruminal en ovejas que consumían paja de cebada amoniada. Sin embargo, las respuestas de la velocidad de producción de gas a cada concentrado fueron particulares. El aumento de las proporciones en el sustrato de cascarilla de soja y cebada ocasionó efectos cuadráticos, aunque la disminución provocada por la cebada fue a una tasa decreciente probablemente porque su almidón de rápida degradación compensó la disminución al menos parcialmente.

El tiempo de latencia de la producción de gas aumentó sostenidamente con el incremento de la inclusión de los cereales, indicando que la adhesión a las partículas por la microbiota de los líquidos ruminales estaría afectada por el incremento de las

proporciones de almidón. Este efecto también puede ser atribuido al origen del líquido ruminal, ya que la adhesión y colonización bacteriana y la formación del biofilm microbiano son afectadas por cambios en el sustrato (McAllister y col., 1994). No obstante, la pulpa de citrus disminuyó el tiempo de latencia cuando su proporción predominó en el sustrato, probablemente debido al aumento de sustratos para las bacterias celulolíticas que provoca una mayor adherencia a las paredes celulares. En ese sentido, Barrios-Urdaneta y col. (2000) reportó mayor adherencia bacteriana a paredes celulares de paja a las 8 y 12 h de incubación en un medio suplementado con pectina comparado con medios suplementados con almidón o azúcares.

CONCLUSIONES

En términos generales, los diferentes concentrados provocaron efectos en el mismo sentido aumentando el volumen de gas y disminuyendo la velocidad de producción, aunque con rasgos particulares debidos a las características de sus fracciones químicas predominantes. La diferencia más importante se evidenció en el tiempo de latencia, separándose nítidamente los efectos de los concentrados almidonosos del efecto del fibroso. A pesar de que se necesitan más trabajos *in vivo* para una aproximación más completa del problema, podríamos afirmar que la suplementación con pulpa de citrus causaría los mismos efectos

a nivel ruminal y podría sustituir a los concentrados con alto contenido de almidón. Aunque la suplementación con pulpa de citrus no afecte la adherencia de los microorganismos en la misma medida que los cereales, deberían tomarse las mismas precauciones al momento de suministrarlos a los animales.

AGRADECIMIENTOS

A la directora y a los funcionarios del Campo Experimental N°2 de la Facultad de Veterinaria por la colaboración prestada en el trabajo de campo. El trabajo fue financiado por ANII (FCE 2007_119).

REFERENCIAS

1. Ariza P., Bach A., Stern M.D., Hall M.B. (2001). Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. *J Anim Sci* 79:2713-2718.
2. Bampidis V.A., Robinson P.H. (2006). Citrus by-products as ruminant feeds: a review. *Anim Feed Sci Technol* 128:175-217.
3. Barrios-Urdaneta A., Fondevila M., González-Ronquillo M., Castrillo C. (1997). Fermentación *in vitro* de forrajes lignocelulósicos suplementados con distintos tipos y niveles de carbohidratos. *Arch Latinoam Prod Anim* 5(1):199-201.
4. Barrios-Urdaneta A., Fondevila M., Balcells J.,

- Dapoza C., Castrillo C. (2000) *In vitro* microbial digestion of straw cell wall polysaccharides in response to supplementation with different sources of carbohydrates. *Aust J Agric Res* 51(3): 393-400.
5. Barrios-Urdaneta, A., Fondevila, M., Castrillo, C., 2003. Effect of supplementation with different proportions of barley grain or citrus pulp on the digestive utilization of ammonia-treated straw by sheep. *Anim. Sci.* 76: 309-317.
 6. Delahoy J.E., Muller L.D., Bargo F., Cassidy T.W., Holden L.A. (2003) Supplemental carbohydrate sources for lactating dairy cows on pasture. *J Dairy Sci* 86:906-915.
 7. Dixon, R.M., Stockdale C.R. (1999). Associative effects between forages and grains: consequences for feed utilization. *Aust J Agric Res* 50:757-773.
 8. Getachew G., Blümel M., Makaar H.P.S., Becker K. (1998) *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim Feed Sci Technol* 72:261-281.
 9. Lanzas C., Fox D.G., Pell A.N. (2007). Digestion kinetics of dried cereal grains. *Anim Feed Sci Technol* 136:265-280.
 10. McAllister T.A., Bae H.D., Jones G.A., Cheng K.J. (1994). Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J Anim Sci* 72:3004-3018.
 11. Moore J.E., Brant M.H., Kunkle W.E., Hopkins D.I. (1999). Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. *J Anim Sci* 77:122-135.
 12. Offner A., Bach A., Sauvant D. (2003). Quantitative review of *in situ* starch degradation in the rumen. *Anim Feed Sci Technol* 106:81-93.
 13. Robertson J.B., Van Soest P.J. (1981). The detergent system of analysis. En: James, W.P.T., Theander, O. (Eds.), *The Analysis of Dietary Fibre in Food*. Marcel Dekker, New York, pp. 123-158.
 14. Theodorou M.K., Williams B.A., Dhanoa M.S., McAllan A.B., France J. (1994) A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol* 48:185-197.
 15. Williams B.A, Bosch M.W., Boer H., Verstegen M.W.A., Tamminga S. (2005) An *in vitro* batch culture method to assess potential fermentability of feed ingredients for monogastric diets. *Anim Feed Sci Technol* 123-124:445-462.

Comparación de dos formulaciones de progesterona en un protocolo de inducción de celos con inseminación artificial a tiempo fijo en vacas de carne en anestro posparto

Comparison of two progesterone formulations in an ovulation induction protocol with fixed-time artificial insemination in beef cows in postpartum anestrus

de Olarte C¹, Cavestany D^{2*}, de Nava G³

Recibido: 10/04/2013

Aprobado: 07/06/2013

RESUMEN

Se realizaron tres ensayos para comparar una progesterona natural (P4), inyectable, en base oleosa (MAD-4) con un dispositivo intravaginal impregnado con P4 (DIV). El protocolo fue: Día 0: 2 mg de benzoato de estradiol (BE) i/m más 320 (ensayo 1) o 200 (ensayos 2 y 3) mg de MAD-4 s/c o inserción de un DIV; Día 7: 0,15 mg de D-Cloprostenol (PG) i/m más 400 UI de eCG i/m y retiro de los DIV; Día 9: 8 µg de Acetato de Buserelina (GnRH) i/m; Día 10: IATF. Los porcentajes de preñez (PP) a la IATF fueron: 31,6% en el ensayo 1, 13,5% en el ensayo 2, y 26,0% en el ensayo 3; hubo una diferencia ($P < 0,001$) de la formulación de P4 (ensayo 1: 47% DIV vs. 17% MAD-4; ensayo 2: 23% DIV vs. 5% MAD-4; ensayo 3: 43% DIV vs. 8% MAD-4). En el ensayo 3 hubo además diferencias en el PP según el

SUMMARY

Three trials were conducted to compare a natural, injectable, progesterone (MAD-4) with an intravaginal device (DIV). The protocol used was: Day 0: 2 mg of estradiol benzoate (BE) i/m plus 320 (trial 1) or 200 (trials 2 and 3) mg of MAD-4 s/c or insertion of a DIV; Day 7: 0.15 mg of D-Cloprostenol (PG) i/m plus 400 IU of eCG i/m and withdrawal of the DIV; Day 9: 8 µg Buserelin acetate (GnRH) i/m; Day 10: FTAI. The pregnancy rate (PR) to the ultrasound performed 30 days after the FTAI were: 31.6% in trial 1, 13.5% in trial 2, and 26.0% in the 3 trial; there was a significant difference ($P < 0.001$) of the P4 formulation (trial 1: 47% DIV vs. 17% MAD-4; trial 2: 23% DIV vs. 5% MAD-4; trial 3: DIV 43% vs. MAD-4 8%). In the three trials there were differences in PC with ovarian status at the

¹: DCV, ejercicio liberal, Uruguay ²: DV, PhD, Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria, UdelaR

³: DV, MSc, ejercicio liberal, Salto, Uruguay * : Autor para correspondencia: daniel.cavestany@gmail.com

estado ovárico al inicio del protocolo: 19% anestro profundo, 30% anestro superficial, y 46% ciclando (3,8%). Las primíparas presentaron mejor PP que las multíparas en el ensayo 2 (28% vs. 18%). En el ensayo 1 el estado corporal al inicio afectó el PP (9% para ≤ 3 , 21% para 3,5, 35% para 4 y 35% para $\geq 4,5$; $P < 0,05$). En las condiciones en que se realizaron estos trabajos, la progesterona inyectable no sería un buen remplazo para el dispositivo intravaginal para realizar un protocolo de inducción de celos con IATF en vacas de carne en anestro posparto.

beginning: 19% for deep anestrus, 30% for shallow anestrous, and 46% for cycling (that represented a 3.8%). Primiparous presented better PC than the multiparous in trial 2 (28% vs. 18%). In trial 1 the body condition score at the beginning of the protocol affected PC (9% for ≤ 3 , 21% for 3.5, 35% for 4 and 35% for ≥ 4.5 ; $P < 0.05$). It was concluded that, in the conditions in which these trials were done, injectable progesterone would not be a good replacement for intravaginal device in a protocol for induction of ovulation with FTAI in postpartum anestrous beef in cows.

PALABRAS CLAVE:

Progesterona, IATF, anestro posparto, vacas de carne.

KEYWORDS:

Progesterone, FTAI, postpartum anestrus, beef cows

INTRODUCCIÓN

La importancia del anestro posparto en los rodeos de cría radica en que es un factor limitante para alcanzar mejores desempeños reproductivos tanto para Uruguay (Rovira, 1973; Geymonat, 1985; Quintans, 2000) como para otros países con sistemas de producción más intensivos (Wiltbank, 1983; Short y col., 1990; Day, 2004). En los últimos años se han logrado importantes avances en la efectividad de los tratamientos para la inducción de la ovulación y la ciclicidad, los que asociados a la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), permiten lograr muy buenas tasas de preñez a nivel de campo. Con esta

tecnología se logra obtener más hembras preñadas en menos tiempo, mejorando el peso de los terneros al destete, a la vez que maximiza las ventajas de un eventual uso de genética superior (de Nava, 2008). La exposición a progesterona es un requisito indispensable para el reinicio de la actividad ovárica posparto y su inclusión es imprescindible para el éxito de cualquier tratamiento hormonal de anestro (Cavestany, 2002). Manteniendo la progesterona circulante elevada (> 2 ng/mL) mediante su administración exógena a concentraciones intermedias se logra mantener a los folículos

dominantes (Yavas y Walton, 2000a), escapando a la atresia y logrando que culmine la maduración como en una vaca ciclando. La maduración final de los folículos es provocada por la persistencia de progesterona y el pico de LH por el retiro de ésta por vía del incremento de estradiol y su feedback positivo (Johnson y col., 1991; Bergfeld y col., 1996; Borchert y col., 1999; Yavas y Walton, 2000a).

Existe poca información respecto a la administración parenteral de P4 natural en base oleosa de liberación lenta (Cavestany y col., 2008a) cuya ventaja radica en la simplicidad de su aplicación además de no generar residuos que contaminen el medio ambiente. Dado que esta formulación de progesterona es reciente, estos ensayos fueron diseñados para determinar su efectividad comparándola con un dispositivo vaginal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron tres ensayos; dos de ellos en el norte del país, en Caraguatá, Tacuarembó, Uruguay y el tercero en el sur, en el paraje Costas del Sarandí, Flores, Uruguay; se realizaron en la primavera-verano de 2009 en un total de 905 vacas de carne con ternero al pie. El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la Facultad de Veterinaria, UdelaR. La actividad ovárica se determinó por palpación rectal al inicio de los protocolos (Grunert y Berchtold, 1988),

clasificándolas en cíclicas cuando presentaban un cuerpo lúteo o un folículo de presumiblemente más de 10 mm y buen tono uterino, anestro superficial cuando se identificaban folículos de hasta 10 mm y anestro profundo cuando no se identificaban estructuras en el ovario (Bó y col., 2005).

Para el tratamiento hormonal, los animales fueron divididos a la mitad recibiendo al azar las dos fuentes de P4, de manera que la mitad de ellos recibió un dispositivo intravaginal (DIV) conteniendo 558 mg de P4 intravaginal y la otra mitad 200 mg de P4 por vía parenteral (MAD-4).

El protocolo consistió en Día 0: administración intramuscular (i/m) de 2 mg de BE (Estradiol 10, Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina), más aplicación de P4: 320 mg de P4 inyectable subcutáneo en base oleosa (Ensayo 1) o 200 mg (Ensayos 2 y 3) (MAD-4, Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) (Grupo MAD-4) o aplicación de dispositivo intravaginal (Cronipres monodosis, 558 mg de progesterona, Biogénesis Bagó, Uruguay) (Grupo DIV); Día 7: administración i/m de 0,15 mg de PG (D-Cloprostenol, Prostaglandina, Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina) más 400 UI i/m de eCG (Biogón, Biogénesis Bagó, Uruguay) y en el grupo DIV se retiraron los dispositivos intravaginales; Día 9: administración i/m de 8 µg de un análogo sintético de GnRH (Acetato de Buserelina, GnRH, Río de Janeiro, Santa Fe, Argentina); Día 10: IATF. En todos los grupos los tratamientos hormonales se

realizaron por la tarde y la IATF del día 10 por la mañana.

En todos los ensayos se utilizó semen congelado de probada fertilidad en programas comerciales de dos toros y un inseminador realizó todos los servicios. A los 15 días de terminada la IATF se introdujeron toros al rodeo al 4%, previamente examinados; a los 30 días de la IATF se realizó ecografía transrectal para diagnosticar la preñez a esa inseminación, con un equipo Aloka 500SSD y transductor linear de 5 MHz (Aloka, Tokio, Japón). Además se realizó la evaluación de los ovarios con la finalidad de determinar ciclicidad de los animales no gestantes.

