

# Aplicación del tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multirresistente de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay



## Implementation of the Tick Generational Treatment in the Eradication of a Multiresistant Population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Uruguay

Cuore, U.<sup>1</sup>, Altuna, M.<sup>2</sup>, Cicero, L.<sup>3</sup>, Fernández, F.<sup>4</sup>, Luengo, L.<sup>4</sup>, Mendoza, R.<sup>4</sup>, Nari, A.<sup>1</sup>, Pérez Rama, R.<sup>4</sup>, Solari, M.<sup>1</sup>, Trelles, A.<sup>5</sup>

### RESUMEN

Se describe una metodología de erradicación de una población de garrapatas del género *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* multirresistente a los acaricidas, basada en el Tratamiento Generacional de la Garrapata. Los principios activos utilizados (Ivermectina, Fipronil y Fluazuron) fueron seleccionados en base a los resultados de bioensayos en garrapatas adultas (test de Drummond) y larvas (test de Stone y Haydock). Este diagnóstico permitió establecer el primer caso oficial de resistencia al Amitraz en Uruguay. Todo el rodeo presentaba alta carga de garrapata (promedio 100 ejemplares adultos por animal) y se encontraba en estabilidad enzoótica para *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma* sp. (más del 85% seropositivos). En base a los conocimientos de la eficacia, residualidad de las formulaciones y al modelo epidemiológico conceptual desarrollado en el país, se estableció la frecuencia de aplicación y el momento de rotación de los productos. Se aplicó inmunización artificial a los terneros por los hemoparásitos, dada la perspectiva de que estarían en riesgo al disminuir la población de garrapata. Asimismo, se realizó un seguimiento serológico de los terneros antes de la inmunización. Se evaluó mensualmente la eficacia de los tratamientos midiendo el número y estadio de garrapatas por animal. Esta estrategia de tratamientos supresivos aseguró el uso de una molécula diferente de acaricida en cada generación de garrapata al año, optimizando el uso de las moléculas eficaces y a su vez al minimizar la presión de selección se dilata la aparición de la resistencia. El tiempo para lograr la erradicación del parásito fue de 28 meses, involucrando 2 temporadas de garrapatas. Los errores operativos y las condiciones climáticas adversas, fueron las principales causas para mantener la reinfestación del campo.

**Palabras clave:** *Tratamiento Generacional de la Garrapata, erradicación, garrapatas multirresistente, predio de alto riesgo, Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

### SUMMARY

A methodology to eradicate a multiresistant *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick population is described based on Tick Generation Treatment concept. The active ingredient used (Ivermectin, Fipronil and Fluazuron), were selected as a result of the bioassay performed on adult tick (Drummond test) and in larvae (Stone & Haydock test). In vitro tests led to the first official diagnostic of resistance to Amitraz in Uruguay. The bovines presented high tick infestation and were in enzootic stability to *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma* sp. (more than 85% positive serology). The frequency of treatments and the moment to rotate the active ingredient were based on previous knowledge of the efficacy and residual period of the acaricide. Calves were artificially immunized due to the high risk of getting blood parasites when decreasing burden of ticks. Animals were monthly inspected to determine efficacy treatment, number and tick stage. Calves were serologically followed prior to immunization. This strategy assures suppressive treatment using a different molecule of acaricide in each generation of ticks per year, optimizing the use of molecules effective and in turn to minimize selection pressure expands the emergence of resistance. Time needed to eradicate tick was 28 months, involving 2 tick periods. Operative mistakes and adverse weather conditions were responsible of maintaining the non-parasitic cycle. Field treatment evaluations were monthly performed.

**Key words:** *Tick Generation Treatment, eradication, multiresistant ticks, high risk farm, Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

<sup>1</sup>DMV Departamento de Parasitología DILAVE «Miguel C. Rubino» Ruta 8, km 17,5. Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: ucuore@mgap.gub.uy

<sup>2</sup>DMV División de Sanidad Animal Zonal Artigas. Berreta 482. Artigas, Uruguay.

<sup>3</sup>Ing. Qui. Departamento de Parasitología DILAVE «Miguel C. Rubino» Ruta 8, km 17,5. Montevideo, Uruguay.

<sup>4</sup>DMV División de Sanidad Animal Sede Central. Constituyente 1476. Montevideo, Uruguay.

<sup>5</sup>Tec. Agr. Departamento de Parasitología DILAVE «Miguel C. Rubino» Ruta 8, km 17,5. Montevideo, Uruguay.

Recibido: 27/4/12 Aprobado: 4/7/12

## INTRODUCCIÓN

La actual Ley contra la garrapata N° 18.268 del 17 de abril de 2008, tiene entre sus cometidos el control o la erradicación del parásito dependiendo de la zona en la cual se encuentre el establecimiento y de su calificación por parte de la Autoridad Sanitaria en predio de alto o bajo riesgo epidemiológico. Uno de los criterios establecidos en que se aplica la erradicación, es en los predios calificados de alto riesgo por constatarse presencia de garrapatas resistentes a núcleos químicos aun no diagnosticados en el país. En este marco, en marzo de 2009, el Servicio Zonal de Artigas asistió a un establecimiento el cual presentaba una sospecha fundada de resistencia al Amitraz (núcleo químico al cual aun no existía diagnóstico en el país). Con los resultados del laboratorio, se confirmó la existencia de una población de garrapata resistente al Amitraz diagnosticada en forma oficial. El antecedente de uso del mismo principio activo en el establecimiento era de 12 años en forma ininterrumpida. Dado que las moléculas garrapaticidas actualmente en uso en el país datan de la década del 80, exceptuando el Fipronil y Fluzaron que son productos registrados en la década del 90 y que en nuestro país ya existe diagnóstico oficial de resistencia a los Piretroides, Organofosforados, mezclas Piretroides + Organofosforados, Fipronil (Cardozo, 1995; Cuore 2007) y actualmente al Amitraz, se plantea la hipótesis que, la aparición de poblaciones de garrapatas multiresistentes será un hecho frecuente a corto plazo; por lo tanto es imperativo que a nivel predial se establezcan estrategias de lucha contra la garrapata, que impliquen una metodología de trabajo que permita mantener la utilidad de las moléculas, dilatando la aparición de resistencia.

Tradicionalmente la actitud de muchos productores frente al problema de resistencia es de cambiar el producto sin criterio técnico, asesorado por el comercio veterinario, o de aumentar la concentración del baño de inmersión sin cambiarlo, o de disminuir el intervalo entre baños, terminando con una frecuencia de un tratamiento por semana y por último se recurre a un profesional veterinario. Pasado ese tiempo, muy probablemente la resistencia está instalada y sea más difícil su manejo.

La sostenibilidad en el control de las parasitosis en los sistemas productivos se basa en primera instancia en contar con un diagnóstico de situación, determinando la incidencia, la sensibilidad de los parásitos, el entorno ecológico, el sistema productivo así como el manejo del establecimiento. Posteriormente se debe llevar a cabo una metodología que implique el desarrollo de estrategias dentro de un modelo epidemiológico a nivel nacional (Cuore, 2006).

El objetivo del trabajo es presentar los resultados de una nueva metodología de trabajo con carácter demostrativo para erradicar una cepa de garrapata multiresistente a los acaricidas de un establecimiento calificado de alto riesgo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Antecedentes del predio foco

A los efectos de confirmar la sospecha de resistencia, se inspeccionó el ganado, se extrajeron muestras de baño de inmersión, de

garrapatas teleoginas y sangre de diferentes categorías de bovinos, todo lo cual fue remitido al Laboratorio DILAVE «Miguel C. Rubino» donde se realizó el diagnóstico de situación. Se aplicaron técnicas analíticas de cromatografía de gases para determinar la concentración del baño de inmersión, bioensayos en garrapatas adultas y en larvas para analizar el grado de resistencia de las garrapatas a los acaricidas y técnicas de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y Card Test para determinar el grado de seroprevalencia de hemoparásitos (IICA 1987).

Con el resultado de los estudios realizados y de acuerdo a lo establecido en la normativa vigente se determinó que se trataba de un predio de alto riesgo por presentar alto grado de infestación de garrapatas, resistencia al Amitraz y tener alta prevalencia a los hemoparásitos (Artículo 4° del decreto reglamentario del 12 de enero de 2010). Este hecho permitió realizar el primer diagnóstico oficial de resistencia al Amitraz.

A partir de esta situación, se presentó ante la Autoridad Sanitaria un proyecto de erradicación (Expediente de la Dirección General de los Servicios Ganaderos N° 9227 del 29 de julio de 2009) basado en la descripción teórica del Tratamiento Generacional de la Garrapata (Cuore, 2008 b) y hemoparásitos.

- Se trabajó en el predio foco el cual se ubica en el Paraje «Pintado», 3<sup>ra</sup> Sec. Pol. del Departamento de Artigas, Uruguay (30° 27' Lat. Sur, 56° 29' Lat. Oeste).
- Presenta suelo: Formación Basalto superficial y Areniscas.
- Superficie: 450 ha.
- Animales: Raza Hereford y cruza (*Bos taurus*).
- Stock inicial estaba compuesto por 48 terneros, 63 vaquillonas, 21 novillos, 112 vacas y 3 toros.
- Sistema de producción: extensivo, para cría y venta de terneros.
- Historia de tratamientos acaricidas: Baños de inmersión con Amitraz durante los últimos 12 años.

### Propuesta de tratamientos acaricidas

La frecuencia de aplicación de los tratamientos se estableció de acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de establo para el registro oficial (Cuore, 2008a) (cuadro 1).

El período entre la tercera y primera generación, junio – agosto de 2010 y 2011, fueron cubiertos con Ivermectina 3,15%.

Ganado con destino a consumo: tratamientos *pour-on* con productos disponibles con tiempo cero de espera para el consumo: Flumetrin, Eprinomectina, Alfacypermetrina.

### Diseño de trabajo

- Evaluación de los tratamientos: se estableció una frecuencia de revisión en todo el rodeo cada 30 días.
- Diagnóstico de resistencia: se utilizan técnicas diagnósticas *in vitro* convalidadas por la FAO, 2004 en garrapatas adultas (Drummond, 1973) y en larvas con dosis discriminadora (DD) (Wilson, 1981) y Probits\* (Stone y Haydock, 1962).

\*El método de Probits es el procedimiento utilizado para evaluar la relación dosis respuesta de un contaminante sobre un organismo, medida en términos de la concentración letal media (DL50) y su precisión o intervalo de confianza.

La Dosis Letal 50 (DL50) se define como la concentración a la cual el acaricida mata el 50% de la población mientras que la DD se define como el doble de la concentración de la DL99,9 de la cepa sensible de referencia para un principio activo.