Ensayo 1

Se utilizaron 307 vacas multíparas con cría al pie de razas Aberdeen Angus, Hereford y sus cruzas, con un promedio de 50 días posparto (rango de 40 a 70 días, de acuerdo a la fecha de entore previo) y un estado corporal (EC) al día del comienzo del ensayo de $3,9 \pm 0,1$ (promedio \pm e.e.m., escala del 1 al 8, Vizcarra y col., 1986). El EC se agrupó en cuatro categorías ≤ 3 , 3,5; 4 y $\geq 4,5$. Se realizó una exploración ginecológica al momento del tratamiento que reveló que 19% de los animales se encontraban en anestro profundo y 81% en anestro superficial; estos animales estaban distribuidos uniformemente entre grupos ($P > 0,1$). El EC promedio de $3,32 \pm 0,3$, sin diferencias por actividad ovárica. Al momento

del tratamiento, se colocaron tablillas nasales a todos los terneros, las cuales se mantuvieron por 10 días, hasta el momento de la IATF.

Ensayo 2

Se utilizaron también 307 vacas con cría al pie de raza Hereford y cruzas, de las cuales 155 eran primíparas y 152 multíparas, con ≥ 50 días posparto y un estado corporal promedio al día del comienzo del ensayo de $3,3 \pm 0,1$ (escala del 1 al 8). La exploración ginecológica de los animales realizada al inicio del tratamiento reveló un 51% de las vacas en anestro profundo y 49% en anestro superficial. El EC se agrupó en 2 categorías: ≤ 3 y $\geq 3,5$, no estudiándose este efecto sobre el porcentaje de preñez.

Ensayo 3

Se utilizó un lote de 291 vacas cruza Hereford x Red Angus compuesto por 130 vacas de primera cría (3 años) con un peso corporal promedio de $251,1 \pm 3,1$ kg, 161 vacas multíparas con $325,1 \pm 3,9$ kg de peso vivo. Todo el lote había sido destetado precozmente un mes antes y tenían, al momento del inicio de los tratamientos, un estado corporal promedio de $4,0 \pm 0,1$ (escala del 1 al 8). El EC se clasificó en 3 grupos: ≤ 3 , 3,5 y ≥ 4 . A la palpación rectal al inicio del tratamiento 40,2% de animales estaba en anestro profundo, 56,0% en anestro superficial y 3,8% ciclando.

Análisis estadístico

Los tres ensayos se analizaron de forma independiente y los porcentajes de preñez por tratamiento, lote y estado corporal se analizaron por chi cuadrado y las diferencias por regresión logística (SAS).

RESULTADOS

Ensayo 1

Se registró un efecto de la formulación de progesterona en el porcentaje de preñez, siendo éste de 47,3% para el DIV y 17,0% para el MAD-4 ($P < 0,0001$) (Figura 1).

La ecografía realizada 30 días después de la IATF reveló que 20,8% de las vacas estaban en anestro,

47,6% estaban vacías y ciclando y 31,6% estaban preñadas. En relación a la actividad ovárica diagnosticada al comienzo del tratamiento, 25% de las vacas en anestro profundo y 34,5% de las vacas en anestro superficial resultaron preñadas ($P > 0,1$). Independientemente de los tratamientos, el EC al inicio del ensayo afectó el porcentaje de preñez ($P < 0,01$), observándose un 9,3%, 20,6%, 35,0% y 35,1% de preñez en los grupos de estado corporal de ≤ 3 , 3,5, 4 y $\geq 4,5$ respectivamente (Figura 2).

Mientras que el porcentaje de vacas en anestro fue similar en ambos grupos, en el grupo MAD-4 se registraron más vacas ciclando vacías que en el grupo DIV (61% vs. 33%, $P < 0,001$).

Ensayo 2

Al igual que en el ensayo 1, la formulación de P4

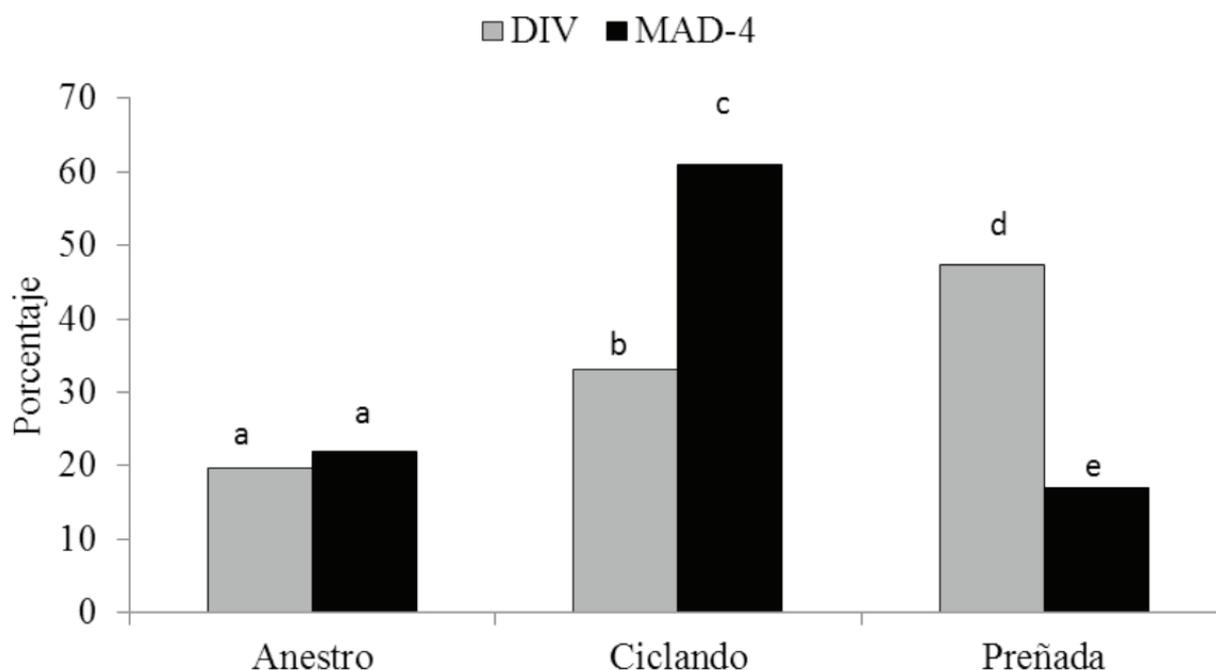


Figura 1. Porcentaje de vacas en anestro, ciclando y vacías y preñadas luego de la ecografía realizada 31 días luego de la inseminación en el Ensayo 1 (41 días luego del inicio de los tratamientos) (b, c: $P < 0,001$; d, e: $P < 0,0001$).

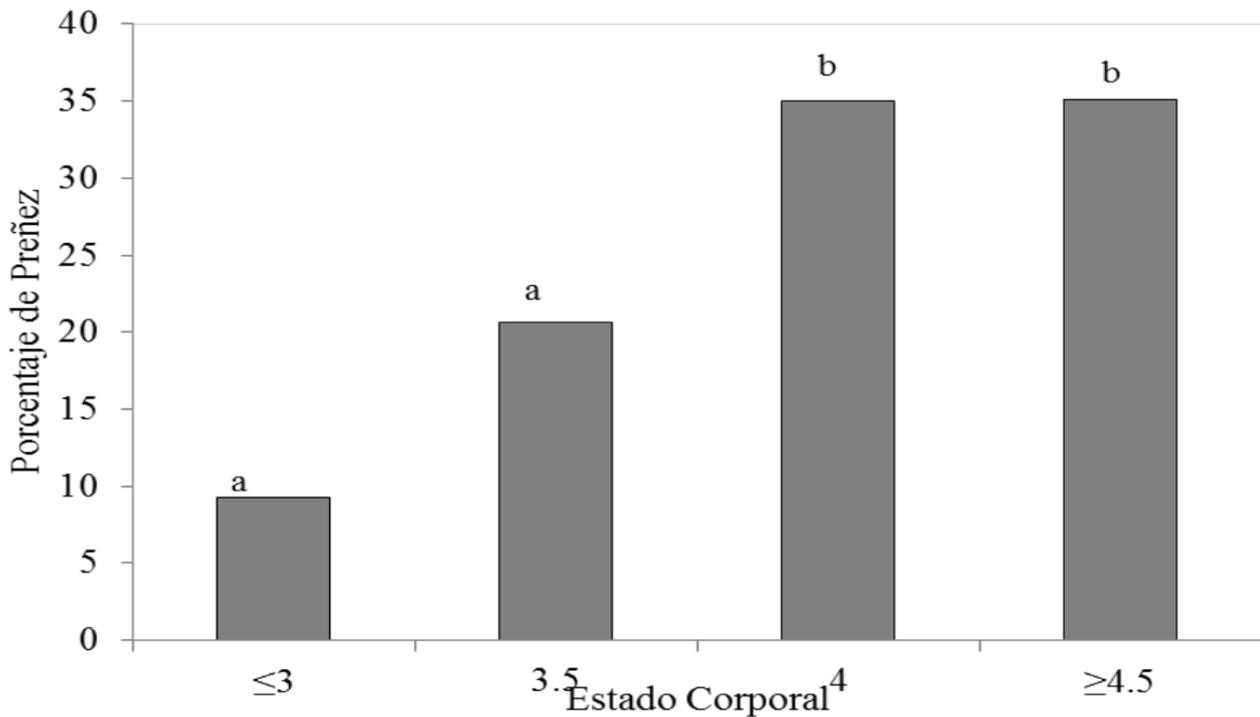


Figura 2. Porcentaje de preñez de acuerdo al estado corporal al inicio del tratamiento en el Ensayo 1 (a, b: $P < 0,01$).

afectó significativamente la preñez; mientras que la preñez del grupo DIV fue 23,1%, la del MAD-4 fue del 4,5% ($P < 0,001$). En los animales vacíos, el porcentaje de vacas en anestro profundo fue similar entre tratamientos (18,4% DIV vs. 21,3% MAD-4; $P > 0,1$), en vacas en anestro superficial se registró un mayor número de animales tratados con la P4 inyectable (11,6% DIV vs. 23,9% MAD-4; $P < 0,01$); finalmente, en las vacas ciclando los porcentajes fueron similares (46,9% DIV vs. 50,3% MAD-4; $P > 0,1$).

A los 30 días post IATF, el 19,9% de las vacas estaban en anestro profundo, 17,9% en anestro superficial, 48,7% ciclando y 13,5% estaban preñadas.

Independiente de los tratamientos, el porcentaje

de vacas en anestro profundo a los 30 días de los tratamientos fue mayor en primíparas que en multíparas (31,6% vs. 4,2%; $P < 0,01$), mientras que inversamente un menor número de vacas multíparas se encontraban en anestro superficial (4,0% vs. 19,7%; $P < 0,01$). Por su parte el porcentaje de vacas ciclando no mostró diferencias significativas (multíparas 36,8% vs. Primíparas 57,8%; $P > 0,05$).

Ensayo 3

La preñez del grupo DIV fue 43,4% y la del MAD-4 de 8,3% ($P < 0,001$). No hubo diferencias entre tratamientos según la paridad, con un 21,9% de preñez en vacas primíparas y 29,1% en las multíparas ($P = 0,1587$) ni según el EC, con un 29,2%, 20,2%,

Cuadro 1. Porcentaje de preñez según estado ovárico y fuente de progesterona en el Ensayo 3.

Estado ovárico	N	Dispositivo intravaginal	Progesterona inyectable
Anestro profundo	117	20,0 ^a (23/117)	4,2 ^b (5/117)
Anestro superficial	163	46,2 ^c (75/163)	11,4 ^d (19/163)
Ciclando	11	75,0 ^e (8/11)	19,2 ^f (2/11)

^{a, b}: P <0,0005; ^{c, d}: P <0,0001; ^{e, f}: P <0,01

Cuadro 2. Porcentaje de preñez en vacas de carne de acuerdo al tratamiento, edad, estado corporal y actividad ovárica en el Ensayo 3.

Categoría		Porcentaje de preñez		
TRATAMIENTO	N	PP ¹	OR ²	IC ³
DIV	146	43,4 ^a (63/146)	9,595	4,771-19,297
MAD-4	145	8,3 ^a (12/145)	1,0	Referente
EDAD				
Primípara	130	21,88 (28/130)	0,505	0,175-1,457
Múltipara	161	29,19 (47/161)	1,0	Referente
EC				
3	121	29,17 (35/121)	0,736	0,214-2,534
3,5	84	20,24 (17/84)	0,475	0,165-1,368
4	86	27,06 (23/86)	1,0	Referente
Actividad Ovárica				
AP	117	18,97 ^b (22/117)	0,183	0,038-0,870
AS	163	29,63 ^b (48/163)	0,326	0,074-1,441
Cicl.	11	45,45 ^b (5/11)	1,0	Referente

¹: Porcentaje de Preñez; ²: Odds Ratio; ³: Intervalo de Confianza de 95%; ^a: P <0,0001; ^b: P = 0,058.

27,0% de preñez para los grupos de ≤ 3 , 3,5 y ≥ 4 de estado corporal, respectivamente ($P=0,3453$). La actividad ovárica, sin embargo, sí mostró algunas diferencias con un 19,0% de preñez en las vacas que estaban en anestro profundo; 29,6% las que estaban en anestro superficial y 45,5% las que estaban ciclando al inicio del ensayo ($P<0,05$).