**Cuadro 1.** Pruebas de establo para el registro oficial de productos

Evento	Época	Tratamiento-Frecuencia
1ª Generación de garrapata	Agosto-Noviembre	Ivermectina 3,15% c/ 55 días
2ª Generación de garrapata	Diciembre-Febrero	Fipronil 1% cada 35 días
3ª Generación de garrapata	Febrero-Mayo	Flumetrin 1% + Fluazuron 12,5% c/ 35 días

- Confirmación *in vitro* (Test de Drummond) de la falta de eficacia de la molécula Amitraz a concentraciones crecientes en la población de garrapata con sospecha de resistencia.
- Diagnostico de prevalencia de hemoparásitos: se utilizaron técnicas de IFI para Babesia y Card Test para Anaplasma de acuerdo a protocolos de trabajo convalidados por la FAO (IICA, 1987).
- Premunición: se vacunó anualmente la categoría de terneros, menores a 9 meses de edad, con una vacuna refrigerada conteniendo inmunógenos de *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma centrale* producida de acuerdo a protocolos del Departamento de Parasitología de la DILAVE «Miguel C. Rubino».
- Análisis de concentración de baños acaricidas: se utilizaron técnicas de cromatografía de gases de acuerdo al protocolo de trabajo del Departamento de Parasitología de la DILAVE «Miguel C. Rubino».
- Las acciones y los tratamientos programados fueron realizados exclusivamente por personal de la Dirección General de Servicios Ganaderos del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP).
- Registros pluviométricos diarios de la zona de trabajo.
- Identificación individual de los animales, se realizó a través de las caravanas de trazabilidad, registrando mediante planillas la concurrencia al tratamiento.
- Período de estudio: agosto de 2009 - enero 2012.

**Resultados y monitoreo de evolución**

El resultado del análisis de concentración del baño de inmersión cargado con Amitraz fue de 625 ppm.

El estudio de eficacia *in vitro* a las garrapatas del predio indicó que las mismas eran resistentes a los piretroides sintéticos (Cypermtrina y Flumetrin), a la mezcla de Cypermtrina-Ethion y al Amitraz (cuadro 2).

Una vez realizada una primera prueba de Drummond donde se constató que a concentración de pie de baño (200 ppm) las garrapatas fueron resistentes se realizó un segundo ensayo desafiando las garrapatas a un gradiente de concentración de 200 a 1200 ppm en las concentraciones más altas los porcentajes de control estuvieron entre 80% a 85% que es el punto de corte de la técnica para determinar resistencia (cuadro 3).

El diagnóstico inicial de hemoparásitos había arrojado en terneros un 83% de seropositividad para *B. bovis* y *A. marginale* y 89% para *B. bigemina* (cuadro 4).

Después de 10 meses de iniciado los tratamientos, en terneros menores a 6 meses y sin inmunizar, los niveles serológicos de *Babesia* spp. se mantuvieron en niveles altos, en cambio, con respecto a *Anaplasma* sp. disminuyó francamente la seropositividad al 21% (cuadro 5).

Al cabo de 2 años (julio 2011) en la categoría terneros sin inmunizar, la seropositividad de *A. marginale* y *B. bovis* cayó al 0% correspondiendo a lo esperado en principio por la nula tasa de infestación, en cambio para *B. bigemina* existió una reducción al 13%.

**Cuadro 2.** Diagnóstico del perfil de sensibilidad en predio foco

Estadio	Fipronil	Cypermtrina y Ethion	Flumetrin	Cypermtrina	Amitraz	Ivermectina
Adulto*	Sensible	Resistente	Resistente	Resistente	Resistente	SR***
Larva**	Sensible	Sin resultado***	Sensible	Resistente	Resistente	Sensible

\*Test Drummond \*\*Test Stone y Haydock \*\*\*SR: Sin resultado dado que la técnica no aplica al estadio.

**Cuadro 3.** Perfil de sensibilidad de garrapatas adultas frente al Amitraz

Concentración (ppm)	200	400	600	1200
Peso de 10 ♀ (g)	2,88	2,98	2,86	3,25
Peso de huevos (g)	0,40	0,55	0,39	0,59
% de eclosión	40	40	15	15
% de control	60	47	85	80

**Cuadro 4.** Diagnóstico de seropositividad a hemoparásitos en diferentes categorías (previo a los tratamientos)

Categorías	n	<i>Anaplasma sp.</i>		<i>B. bovis</i>		<i>B. bigemina</i>	
		+	%	+	%	+	%
Terneros	18	15	83	15	83	16	<b>89</b>
Sobreaño	5	5	100	4	80	5	<b>100</b>
Adultos	17	13	76	14	82	17	<b>100</b>
Porcentaje de Positivos		<b>82,5</b>		<b>82,5</b>		<b>95,0</b>	

**Cuadro 5.** Evolución de la serología a hemoparásitos en la categoría terneros

Categoría terneros	n	<i>Anaplasma sp.</i>		<i>B. bovis</i>		<i>B. bigemina</i>	
		+	%	+	%	+	%
Junio 2010	14	3	21	8	57	8	57
Diciembre 2010	13	1	8	1	8	5	38
Julio 2011	15	0	0	0	0	2	13

La eficacia y residualidad de los tratamientos en el predio se evaluó mediante revisiones de los bovinos cada 30 días, partiendo de una infestación natural de 100 garrapatas teleoginas promedio por animal en agosto de 2009. En el cuadro 6 se describe la evolución de la infestación en relación al tratamiento aplicado.

Cabe señalar que por problemas operativos no siempre todos los bovinos asistían al mismo momento al tratamiento, quedando a responsabilidad del productor el tratamiento de los animales faltantes.

A medida que se avanzó en el control de las garrapatas, se observó que no todos los animales estaban parasitados, generalmente las garrapatas colectadas se encontraron en un bajo porcentaje de animales. De cualquier manera, al ser un plan de erradicación y al utilizarse una frecuencia de tratamientos supresivos, igualmente se trataron todos los animales del rodeo.

A partir de la revisión de mayo de 2010, se observó un período sin la presencia de garrapatas adultas plenamente ingurgitadas, sin embargo fueron hallados estadios de metaninfa y adultos jóvenes (cuadro 6).

Posteriormente, en febrero de 2011 y a consecuencia de un bovino que quedó sin tratamiento en diciembre de 2010, se encontraron 5 garrapatas adultas ingurgitadas por lo cual la continuidad de los tratamientos se debió postergar hasta diciembre de 2011. En ese momento se cumplieron 10 meses en que los animales estuvieron totalmente libres de formas parasitarias

#### Estimación de los costos

El total de los tratamientos aplicados consistió en 8 dosificaciones de Ivermectina 3,15% (total 8 L), 6 tratamientos de Fipronil (total 60 L) y 6 aplicaciones de la mezcla Fluazuron-Flumetrin (total 60 L). Se inmunizó en dos años a la categoría de terneros, (total 100 dosis). El costo de la erradicación basada en

los productos Veterinarios utilizados y la inmunización, ascendió a USD 6.100, equivalente a USD 20,3 por animal, sobre una base estimada de 300 animales promedio. Para este cálculo se consideraron valores de mercado de USD 106 por litro de Ivermectina 3,15%, USD 12 por litro de Fipronil, USD 60 por litro del producto mezcla Fluazuron-Flumetrin y USD 300 de las 100 dosis para inmunizar.

#### DISCUSIÓN

La metodología del Tratamiento Generacional de la Garrapata aplicada en el proyecto logró erradicar la población de garrapatas multirresistente sin ejercer, en teoría, una excesiva presión de selección de los genes resistentes. Esta hipótesis no se pudo confirmar debido a que no se dispuso de garrapatas sobre la finalización del ensayo, como para realizar estudios comparativos con los resultados obtenidos al inicio. No existen antecedentes de comunicación a nivel nacional de experiencias de erradicación de una población de garrapatas multirresistente a los acaricidas.

En el estado actual de la resistencia, considerando que las drogas disponibles en el país tienen más de 20 años de uso, exceptuando al Fipronil y Fluazuron cuyos registros son de la década del 90, se hace cada vez más imperioso rotar los principios activos basado en el modelo conceptual propuesto por el Departamento de Parasitología en 1990, con la finalidad de disminuir la presión de selección de genes resistentes evitando la consecuente pérdida de eficacia de la molécula, (comunicación personal Nari).

Kemp (2005), del CSIRO de Australia, proponía no utilizar en una misma temporada de garrapatas más de 5 veces el mismo principio activo. En este proyecto, los principios activos fueron utilizados exclusivamente en la misma generación de garrapatas y en no más de tres oportunidades por temporada. El marco epidemiológico para la rotación de principios activos es

Tratamiento generacional de la garrapata en la erradicación de una población multirresistente

**Cuadro 6.** Cronograma de tratamientos realizados y evolución del grado de infestación de los bovinos

Temporada	Generación/meses	Tratamiento (aplicación - intervalo)	Rodeo con garrapata	Estadios	Lluvia acumulada (mm)	Obs	
<b>2009 -2010</b>	<b>1<sup>a</sup></b> Agosto-Noviembre	IVM 3,15% (2 - c/55 días)	100%	Todos	1176	Faltan 2 animales	
			1%	Adultos			
			1%	Todos		Falta 1 animal	
	<b>2<sup>a</sup></b> Noviembre -Febrero	FIPRONIL 1% (2 - c/35 días)	1%	Todos	922	Faltan 10 animales	
							Faltan 3 animales
<b>3<sup>a</sup></b> Febrero-Mayo	FLUAZURON 12.5% + FLUMETRIN 1% (3 - c/35 días)	1%	Todos	313	Faltan 2 animales		
					Faltan 6 animales		
<b>2010 – 2011</b>	<b>1<sup>a</sup></b> Junio – Noviembre	IVM 3,15% (3 - c/55 días)	<1%	Adultos		Inmunización Terneros	
					Faltan 3 animales		
	<b>2<sup>a</sup></b> Diciembre - Enero	FIPRONIL 1% (2 - c/35 días)	<1%	Todos		Faltan 3 animales	
	<b>3<sup>a</sup></b> Febrero-Mayo	FLUAZURON 12.5% + FLUMETRIN 1% (3 - c/35 días)	Sin Garrapata		Trazas	Faltan 15 animales	
						Faltan 4 animales	
<b>2011 – 2012</b>	<b>1<sup>a</sup></b> Junio – Octubre	IVM 3,15% (3 - c/55 días)	Sin Garrapata			Inmunización Terneros Faltan 4 animales	
						Faltan 5 animales	
	<b>2<sup>a</sup></b> Noviembre –Diciembre	FIPRONIL 1% (2 - c/35 días)	Sin Garrapata		Trazas	Falta 1 animal	

la clave en la propuesta del Tratamiento Generacional de la Garrapata (Cuore., 2008 b).

Si bien los diagnósticos *in vitro* de resistencia son fundamentales para diseñar un plan de control o erradicación, los mismos tienen carácter orientativo y la evaluación final de la eficacia y residualidad de un tratamiento debe ser hecha a campo, con el apoyo previo del diagnóstico laboratorial.

La frecuencia de aplicación entre tratamientos fue determinada de acuerdo al comportamiento y residualidad de los acaricidas en la prueba oficial de registro (Cuore, 2008a). Conceptualmente, para lograr una erradicación la frecuencia de tratamientos debe ser con carácter supresiva. (Se entiende por frecuencia supresiva aquella que por acción del acaricida, no permite el desarrollo del ciclo parasitario entre tratamientos; de esta manera se logra eliminar la población de garrapatas en refugio (ciclo no parasitario).) En el proyecto, los 3 productos utilizados no siempre presentaron la residualidad esperada en comparación a lo demostrado en la prueba de establo. Las condiciones de campo, en relación a los errores operativos (cálculo de peso, reflujo desde el punto de inoculación), las variaciones en la biodisponibilidad de las drogas entre individuos en los productos inyectables, las condiciones climáticas adversas (lluvias) para los *pour-on* y las variaciones genéticas de las garrapatas en relación a la resistencia parasitaria, pueden explicar entre otros, las diferencias de comportamiento de un garrapaticida a establo vs. campo.