DISCUSIÓN

El promedio de preñez para los animales tratados con el dispositivo intravaginal fue del 47,3% (ensayo 1), 23,1% (ensayo 2) y 43,4 (ensayo 3). Usando programas similares pero usando BE como inductor de la ovulación, Bó y col. (2007) obtuvieron resultados de 52,7% con rangos de 27,8% a 75,0%. En nuestro país, de Nava (2008) en trabajos realizados sobre un total de 8.835 vacas con cría inseminadas en 90 programas de IATF llevados a cabo en predios comerciales entre el 2005 y el 2012, usando el mismo protocolo de estos ensayos, obtuvo una tasa de preñez promedio de 57,9%, con rangos de 40,4% hasta 72,1% (datos no publicados).

Luego de obtener bajos porcentajes de preñez con P4 inyectable en base oleosa (MAD-4) en el ensayo 1 donde la dosis fue 320 mg, ésta se redujo a 200 mg en los ensayos siguientes, aunque sin lograr mejores resultados. Un trabajo realizado por Cavestany y col. (2008b) comparó el porcentaje de preñez

en vaquillonas Holando en las que se utilizaron protocolos Ovsynch y Ovsynch+MAD-4 en dosis de 200 mg y 300 mg, en el que se obtuvieron porcentajes de preñez bajos para la P4 300 mg (31,4%), medios cuando no se administró P4 (41,7%) y un porcentaje de preñez del 50% para las tratadas con 200 mg de MAD-4, lo que indica que los animales que recibieron mayores dosis de P4 fueron los que presentaron menor fertilidad. En trabajos realizados por Costa y col. (2011) sobre vacas Holando posparto, la diferencia entre 22,2% de preñez en tratamientos con un dispositivo intravaginal y 18,6% con MAD-4 no fue estadísticamente significativa, a pesar de que antes de iniciar los tratamientos el 65% de los animales de cada grupo estaban ciclando. Cavestany y col. (2008a) sobre vaquillonas de la misma raza lograron una preñez de 21% a la IATF con un protocolo Ovsynch más 100 mg de MAD-4 en comparación con 57% para el Ovsynch tradicional. Estos autores concluyen que la adición de progesterona logró una mejor sincronización, pero una menor fertilidad. Andringa y col. (2013) observaron porcentajes de 30% de preñez para vacas Holando tratadas con 200 mg subcutáneos de MAD-4, en protocolo Heatsynch.

Existen numerosos trabajos de sincronización de celos utilizando distintos tipos de dispositivos intravaginales cuyas principales diferencias radican en su concentración de P4 y duración del dispositivo

en la vagina. En un trabajo realizado por de Nava y col. (2009) se comparó tres fuentes de P4: CIDR con 1,3 g de P4, DIV con 1 g de P4 reutilizado o esponja artesanal con 350 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) en vaquillonas Polled Hereford cíclicas. Se obtuvo un porcentaje de preñez de 57,0%, 46,0% y 61,5% respectivamente, sin diferencias estadísticas entre ellos. En otro trabajo de Callejas y col. (2009) también se estudió el efecto de diferentes cantidades de P4 en programas de IATF, resultando en 64,6% de preñez en aquellos que usaron un DIV nuevo, 57,3% en aquellos que usaron CIDR también nuevos y 50,0% de preñez para los que usaron CIDR pero de tercer uso. Se concluye con este experimento que CIDR nuevos o utilizados por tercera vez logran porcentajes de preñez similares a los obtenidos con un DIV nuevo. Rodríguez y col. (2011) realizaron otro trabajo sobre vaquillonas de carne donde utilizaron dispositivos intravaginales con 1,3 g o con 0,558 g de P4 logrando 69,0% y 65,5% de preñez respectivamente, lo que tampoco representa diferencias estadísticamente significativas. Similares resultados obtuvieron Lares y col. (2005) también sobre vaquillonas de carne, comparando dos dispositivos comerciales con 500 mg de P4, con tasas de preñez de 75,0% y 60,7%, respectivamente.

En el ensayo 3 no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de preñez entre primíparas y multíparas. Esta similitud pudo

deberse, a pesar de ser las vacas de primera cría una categoría crítica, al buen promedio de EC (4,0) que presentaba todo el lote al inicio de los tratamientos. Por el contrario, en el ensayo 2 sí existieron diferencias estadísticamente significativas a favor de las primíparas. Similares resultados obtuvieron Tenhaguen y col. (2004) en ganado lechero, utilizando protocolos Ovsynch, con resultados de 37,9% de preñez en primíparas vs. 31,6% en multíparas. Pancarci y col. (2002) observaron el mismo patrón comparando dos protocolos de sincronización de ovulación, Ovsynch vs. Heatsynch, en vacas lecheras lactantes presincronizadas con doble PG donde para ambos tratamientos los porcentajes de concepción en las vacas primíparas fueron más altos que en las multíparas (47,1% vs. 25,0%) y notaron también que a un EC ≤ 3 las multíparas tuvieron menores porcentajes de concepción, mientras que las primíparas se mantuvieron bastante constantes aun cuando su EC no era el mejor. Además, en multíparas con EC ≤ 3 el protocolo Ovsynch logró mejores tasas de preñez ya que inducir la ovulación con GnRH es más efectivo para vacas en anestro que BE ya que las vacas pueden no tener funcional el feedback positivo al estradiol.

El número de lactancias también afectó este parámetro, obteniéndose 48,8%, 48,2%, 43,1% y 40,5% tasas de preñez a la IATF en vacas de

1, 2, 3 y 4 o más lactancias, respectivamente. De esta manera se destaca que períodos posparto hasta la IATF más prolongados y un menor número de lactancias resultaron en mejores tasas de preñez. No se consideran datos respecto a la paridad en el ensayo 1 de nuestro experimento porque todas las vacas que formaron parte del mismo eran multíparas.

En el ensayo 1, se observó cómo el EC al inicio del tratamiento afectó los porcentajes de preñez mostrando mejores resultados a mayor EC. Lo mismo ocurrió en un ensayo realizado por Cutaia y Bó (2005) en ganado de leche donde los resultados de preñez a la IATF según EC fueron 32% para 1,5; 42% para 2, 50% para 2,5, 51% para 3, 56% para 3,5 y 57% para 4. Otro ensayo realizado por de Nava (datos no publicados citados en de Nava, 2011b) muestra el mismo efecto del EC sobre las tasas de preñez alcanzadas en programas de IATF en vacas Holando cíclicas que fueron de 32,4%, 41,0%, 50,9% y 50,9% para vacas con EC de 3 o menos, 4, 5 y 6 o más, respectivamente. Estos resultados muestran el efecto del EC en los resultados de preñez a la IATF. Este fenómeno, sin embargo, no se repitió en el ensayo 3 donde la preñez lograda en tres niveles de EC no mostró diferencias significativas. Tampoco se advirtió un efecto significativo del EC sobre los porcentajes de preñez en un experimento realizado por Veneranda y col. (2006) en ganado de leche donde los resultados fueron 28,6% para 2,5,

35,2% para 2,75, 38,8% para 3, 35,5% para 3,25 y 27,6% para 3,5. Tanto en el ensayo 1 como en el 2 la totalidad de los animales estaban en anestro; en el ensayo 1 la distribución entre AP y AS fue muy despareja (encontrándose la mayoría de los animales en AS) con resultados de preñez de 25,0% y 34,5%, respectivamente; y en el ensayo 2 la distribución al inicio fue mucho más uniforme, pero no se diferenció la preñez según anestro profundo o superficial. En el ensayo 3 fue el único donde se encontraron animales ciclando antes de comenzar el protocolo, aunque en un mínimo porcentaje y los animales en anestro se dividieron de forma bastante homogénea. Los resultados de preñez estuvieron muy influenciados por esta clasificación, mostrando valores muy superiores para los que estaban ciclando al inicio. Esta observación concuerda con lo ocurrido en un trabajo realizado por Menchaca y col. (2005) en vacas de primera cría carniceras donde se observó 65,0% de preñez en los animales que presentaban CL, frente a 59,8% en los que estaban en AS y 44,4% en los que se encontraban en AP. En otro trabajo realizado por Chebel y col. (2010) en vacas lecheras presincronizadas con doble PG, también se observó que las vacas clasificadas como cíclicas mostraron mejores porcentajes de preñez que las anéstricas, 38,2% vs. 29,3%. Otros estudios que analizaron más de 3000 servicios durante 7 años en vaquillonas de carne obtuvieron 49,0% de preñez en las que no estaban ciclando al

inicio de los tratamiento y 56,0% para las que si lo estaban (Colazo y col., 2009). González Chaves y col. (2009) por su parte realizaron un experimento en vacas Angus con cría al pie, donde los resultados de preñez fueron de 15,4% para los que estaban en AP al inicio, 22,2% para las vacas que estaban en AS y 47,4% para aquellas que estaban ciclando. Cabe destacar que casi la totalidad de los vientres de nuestro experimento se encontraban en anestro, lo que probablemente influyó negativamente sobre las tasas de preñez obtenidas.

En el ensayo 3 fue en el único donde se diferenció la preñez según las combinaciones de estado ovárico y fuente de progesterona. Este análisis mostró que si se hubiese seleccionado solo las vacas en anestro superficial y ciclando, rechazando así las que estaban en anestro profundo el día de la palpación, se hubieran logrado porcentajes de preñez superiores a 50% el primer día de su estación reproductiva usando un dispositivo intravaginal. Este resultado concuerda con la metodología de trabajo para instrumentación de un protocolo de inducción de la ovulación asociado a IATF propuesto por de Nava (2008)

Existen diferentes estrategias para aumentar la fertilidad de las vacas con cría al pie y pobre EC. Por un lado están las estrategias de manejo como ser destete temporario mediante entablillado de

los terneros durante 10-14 días que se utilizó en el ensayo 1, y por el otro lado están los tratamientos hormonales como la adición de eCG al protocolo de sincronización (Cutaia y Bó, 2005). En el ensayo 1, como se mencionó anteriormente, se realizó un destete temporario con tablillas nasales durante los 10 días que duró el protocolo. Si bien en nuestro trabajo no se probó la efectividad de este método, hay otros experimentos que si lo han hecho. Bó y col. (2005) realizaron un estudio sobre vacas cruza cebú con cría al pie en dos años consecutivos, donde concluyeron que el efecto del entablillado de los terneros sobre las tasas de preñez es sensible a las condiciones del año en que se trabaja. En el primer año de estudio, las vacas se encontraban con buena disponibilidad de forraje por lo que tuvieron una respuesta inmediata al entablillado (46,7% vs. 39,7%).

En el trabajo realizado por Costa y col. (2011), citado anteriormente, también se observó que la actividad ovárica al comienzo del protocolo influyó en la fertilidad independientemente del protocolo utilizado (DIV o MAD-4) con resultados de 10,3% vs. 25,4% para vacas en anestro y ciclando, respectivamente. En las primíparas se aprecia una significativa diferencia en los porcentajes de preñez de acuerdo a la actividad ovárica, ya que en las vacas ciclando la preñez fue del 32,7% y en las anéstricas del 4,0%, por el contrario, de las múltiparas cíclicas se preñaron 13,4% mientras que las que estaban

en anestro se preñaron el 20,0%, no siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Los porcentajes de preñez a la IATF determinados por ultrasonografía 30 días después de la IATF son concluyentes a la hora de pensar en una posible sustitución de los dispositivos intravaginales por una presentación inyectable en ganado de carne, ya que en cada uno de ellos los DIV mostraron resultados notoriamente superiores. Los porcentajes obtenidos con MAD-4 influyeron negativamente en los porcentajes globales de preñez.

CONCLUSIONES

La progesterona inyectable, en las dosis y excipientes utilizados en este ensayo, no sería un buen remplazo para el dispositivo intravaginal utilizado para inducir y sincronizar la ovulación en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas para carne en anestro posparto.

De forma secundaria, se deduce que las vacas que se encuentran ciclando normalmente previo al inicio de un programa de manejo reproductivo tienen mayor probabilidad de concebir, y que ésta probabilidad disminuye a medida que se profundiza el anestro, razón por la cual se recomienda palpar los animales previo al inicio de los tratamientos para evitar incluir a aquellos en anestro profundo.

En tercer lugar se muestra que las vacas primíparas presentan una mejor respuesta a los protocolos

de sincronización de la ovulación y que a mejor estado corporal, se obtienen mejores porcentajes de preñez.

BIBLIOGRAFÍA

1. Andringa MFA, van Eerdenburg FJCM, Fernández E, García S, Cavestany D. (2013). Comparison between two sources of progesterone and two formulations of oestradiol in a HeatSynch protocol in postpartum cycling dairy cows in pasture. *J Vet Sci* (en prensa).
2. Bergfeld EG, Kojima FN, Cupp AS, Wehrman ME, Peters KE, Sanchez T, Kinder JE. (1996). Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 beta-estradiol in bovine females. *Biol . Reprod* 54:546-553.
3. Bó GA, Cutaia L, Chesta P, Balla E, Picinato D, Peres L, Maraña D, Baruselli, PS. (2007). IATF ¿Cómo tener los mejores resultados? *Revista Brangus Bs As* 29:84-90.
4. Bó GA, Cutaia L, Chesta P, Balla E, Picinato D, Peres L, Maraña D, Áviles M, Menchaca A, Veneranda G, Baruselli PS. (2005). Implementación de programas de inseminación artificial en rodeos de cría de Argentina. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina, pp. 97-128.

5. Borchert KM, Farin CE, Washburn SP. (1999). Effect of estrus synchronization with norgestomet on the integrity of oocytes from persistent follicles in beef cattle. *J Anim Sci* 77:2742-2748.
6. Callejas S, Gonzalez Chaves S, Uslenghi G, Massara N, Cledou G, Cabodevila J. (2009). Efecto de la utilización de dispositivos intravaginales con diferentes cantidades de progesterona sobre el porcentaje de preñez a la inseminación artificial a tiempo fijo en vacas con cría. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. Disponible en CD.
7. Cavestany D, Fernández D, Salazar E, Sánchez A, Leyton L, Crespi D. (2008a). Determinación de niveles de progesterona en sangre luego de la administración parenteral de progesterona en vacas Holando ovariectomizadas o ciclando. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, pp. 218-219.
8. Cavestany D, Sanchez A, Fernandez D, Salazar E, Leyton L, Crespi D, Meikle A. (2008b). Evaluation of slow-release parenteral natural progesterone and its effects in a modified Ovsynch protocol in Holstein dairy heifers. 16th ICAR. Budapest, Hungría.
9. Cavestany D. (2002). Sincronización y/o inducción de celos con o sin inseminación artificial a tiempo fijo en rodeos de Uruguay. Costos y variaciones en las respuestas. Primera parte: fundamentos teóricos. XXX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, pp. 143-163.
10. Colazo MG, Mapletoft RJ, Martínez MF, Kastelic JP. (2009). Selección de los tratamientos hormonales disponibles en el mercado para la sincronización de celos en vaquillonas de carne. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. , Disponible en CD.
11. Costa G, Peñagaricano J, Pombo I. (2011). Comparación entre una fuente de progesterona inyectable y un dispositivo intravaginal administradas en un protocolo Heatsynch en vacas Holando posparto ciclando y en anestro. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay, 73 p.
12. Cutaia L, Bó GA. (2005). Efecto de la condición corporal de los vientres sobre los porcentajes de preñez obtenidos en programas de inseminación artificial a tiempo fijo. Disponible en: http://www.produccionbovina.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/34-efecto_cc_sobre_ia_a_tiempo_fijo.htm. Fecha de consulta 23/03/12.
13. Chebel R, Al-Hassan M, Fricke P, Santos E, Lima J, Martel C, Stevenson J, García R. (2010). Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during

- ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 93:922-931.
14. Day ML. (2004). Hormonal induction of estrous cycles in anestrous *Bos Taurus* beef cows. *Anim Reprod Sci* 82-83:487-494.
15. de Nava GT. (2011). Un manejo reproductivo controlado en tambos de Uruguay. XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, pp. 35-45.
16. de Nava GT, Rodríguez Sabarrós M, Romero D, Rodríguez Galluzo J, Gil A. (2010). Resultados de cuatro años de aplicación de un programa de inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras coincidente con el primer día de la estación reproductiva invernal. XXXVIII Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay, pp. 106-107.
17. de Nava GT, Rodríguez Sabarrós M, Corti M, Martínez M, Tutt D. (2009). Efecto de diferentes fuentes de progesterona y GnRH en el resultado de un programa de IATF en vaquillonas. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. Disponible en CD.
18. de Nava GT. (2008). Un tratamiento para la inducción de la ovulación en vacas con cría al pie asociado a inseminación artificial a tiempo fijo. Seminario de Actualización Técnica: Cría Vacuna. INIA, Serie Técnica 174:182-188.
19. Geymonat DH. (1985). Tecnologías de manejo para el control del anestro posparto. En: Serie de Reproducción Animal. Posparto en la hembra bovina. IICA, Montevideo, pp. 65-98.
20. González Chaves S, Uslenghi G, Cledou G, Cabodevila J, Callejas S. (2009). Porcentaje de preñez en vacas con diferentes estructuras ováricas tratadas con dispositivos intravaginales con distintas cantidades de progesterona. VIII Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina. Disponible en CD.
21. Grunert E, Berchtold M. (1988). Infertilidad en la vaca. Montevideo, Agropecuaria Hemisferio Sur, 475 p.
22. Johnson SK, Lewis PE, Inskeep EK. (1991). Steroids and cAMP in follicles of postpartum beef cows treated with norgestomet. *J Anim Sci* 69:3747-3753.
23. Lares S, Fernández-Francia G, Formía N, Giovaninni R, Massara N, de la Sota RL. (2005). Eficacia de la utilización de un dispositivo intravaginal con progesterona monouso sobre la tasa de preñez en vaquillonas para carne de 15 meses. VI Simposio Internacional de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina, pp. 405-405.
24. Menchaca A, López G, Chifflet N. (2005). Respuesta a la IATF en vacas primíparas con distintos estatus ovárico. VI Simposio Internacional

- de Reproducción Animal (IRAC), Córdoba, Argentina, pp. 409-409.
25. Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ, Lopes F, Moreira F, Thatcher W. (2002). Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 85(1):122-131.
26. Quintans G. (2000). Importancia del efecto del amamantamiento sobre el anestro posparto en vacas de carne. Estrategia para acortar el anestro posparto en vacas de carne. INIA, *Seria técnica* 108:29-33.
27. Rodríguez A, Celhay S, de Nava G, Cavestany D. (2011). Efecto de dispositivos intravaginales con diferentes concentraciones de progesterona sobre el porcentaje de preñez en vaquillonas de carne inseminadas a tiempo fijo. XV Congreso Latinoamericano de Buiatría. Paysandú, Uruguay.
28. Rovira J. (1973). Reproducción y manejo de los rodeos de cría. Montevideo. Hemisferio Sur, 293 p.
29. Short RE, Bellows RA, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Custer EE. (1990). Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J Anim Sci* 68:799-816.
30. Veneranda G, Filippi L, Balla E, Racca D, Marenaña Peña P, Pincinato D, Romero G, Cutaia L, Bó G. (2006). Porcentajes de preñez en vacas de leche tratadas con diferentes protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo utilizando dispositivos intravaginales con progesterona. Disponible en: http://www.produccionbovina.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/61-prenez_diferentes_protocolos.pdf. Fecha de consulta 23/03/12.
31. Vizcarra J, Ibañez W, Orcasberro R. (1986). Repetibilidad y reproductibilidad de dos escalas para estimar la condición corporal de vacas Hereford. *Investigaciones Agronómicas* 7:45-47.
32. Wiltbank JN. (1983). Maintenance of a high level of reproductive performance in beef cow herds. *Veterinary Clinics of North America. Large Animal Practice* 5:41.
33. Yavas Y, Walton J. (2000). Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows. A review. *Theriogenol* 54:1-23

Leucosis Bovina Enzoótica en cuencas lecheras de productores familiares del Uruguay

Enzootic Bovine Leukosis in family farmers from Uruguay

Furtado A.¹, Rosadilla D.¹, Franco G.¹,
Piaggio J.², Puentes R.^{1*}

Recibido: 06/12/2012
Aprobado: 15/04/2013

RESUMEN

La Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es una enfermedad causada por un Retrovirus, con altas prevalencias en los sistemas de producción lechera a nivel mundial. En este trabajo se estudiaron 689 vacas en producción de 41 establecimientos de productores familiares pertenecientes a cuencas lecheras del centro del país (Departamentos de Durazno, Florida y Tacuarembó). Las muestras fueron procesadas por la técnica de Inmunodifusión en gel agar y los resultados revelaron un porcentaje de positividad serológica del 10,4% (IC 95% 8,3% a 13,0%) de los animales. Analizados por departamento, se encontró un 11%, un 14 % y 9 % de animales positivos en Durazno, Florida y Tacuarembó respectivamente. La baja prevalencia para LBE en estas cuencas com-

ABSTRACT

Enzootic Bovine Leukosis (EBL) is a disease caused by a Retrovirus, with high prevalence at worldwide level in dairy production systems. In this study, 689 cows on production from 41 establishments belonging to family farmers located in the dairy regions of the center of the country were studied (Departments of Durazno, Florida and Tacuarembó). The samples were processed by agar gel immunodiffusion (AGID) and the results revealed that a percentage of 10.4% (95% CI 8.3% to 13.0%) of the animals were seropositive. Analyzed by Department, it was found an 11%, 14% and 9% of positive animals in Durazno, Florida and Tacuarembó respectively. The low prevalence of LBE in these basins compared with other studies in Uruguay, with prevalence rang-

¹Área de Inmunología – Dpto. Ciencias Microbiológicas – Facultad de Veterinaria – UdelaR
Uruguay (UdelaR). Lasplaces 1550 CP11600 Tel +59826281303

²Área de Bioestadística – Facultad de Veterinaria – UdelaR.

* Autor para correspondencia rpuentes@adinet.com.uy

parada con otros estudios en el Uruguay, con prevalencias que van desde un 50% a 73%, podría deberse entre otras cosas a la sensibilidad de la técnica utilizada o a diferencias en el tipo de producción, manejo sanitario y/o reproductivo de los animales, teniendo en cuenta que las principales vías de transmisión horizontal de la enfermedad son iatrogénicas, durante maniobras como la vacunación y tactos rectales. Este es el primer reporte de LBE en rodeos de pequeños productores lecheros del Uruguay.

PALABRAS CLAVE:

Retrovirus, Leucosis Bovina, Uruguay.

ing from 50% to 73%, could be due among others to the sensitivity of the AGID or to differences in the production systems, health management and/or breeding of animals, given that the main routes of horizontal transmission of the disease is iatrogenic, during maneuvers such as vaccination and digital rectal examination. This is the first EBL report in cows from family farmers from Uruguay.

KEYWORDS:

Retrovirus, Enzootic Bovine Leukosis, Uruguay.

INTRODUCCIÓN

Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) es una enfermedad infecto-contagiosa causada por un Retrovirus del género Deltavirus (ICTV, 2009). Está distribuida a nivel mundial y su introducción en América del sur posiblemente haya ocurrido mediante la importación de bovinos infectados provenientes de Europa y de los Estados Unidos (Carvalho y col., 1998). Tiene importante incidencia en sistemas de producción lechera, afectando de forma natural a bovinos, los cuales luego de la infección permanecen portadores de por vida (Kettmann y col., 1994). El virus de la LBE está presente sobre todo en los linfocitos de los animales infectados y la transmisión horizontal

de la enfermedad ocurre principalmente a partir de sangre infectada, generalmente por malas prácticas en los establecimientos, como el uso de los mismos guantes para la realización de tactos rectales en vacas o las mismas agujas para la vacunación de más de un animal (Hopkins y col., 1988; Lassauzet y col., 1990). Las pérdidas vinculadas a esta enfermedad son principalmente debidas a restricciones en el comercio de ganado bovino en pie, semen y embriones, ya que la tendencia mundial es a la erradicación de dicha enfermedad. Muchos países europeos ya implementaron campañas de control o erradicación y no permiten la importación de animales serológicamente positivos o productos derivados de

estos (Johnson y Kaneene, 1991, Kobayashi y col., 2010). Las primeras evidencias de la enfermedad en nuestro país fueron presentadas en la década del 60 por Quiñones y Casas (1963), habiendo en la actualidad algunos reportes serológicos en cuencas lecheras, con prevalencias que van desde 50% (Collazo y col., 2002) hasta el 77% (Zaffaroni y col., 2007). Sin embargo no existe hasta el momento en la literatura estudios realizados sobre esta enfermedad en pequeños productores familiares del Uruguay.

El propósito de este trabajo fue reportar la presencia de anticuerpos contra Leucosis bovina en una población de animales pertenecientes a productores lecheros familiares (menos de 30 vacas) de los departamentos de Durazno, Florida y Tacuarembó y que remiten su producción a la industria Láctea local (Nutrísima).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un muestreo de conveniencia en los departamentos de Durazno, Florida y Tacuarembó, comprendido por todos los bovinos adultos de aptitud lechera, pertenecientes a productores familiares con menos de 30 vacas o vaquillonas y que remitían a la industria láctea local "Nutrísima". Se obtuvieron muestras de sangre de todos los animales que se encontraban en producción en el predio, no distinguiéndose la edad y/o el número de lactancias de cada animal. El total de muestras

sumó 689 sueros pertenecientes a 41 productores familiares entre los tres departamentos.

Las muestras fueron obtenidas de la vena coccígea con jeringa estéril, sin anticoagulante y el suero extraído a las 24 horas por centrifugación a 3000 RPM durante 15 minutos. Los sueros fueron conservados a -20 °C hasta su procesamiento. Para el análisis de las muestras, se utilizó la técnica de Inmunodifusión en gel agar (IDGA) (OIE, 2012). La misma fue realizada utilizando un kit comercial gentilmente cedido por la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de La Plata – Argentina. Las muestras fueron procesadas siguiendo las indicaciones del fabricante (FCV-UNLP-Argentina).

La prevalencia real (PR) se estimó a partir del resultado obtenido para la prevalencia aparente (PA) ajustado por la sensibilidad (SE) y especificidad (ESP) diagnóstica según información descrita por Rama y col., (2010) para el kit de IDGA utilizado. Así, $PR = [PA + (ESP - 1)]/[SE - (ESP - 1)]$.

El intervalo de confianza 95% (IC 95%) para la proporción de animales se calculó por la Distribución Binomial. Para evaluar las diferencias entre departamentos se ajustó un modelo de regresión logística incluyendo el establecimiento como un cluster, utilizando el software Stata 11.2 (StataCorp LP, College Station TX, USA).

RESULTADOS

De las 689 muestras procesadas para LBE, el 10,4% resultaron reaccionantes positivas a la técnica de IDGA. Teniendo en cuenta la sensibilidad y especificidad de la técnica utilizada, se estimó una prevalencia real de 14,5%. Por Departamento los porcentajes de positividad fueron de 11 % (n=332) en Durazno, 14% (n=72) en Florida y 9 % (n=285) en Tacuarembó, sin diferir significativamente ($p>0.05$). A nivel de establecimientos, del total de productores estudiados, el 56.1% (n=23) tenían al menos un animal serológicamente positivo al virus de LBE y solo en dos de estos 23 establecimientos el porcentaje de positividad de los animales superó el 50% (figura 1). En ningún establecimiento se detectó como positivos al 100% de los animales

muestreados.