Si bien en los resultados no figura la eficacia del Ethion como monodroga, dado que no existe la formulación comercial disponible en plaza, se registró su sensibilidad en la prueba de larvas así como la resistencia a la Cypermethrina. Este hecho se complementa con el resultado de la prueba de Drummond donde la mezcla Cypermethrina+Ethion se comportó como resistente; este resultado se interpreta considerando que en la mezcla el Ethion podría ser el ingrediente activo eficaz. Dado que el mismo se encuentra a 400 ppm en el pie de baño esta concentración no alcanzaría para inhibir la oviposición de las teleoginas debido a que el Ethion registrado como monodroga se encontraba a 800 ppm. Por el contrario, la concentración al 4% en paquetes de larvas resultó suficiente para matar este estadio parasitario, el cual es más sensible que el de adulto. Hecho similar se presentó en el Flumetrin, donde el parásito adulto fue resistente y las larvas sensibles a este principio activo.

La presencia de una población de campo multirresistente a los acaricidas pone en tela de juicio la factibilidad técnica de erradicar dicha población y que la acción sea sostenible en el tiempo evitando la reintroducción del parásito. Así mismo, una población multirresistente, plantea muchas dificultades para que los despachos de tropa sean efectivamente realizados sin formas parasitarias vivas, lo cual representaría un serio riesgo no sólo en la diseminación del parásito sino también de la resistencia (Cuore, 2009).

Las altas cargas parasitarias iniciales (promedio 100 teleoginas por animal) halladas en los primeros días de agosto de 2009, son muy superiores a lo descrito por Petracchia, 1988; donde en estudios epidemiológicos a la salida del invierno, encontraron en promedio de 2 a 4 garrapatas adultas por animal. Esta situación es reflejo de la acumulación de población en refugio, dada la

baja eficacia de los tratamientos previos a consecuencia de la resistencia parasitaria. En otro estudio realizado en 2006, también se encontraron altas cargas de garrapatas, con más de 20 ejemplares adultos por animal durante el mes de agosto (Solari, 2007).

El hecho de no haber encontrado teleoginas a partir de mayo/2010, coincide con lo encontrado en las pruebas de eficacia desarrolladas en el Departamento de Parasitología y la importancia de este comportamiento radica en que dentro de un plan de erradicación uno de los objetivos es no permitir el desarrollo de teleoginas, precursoras de nuevas generaciones (Cuore, 2009).

De acuerdo a los estudios epidemiológicos realizados en el país, el ciclo no parasitario tiene una duración máxima entre 8 a 10 meses; este hecho sirvió de base para establecer el criterio de cuando se debía considerar erradicada la garrapata del establecimiento y por lo tanto no realizar más tratamientos (Nari, 1979; Cardozo, 1984; Sanchis, 2008). Para ello se determinó que no se deberían encontrar garrapatas plenamente ingurgitadas sobre los animales durante 10 meses. Por lo tanto, como la última teleogina se observó el 3 de febrero de 2011 los tratamientos se continuaron hasta diciembre del mismo año.

Durante los 30 días posteriores al tratamiento con Fipronil, realizado el 25 de noviembre de 2009, el registro acumulado de lluvias fue de 477 mm y de 445 mm en el mes a partir del segundo tratamiento con Fipronil, el 28 de diciembre de 2009. Estos altos registros pluviométricos, si bien no hicieron perder eficacia del tratamiento (una semana posterior al mismo los animales se encontraban libres del parásito), conspiró contra una menor residualidad (cuadros 6 y 7). Al encontrarse garrapatas teleoginas al día 35 post tratamiento, descontando los 21 días del ciclo parasitario, podemos asumir que la residualidad máxima fue de 14 días, valor inferior al hallado en pruebas de establo, no menor a 35 días. Valores similares en cuanto a la residualidad en pruebas de campo y a establo fueron encontrados en pruebas Oficiales de registro con Fipronil *pour on* realizadas por CENAPA – México, donde la residualidad disminuye de 32 días en establo a 13 días en pruebas de campo (Fragoso, 2006).

Las precipitaciones de 15 mm registradas entre 15 a 18 horas posteriores al tratamiento de abril de 2011 con la mezcla Fluazuron+Flumetrin no afectaron ni la residualidad ni la eficacia de la droga al no encontrarse ninguna garrapata en las revisiones de los días 20 y 40 post tratamiento.

Si bien en un principio, dado los antecedentes de otros trabajos similares en cuanto a la aplicación de el tratamiento generacional (Aguas Blancas - Canelones), se esperaba la eliminación del parásito en el término de un año, los errores operativos, fundamentalmente el de no poder realizar el tratamiento simultaneo de todos los animales del predio, constituyó el hecho más importante en mantener por más tiempo de lo esperado el ciclo no parasitario de la garrapata.

Dado que los animales se encontraban en estabilidad enzoótica para los hemoparásitos se decidió inmunizar anualmente los terneros menores a 9 meses, asumiendo que a medida que progresara la erradicación, los terneros no tendrían el suficiente desafío de garrapatas en los primeros meses de vida como para quedar protegidos y de futuro los animales del establecimiento

**Cuadro 7.** Presentación de parásitos en respuesta a los diferentes tratamientos (acumulado)

Tratamiento	Días Postratamiento	Estadios de garrapata hallados
IVM 3,15%	27	Metalarva y Metaninfa
	30	Adultos 2-3 mm
	52	Adultos 2-3 mm
	53	Adultos 2-3 mm
	56	Metaninfa y adulto (14 días)
	64	Adulto (16 y 18 días)
FIPRONIL 1%	30	20 teleoginas
	33	15 teleoginas
	34	Adulto, adulto 18 días, teleoginas
	35	Metaninfas, adulto, neogina
FLUAZURON 12,5%+ FLUMETRIN 1%	29	Teleoginas
	30	Adultos 2-3 mm
	34	Metaninfas, teleoginas, gonandro, neogina
	46	Teleoginas y estadios inmaduros

estarían en inestabilidad enzoótica con el consiguiente riesgo de enfermar.

El seguimiento de avance en el programa de erradicación de la garrapata se realizó no solo a través de la revisión de los animales sino también con los estudios serológicos de los hemoparásitos en los terneros previo a ser vacunados. Al principio, si bien se observó un menor porcentaje de seropositivos en general, el mismo fue menor en *Anaplasma* sp. Estos resultados se pueden interpretar asumiendo que la población en refugio de garrapatas, se mantenía en una alta proporción a pesar de la muy baja carga encontrada en los animales. Los acaricidas, de acuerdo a lo publicado por Cuore (2009), permiten que se desarrollen estadios parasitarios hasta neogina y neandro, los cuales en etapa de larva y ninfa son capaces de inocular *B. bovis* y *B. bigemina* respectivamente, no así *Anaplasma* sp. donde la importancia epidemiológica radica más en el macho. Esta situación es la hipótesis que se plantea para explicar lo ocurrido en esta primera etapa, que coincide con los estadios parasitarios encontrados (cuadro 6), pocos adultos ingurgitados y mayor carga de estadios inmaduros.

En una etapa avanzada, julio 2011, la serología reflejó un nivel mínimo de desafío de garrapata, al no encontrarse ningún positivo a *B. bovis* y *Anaplasma* sp y un bajo porcentaje a *B. bigemina*. Este resultado concuerda con la mayor prevalencia de *B. bigemina* encontrada en la epidemiología descrita a nivel nacional (Solari, 1994).

La transición de un rodeo con una gran población de garrapata infectada y estabilidad enzoótica a los hemoparásitos a una situación de erradicación de garrapata, implicó poner en riesgo las nuevas categorías (inestabilidad enzoótica). Esto se previno con éxito por medio de la inmunización de los terneros anualmente.

La experiencia actual se suma a la de dos proyectos finalizados anteriormente donde se aplicó la misma metodología de trabajo. Los mismos se desarrollaron en los Departamentos de Canelones, Paraje Solís Chico (Expediente de la Dirección General de los Servicios Ganaderos N° 7720 del 30 de junio de 2009) y en el departamento Lavalleja, paraje Aguas Blancas. En el primero se erradicaron 16 focos de garrapatas con sus respectivos linderos involucrando un total de 2000 bovinos y en el segundo se realizó a pequeña escala sobre 14 bovinos en un predio experimental perteneciente al MGAP. El tiempo de aplicación de la metodología de erradicación en ambos ensayos fue de 1 año calendario lo cual contrasta con lo ocurrido en Artigas, probablemente con una situación epidemiológica más favorable para el desarrollo del parásito.

Una experiencia de rotación de acaricidas considerando la presión de selección en *R. microplus* la encontramos en un ensayo de campo realizado en Queensland, Australia. Se demostró que frente a una población de garrapatas resistentes al Amitraz, una estrategia de rotación de acaricidas entre generaciones de garrapatas, fue exitosa aún utilizando esta molécula en el esquema de rotación, o utilizando exclusivamente otro principio activo sen-

sible (Spinosa). En ambos ensayos se logró disminuir los niveles de resistencia al Amitraz. El estudio concluye que la reversión fue posible, dado que existe un costo asociado en las garrapatas resistentes, planteándose como hipótesis la posibilidad que estas sean más sensibles a las condiciones del invierno (Jonsson, 2010). Mientras tanto Thullner (2010) a nivel experimental demostró -en una población de garrapatas del género *R. microplus* con resistencia a los Piretroides Sintéticos (PS) y leve resistencia a los Organofosforados (OP)- que el uso exclusivo de PS aumentó en forma exponencial la resistencia a este principio activo mientras que en los grupos tratados con OP o alternando los principios activos, el factor de resistencia no aumentó. Esto se desarrolló presionando las garrapatas durante 11 generaciones con tres diferentes estrategias, primera uso exclusivo de PS, segunda uso exclusivo de OP y la tercera estrategia fue rotando en forma alternada los principios activos.

El hecho de haber confirmado a nivel de laboratorio el primer diagnóstico oficial de resistencia al Amitraz, luego de 32 años de estar en el mercado (primer registro 1977) avala la información internacional donde se describe una baja prevalencia debido a un lento desarrollo de resistencia a esta molécula. La misma tiene una prevalencia de 11% en Australia (Jonsson, 2007) y de 19.4% en México (Rodríguez -Vivas, 2006).

## CONCLUSIONES

- La metodología empleada permitió erradicar una población de garrapatas multirresistente a los acaricidas.
- Existió una plena concordancia entre los resultados de los bioensayos realizados en el Laboratorio, para determinar la

sensibilidad de las garrapatas a los acaricidas y la eficacia obtenida a campo.

- Los errores operativos, principalmente el hecho de no poder realizar el tratamiento simultáneo de todos los animales del establecimiento, se constituyó en el hecho más importante en mantener por más tiempo de lo esperado el ciclo no parasitario de la garrapata.
- La inmunización de los terneros evitó la ocurrencia de brotes de hemoparásitos al pasar de un estado inicial de estabilidad enzoótica, dado las altas cargas parasitarias, a otro de inestabilidad, en los terneros nacidos posteriormente al inicio del proyecto, donde, al disminuir paulatinamente las poblaciones de garrapatas, disminuyó la posibilidad de la transmisión de hemoparásitos.

## Agradecimientos

A los ayudantes de Zonal Artigas, Carlos Alves, María Eugenia Alzaga, Sergio Pintos, Wilson Goncalves; al personal de Zonal Salto, Adriana Arrospide, Fabiana Pedutto y Ariel Rodríguez; por la dedicación brindada en los trabajos de campo.