DISCUSIÓN

Se determinó el porcentaje de reaccionantes positivos contra Leucosis Bovina en todas las vacas y vaquillonas en producción, pertenecientes a pequeños productores familiares (menos de 30 animales) de los Departamentos de Durazno, Florida y Tacuarembó, que remitían su producción a la industria láctea local "Nutrísima". Los resultados encontrados relevan un muy bajo porcentaje de positivos (PA=10,4%, PR= 14,5%) en comparación con los antecedentes mas recientes descritos anteriormente para el Uruguay (Zaffaroni y col., 2007). Las causas de las diferencias encontradas

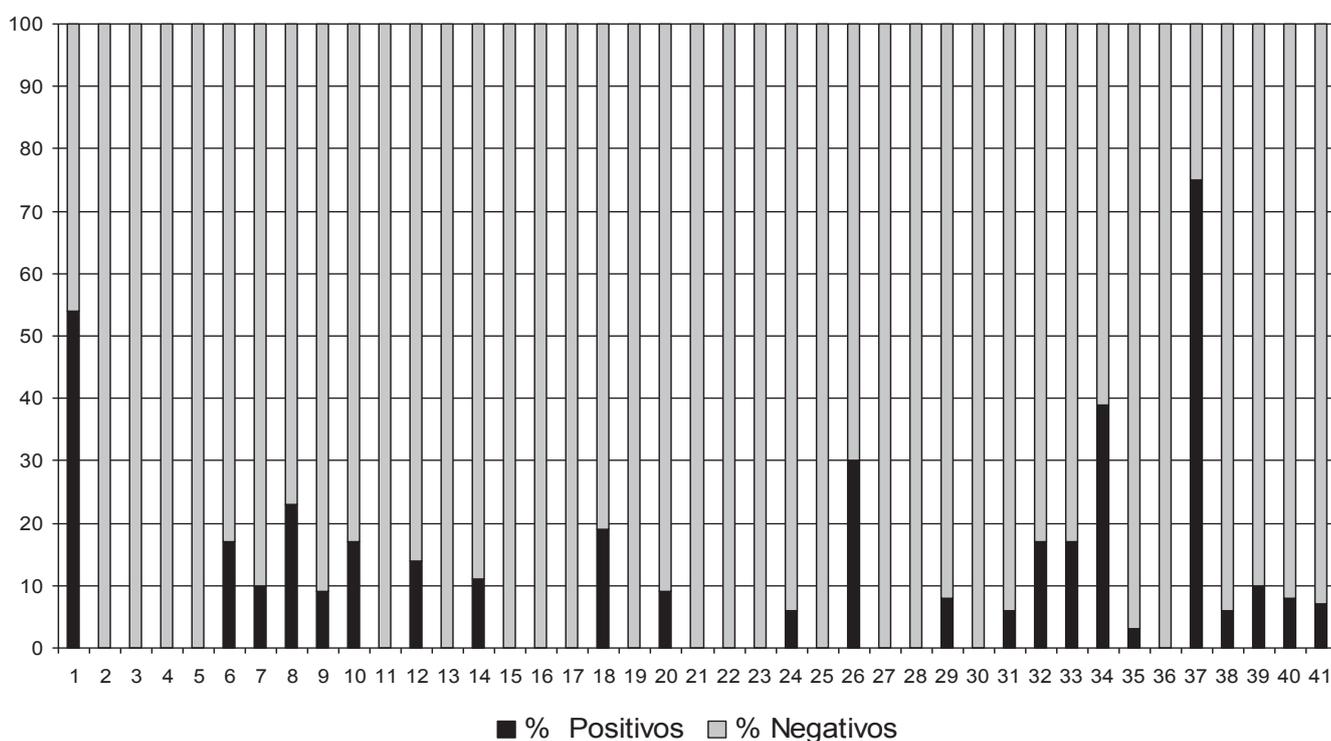


Figura 1.

pueden ser varias y deben ser cuidadosamente analizadas.

Por un lado, en este trabajo se utilizó la técnica de Inmunodifusión en gel Agar que presenta una menor sensibilidad respecto a otras técnicas diagnósticas. En un estudio reciente, hemos comparado la sensibilidad de la IDGA utilizando como referencia a un ELISA comercial, encontrándose que la misma posee una sensibilidad de 72% y una especificidad del 100% (Rama y col., 2010). Esto significa que en el presente estudio, la prevalencia encontrada puede estar subestimada por la técnica utilizada. Sin embargo, tanto el ELISA como la IDGA son técnicas serológicas aceptadas para su utilización con fines diagnósticos por la Organización Mundial de Sanidad animal (OIE, 2012). Por otro lado, Nava y col. (2012) sugieren que la IDGA es una prueba adecuada para estudios epidemiológicos en poblaciones con alta prevalencia del Leucosis bovina, por ser baja la posibilidad de generar resultados falsos positivos. En este sentido, en Uruguay los antecedentes mas recientes indican que la prevalencia de anticuerpos contra Leucosis bovina en ganado lechero se ubica en torno a 50 a 77% (Zaffaroni y col., 2007), valores que pueden considerarse altos o muy altos. En base a esto, se puede decir que la utilización de la IDGA para el propósito del trabajo, fue adecuada. Sin embargo, si la prevalencia real de la enfermedad en productores familiares es menor a la encontrada hasta el

momento en el país, probablemente la técnica de ELISA debería ser la herramienta empleada en futuras investigaciones sobre esta enfermedad, en esta categoría de productores.

Por otro lado, otras causas que podrían estar influyendo en la baja prevalencia encontrada en este trabajo, podrían ser las diferencias genéticas y de manejo utilizadas por estos productores comparándolos con productores de mayor escala. Esto es trascendente, si tenemos en cuenta que el contagio de la enfermedad más importante es a través de la transmisión horizontal producida por iatrogenia. Se ha demostrado que la aplicación de inyectables a varios animales con la misma aguja, el tacto rectal sin el cambio de guantes entre animales o la utilización de cualquier instrumento veterinario que pudiera vehiculizar pequeñas cantidades de sangre de animales infectados, es una fuente importante de contagio para animales negativos (Hopkins y col., 1988, Lassauzet y col., 1990). Además, la selección de animales de alto potencial genético para la producción de leche, es otro factor que podría influenciar la mayor prevalencia en los rebaños grandes, ya que se ha demostrado mayor susceptibilidad o resistencia al virus en función del polimorfismo del gen BoLA-DRB3.2 (Lewin, 1994). En este sentido, la producción familiar muchas veces se encuentra comprometida del punto de vista económico, lo que limita la aplicación de recursos para la realización de diagnósticos de

enfermedades, programas sanitarios y reproductivos o selección de animales por su potencial genético. Estas podrían ser otras de las causas que explicarían la menor prevalencia de la enfermedad en rodeos de pequeños productores (Grau y Monti, 2010).

También es importante destacar el hecho de que Uruguay se ha caracterizado desde hace mucho tiempo por la exportación de ganado bovino de la raza Holando “libre de Leucosis bovina” para diversos países de la región y fuera de la misma. Esto ha incidido sin duda directamente sobre la prevalencia de la enfermedad en este país. Aunque no se han realizado relevamientos representativos de todo el territorio nacional, la extracción constante de animales negativos para la exportación, supone de alguna manera una selección negativa en el rodeo y un aumento progresivo de la prevalencia de la enfermedad. Sin embargo, esta situación no es de gran importancia en el caso de productores familiares que generalmente no participan en este comercio de animales, ya que sus ingresos son principalmente generados por la producción y venta de leche a pequeña escala. Por lo tanto, esta podría ser otra causa que explicaría de alguna manera la baja prevalencia de la enfermedad encontrada en esta categoría de productores.

Sobre un total de 689 animales muestreados correspondientes a 41 establecimientos de pequeños productores lecheros y distribuidos en distintas

localidades de los Departamentos de Durazno, Florida y Tacuarembó, se determinó un porcentaje de seropositividad del 10,4 % (prevalencia real = 14.5%). Si los establecimientos muestreados fueran representativos de los pequeños productores (con menos de 30 animales), se podría inferir que la proporción de vacas seropositivas por IDGA en los mismos se encuentra entre 8.3% y 13.0% (IC95% Distribución Binomial). Lamentablemente no existe en la literatura, estudios en Uruguay que pudieran compararse con estos resultados. Sin embargo, trabajos realizados en la provincia de Corrientes (Argentina) (Jacobo y col., 2007), en poblaciones similares a las del presente trabajo, con pequeños productores lecheros, encontraron una prevalencia de 18.85%, con un rango comprendido entre 7.55 y 24.49% según la localidad muestreada. En Chile, Grau y Monti (2010) recientemente analizaron por la técnica de ELISA, 4.360 animales de predios pequeños (menos de 40 animales), medianos (entre 40 y 200 animales) y grandes (mas de 200 animales), encontrando una prevalencia aparente de 2.1%, 10.1% y 30.1% en los predios pequeños, medianos y grandes respectivamente. Estas diferencias significativas ($P \leq 0,05$), indican una notable variación de prevalencias en los predios de mayor tamaño, que presentan niveles altos de infección (Grau y Monti 2010). Esta tendencia coincide además con lo encontrado anteriormente por Gottschau y col (1990) en Dinamarca.

En cuanto a la edad del animal o lactancia, no se recabó dicha información, debido al hecho de que algunos productores no llevaban registros confiables de sus animales. Por lo tanto no se pudo analizar la presencia de anticuerpos contra LBE, en función de si eran animales jóvenes o adultos. En este sentido, Grau y Monti (2010), no encontraron diferencias significativas, indicando que no habría una variación significativa en la susceptibilidad en cuanto a la edad del animal muestreado.

Finalmente, al analizar los establecimientos por separado, encontramos que el 56.1% (n=23) estaban infectados con el virus de la Leucosis bovina, definiendo como “predio infectado” aquellos que presentaron al menos un animal seropositivo. Estos resultados son un poco más altos, que los encontrados por Grau y Monti (2010) en Chile, donde el 23% de los predios pequeños, el 43.5% de los predios medianos y el 83.3% de los predios grandes, estaban infectados. Sin embargo, si bien encontramos una alta cantidad de predios infectados, solamente dos de ellos, poseían más de la mitad del rodeo seropositivo. Esto indica que si bien la enfermedad está difundida entre los establecimientos analizados, son muy pocos los predios que tienen prevalencias similares a los estudios realizados previamente en Uruguay.

Este trabajo es el primer antecedente que se genera sobre Leucosis bovina en cuencas de pequeños productores familiares del Uruguay. Los resultados

indican una baja prevalencia de la enfermedad, lo que concuerda con otros estudios de la región. Otras investigaciones deben ser realizadas, analizando otras cuencas de pequeños productores y utilizando técnicas más sensibles para determinar la real prevalencia de la misma en el país en esta categoría de productores.

AGRADECIMIENTOS

A la industria láctea local “Nutrísima” y a los productores lecheros de los Departamentos de Durazno, Florida y Tacuarembó por colaborar en este proyecto

BIBLIOGRAFÍA

1. Carvalho A, Almeida JC, Guimarães L, Estanislao P, Freitas JC, Santos C. (1998). Anticorpos contra o vírus da Leucose Bovina em animais da raça leiteira importados do Uruguay. *Pesq Agrop Gaúcha* 4:35-38.
2. Collazo L, Sienna R, Irabuena O, Guarino H, Navarro M, Lavarello L. (2002). Estudio epidemiológico de la Leucosis Bovina Enzoótica em ganado lechero. XXX Jornadas Uruguayas de Buiatria, Uruguay.
3. Gottschau A, Willeberg P, Franti C, Flensburg J. (1990). The effect of a control program for en-

- zootic bovine leukosis. Changes in herd prevalence in Denmark 1969-1978. *Am J Epidemiol* 131:356-364.
4. Grau, M, Monti, G. (2010). Between and within-herd seroprevalence for bovine leukosis virus infection in dairy herds from southern Chile. *Arch Med Vet* 42:87-91.
 5. Hopkins SG, Evermann JF, DiGiacomo RF, Parish SM, Ferrer JF, Smith S, Bangert RL. (1988). Experimental transmission of bovine leukosis virus by simulated rectal palpation. *Vet Rec* 122:389-391.
 6. ICTV (2009). International Committee on Taxonomy of Viruses. Master Species List - Version 6.
 7. Jacobo R, Storani C, Cipolini M, Martínez D. (2007). Seroprevalencia de Leucosis bovina en rodeos lecheros de la provincia de Corrientes. *Rev Vet* 18:29-32.
 8. Johnson R, Kaneene J. (1991). Bovine Leukemia Virus. Part IV: Economic impact and control measures. *Compendium on Continuing Education for Practicing Veterinarian*, Trenton 13:1727-1737.
 9. Kettmann R, Burny A, Callebaut I, Droogmans L, Mammerick M, Willens L, Portetelle D. (1994). Bovine leukaemia virus, in: Levy JA (Ed.), *The Retroviridae*, Plenum Press. 39-81
 10. Kobayashi S, Tsutsui T, Yamamoto T, Hayama Y, Kameyama K, Konishi M, Murakami K. (2010). Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan. *BMC Vet Res* 6:1-6.
 11. Lassauzet ML, Thurmond MC, Johnson WO, Stevens F, Picanso JP. (1990). Effect of brucellosis vaccination and dehorning on transmission of bovine leukemia virus in heifers on a California dairy. *Can J Vet Res* 54:184-189.
 12. Lewin HA. (1994). Host genetic mechanism of resistance and susceptibility to a bovine retroviral infection. *Anim Biotechnol* 5:183-191.
 13. Nava Z, Obando C, Bracamonte M, Sousa A, Hidalgo M. (2012). Assessment of the Efficacy of the Agar Gel Immunodiffusion Test for the Detection of antibodies against the Enzootic Bovine Leukosis Virus. *Rev Fac Cs Vet* 53:21-27.
 14. Organización Mundial de Sanidad Animal - OIE (2012). *Enzootic Bovine Leukosis. Manual of Diagnostic Test and Vaccines of Terrestrial Animals*, 5th edition.
 15. Rama G, Meikle A, Puentes R, Moratorio G, Nicolini P, Pessina P, Furtado A, Pritsch O. (2010). Estudio comparativo de tres técnicas diagnósticas para la Leucosis Enzoótica Bovina y análisis

del efecto de enfermedades concurrentes sobre la fórmula leucocitaria. *Veterinaria* (Montevideo) 46:15-22.