A los laboratorios Bayer S.A., Merial S.A., Laboratorio Microsules y Compañía Cibeles por el apoyo brindado en el proyecto A la Comisión de Garrapata nombrada por la DGSG - MGAP por el apoyo técnico y el seguimiento del proyecto, coordinada en una primera etapa por el Dr. Francisco Errico.

Al propietario, su familia y al personal del establecimiento.

## Referencias Bibliográficas

1. Cardozo H, Nari A, Franchi M, López A, Donatti N. (1984). Estudio sobre la ecología de *Boophilus microplus* en tres áreas enzoóticas del Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)* 20:4-10.
2. Cardozo H. (1995) Situación de la resistencia del *Boophilus microplus* en el Uruguay. Medidas para controlarla. Seminario Internacional de Parasitología Animal. Resistencia y Control de Garrapatas y Moscas de Importancia Veterinaria. SAGAR-CANIFARMA- FAO-IICA-INIFAP. México.
3. Cuore U. (2006). Resistencia a los Acaricidas, Manejo y Perspectivas. XXXIV Jornadas Uruguayas de Buiatría. pp. 30-35.
4. Cuore U, Trelles A, Sanchís J, Gayo V, Solari MA. (2007). Primer diagnóstico de resistencia al Fipronil en la garrapata común del ganado *Boophilus microplus*. *Veterinaria (Montevideo)* 42:35-41.
5. Cuore U, Cardozo H, Trelles A, Nari A, Solari MA. (2008a). Características de los garrapaticidas utilizados en Uruguay. Eficacia y poder residual. *Veterinaria (Montevideo)* 43: 15-24.
6. Cuore U, Cicero L, Trelles A, Nari A, Solari MA. (2008b). Tratamiento generacional de la garrapata. <http://www.mgap.gub.uy/DGSG/DILAVE/Dilave.htm>
7. Cuore U, Solari MA, Cicero L, Trelles A, Gayo V, Nari A. (2009). Evaluación de los garrapaticidas actualmente disponibles en Uruguay para su utilización en los despachos de tropa. *Veterinaria (Montevideo)* 45:23-30.
8. Drummond RO, Ernest SE, Trevino JL, Gladney WJ, Graham OH. (1973). *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. *J Econ Entomol* 66:130-133.
9. FAO (2004). Resistance management and integrated parasite control in ruminants. Guidelines. CD ROM. [Publications-sales@fao.org](mailto:Publications-sales@fao.org)
10. Fragoso H, Martínez I, Ortiz N, Osorio M. (2006). Comparación de la Eficacia contra la Reinfestación por Garrapatas *Boophilus microplus* de Ixodíidas Organofosforados, Piretroides y Amidinas en Pruebas con Ganado Naturalmente Infestado. XXX Congreso Nacional de Buiatría, Acapulco, México.
- 11- IICA (1987). Técnicas para el diagnóstico de Babesiosis y Anaplasmosis bovinas, ISBN 92 9039 071 9, San José de Costa Rica, pp79.



12. Jonsson NN, Hope M. (2007). Progress in the epidemiology and diagnosis of Amitraz resistance in the cattle tick, *Boophilus microplus*. Aust Vet J 76:746-751.
13. Jonsson NN, Miller RJ, Kemp DH, Knowles A, Ardila AE. (2010). Rotation of treatments between spinosad and amitraz for the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* population with amitraz resistance. Vet Parasitol 169:157-164.
14. Kemp D. (2005). Uso de acaricidas y métodos validados de control de garrapatas. Visión Australiana. Red de garrapatas. (<http://web.andinet.com/reductopar>. Benavidez, Efraín.
15. Nari A, Cardozo H, Berdié J, Canabez F, Bawden R. (1979). Estudios preliminares sobre la ecología del *Boophilus microplus* (Can) en Uruguay. Ciclo no parasitario en un área considerada poco apto para su desarrollo. Veterinaria (Montevideo) 15:25-31.
16. Petraccia C, Nari A, Cardozo H. (1988). Ensayos mediante tratamientos estratégicos contra *Boophilus microplus* con Flumetrina 1% *pour on* en el Uruguay. Noticias Médico Veterinarias. Fas. 1: 18-22.
17. Rodríguez-Vivas RI, Rodríguez-Arevalo F, Alonso-Díaz M, Fragoso-Sanchez H, Santamaria V, Rosario-Cruz R. (2006). Prevalence and potential risk factors for amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle farms in the state of Yucatan, México. Prev Vet Med 75:280-286.
18. Sanchis J, Cuore U, Gayo V, Silvestre D, Invernizzi F, Trelles A, Solari MA. (2008). Estudio sobre la ecología del *Boophilus microplus* en tres áreas del Uruguay. XXXVI Jornadas Uruguayas de Buiatría, Paysandú, Uruguay.
19. Solari MA, Quintana S. (1994). Epidemiología y prevención de los hemoparásitos (Babesia y Anaplasma) en el Uruguay. In Nari&Fiel Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Editorial hemisferio Sur. ISBN: 9974-556-89-9, pp 481-507.
20. Solari MA, Cuore U, Trelles A, Sanchis J, Gayo V. (2007). Aplicación del Control Integrado de Parásitos (CIP) en un Establecimiento Comercial. En Seminario Regional «Aplicación del Control Integrado de Parásitos (CIP) a la Garrapata *Boophilus microplus* en Uruguay». Departamento de Parasitología DILAVE «Miguel C. Rubino», MGAP, Uruguay TCP FAO URU 3003 A. ISBN 978-92-5-305846-4.
21. Stone BF, Haydock KP. (1962). A method for measuring the acaricide-susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). Bulletin of Entomology Research, Vol. 53, Part 3.
22. Thullner F, Willadsen P, Kemp D. (2010). Acaricide rotation strategy for managing resistance in the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acarina: Ixodidae). Laboratory experiment with a field strain from Costa Rica. J Med Entomol 44:817-821.
23. Wilson JT. (1981). El empleo de dosis de separación. Primer curso sobre Manejo de Baños y Estudio de Resistencia de Garrapatas, FAO, Uruguay.



# Uso de extractos etanólicos de *Schinus longifolius* (Molle) y *Eucalyptus grandis* (Eucalipto) para modular la fermentación *in vitro* y la degradación proteica estimada por la concentración de N amoniacal



## Use of Ethanol Extracts of *Schinus longifolius* (Molle) and *Eucalyptus grandis* (Eucalipto) to Modulate the *in vitro* Fermentation and Protein Degradation Estimated by the Concentration of Ammonia N

Santana, A.<sup>1</sup>, Ríos, J.A.<sup>1</sup>, González, M.<sup>3</sup>, Cerecetto, H.<sup>3</sup>, Cajarville, C.<sup>2</sup>, Repetto, J.L.\*<sup>1</sup>

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de extractos etanólicos de Molle (*Schinus longifolius*, MO) o de Eucalipto (*Eucalyptus grandis*, EU) sobre la fermentación ruminal *in vitro*. Se utilizó un arreglo factorial 3×6, combinando los efectos de inclusión de dos extractos (dosis 1000 mg/L) y un control sin extracto añadidos sobre seis concentrados proteicos (harina de soja, harina de girasol de 34% y 31% de Proteína Cruda, harina de canola, granos y solubles de destilería del maíz y harina de guar) utilizados como sustrato. Cada una de las combinaciones se incubó por triplicado en líquido ruminal. Se determinó la producción de gas acumulada a las 12 h (PG<sub>12</sub>) y el pH y la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) del líquido a las 4 h de incubación. El extracto de MO disminuyó la PG<sub>12</sub> en las harinas de girasol y el extracto de EU en la harina de canola (P < 0,05). El pH disminuyó con el agregado de MO en dos sustratos (harina de soja y harina de canola) (P < 0,05). El extracto de EU no afectó el pH. La concentración de N-NH<sub>3</sub> disminuyó con el agregado de EU (P < 0,05). El extracto etanólico de Eucalipto mostró cualidades como modulador de la fermentación ruminal, disminuyendo la degradación de las materias nitrogenadas. El extracto etanólico de Molle controló la fermentación de las harinas de girasol.

**Palabras clave:** fitoextractos, aditivos, suplementos proteicos

### SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the effect of the addition of ethanol extracts of Molle (*Schinus longifolius*, MO) and Eucalyptus (*Eucalyptus grandis*, EU) on ruminal fermentation *in vitro*. We used a 3 × 6 factorial arrangement, combining the effects of inclusion two extracts (dose 1000 mg/mL) and control without extract added on six protein concentrates (soybean meal, sunflower meal 34% and 31% crude protein, canola meal, grains and corn distillers soluble and guar meal) used as substrate. Each of the combinations was incubated in triplicate in rumen fluid. We determined the cumulative gas production at 12 h (PG<sub>12</sub>) and the pH and ammonia nitrogen concentration (N-NH<sub>3</sub>) of the liquid at 4 h of incubation. Molle extract decreased the PG<sub>12</sub> in sunflower meal and EU extract in canola meal. The pH decreased in two substrates with the addition of MO. Eucalyptus extract did not modify the pH. The N-NH<sub>3</sub> concentration decreased with the addition of EU. The ethanol extract of Eucalyptus showed qualities as a modulator of ruminal fermentation, reducing the degradation of nitrogenous substances. The ethanol extract of Molle controlled the fermentation of sunflower meal.

**Key words:** phyto-extracts, additives, protein supplements

### INTRODUCCIÓN

El uso de productos naturales en los sistemas productivos se ha visto favorecido por la creciente presión de los consumidores, reflejada en la legislación de diversos países o grupos de países como la Comunidad Económica Europea que limitan o prohíben el uso de agentes químicos sintéticos, antibióticos u otros (OJEU, 2003).

Existe consenso en la información disponible en cuanto a que los extractos vegetales afectan en forma variable la fermentación ruminal y la degradación de los compuestos nitrogenados (Hart y col., 2008; Benchaar y col., 2008). El aceite esencial de Eucalipto a dosis altas ha sido descrito como un potente inhibidor del crecimiento bacteriano y de la producción de ácidos grasos volátiles (AGVs) (Delaquis y col., 2002). El árbol de

Molle es una especie autóctona del sur de nuestro continente (Argentina, Brasil, Uruguay) con posible acción antimicrobiana (Agudelo y col., 2011) pero no estudiado en cuanto a su efecto sobre la fermentación ruminal.

Cuando se utilizan altos niveles de compuestos nitrogenados de rápida degradación en la dieta de los rumiantes el resultado inmediato es una alta concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) en el rumen. Posteriormente estos exesos de N-NH<sub>3</sub> son eliminados por el organismo animal en forma de urea a través de la orina. Dicha forma de excreción del exceso de N-NH<sub>3</sub> producido en el rumen conlleva un costo energético (Reynal y Broderick, 2005) pudiendo además impactar negativamente en el medio ambiente (Van Horn y col., 1996; Hristov y col., 2011). La disminución de degradación de las materias nitrogenadas en

<sup>1</sup> Departamento de Producción de Bovinos, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay.

\*Autor de contacto: Lasplacas 1550, Montevideo CP 11600, Uruguay, Telefax: 2 6280890. Correo electrónico: joselorepetto@gmail.com

<sup>2</sup> Departamento de Nutrición Animal, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Uruguay.

<sup>3</sup> Grupo de Química Medicinal, Facultad de Ciencias, UdelaR, Uruguay.

Recibido: 14/5/12 Aprobado: 21/6/12

general resulta en niveles más bajos de N-NH<sub>3</sub> ruminal, disminuyendo así la excreción urinaria de nitrógeno (N) (Bohnert y col., 2002). Esta estrategia, que deriva en un aumento de la proporción de proteína no degradable en el rumen, podría eventualmente aumentar el N excretado a través del estiércol. Este último es mucho menos propenso a la volatilización y lixiviación que el excretado por la orina, disminuyendo así el impacto medioambiental del uso de dietas con cantidades relativamente altas de N (Van Horn y col., 1996). Es de interés, por lo tanto, buscar productos que modulen el proceso fermentativo y específicamente la degradación del N a nivel ruminal, para disminuir los costos energéticos y medioambientales derivados de la excreción de N a través de la orina. Una posibilidad, es utilizar extractos vegetales capaces de modular el proceso fermentativo a nivel de rumen.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de extractos etanólicos de *Schinus longifolius* (Molle) o *Eucalyptus grandis* (Eucalipto) sobre la fermentación *in vitro* de concentrados proteicos con diferente degradabilidad.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento consistió en un arreglo factorial 3×6, combinando los efectos de inclusión de dos extractos etanólicos, uno de Molle (*Schinus longifolius*, **MO**) y el otro de Eucalipto (*Eucalyptus grandis*, **EU**), y un control sin extracto (**CON**) añadidos sobre seis concentrados proteicos utilizados como sustrato en un experimento de fermentación *in vitro*. Los extractos se incluyeron a dosis de 1000 mg/L, considerada una dosis media de acuerdo con Benchaar y col. (2008) y Hart y col.

(2008) quienes establecen dosis de 4000 a 5000 mg/L como altas y de 50 a 500 mg/L como bajas.

## Extractos y sustratos

El extracto etanólico de MO se obtuvo a partir de 115,5 g de frutos inmaduros y hojas verdes. El extracto etanólico de EU se obtuvo a partir de 55,0 g de hojas verdes. En ambos casos el material vegetal se maceró con 350 mL de etanol × 3 veces durante 24 h cada una a temperatura ambiente, en oscuridad, obteniéndose 1050 mL de extracto etanólico que se destiló en un evaporador rotatorio (Labotec) a una temperatura de 40 °C. De esta forma se obtuvieron 23,5 g de extracto seco de MO (rendimiento 20%) y 16,6 g de extracto seco de EU (rendimiento 30%). En los experimentos de fermentación la dosis de extracto etanólico utilizada fue de 50 mg/frasco contenido en un volumen total de 50 mL (1000 mg/L). Como sustratos se utilizaron seis concentrados proteicos: harina de soja (HS), dos harinas de girasol (34% (HGa) y 31% (HGb) de proteína cruda), harina de canola (HC), granos y solubles de destilería del maíz (DDGS) y harina de guar calidad «Korma» (GM) (Bhansali international, E-375 Marudhara Industrial Area, Basni Phase II Jodhpur - 342005 INDIA). Los sustratos se molieron (<1mm) y para cada uno se analizó materia seca (MS), cenizas (Cen), proteína cruda (PC) y el extracto al éter (EE) según AOAC (1990); los contenidos de fibra neutro detergente (FDN) y fibra ácido detergente (FDA) se analizaron según Goering y Van Soest (1970). Además se realizó el fraccionamiento de los compuestos nitrogenados según el método propuesto por Licitra y col. (1996). En el cuadro 1 se presenta la composición química de los sustratos.

**Cuadro 1.** Composición química de los distintos sustratos

	<b>HS</b>	<b>HGa</b>	<b>HGb</b>	<b>HC</b>	<b>DDGS</b>	<b>GM</b>
MS (%)	92,8	92,8	92,6	92,2	90,2	94,7
<b>% de la MS</b>						
FDN	14,4	36,1	43,1	31,6	34,9	12,6
FDA	7,2	24,9	29,2	14,7	8,3	1,7
CNE	23,6	19,9	17,6	18,1	26,3	21,6
EE	2,7	2,8	1,9	1,7	9,4	7,3
Cen	8,0	7,3	6,7	6,5	3,7	6,2
PC	51,3	33,9	30,7	42,1	25,7	52,3
<b>% de la PC</b>						
NNP	17,7	25,0	28,0	16,7	21,0	13,2
NPS	34,0	32,4	38,1	36,5	25,3	60,6
NIDN	9,4	14,0	11,0	17,4	18,9	10,8
NIDA	4,1	6,6	6,5	5,0	5,1	0,9

MS, Materia seca; PC, Proteína cruda; FDN, Fibra insoluble en detergente neutro; FDA, Fibra insoluble en detergente ácido; CNE, Carbohidratos no estructurales; EE, Extracto al éter; Cen, Cenizas; PC, Proteína cruda; NNP, nitrógeno no proteico; NPS, nitrógeno y proteína soluble en solución tampón de fosfato-borato; NIDN, nitrógeno insoluble en detergente neutro; NIDA, nitrógeno insoluble en detergente ácido. HS, harina de soja; HGa, harina de girasol 34 % PC; HGb, harina de girasol 31 % PC; HC, harina de canola; DDGS, granos de destilería y solubles; GM, Harina de guar calidad «Korma».

**MONTAJE DE LA BATERÍA *IN VITRO***

Se colocaron 0,5 g de cada uno de los sustratos molidos (criba de 1 mm) en frascos de vidrio de 125 mL. A cada frasco se le adicionaron 36 mL de medio de incubación propuesto por Lowe y col. (1985), 2 mL de solución de bicarbonato de sodio al 8,2 % en agua destilada (p/v) y 0,5 mL de una solución de sulfuro de sodio nohidratado en agua destilada al 2,05 % (p/v). Se eliminó el aire del interior de los frascos mediante una corriente de dióxido de carbono e inmediatamente se taparon con tapones de goma. Los frascos con el sustrato y el medio permanecieron a 4 °C durante 12 h antes de la inoculación para permitir la hidratación del sustrato. Como inóculo se utilizó líquido ruminal extraído de una vaca Holando en lactación, provista con una cánula ruminal, consumiendo por día (base seca) 9,2 kg de pastura de alfalfa (*Medicago Sativa*), 2,9 kg de afrechillo de trigo y 1,2 kg de grano húmedo de maíz ensilado. El líquido se extrajo manualmente y fue filtrado a través de cuatro capas de paño de quesería, en un recipiente térmico previamente precalentado a 39 °C e inmediatamente fue trasladado al laboratorio para su utilización. Media hora antes de la inyección del inóculo los frascos fueron colocados en un baño, incubados a 39 °C donde permanecieron hasta el final del periodo de incubación. Inmediatamente antes de inocular el líquido ruminal se agregaron 2 mL de medio de incubación al tratamiento CON conteniendo 50 mg de extracto etanólico de EU o MO según correspondiera el tratamiento. Luego se adicionaron 10 mL de líquido ruminal fresco siempre bajo gaseo de dióxido de carbono y se sellaron con tapón de goma y precinto de aluminio. En total fueron dieciocho tratamientos, con seis repeticiones (frascos) por tratamiento, tres de las cuales fueron abiertos a las 4 h para determinar el pH y la concentración de N-NH<sub>3</sub> en el líquido. Como blancos se incubaron 6 frascos sin sustrato ni extractos y 12 sin sustrato pero con extracto (seis conteniendo MO y seis EU). Utilizándose los blancos para la corrección de los valores de pH, PG<sub>12</sub> y N-NH<sub>3</sub> determinados en los tratamientos.

**Determinaciones y cálculos**

La producción de gas por gramo de materia orgánica de sustrato acumulada a las 12 h de incubación (PG<sub>12</sub>) se determinó siguiendo

el procedimiento descrito por Theodorou y col. (1994) y modificado por Mauricio y col. (1999). Se determinó la presión mediante un manómetro digital con transductor (Sper scientific LTD. Scottdale, EE.UU.) cada 2 h desde la inoculación hasta las 12 h, dejando escapar el gas de los frascos luego de cada medición. Previo a las determinaciones se estableció la relación entre presión y volumen de gas, obteniéndose la ecuación: V (mL) = 4,40 P (psi) + 0,09 P<sup>2</sup> (psi); donde: V es el volumen de gas y P la presión, con un coeficiente de regresión de R<sup>2</sup> = 0,998.

A las 4 h de incubación se abrieron 3 frascos por tratamiento en los que se determinó el pH del líquido mediante pHmetro digital (Oakton®). Además se extrajo una muestra de 10 mL del contenido de cada frasco, que fue conservada con 10 mL de cloruro de sodio al 20% y congelada a -20 °C. Posteriormente se analizó la concentración de N-NH<sub>3</sub> por destilación directa (FAO, 1986).

**Análisis Estadístico**

Todos los datos se analizaron mediante ProcMixed del SAS System for Windows 9.0 ®.

El modelo estadístico utilizado para PG<sub>12</sub>, pH y NH<sub>3</sub> fue:

$$y_{ijk} = \mu + E_i + S_j + E_i \times S_j + e_{ij}$$

Siendo:

y<sub>ijk</sub> la variable en estudio; μ la media; E<sub>i</sub> el efecto del extracto medido en k frascos; S<sub>j</sub> el efecto del sustrato; E<sub>i</sub> × S<sub>j</sub> la interacción extracto por sustrato y e<sub>ijk</sub> la sumatoria de errores.

Las medias se separaron mediante el test de Tukey. Las interacciones detectadas fueron desdobladas mediante el procedimiento «SLICE» del Sas System for Windows 9.0 ®.

**RESULTADOS**

Para las tres variables estudiadas se detectaron efectos del sustrato, del extracto y en el caso de pH y PG<sub>12</sub> existieron además interacciones entre ambos efectos (Cuadro 2).

La concentración de N-NH<sub>3</sub> (Cuadro 2) fue mayor para las harinas de girasol (HG), de canola (HC) y la harina de goma guar (GM). El menor valor lo presentó el DDGS. Con respecto a los

**Cuadro 2.** Efecto de la adición de extractos, del sustrato y de la interacción entre ambos y principales efectos simples sobre la producción de gas, el pH y el nitrógeno amoniacal *in vitro*

	MO						EU						Control						ESM	p		
	HS	HGa	HGb	HC	DDGS	GM	HS	HGa	HGb	HC	DDGS	GM	HS	HGa	HGb	HC	DDGS	GM		E	S	SxE
PG	167	135 <sup>a</sup>	136 <sup>a</sup>	165 <sup>b</sup>	128	130	174	159 <sup>ab</sup>	168 <sup>b</sup>	137 <sup>a</sup>	128	130	182	181 <sup>b</sup>	164 <sup>b</sup>	161 <sup>b</sup>	130	130	6,94	*	**	*
pH	6,3 <sup>a</sup>	6,4	6,3	6,3 <sup>a</sup>	6,2	6,4	6,4 <sup>ab</sup>	6,4	6,3	6,3 <sup>ab</sup>	6,2	6,4	6,4 <sup>b</sup>	6,3	6,5	6,4 <sup>b</sup>	6,2	6,4	0,01	*	**	*
NH <sub>3</sub>	2,1	2,2	2,8	2,8	1,2	2,0	1,9	2,7	2,3	2,3	0,8	1,8	1,7	2,8	3,0	2,7	1,2	2,7	0,26	*	**	ns

\* P < 0,05; \*\*P < 0,01; ns P > 0,05.