16. Zaffaroni R, Piaggio J, Nuñez A, de Freitas J, Suanes A, Cernicchiaro N, Gil A. (2007). Evolución temporal de la seroprevalencia de la Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) en la cuenca lechera sur del Uruguay. V Jornadas Técnicas Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay; p. 150-151.

Meningoencefalitis trombótica (TME) por *Histophilus somni* en ovinos en Uruguay

Thrombotic meningoencephalitis (TME) by *Histophilus somni* in sheep in Uruguay

Romero A.¹, Quinteros, C.¹, Marinho, P.², O'Tool, D.³, Dutra, F.^{1,4}

Recibido: 25/12/2012

Aprobado: 02/05/2013

RESUMEN

Se comunica la ocurrencia de Meningoencefalitis trombótica (TME) o tromboembólica (TEME) por *Histophilus somni* en ovinos en Uruguay. La enfermedad se diagnosticó en mayo de 2011 en un predio comercial del departamento de Cerro Largo. Durante la encarnerada, en un lote de 100 ovejas de cría, enfermaron y murieron con cuadro nervioso 1 carnero y 1 oveja. Los animales afectados presentaron fiebre, decaimiento, ceguera, convulsiones, decúbito y muerte. Macroscópicamente, el encéfalo del carnero presentaba las meninges congestivas y había numerosos focos de necrosis licuefactiva de 2-5 mm de diámetro principalmente en el tálamo y en el límite de unión sustancia gris-sustancia

SUMMARY

The purpose of this study was to communicate the occurrence of thrombotic meningoencephalitis (TME) by *Histophilus somni* in sheep in Uruguay. During the mating season of May 2011, in a flock of 100 animals, 1 breeding ewe and 1 ram died after showing fever, weakness, ataxia, blindness, convulsions and recumbence. Macroscopically, the brain of the ram had hemorrhages in the leptomeninges and numerous foci of liquefactive necrosis (2-5 mm) at the gray-white junction of cerebral hemispheres, basal gray nuclei and thalamus. Microscopically, the foci consisted of suppurative necrosis, vascular thrombosis and numerous bacterial colonies inside the abscesses. Immunohistochemistry assays

¹ DILAVE Miguel C Rubino, Laboratorio Regional Este, Avelino Miranda 2045, Treinta y Tres, Uruguay.

² Ejercicio liberal, Veterinarios Asociados, General Artigas 789, Melo, Uruguay.

³ Wyoming State Veterinary Laboratory, Department of Veterinary Sciences, Laramie, WY 82070, USA

⁴ Autor de correspondencia: fdutra@mgap.gub.uy

blanca de la corteza cerebral. Microscópicamente, había necrosis supurativa, trombosis y colonias bacterianas en el interior de los focos, los cuales estaban rodeados de una reacción inflamatoria de neutrófilos y células mononucleares. Se confirmó por inmunohistoquímica la presencia de *Histophilus somni* en las lesiones cerebrales.

PALABRAS CLAVE:

ovino, meningoencefalitis trombótica, TEME, *Histophilus somni*.

INTRODUCCIÓN

La meningoencefalitis trombótica (TME) es una enfermedad neurológica aguda y fatal de bovinos y ovinos producida por *Histophilus somni* (*H. somni*). Es también conocida como meningoencefalitis tromboembólica o TEME, pero debido a que no se han encontrado evidencias de algún fenómeno de tipo embólico muchos autores prefieren llamarla TME (Maxie y Youssef, 2007; Stephens y col., 1981). *Histophilus somni* es un cocobacilo pleomórfico, Gram-negativo, anaerobio facultativo, de crecimiento fastidioso, previamente conocido como *Histophilus ovis*, *Haemophilus agni* o *Haemophilus somnus* (Angen y col., 2003; Sandal e Inzana, 2010). *Histophilus somni* es un habitante normal del tracto respiratorio y urogenital del bovino (Humphrey

performed on paraffin-embedded tissues were positive for *Histophilus somni* confirming the cause of the disease.

KEYWORDS:

sheep, thrombotic meningoencephalitis, TEME, *Histophilus somni*, brain abscess immunohistochemistry.

y col., 1982), ovino (Walker y Lea Master., 1986), bisonte (Dyer, 2001) y caprino (Jánosi y col., 2009). Estudios *in vitro* establecen que el *H. somni* es capaz de resistir la acción de los neutrófilos, macrófagos y monocitos, los cuales ingieren el microorganismo pero no pueden eliminarlo, motivo por el cual éste persiste y prolifera contribuyendo al desarrollo de la enfermedad (Corbeil, 2007). Debido a las características del *H. somni* que dificultan su aislamiento, como alternativa para confirmar la presencia del patógeno se utilizan las técnicas de inmunohistoquímica por su mayor sensibilidad (O'Toole y col., 2009) y la de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a partir de semen de carneros con epididimitis (Saunders y col., 2007).

El síndrome TME es relativamente común en bovinos pero muy raro en ovinos. Solo hay algunos pocos casos reportados en Australia (Philbey y col., 1991), Europa (Cassidy y col., 1997) y Canadá (Orr y col., 1992). La enfermedad es de curso agudo, motivo por el cual los

animales son encontrados muertos, aunque a veces puede observarse decúbito, opistótonos, congestión de mucosas e hipersalivación (Philbey y col., 1991; Cassidy y col.; 1997). En Estados Unidos y Canadá, TME se ve con mayor prevalencia en bovinos de feedlot, generalmente asociado con algún factor de estrés, como transporte o temperaturas extremas (Harris y Janzen, 1989; Stephens y col., 1981). En Canadá la forma de infección más frecuente en bovinos por *H. somni* es la miocarditis localizada (Maxie y Youssef, 2007; O'Toole y col., 2009). En el cono sur, el TME en bovinos se ha reportado en Argentina (Descarga y col., 2002), mientras que en Brasil fueron diagnosticados dos casos con lesiones características de TME pero sin aislamiento del agente causal (Barros y col., 2006). El *H. somni* se ha implicado en muchos otros síndromes además del TME, tales como neumonía, septicemia, metritis, aborto, otitis media, mastitis, artritis y miocarditis en bovinos, y septicemia, epididimitis/orquitis, aborto, meningitis, vulvitis, y mastitis en ovinos, entre otros (Corbeil, 2007; Miller y col., 1983; Orr y col., 1992; Stephens y col., 1981).

El objetivo del presente trabajo es comunicar por primera vez la ocurrencia de meningoencefalitis trombótica (TME) en ovinos en Uruguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

El diagnóstico patológico se realizó en el Laboratorio Regional Este, DILAVE Miguel C Rubino, Treinta y Tres, Uruguay. Se estudió la cabeza de un carnero adulto de raza Corriedale que fue remitida congelada al laboratorio. Aunque la congelación no es recomendable porque tiende a enmascarar la posible existencia de lesiones histopatológicas, el material igualmente fue recibido y procesado porque el congelado no impide otros análisis de laboratorio ni modifica mayormente los hallazgos macroscópicos (King y col., 2005).

Procesamiento de laboratorio

La cabeza se descongeló a baja temperatura (4 °C) durante 72 hrs. en cámara frigorífica como se recomienda para disminuir las alteraciones tisulares microscópicas provocadas por los cristales de congelación (Wobeser, 1997). El encéfalo se extrajo luego de retirar la calvaria, se fijó en formol bufferado al 10 %, se cortó transversalmente en láminas de 0.5 cm de espesor y muestras de las distintas regiones del sistema nervioso central se deshidrataron en alcohol, se incluyeron en parafina, se cortaron a 5-7 µm de espesor y se colorearon con Hematoxilina y Eosina (H&E).

Inmunohistoquímica

Para la identificación de *H. somni* se enviaron bloques de parafina con lesiones al Dr. Donal O'Toole (Wyoming State Veterinary Laboratory Department of Veterinary Sciences, USA) para la realización de inmunohistoquímica (IHQ). Para la inmunomarcación se utilizó la técnica de avidina-biotina-peroxidasa con un anticuerpo policlonal primario de conejo que ha sido testado frente a una variedad de cepas bovinas y ovinas de *H. somni* (Gogolewski y col., 1987; Corbeil, 2007).

RESULTADOS

Descripción del brote

El brote ocurrió en el mes de mayo de 2011 en un predio ganadero-ovejero de la 4ª seccional policial de Cerro Largo, paraje Centurión. En un plazo de 7-10 días, al final de la encarnerada, en un lote de 100 ovejas de cría, enfermaron y murieron con cuadro nervioso 1 oveja y 1 carnero Corriedale, 8D, de pedigrí. La majada estaba en campo natural y nunca había sido suplementada con ración, granos o fardos. Al final de la encarnerada, se encontró la oveja afectada con torneo, ataxia y ceguera, muriendo al otro día con convulsiones. El carnero trabajó en forma normal durante la encarnerada, pero días después de finalizada la misma presentó decaimiento, fiebre, decúbito, opistótonos, nistagmo, parálisis facial

(ojo y labio derecho), movimientos intermitentes de pedaleo y rigidez en los miembros posteriores. No había signos de orquitis o epididimitis. Al retirar la cabeza se observó abundante cantidad de líquido cefalorraquídeo turbio.

Patología

Macroscópicamente, el encéfalo presentaba las meninges congestivas y algo engrosadas, con focos hemorrágicos en las leptomeninges y circunvoluciones cerebrales. En la superficie de corte del encéfalo, se observaron múltiples focos de reblandecimiento y cavitación de 2-5 mm de diámetro en la corteza cerebral y el tronco encefálico (Figura 1). Los focos eran bilaterales pero de distribución asimétrica y se localizaban principalmente en la unión de la sustancia gris-sustancia blanca de la corteza cerebral (Figura 2). No se encontraron lesiones en el cerebelo.

A la histopatología, los focos consistían en abscesos caracterizados por necrosis licuefactiva, una reacción inflamatoria compuesta por neutrófilos y células mononucleares y numerosas colonias bacterianas en su interior (coco-bacilos de 1-3 micras) (Figura 3). Alrededor había trombosis en los vasos sanguíneos pequeños y medianos, vasculitis leucocitoclástica y manguitos perivasculares de 1-3 células de espesor, con colonias bacterianas perivasculares. En la médula oblonga había periventriculitis en el piso del



Figura 1. Corte transversal de encéfalo mostrando focos de necrosis licuefactiva y cavitación en el tálamo y corteza cerebral (flechas).



Figura 2. Focos de necrosis y abscesos localizados en la unión de la sustancia gris-sustancia blanca de la corteza cerebral a nivel del lóbulo frontal (flechas).

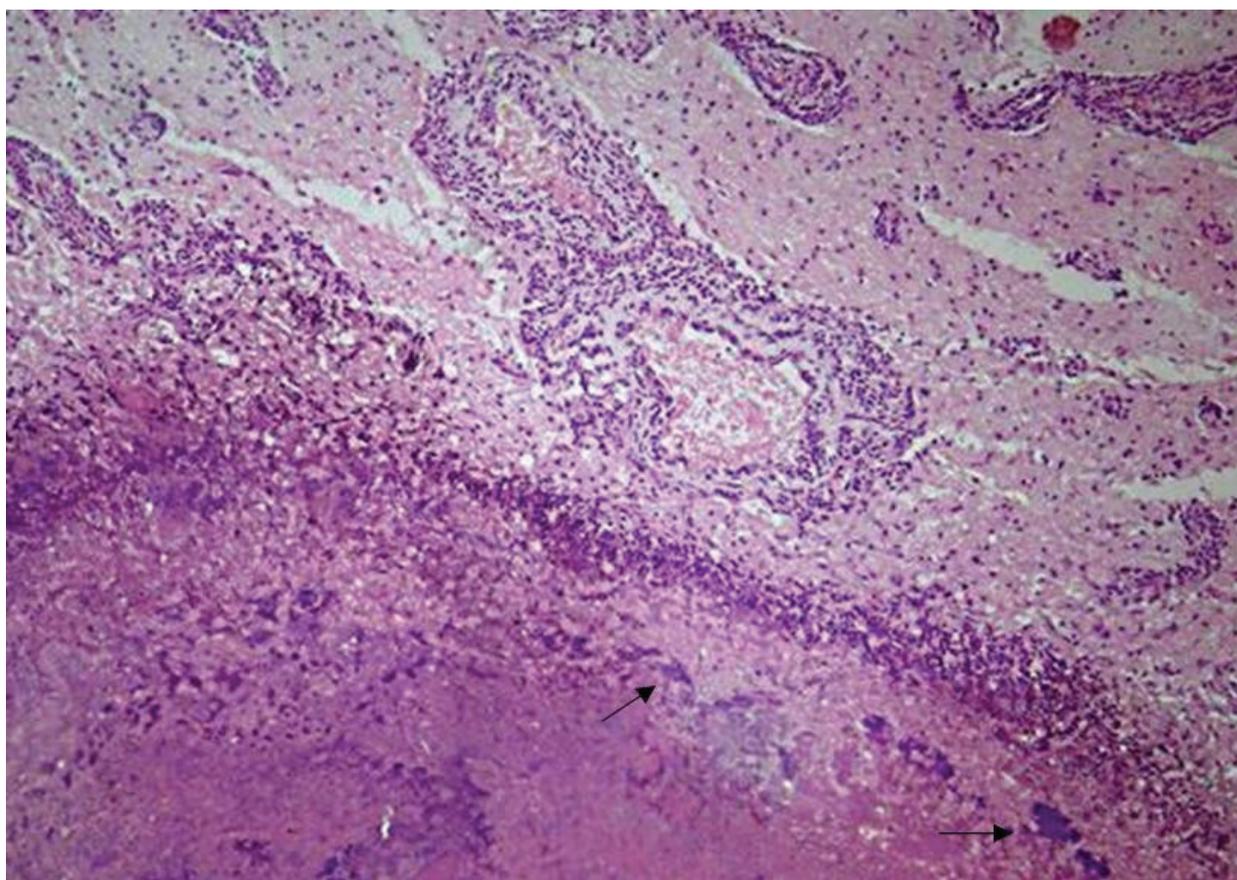


Figura 3. Tálamo. Corte histológico de absceso cerebral mostrando necrosis y supuración con colonias bacterianas cocoides en su interior (flechas) (H&E, x400). cerebral a nivel del lóbulo frontal (flechas).