MO, extracto etanólico de «*Schinus longifolius*»; EU, extracto etanólico de «*Eucalyptus grandis*»; Control, sin extracto; PG, mL de gas producido por g de materia orgánica de sustrato a las 12 h de incubación (mL/g sustrato); pH, pH a las 4 h; NH<sub>3</sub>, g N-NH<sub>3</sub>/100 mL a las 4 h; ESM, Error Estándar de las Medias (ESM); E, efecto del extracto; S, efecto del sustrato; SxE, interacción extracto por sustrato.

HS, harina de soja; HGa, harina de girasol 34 % PC; HGb, harina de girasol 31 % PC; HC, harina de canola; DDGS, granos de destilería y solubles; GM, Harina de guar calidad «Korma».

Diferentes superíndices en una misma fila para un mismo sustrato difieren P < 0,01.

extractos añadidos, los materiales incubados con EU fueron los que presentaron menores concentraciones de N-NH<sub>3</sub> (P < 0,05), no detectándose diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento con MO y el control (P = 0,47).

La inclusión de MO disminuyó la PG<sub>12</sub> en HGa y HGb (P < 0,01, ESM = 6,48) y el EU en HC (P < 0,01 ESM = 6,48). Al mismo tiempo, con el agregado de MO disminuyó el pH, en los sustratos de HS y de HC (P = 0,039; ESM 0,012), mientras que éste no se modificó con el agregado de EU (Cuadro 2).

## DISCUSIÓN

Varios trabajos reportan que a dosis altas (>2000 mg/L), diversos extractos vegetales como los de *Eucalyptus spp*, *Allium sativa*, *Cinnamomum cassia*, *Yucca schidigera*, *Origanum vulgare* y *Capsicum spp*, y compuestos puros obtenidos a partir de aceites vegetales como Carvacrol y Eugenol conducen a una disminución en los procesos de fermentación *in vitro* (Patra, 2011; Benchaar y col., 2007) disminuyendo la producción de gas (Jiménez-Peralta y col., 2011), así como el N-NH<sub>3</sub> y aumentando el pH (González y col., 2002; Cardozo y col., 2005; Busquet y col., 2006; Castillejos y col., 2008). Sin embargo a dosis de extractos como la utilizada en este estudio (≤ 1000 mg/L) las referencias bibliográficas no son concluyentes (Benchaar y col., 2007).

En este trabajo, la adición de EU disminuyó la producción de gas en concordancia con los resultados de Kumar y col. (2009), quienes trabajando con aceite esencial de *Eucalyptus globulus* a dosis de 0,33 a 1,66 µL/mL de medio de incubación describieron una disminución lineal de la producción de gas. Estos autores también evidencian una disminución paralela de la concentración de ácidos grasos volátiles. Esto no parece haber sucedido en el presente trabajo dado que no se observaron modificaciones en el pH, aunque es de resaltar que, el hecho de trabajar con un sistema *in vitro* implica el uso de sustancias tampón que podrían enmascarar este efecto.

Con respecto al MO la marcada disminución en la producción de gas observada cuando se incubó como aditivo de ambas harinas de girasol, no se registró ni siquiera a nivel de tendencia con otros sustratos, por lo que parece haber algún tipo de acción

específica sobre este tipo de sustrato. Se debe señalar que no existen descripciones anteriores en la literatura sobre la acción de este extracto, obtenido de la flora nativa Uruguaya.

Si bien se partió de sustratos con degradaciones muy diferentes, lo cual está reflejado tanto en el fraccionamiento químico de las materias nitrogenadas como en las concentraciones de N-NH<sub>3</sub>, el EU mostró una capacidad marcada y diferenciada de los otros tratamientos para disminuir la concentración de N-NH<sub>3</sub> independientemente del tipo de sustrato utilizado. La concentración de N-NH<sub>3</sub> está en relación directa con la degradación de los compuestos nitrogenados de los sustratos por parte de los microorganismos ruminales (Van Soest, 1994). La acción de EU sobre la concentración N-NH<sub>3</sub> podría estar explicada por una acción específica de este extracto sobre un grupo bacteriano denominado «Bacterias híper productoras de amonio» (*Clostridium sticklandii*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium aminophilum*). La inhibición de este grupo podría resultar en una disminución de la desaminación de aminoácidos y de la concentración de N-NH<sub>3</sub> (Broderick y Balthrol, 1979; McIntosh y col., 2003; Molero y col., 2004; Cardozo y col., 2004). Este grupo bacteriano se encuentra en bajo número en el rumen pero es responsable de gran parte (hasta 50 %) de la desaminación (Russell y col., 1991). Si bien no se conocen trabajos que hayan estudiado la acción específica del Eucalipto sobre este grupo de bacterias, McIntosh y col. (2003) tratando cultivos bacterianos con 36 mg/L de una mezcla comercial de aceites esenciales provenientes de Eucalipto observaron una disminución de un 50 % en el crecimiento de *Clostridium sticklandii*.

## CONCLUSIONES

El extracto etanólico de Eucalipto mostró cualidades como modulador de la fermentación ruminal disminuyendo la degradación de las materias nitrogenadas sin afectar el pH. El extracto etanólico de Molle controló la fermentación de las harinas de girasol, aunque en este trabajo no pudo demostrarse su efecto sobre la degradación proteica. Las acciones demostradas por ambos extractos ameritan profundizar su estudio en cuanto a los principios activos actuantes, los mecanismos de acción y las concentraciones necesarias para evidenciar los efectos.

## Referencias Bibliográficas

1. Agudelo IJ, Wagner ML, Gurni AA, Ricco RA. (2011). Dynamic of polyphenolic compounds of *Schinus longifolius* Cabrera (Anacardiaceae) in response to infection by *Cecidosea eremita* Curtis (Lepidoptera: Cecidosidae). *Bol Soc Argent Bot* 46 (Supl.): 167.
2. AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). (1990). Official methods of analysis. 15th ed. Arlington, USA. 1141 pp.
3. Benchaar C, Calsamiglia S, Chaves G, Fraser G, Colombatto D, McAllister T. (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim Feed Sci Technol* 145:209–228.
4. Benchaar C, Chaves A, Fraser G, Wang Y, Beauchemin K, McAllister T. (2007). Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Can J Anim Sci* 78:413–419.
5. Bohnert DW, Schauer CS, DelCurto T. (2002). Influence of rumen protein degradability and supplementation frequency on performance and nitrogen use in ruminants consuming low quality forage: Cow performance and efficiency of nitrogen use in wethers. *J Anim Sci* 80:1629–1637.
6. Broderick G, Balthrol JJ. (1979). Chemical Inhibition of Amino Acid Deamination by Ruminant Microbes *In Vitro*. *J Anim Sci* 49:1101–1111.
7. Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. (2006). Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J Anim Sci* 89:761–771.
8. Cardozo P, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. (2004). Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and

- fermentation profiles in continuous culture. *J Anim Sci* 82:3230-3236.
9. Cardozo W, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. (2005). Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *J Anim Sci* 83:2572-2579.
  10. Castillejos L, Calsamiglia S, Martyn-Tereso T, Ter Wijlen H. (2008). *In vitro* evaluation of effects of ten essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. *Anim Feed Sci Technol* 145:259-270.
  11. Delaquis P.J, Stanich K, Girard B, Mazza G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Intl J Food Microbiol* 74:101-109.
  12. FAO, 1986: Analytical methods for characterizing feed resources for ruminants. In: Better utilization of crop residues and by-products in animal feeding: research guidelines 2. A practical manual for research workers. Retrieved October 8, 2007, from <http://www.fao.org/documents/en/detail/27299>.
  13. Goering HK, Van Soest PJ. (1970). Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agriculture Handbook N° 379, USDA. Ed. U. S. Government Printing Office, Washington DC, U.S.A. 20 pp.
  14. González S, Pabón M, Carulla J. (2002). Effects of tannins on *in vitro* ammonia release and dry matter degradation of soybean meal. *Arch Latinoam Prod Anim* 10:97-101.
  15. Hart K, Yañez-Ruiz D, Duval S, McEwan N, Newbold C. (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol* 147:8-35.
  16. Hristov A, Hanigan M, Cole A, Todd R, McAllister T. (2011). Review: Ammonia emissions from dairy farms and beef feedlots. *Can J Anim Sci* 91:1-35.
  17. Jiménez-Peralta F, Salem A, Mejia-Hernández P, González-Ronquillo M, Albarrán-Portillo B, Rojo-Rubio R. (2011). Influence of individual and mixed extracts of two tree species on *in vitro* gas production kinetics of a high concentrate diet fed to growing lambs. *Livest Sci* 136:192-200.
  18. Kumar R, Kamra DN, Agarwal N, Chaudhary LC. (2009). Effect of Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) Oil on *in vitro* Methanogenesis and Fermentation of Feed with Buffalo Rumen Liquor. *Anim Nutr Feed Technol* 9:237-243.
  19. Licitra G, Hernandez TM, Van Soest PJ. (1996). Standardization of procedures for nitrogen fractionation or ruminant feeds. *Anim Feed Sci Technol* 57:347-358.
  20. Lowe SE, Theodorou MK, Trinci APJ, Hespell RB. (1985). Growth of anaerobic rumen fungi on defined and semi-defined media lacking rumen fluid. *J Gen Microbiol* 131:2225-2229.
  21. Mauricio RM, Mould FL, Dhanoa MS, Owen E, Channa KS, Theodorou MK. (1999). A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim Feed Sci Technol* 79:321-330.
  22. McIntosh F, Williams P, Losa R, Wallace R, Beever D. (2003). Effects of Essential Oils on Ruminant Microorganisms and Their Protein Metabolism. *Appl Environ Microbiol* 64:5011-5014.
  23. Molero R, Ibars M, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R. (2004). Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. *Anim Feed Sci Technol* 114:91-104.
  24. OJEU (Official Journal of the European Union). 2003. REGLAMENTO (CE) No 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea del 22 de septiembre de 2003. *Diario Oficial de la Unión Europea sobre los aditivos en la alimentación animal*, pp. L268/36 en OJEU de 10/18/2003.
  25. Patra AK. (2011). Effect of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. *Asian J Anim Vet Adv* 6:416-428.
  26. Reynal S, Broderick G. (2005). Effect of Dietary Level of Rumen-Degraded Protein on Production and Nitrogen Metabolism in Lactating Dairy Cows. *J Dairy Sci* 88: 4045-4064.
  27. Russell J, Onodera R, Hino T. (1991). Ruminant protein fermentation: New perspectives on previous contradictions. En: *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*. Eds. Tsuda T, Sasaki Y, Kawashima R. Ed. London Academic Press Limited. pp 691-697.
  28. Theodorou MK, Williams BA, Dhanoa MS, McAllan AB, 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.
  29. Van Horn H, Newton G, Kunkle W. (1996). Ruminant Nutrition from an Environmental Perspective: Factors Affecting Whole-Farm Nutrient Balance. *J Anim Sci* 74:3082-3102.
  30. Van Soest P.J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. Ed. Cornell University Press. 2° ed. New York 476 p.





# Primer registro del piojo *Heterodoxus spiniger* (Phthiraptera: Amblycera: Boopidae) parasitando perros en Uruguay

## First Record of the Louse *Heterodoxus spiniger* (Phthiraptera: Amblycera: Boopidae) Parasitizing Dogs in Uruguay



Venzal, J.M.<sup>1</sup>, Radcenco, P.<sup>2</sup>, Rocca, H.<sup>2</sup>, Sequeira, C.<sup>3</sup>

### RESUMEN

Se reporta por primera vez al piojo *Heterodoxus spiniger* parasitando perros en Uruguay, el hallazgo se realizó en la ciudad de Bella Unión en el Departamento de Artigas. También se confirma la presencia de *Linognathus setosus* el cual no estaba documentado bibliográficamente para el país. Con el presente reporte son tres las especies de piojos hallados parasitando perros en Uruguay: *Trichodectes canis*, *H. spiniger* y *L. setosus*.

**Palabras clave:** *Heterodoxus spiniger*, primer registro, perros, Uruguay

### SUMMARY

The louse *Heterodoxus spiniger* is reported parasitizing dogs for the first time in Uruguay, the report is in the city of Bella Unión in Artigas County. Additionally we confirm the presence of *Linognathus setosus* since it was not documented bibliographically for the country. With this report are three species of lice found as parasites of dogs in Uruguay: *Trichodectes canis*, *H. spiniger* and *L. setosus*.

**Key words:** *Heterodoxus spiniger*, first record, dogs, Uruguay

### INTRODUCCIÓN

Los piojos (Phthiraptera) son ectoparásitos obligados en todos sus estadios, tienen como hospedadores a aves y mamíferos y se alimentan de sangre, plumas, descamaciones y exudados dérmicos (Martín-Mateo, 2002). Tradicionalmente la clasificación de los piojos incluía los órdenes Anoplura, conocidos como piojos chupadores o picadores y Mallophaga, que incluye los piojos masticadores o mordedores. Actualmente se acepta un solo orden, Phthiraptera, que incluye los subórdenes Anoplura, Amblycera, Ischnocera y Rhyncophthirina (Lyal, 1985). El suborden Amblycera se reconoce por tener normalmente entre 4-5 segmentos en las antenas, siendo el tercero pedunculado. Las antenas están dispuestas en ranuras laterales en la cabeza. Las mandíbulas están en paralelo con la superficie ventral de la cabeza y cortan en plano horizontal. Con palpos maxilares presentes, filiformes (Price y Graham, 1997; Cicchino y Castro, 1998). Desde el punto de vista sanitario los Amblycera están señalados como vectores de distintos microorganismos y como huéspedes intermediarios de nematodos filarioideos (Cicchino y Castro, 1998).

Para Amblycera se reconocen unas 1334 especies distribuidas en 95 géneros pertenecientes a seis familias: Boopidae, Gyropidae, Laemobothriidae, Menoponidae, Ricinidae y Trimenoponidae, aunque algunos autores reconocen siete ya que incluyen Abrocomphagidae (Johnson y Clayton, 2003; Price y Graham, 1997; Emerson y Price, 1976). Tres familias de Amblycera parasitan mamíferos (incluyendo Boopidae, con la excepción de una especie que parasita casuarios en Nueva Guinea: Clay, 1971; Lyal, 1985) y tres a aves. Las especies que parasitan a mamíferos lo hacen generalmente en las especies más primitivas de estos (Emerson y Price 1985).

La familia Boopidae es un grupo relativamente pequeño de piojos con 8 géneros reconocidos y 55 especies, parásitos de mamí-

feros marsupiales de Australia y Nueva Guinea (Johnson y Clayton, 2003), con dos excepciones conocidas, una que es *Therodoxus oweni* parásita de casuarios en Nueva Guinea (Clay, 1971), y la otra es *Heterodoxus spiniger*, frecuente parásito de los perros a lo largo del mundo. Morfológicamente esta familia se caracteriza por tener en la cabeza dos espinas largas y robustas que se dirigen hacia atrás y generalmente poseen una seta en forma de espina en una protuberancia en cada lado del mesonoto. El género *Heterodoxus* está compuesto por 24 especies que parasitan canguros y wallabies de Australia y Nueva Guinea, a excepción de *H. spiniger* (Johnson y Clayton, 2003). Esta especie, a veces denominado como piojo del canguro, fue sin embargo descrito sobre perros en Sudáfrica (Enderlein, 1909). Actualmente se reconoce que *H. spiniger*, era originalmente un parásito de marsupiales en Australasia, que se adaptó al dingo y en la era moderna al perro doméstico (Emerson y Price, 1985). *H. spiniger* es más prevalente en regiones tropicales y templadas que en climas fríos y su distribución acompaña a la de su principal hospedador, el perro, en regiones climáticas favorables. Esta especie es principalmente conocida como parásito del perro doméstico, pero también parasita otros carnívoros como chacales, coyotes y zorros (Canidae) y ginetas y civetas (Viverridae). Se alimenta de sangre y al parecer no complementa su alimentación como masticador de elementos tegumentarios, como predador de ácaros o canibalismo sobre otros piojos (Agarwal y col., 1982).

Los efectos causados por *H. spiniger* sobre sus hospedadores no están del todo claros pero sí se ha mencionado la muerte de cachorros debido a infestaciones severas (Roberts, 1936). Altas parasitosis pueden causar importante adelgazamiento (Nelson, 1962). En Argentina se observó que en perros con altas cargas parasitarias el prurito provoca que los animales al rascarse se produzcan laceraciones que se infectan secundariamente con

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Regional Norte, Universidad de la República, Rivera 1350, 50000 Salto, Uruguay.

Correo electrónico: dpvuru@hotmail.com.uy

<sup>2</sup>Estudiantes de Facultad de Veterinaria, Regional Norte, Salto, Uruguay.

<sup>3</sup>Ejercicio liberal de la profesión, Bella Unión, Uruguay.

Recibido: 4/5/12 Aprobado: 2/7/12

bacterias, con una reacción de inflamación generalizada y comportamiento abúlico (Cicchino y Castro, 1998). *H. spiniger* actúa como hospedador intermediario de varios endoparásitos del perro como el cestodo *Dipylidium caninum* (Yutuc, 1975) y la filaria *Dipetalonema reconditum* (Nelson, 1962).

Los perros domésticos son parasitados por tres especies de piojos, *Linognathus setosus*, *Trichodectes canis* y *H. spiniger*. *Linognathus setosus* se localiza principalmente en cabeza y cuello, siendo especialmente común debajo del cuello. *Trichodectes canis* normalmente se halla en la cabeza, cuello, y región de la cola de los perros, dónde se fija en la base de los pelos mediante sus garras o mandíbulas. *H. spiniger* puede encontrarse en cualquier parte del cuerpo (Durden, 2002).

El objetivo de este trabajo es reportar por primera vez para Uruguay al piojo *H. spiniger* parasitando perros.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El material utilizado fue obtenido el 9 de febrero de 2012 de un perro vagabundo procedente de la ciudad de Bella Unión en el departamento de Artigas, el cual tenía un tumor maligno (carcinoma espinocelular) terminal, por lo que se decidió su eutanasia. Durante la inspección se constató la presencia de gran cantidad de piojos los cuales se caracterizaban por sus rápidos movimientos y dificultad de ser capturados. Los piojos colectados fueron colocados en un recipiente con alcohol 70° y enviados para su diagnóstico al Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Veterinaria en Regional Norte – Salto. Parte del material fue montado en láminas utilizando Bálsamo del Canadá mediante la técnica recomendada por Palma (1978). Para la determinación genérica y específica se utilizaron los trabajos de Kéler (1971), Johnson y Clayton (2003) y Werneck (1948).

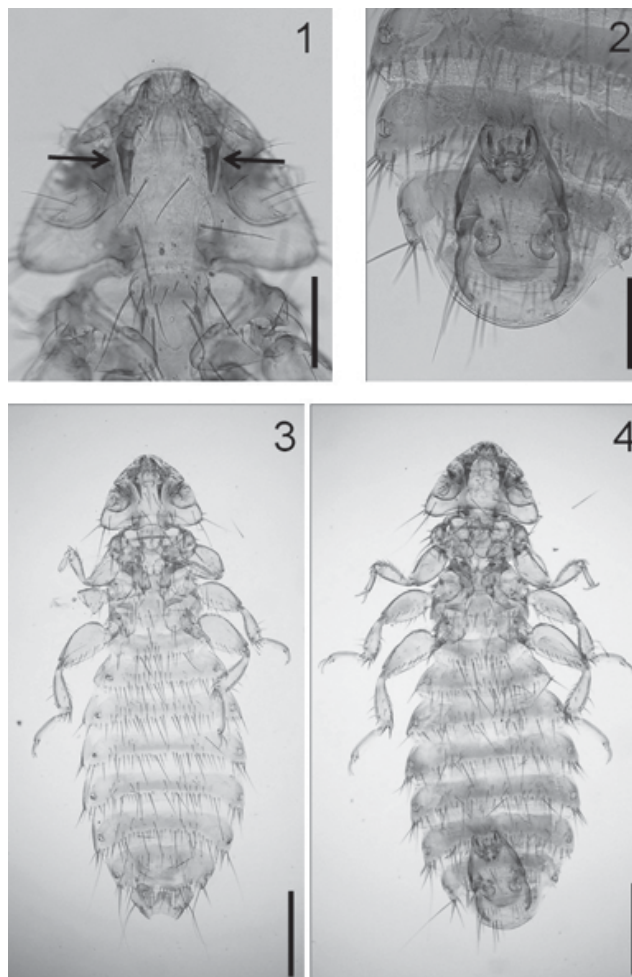
### RESULTADOS

Los piojos fueron clasificados como pertenecientes al género *Heterodoxus*; entre las principales características morfológicas poseen en la parte ventral de la cabeza una fuerte proyección posterior similar a una espina o cuerno, situados en la base de cada uno de los palpos maxilares (Figura 1).

A nivel específico se determinaron como *H. spiniger*, ya que la hembra posee la papila genital claramente redondeada en la parte anterior y el macho por las características de la genitalia masculina (Figura 2). En total el material estaba representado por 16 hembras (Figura 3), 1 macho (Figura 4) y 3 ninfas. Los ejemplares se encuentran depositados en la colección de ectoparásitos del Departamento de Parasitología Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Regional Norte, Salto, Uruguay.

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En base a este hallazgo se reporta una nueva especie de piojo parasitando perros en Uruguay. Esta sería la tercera especie de piojo reportada en este hospedador en el país, ya que *T. canis* fue confirmada por Venzal y col. (2006) y es actualmente la especie más frecuente hallada en perros, y la otra es *L. setosus*, la cual si bien no cuenta con una citación bibliográfica específica, es conocida por un ejemplar hembra colectado en Uruguay el 14 de agosto de 1984 sin datos de localidad y depositada con el



**Figuras 1-4.** *Heterodoxus spiniger*. 1 - Vista ventral de la cabeza con las espinas dispuestas hacia atrás señaladas por flechas. Escala 0,2 milímetros. 2 - Macho: detalle de la genitalia masculina. Escala 0,25 milímetros. 3 - Hembra: imagen general. Escala 0,55 milímetros. 4 - Macho: imagen general. Escala 0,51 milímetros.

código ANLI-022 en el Departamento de Parasitología Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay.

La aparición de este piojo en Uruguay era de esperar ya que la especie había sido mencionada con bastante anterioridad para Brasil, Argentina y Chile, así como en otros países de América (Werneck, 1948). La ciudad de Bella Unión, donde se realizó el hallazgo, se encuentra en el noroeste del país y es fronteriza con Argentina y Brasil y por su localización es un sitio estratégico para la entrada de nuevos parásitos. Por ejemplo, en esta ciudad fue donde se realizó el primer registro de *Felicola subrostratus* en Uruguay (Freyre, 1989).