4° ventrículo. Se observó leptomeningitis supurativa la región del tálamo y en los hemisferios cerebrales.

Inmunohistoquímica

Los bloques de parafina remitidos resultaron inmunoperoxidasa positivos para *H. somni*, con marcación de las colonias bacterianas dentro de los abscesos cerebrales (Figura 4).

DISCUSIÓN

El presente trabajo demuestra por primera vez la presencia de la Meningoencefalitis trombótica

(TME) o tromboembólica (TEME) por *H. somni* en ovinos en Uruguay. La localización de los abscesos en la unión de la sustancia gris-sustancia blanca de la corteza cerebral son característicos de embolismo o tromboembolismo cerebral (Hwang y col., 1996) y se consideran por algunos autores como distintivos del TME en rumiantes (Cassidy y col., 1997; Maxie y Youssef, 2007; Stephens y col., 1981). En el presente caso había además trombosis vascular, meningoencefalitis supurativa y abscesos pequeños con colonias bacterianas cocoides en su interior, hallazgos todos que hicieron sospechar la enfermedad. Los diagnósticos diferenciales de TME son pocos.

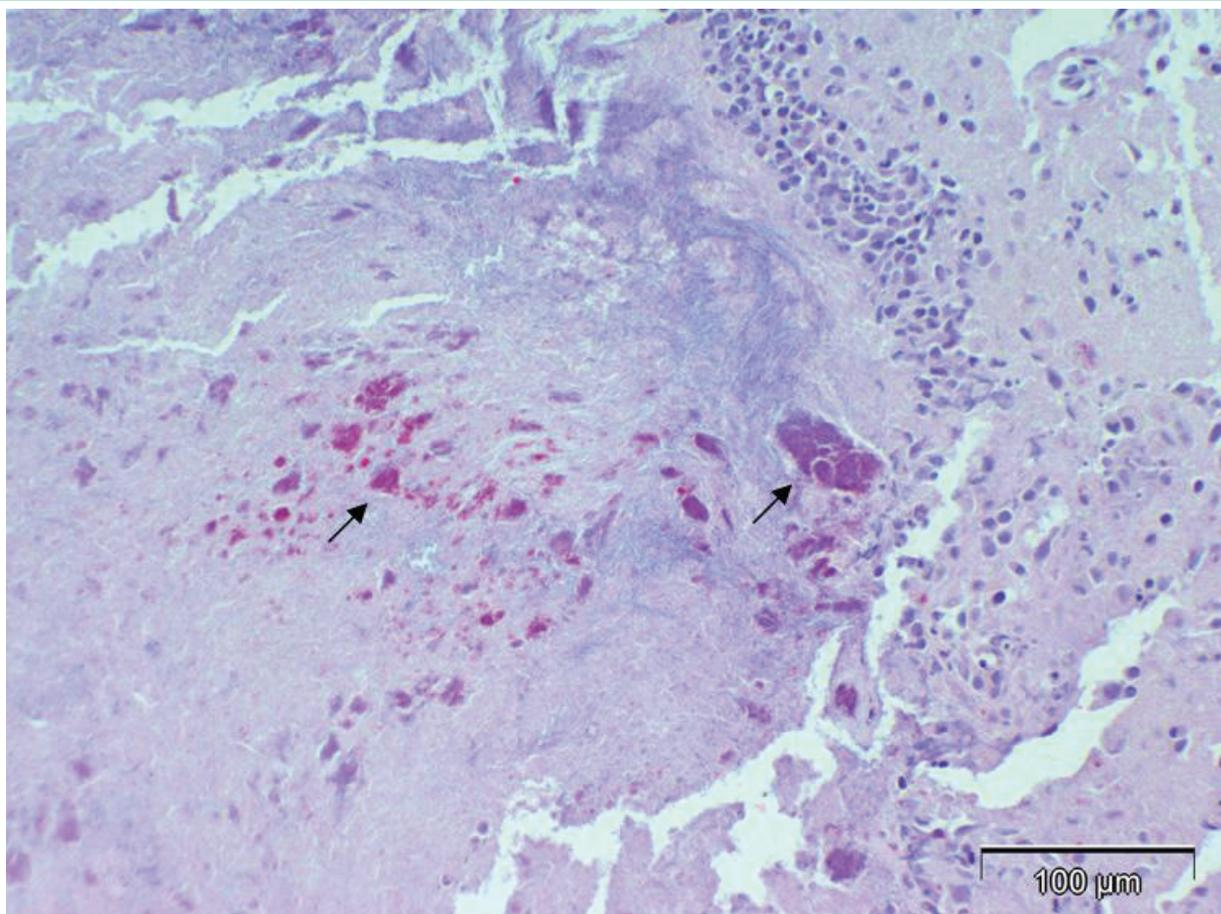


Figura 4. Inmunohistoquímica para *Histophilus somni* (mismo corte de la Figura 3). Nótese la marcación positiva en las colonias bacterianas del interior del absceso (flechas).

La listeriosis se descartó porque en esta enfermedad los abscesos son microscópicos (microabscesos) y los mismos se localizan exclusivamente en la médula oblonga, obex y puente (Maxie y Youssef, 2007). Los abscesos sépticos de origen hematógeno tienen una distribución y patología similar al TME y sólo pueden diferenciar por aislamiento bacteriano o por inmunohistoquímica (Maxie y Youssef, 2007), como se realizó en el presente caso.

En Uruguay existen reportes de otros síndromes por *H. somni* en ovinos, principalmente los casos de epididimitis y periorquitis por Bacilos Pleomórficos Gram Negativos (BPGN) en carneros vírgenes

(Bermudez y col., 1979; Castrillejo, 1987). También hay registros recientes en nuestro laboratorio de brotes de septicemia fulminante con aislamiento de *H. somni* en corderos pesados sobre praderas (Dutra y Quinteros, 2010). La infección en ovinos tiende a ser endémica en los predios ya que la bacteria se mantiene como comensal en el tracto genital de las ovejas y carneros jóvenes y se transmite por vía reproductiva o aérea durante la encarnera (Corbeil, 2007). Por este motivo, se recomienda la revisión de carneros previo a la época de servicio y eliminar aquellos con problemas de epididimitis/periorquitis que puedan diseminar el patógeno a

otros animales (Castrillejo, 1987). A pesar de que el TME es más frecuente en bovinos, especialmente en feedlots, ni éste ni otro síndrome por *H. somni* han sido reportados en esta especie en nuestro país. Esto podría explicarse porque las condiciones epidemiológicas son diferentes a las del ovino, o porque los casos ocurren esporádicamente y pasan desapercibidos, o bien porque clínicamente se la confunde con otra enfermedad. Es probable que el TME en bovinos se haga más frecuente en el futuro con la creciente de intensificación, suplementación y corrales de recría y engorde en el país.

Para control y prevención existen vacunas polivalentes que contienen esta bacteria que son utilizadas para prevenir el síndrome respiratorio en bovinos. En nuestro país actualmente la única herramienta disponible para el control del TME en ovinos es la terapia antimicrobiana. La antibioticoterapia generalmente no cambia el curso de la enfermedad en los animales que presentan síntomas nerviosos, sin embargo puede ser de utilidad para controlar el brote en el resto de la majada (Cassidy y col., 1997; Harris y Janzen, 1989).

En conclusión, el TME es una enfermedad que está presente en la población ovina de nuestro país. La enfermedad tiene características patológicas altamente específicas que permiten sospecharla con un estudio patológico macro y microscópico detallado. Se requieren estudios bacteriológicos y la puesta a punto de técnicas inmunohistoquímica

y moleculares de diagnóstico para determinar la importancia de esta infección en el país.

AGRADECIMIENTOS

Al Bach. Guzmán Cubas por su contribución en la búsqueda bibliográfica, al Dr. Francisco Uzal por su apoyo para la realización de la inmunohistoquímica, a la Dra. Lynette Corbeil por los comentarios sobre el inmunodiagnóstico y a los funcionarios del Laboratorio Regional de Treinta y Tres por su esfuerzo y dedicación.

REFERENCIAS

1. Angen Ø, Ahrens P, Kuhnert P, Christensen H, Mutters R. (2003). Proposal of *Histophilus somni* gen. nov., sp. nov. for the three species *incertae sedis* 'Haemophilus somnus', "Haemophilus agni" and 'Haemophilus ovis'. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 53:1449-1456.
2. Barros C, Driemeier D, Dutra I, Lemos R. (2006) Doenças do sistema nervoso de bovinos no Brasil. Montes Claros, MG, Coleção Vallée, 207 pp.
3. Bermudez J, Cuenca L, Castrillejo A, Barriola J, Laborde M. (1979). Epididimitis ovina causada por bacilos pleomórficos gramnegativos. Primeras Jornadas Veterinarias de Ovino, Tacuare-

- bó, 1979.
4. Cassidy JP, McDowell SW, Reilly GA, McConnell WJ, Forster F, Lawler D. (1997). Thrombotic meningoencephalitis associated with *Histophilus ovis* infection in lambs in Europe. *Vet Rec* 140:193-195.
 5. Castrillejo, A. (1987). Enfermedades que afectan la reproducción en el macho. En: Enfermedades de los lanares, Tomo 3 Enfermedades infecciosas y no transmisibles. Montevideo, Ed. Hemisferio Sur, pp. 35-41.
 6. Corbeil, LB. (2007). *Histophilus somni* host-parasite relationships. *Anim. Health Res. Rev.* 8:151-160.
 7. Descarga CO, Piscitelli HG, Zielinski GC, Cipolla AL. (2002). Thromboembolic meningoencephalitis due to *Haemophilus somnus* in feedlot cattle in Argentina. *Vet Rec* 150:817.
 8. Dutra F, Quinteros C. (2010). Septicemia en corderos por *Haemophilus somnus*. *Arch. Vet. Este*, Trimestre Abril - Junio 2010, p. 12. WWW URL: <http://www.mgap.gub.uy/DGSG/DILAVE/Dilave.htm>
 9. Dyer, N.W. (2001). *Haemophilus somnus* bronchopneumonia in American bison (*Bison bison*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 13:419-421.
 10. Gogolewski, R.P.; Leathers, C.W.; Liggitt, H.D.; Corbeil, L.B. (1987). Experimental *Haemophilus somnus* pneumonia in calves and immunoperoxidase localization of bacteria. *Vet Pathol* 24:250-256.
 11. Harris FW, Janzen ED. (1989). The *Haemophilus somnus* disease complex (Hemophilosis): A review. *Can Vet J* 30:816-822.
 12. Hwang, T.L.; Close, T.P.; Grego, J.M.; Brannon, W.L.; Gonzales. F. (1996). Predilection of brain metastasis in gray and white matter junction and vascular border zones. *Cancer.* 77:1551-1555.
 13. Humphrey JD, Little PB, Stephens LR, Barnum DA, Doig PA, Thorsen J. (1982). Prevalence and distribution of *Haemophilus somnus* in the male bovine reproductive tract. *Am J Vet Res* 43:791-795
 14. Jánosi K, Hajtós I, Makrai L, Gyuranecz M, Varga J, Fodor L. (2009). First isolation of *Histophilus somni* from goats *Vet Microbiol.* 133:383-386.
 15. King, J.M.; Roth-Johnson, L.; Dodd, D.C.; Newson, M.E. (2005). *The Necropsy Book: A Guide for Veterinary Students, Residents, Clinicians, Pathologists, and Biological Researchers.* Charles Louis Davis, D.V.M. Foundation, Fourth Edition, Gurnee, Illinois, 60031-4757, USA. p. 97.

16. Maxie MG, Youssef S. (2007). Nervous system. En: Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of domestic animals. 5a. ed. Philadelphia, Ed. Saunders, pp. 408-411.
17. Miller RB, Barnum DA, McEntee KE. (1983). *Hemophilus somnus* in the reproductive tracts of slaughtered cows: location and frequency of isolations and lesions. Vet Pathol. 20:515-521.
18. Orr J, Chirino-Trejo M, Haines D, Schwab M, Moisan P, Ebbott D, Uhleg T. (1992). Alberta. Thrombotic encephalitis, myocarditis, and pneumonia in lambs. Can Vet J. 33:277.
19. O'Toole D, Allen T, Hunter R, Corbeil LB. (2009). Diagnostic exercise: Myocarditis due to *Histophilus somni* in feedlot and backgrounded cattle. Vet Pathol 46:1015-1017.
20. Philbey AW, Glastonbury JR, Rothwell JT, Links IJ, Searson JE. (1991). Meningoencephalitis and other conditions associated with *Histophilus ovis* infection in sheep. Aust Vet J 68:387-390
21. Sandal I, Inzana, TJ. (2010). A genomic window into the virulence of *Histophilus somni*. Trends Microbiol. 18:90-99.
22. Saunders VF, Reddacliff LA, Berg T, Hornitzky M. (2007). Multiplex PCR for the detection of *Brucella ovis*, *Actinobacillus seminis* and *Histophilus somni* in ram semen. Aust Vet J 85:72-77
23. Stephens LR, Little PB, Wilkie BN, Barnum DA. (1981). Infectious thromboembolic meningoencephalitis in cattle: a review. J Am Vet Med Assoc 178:378-384.
24. Wobeser, G.A. (1997). Necropsy and sample preservation techniques. En: Diseases of wild waterfowl (2nd ed), New York, N.Y., Plenum Press, USA. pp. 237-248.
25. Walker RL, LeaMaster BR. (1986). Prevalence of *Histophilus ovis* and *Actinobacillus seminis* in the genital tract of sheep. Am J Vet Res 47:1928-1930.

Instrucciones para los autores

Veterinaria (Montevideo) tiene un sistema de arbitraje externo (peer review) ciego simple. Todos los trabajos recibidos son enviados a dos árbitros de reconocida experiencia en el tema.

Los trabajos recibidos que incluyan experimentación animal, deberán detallar claramente su ajuste a las normas internacionales de ética, así como una declaración que el mismo ha sido elaborado respetando las recomendaciones internacionales sobre investigación clínica (declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, revisión 1996) o, si fuera el caso, sobre investigación con animales de laboratorio.

Normas Generales

Los trabajos se enviarán exclusivamente por correo electrónico a: editor@revistasmvu.com.uy

Se aceptan artículos en portugués o inglés, los cuales deben incluir un resumen en inglés y español.

El texto debe ser en formato "DOC" o "RTF" y no deberá exceder de 25 páginas tamaño A4 (incluidas referencias), con margen de 2,5 cm a cada lado, de preferencia en letra Times New Roman y con caracteres de 12 puntos, con interlineado doble y

numeración continua de líneas.

Los cuadros (se recomienda usar la palabra cuadro y no tabla) y figuras (se recomienda usar la palabra figura y no gráfica) deben ir al final del manuscrito (cada una en hoja aparte). Las leyendas de los cuadros van arriba de los mismos y deben ser autoexplicativas. Las leyendas de las figuras también deben ser autoexplicativas y van aparte de las mismas, en una hoja a continuación de la bibliografía y antes de los cuadros y figuras. Los cuadros deben ser simples, con líneas horizontales de color negro. En las figuras (cuando corresponda) utilizar tramas en blanco y negro y no en colores.

Se incluirán fotografías o impresiones pueden ser en color o en blanco y negro (con 300 dpi de resolución como mínimo), en un máximo de cinco que serán adjuntadas al original, con leyenda en hoja aparte.

El autor principal o de correspondencia deberá enviar una nota firmada por él y los demás autores por correo electrónico o por fax (2409 9458) indicando dirección postal completa, teléfono, fax y correo electrónico, dejando establecido que se

responsabilizan del contenido del trabajo y que el mismo no se ha publicado ni se ha remitido simultáneamente a ninguna otra publicación periódica. También deberá indicar el tipo de trabajo (Científico o Técnico). Se aceptarán trabajos que hubieran sido publicados como resúmenes en congresos, simposios o jornadas.

Los trabajos recibidos serán leídos por el Editor Jefe, quien designará dos árbitros para su evaluación, pudiendo darle los destinos siguientes: aceptarlos, devolverlos a los autores para su adecuación o rechazarlos.

Sin perjuicio de la solicitud del autor, el Editor Jefe clasificará los manuscritos recibidos en:

Trabajo Científico: artículo original, comunicación corta (reporte o caso clínico), revisión.

Trabajo Técnico o de Difusión o Nota Técnica (práctica veterinaria, diagnóstico, tecnológico, conferencia).

Comunicaciones cortas; no deberán exceder las 12 páginas.

Reportes de casos clínicos; no deberán exceder las 10 páginas

Los trabajos aceptados para publicación pasan a ser propiedad intelectual de la SMVU quedando los derechos de publicación del trabajo a su cargo.

Las reproducciones parciales o totales sólo pueden realizarse con la autorización escrita del editor. Una vez publicados, los autores recibirán 10 separatas.

1. TRABAJOS CIENTÍFICOS

Es una publicación que describe resultados originales que contiene suficiente información como para que otro investigador pueda: evaluar las observaciones, repetir los experimentos y comprobar las conclusiones. Un artículo original requiere rigor científico, expresado con lógica, claridad y precisión, con una extensión en función de los resultados y respaldado por citas bibliográficas imprescindibles. Existirá un arbitraje de estos trabajos que serán evaluados por especialistas en el tema, nacionales y/o internacionales y que tengan una trayectoria reconocida, dada por sus antecedentes de publicaciones en revistas arbitradas de primer nivel. Las revisiones que tengan un análisis crítico por parte del autor e incluyen experiencia propia se consideran trabajos científicos.

2. TRABAJOS TÉCNICOS

Son aquellos trabajos que no cumplen con las normas de trabajos científicos originales pero que

su contenido es de un interés o seriedad tal que merece su publicación. El Editor Jefe evaluará el trabajo y lo clasificará según su contenido en: Prácticas Veterinarias, Caso Clínico, Diagnóstico, Tecnológico, Conferencia, Educación, u otro según corresponda. Estos trabajos serán evaluados por dos árbitros con reconocida experiencia en el tema.

Normas de redacción para Artículos Originales

Contendrán los siguientes elementos:

Título:

Será breve y claro, reflejando exactamente lo que el trabajo contiene. Escrito en minúsculas. Se debe incluir el título en inglés a continuación del título en español.

Nombre de Autores:

Apellido Inicial del nombre, otro/s nombres ejemplo:

Vidal L.1, Gómez, J.2*

Dirección: (en pie de página):

ejemplo: 1Departamento de Bovinos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Suipacha 698, Buenos Aires, Argentina; 2 Departamento de Bovinos, Facultad de Veterinaria, UdelaR. Se detallará solamente la dirección postal completa del autor responsable o de correspondencia, para los demás autores solamente el nombre de la institución. *Autor para correspondencia (incluir correo electrónico).

RESUMEN

Dará una idea clara y precisa del contenido del artículo, conteniendo: objetivos, metodología, resultados, conclusión. No debe exceder las 250 palabras, escrito en español y en un sólo párrafo luego del encabezado del título y los autores. Debe estar escrito en tiempo pasado. A continuación se incluyen las Palabras clave (máximo cinco).

Summary

Es la traducción al Inglés del Resumen. Incluir keywords.

Resumo

Para artículos en portugués. Incluir Palavras-chave

INTRODUCCIÓN

Debe ser concisa, pero los autores deben suministrar antecedentes suficientes sobre el tema para que el lector no deba recurrir a otras publicaciones anteriores y para que comprenda la importancia o trascendencia de la investigación que se comunica. Deben referirse al contexto internacional y nacional, eligiendo las informaciones más recientes y más relevantes. Se recomienda evitar una revisión excesivamente detallada de la literatura o un mero resumen de los resultados obtenidos por otros autores. En lugar de esto, se deben dar los fundamentos científicos del estudio y definir claramente las hipótesis de trabajo, a fin de justificar la importancia del artículo. En el

último párrafo deben precisarse los objetivos del trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los autores deben dar suficientes detalles para que otro investigador pueda repetir los experimentos. Debe estar escrito en tiempo pasado y en tercera persona del singular o plural según corresponda. Describir claramente el diseño experimental así como los animales utilizados, su número, especie, género, raza, edad. Mencionar los reactivos, drogas o medicamentos por su nombre genérico o químico o por marcas comerciales patentadas. Los métodos y procedimientos deben ser bibliográficamente referenciados detallando las posibles modificaciones de las técnicas. Deben precisarse con claridad, tiempos, temperaturas, etc. En caso de procedimientos con animales, se debe mencionar si los mismos fueron realizados de acuerdo a las normas de la autoridad competente (CHEA, etc.). Los métodos de los análisis estadísticos deben plantearse claramente, incluyendo los efectos considerados, las observaciones y unidad/es experimental/es. Se sugiere incluir los modelos utilizados. Deberán indicarse los niveles de probabilidad utilizados para declarar diferencias significativas y/o tendencias.

RESULTADOS

La descripción de los resultados obtenidos debe presentarse con claridad y en la forma más concisa posible. Primeramente hacer una descripción general de los mismos y luego pueden describirse en cuadros o figuras los datos de los experimentos. No deben presentarse datos repetidos o demasiado extensos. Deben usarse medidas del sistema métrico decimal u otras medidas convencionales. En todos los resultados debe señalarse el nivel de significación. Debe estar escrito en tiempo pasado y en tercera persona del singular o plural según corresponda.

Discusión

La discusión consiste en la búsqueda de una explicación de los resultados obtenidos, para lo cual se recurre a la comparación con datos de la literatura. Debe evitarse la repetición de los resultados en este ítem. Deben mostrarse las relaciones entre los hechos observados, con las hipótesis del propio experimento y/o con las teorías, resultados o conclusiones de otros autores. Formule las conclusiones en forma clara. Deben aplicarse las referencias bibliográficas al experimento y no abundar en detalles no estudiados. Deben exponerse la significación de los resultados y evitar las repeticiones. Escrito en tiempo pasado en tercera persona del singular o plural según corresponda.

CONCLUSIONES

Las conclusiones deben ser claras, concisas y precisas y deben reflejar los datos presentados en función de las hipótesis y los objetivos planteados. Se deben resumir y globalizar las conclusiones parciales que se obtuvieron de diferentes resultados del trabajo. Evitar las conclusiones demasiado generales. Debe existir una total coherencia entre los objetivos, los resultados y las conclusiones, pudiendo incluirse en este ítem recomendaciones o implicancias del trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Deberá constar el nombre de las personas y la institución a la que pertenecen haciendo mención al motivo del agradecimiento. Debe ser escrito en forma concisa y hacer referencia a materiales o equipos y al apoyo financiero.

BIBLIOGRAFÍA

En el texto: El autor o autores (si son dos), el apellido de cada uno separados por “y”, seguido de coma y el año de publicación (Ejemplo: González y Rodríguez, 2005). Si son más de tres autores se usará la forma “y col.”, seguida del año de publicación (Ejemplo: (Riet-Correa y col., 1984). En los casos en que se referencie más de una cita, se ordenarán alfabéticamente y se separarán por punto y coma.

Las citas que se utilicen como respaldo no deberían ser más de cuatro para cada contenido.

En la Bibliografía debe ponerse especial atención al texto de las referencias bibliográficas, no se aceptarán trabajos mal referenciados. Las referencias deben colocarse en orden alfabético de autores, numerando las obras citadas y consultadas en el texto. Deberán citarse de la siguiente manera: Apellido seguido un espacio y luego la(s) inicial(es) seguida(s) de coma. Ej.: González R. Si hubiera varios autores deben separarse entre sí por una coma (.). A continuación, se colocará el año de la publicación entre paréntesis. Ejemplo: González R, López A. (1989). Más de una referencia del mismo autor se ordenará en orden cronológico decreciente. Después del año se escribirá el título del artículo terminado en punto.

Las revistas científicas serán citadas según las abreviaturas convencionales, ej.: Am J Vet Res (sin punto en las abreviaturas), seguido por el volumen y los números de páginas precedidos por dos puntos. Ejemplo: Dobson JM, Samuel S, Milstein H, Rogers K, Wood JL. (2002). Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. J Small Anim Pract 43:240-246.

En el caso de la cita de libros, se indicará Autores (Año) Título, número de edición (salvo la primera), ciudad de edición, Editorial, cantidad de páginas del libro. Ejemplo: Rosemberger G. (1983).

Enfermedades de los bovinos. 2a. ed. Berlín, Ed. Paul Parey 577 p.

En el caso de la cita de capítulo de libros, se indicará Autores (Año) Título del capítulo, En: Autores (editores) del libro, Título del libro, Edición, Lugar de edición, Editor, Páginas inicial y final del capítulo precedido por pp y entre guión. Ejemplo: Dirksen G. (1983). Enfermedades del aparato digestivo. En: Rosemberger G. Enfermedades de los bovinos. 2a. ed. Berlín, Ed. Paul Parey pp. 235-242.

En la cita de congresos: Autores (Año) Título del artículo. Nombre del congreso. Número ordinal del congreso, Ciudad, País, páginas.

En la cita de una tesis: Autores (Año) Título de la tesis. Tipo de tesis (ej.: doctor veterinario), Institución, Ciudad, País.

Cuadros

Los cuadros deben tener un número de identificación correlativo que figurará en el texto y contendrán un texto de título en la parte superior. La leyenda debe situarse encima del cuadro y debe ser autoexplicativa. Los cuadros deben ser simples, sin líneas verticales y líneas horizontales separando título de las columnas de datos y en color negro. Las referencias o símbolos de los cuadros se presentarán al pie del mismo en letra de tamaño 10 puntos. Ejemplo: Cuadro I. Variación de la temperatura en función del tiempo., Ejemplo de pie de cuadro: T = temperatura, t = tiempo (en minutos). Si el cuadro

no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

Figuras

Las figuras deben tener un número de identificación correlativo que corresponda con el texto y contener un texto de definición del contenido, con leyendas y definición de los símbolos utilizados. Las leyendas deben ser autoexplicativas y se situarán en hoja aparte de las figuras, a continuación de la bibliografía y antes de cuadros y figuras. En histogramas o gráficas de líneas usar sólo el blanco y negro y diferenciar barras con diferentes tramas y líneas punteadas, sólidas, etc. Si la figura no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

Los cuadros y figuras deben ser enviados en blanco y negro. En lo posible en formato Openoffice o MSOffice o RTF.

Fotos

Las fotografías deben limitarse al mínimo indispensable y deben contener una escala de referencia. Deben tener un número de identificación correlativo que corresponda con el texto y contener un texto de definición del contenido en la parte inferior, con leyendas y definición de los símbolos utilizados. Si la fotografía no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página. La SMVU podrá cobrar a los autores por la inclusión de material fotográfico.