De esta manera quedan reportadas para Uruguay las tres especies de piojos que parasitan a perros, y por lo tanto hay que prestar atención a esta parasitosis en el norte del país ya que probablemente exista en localidades cercanas al hallazgo.

Si bien los efectos patógenos de *H. spiniger* en los perros estarían dados por altas cargas parasitarias o por la transmisión de helmintos, el perro sobre el cual fue realizado el hallazgo tenía un mal estado general por la severa patología que padecía lo cual explica el gran número de piojos observados, ya que los mismos aumentan su población ante una inmunosupresión de su hospedador.

#### Agradecimientos

Al Lic. Oscar Castro por la revisión crítica del manuscrito y a la Dra. Perla A. Cabrera por la confirmación de la procedencia del material de *Linognathus setosus*.

#### Referencias Bibliográficas

1. Agarwal GP, Chandra S, Saxena AK. (1982). Feeding habits of dog louse *Heterodoxus spiniger* (End) (Mallophaga, Amblycera). *Z Angew Ent* 94:134-137.
2. Cicchino AC, Castro D del C. (1998). Amblycera. En: Morrone JJ, Coscaron S. (Eds.). Biodiversidad de artrópodos argentinos. Una perspectiva biotaxonomica. Ediciones Sur. La Plata, Argentina. Pp. 84-103.
3. Clay T. (1971). A new genus and two new species of Boopidae (Phthiraptera: Amblycera). *Pacific Insects* 13:519-529.
4. Durden LA. (2002). Lice (Phthiraptera). In: Mullen GR, Durden LA. (Eds.). *Medical and Veterinary Entomology*. Academic Press/Elsevier Science, San Diego. Pp. 45-65.
5. Emerson KC, Price RD. (1976). Abrocomophagidae (Mallophaga: Amblycera), a new family from Chile. *Fla Entomol* 59:425-428.
6. Emerson KC, Price RD. (1985). Evolution of Mallophaga on mammals. In: Kim KC. (Ed.). *Coevolution of Parasitic Arthropods and Mammals*, John Wiley & Sons, New York. Pp. 233-255.
7. Enderlein G. (1909). Anopluren (Siphunculaten) und Mallophagen. *Denkschriften der Medizinisch. Naturwissenschaftlichen Gessellschaft za Jena* 14:79-81.
8. Freyre A. (1989). *Felicola subrostratus* en gatos domésticos en Uruguay. *An Fac Vet (Uruguay)* 21-25:65-70.
9. Johnson KH, Clayton DH. (2003). The biology, ecology and evolution of chewing lice. In: Price RD, Hellenthal RA, Palma RL, Johnson KP, Clayton DH. *The chewing lice: world checklist and biological overview*. Illinois Natural History Survey Special Publication, Illinois. Pp. 449-476.
10. Kéler S von. (1971). A revision of the Australasian Boopiidae (Insecta: Phthiraptera), with notes on the Trimenoponidae. *Aust J Zool Supplement* 6:1-126.
11. Lyal CHC. (1985). Phylogeny and classification of the Psocodea, with particular reference to the lice (Psocodea: Phthiraptera). *Syst Entomol* 10:145-165.
12. Martín-Mateo MP. (2002). Mallophaga, Amblycera. En: Fauna Ibérica. Vol. 20. Ramos MA y col. (Eds). Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid. 187 pp.
13. Nelson GS. (1962). *Dipetalonema reconditum* (Grassi, 1889) from the dog with a note on its development in the flea, *Ctenocephalides felis*, and the louse, *Heterodoxus spiniger*. *J Helminthol* 36:297-308.
14. Palma RL. (1978). Slide mounting of lice: a description of the canada balsam technique. *N Z Entomol* 6(4):432-436.
15. Price MA, Graham OH. (1997). Chewing and sucking lice as parasites of mammals and birds. *US Department of Agriculture Technical Service Bulletin* No. 1849. 309 pp.
16. Roberts FHS. 1936. Gross infestation of the dog with the kangaroo louse *Heterodoxus longitarsus* (Piaget). *Aust Vet J* 12:240.
17. Venzal JM, Castro O, de Souza C, Correa O. (2006). Nuevos registros de piojos Trichodectidae (Phthiraptera: Ischnocera) para Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 41:31-34.
18. Werneck FL. (1948). Os Malófagos de Mamíferos. Parte I: Amblycera e Ischnocera (Phthirapteridae e parte de Trichodectidae). *Rev Bras Biol Special*. 243 pp.
19. Yutuc LM. (1975). Research note-Cysticeroids in the kangaroo louse, *Heterodoxus longitarsus*. *Philipp J Vet Med* 14:189-191.



# Factores asociados a la presentación del tipo de cáncer en caninos atendidos en el Hospital de la Facultad de Veterinaria de Uruguay



TÉCNICO

## Factors Associated With the Presentation of the Type of Cancer in Dogs Assisted in the Hospital of the Faculty of Veterinary of Uruguay

Elgue, V.<sup>1</sup>, Piaggio, J.<sup>2</sup>, Amaral, C.<sup>3</sup>, Pessina, P.<sup>1</sup>

### RESUMEN

El cáncer es una causa de muerte frecuente en perros geriátricos, esta información ha sido generada a nivel internacional, no encontrándose en Uruguay ningún tipo de información respecto de la casuística de los tipos de cáncer en perros. Los objetivos de este estudio fueron determinar la casuística del cáncer y la frecuencia de los tipos de cánceres entre los años 2005 y 2010. Se estudió la asociación de factores de riesgo como edad, sexo y raza en la aparición del cáncer. Se revisaron las fichas clínicas registradas en el Hospital de la Facultad de Veterinaria entre los años 2005 y 2010 (n=9277); registrándose información únicamente en los casos clínicos con cáncer en los años 2005 al 2009. Para el año 2010 los datos se trataron de manera diferencial definiéndose un grupo control y un grupo cáncer. Los resultados evidenciaron mayor proporción de hembras con cáncer que machos. Los animales de edad avanzada resultaron más afectados. Las razas Rottweiler y la Boxer tendieron a ser las más afectadas por el cáncer. En el período estudiado la casuística del cáncer estuvo entre 0,11 y 0,15. Se concluye que el sexo, la edad y la raza son factores asociados a la presencia del cáncer.

**Palabras clave:** *cáncer, casuística, caninos*

### SUMMARY

Cancer is one of the most common causes of death in geriatric dogs. The available information is international, and no information regarding canine cancer in Uruguay was found. The objectives of this study were to determine the casuistry and the frequency of cancers between 2005 and 2010. The association of risk factors such as age, sex and race in the appearance of cancer was investigated. A retrospective study which reviewed all the hospital medical records of the Veterinary School between 2005 and 2010 (n=9277) was performed, recording during 2005 to 2009 only information of the clinical cases of cancer. The data collected in 2010 were treated differentially, defining a control group and a cancer group. The results showed a higher proportion of cancer in females and older dogs than males and young animals. The breeds most affected by cancer tended to be the Rottweiler and Boxer. In the period studied cancer casuistry was between 0.11 and 0.15. This paper concludes that sex, age and race are factors associated with the presence of cancer.

**Key words:** *cancer, casuistry, canines*

### INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad importante en los animales de compañía y una de las principales causas de muerte en perros geriátricos (Egenvall y col., 2000). Sin embargo, estimar en forma precisa las tasas de morbilidad y mortalidad de dicha enfermedad en los animales de compañía es difícil de lograr (Vascellari y col., 2009). Mientras que en medicina humana los registros de cáncer han existido y evolucionado con los años, los registros de cáncer en veterinaria y específicamente en caninos están limitados a un pequeño número de estudios realizados muchos años atrás. La información disponible sobre la incidencia de los diferentes tipos de cáncer en animales de compañía también es escasa. Uno de los registros veterinarios de cáncer más grandes, más conocidos y citados con mayor frecuencia es el Registro de Neoplasias de Animales de California (CANR) (Dorn y col., 1968). Trabajos publicados a partir de esta base de datos han demostrado que la piel es el tejido afectado con mayor frecuencia en perros y gatos y que los perros de raza pura parecen ser más propensos a desarrollar enfermedades neoplásicas en todos

los sitios (Dorn y col., 1968). Otras bases de datos como el Registro de neoplasias de Estados Unidos y Canadá (VMDP=Veterinary Medical Data Program), muestran resultados similares a los anteriores en cuanto a la frecuencia de localización de las neoplasias (Theilen y Madewell, 1979). Sin embargo, Vascellari y col. (2009), reportaron que en hembras caninas la neoplasia más diagnosticada fue el tumor mamario, seguido de tumores de piel y tejidos blandos mientras que en machos éstos últimos ocuparon el primer lugar.

Está claramente establecido a nivel internacional y hay evidencias irrefutables de que el cáncer tiene un origen genético (Vogelstein y Kinzler, 2004), no obstante, desde el punto de vista epidemiológico, el cáncer no puede ser considerado una simple enfermedad y es sabido que existen diferentes factores de riesgo para la aparición del mismo. El sexo, la raza y principalmente la edad son factores determinantes de la susceptibilidad frente al cáncer. Egenvall y col. (2000) reportaron una mayor morbilidad en hembra (2,66%) que en machos (1,58%) mientras que otros autores sostienen que esta diferencia estaría dada por la alta

<sup>1</sup>Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, A. Lasplacas 1550, Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: valelgue@hotmail.com, ppessina@hotmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Bioestadística e Informática, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, A. Lasplacas 1550, Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: jopia@adinet.com.uy

<sup>3</sup>Departamento de Clínica de Pequeños Animales, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, A. Lasplacas 1550, Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: mcamaral@adinet.com.uy

Recibido: 16/2/12 Aprobado: 5/6/12

frecuencia de los cánceres mamarios en perra y que sin tener en cuenta este cáncer el riesgo tumoral sería más o menos equivalente en ambos sexos. Sin embargo existen excepciones como el tumor de glándulas perineales que es más frecuente en los machos (Conroy, 1983) o el cáncer de vejiga más frecuente en hembra (Flores, 1986). Se sabe también que existen razas de alto riesgo frente a ciertos tumores, como la aparición del osteosarcoma en la raza Gran Danés o la predisposición que presenta la raza Bóxer a todo tipo de tumores (Flores, 1986). La influencia de la edad en el desarrollo del cáncer está demostrada tanto en medicina humana como veterinaria. La mayoría de los tumores en caninos experimentan un incremento constante y regular de su incidencia a medida que el animal envejece (Bronson, 1982; Martínez de Merlo y Pérez Díaz, 2007). Se debe mencionar que algunos tipos específicos de tumores presentan una distribución de edad con patrones diferentes como ser el linfoma y osteosarcoma caninos (Martínez de Merlo y Pérez Díaz, 2007).

En nuestro país no hemos encontrado información respecto de la incidencia de los tipos de cáncer en perros; los datos con los que contamos son de origen europeo o estadounidense como se mencionó anteriormente. La comprensión de factores de riesgo para el cáncer es crítica para el desarrollo de estrategias dirigidas a la prevención del mismo (Reif, 2009).

Este trabajo tiene como objetivos contribuir al conocimiento del cáncer en caninos en general y específicamente determinar la casuística de cáncer en caninos en el Hospital de la Facultad de Veterinaria entre los años 2005 y 2010, así como investigar si factores como el sexo, la raza y la edad están asociados a la aparición del mismo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo en el que se revisaron todas las fichas clínicas del Hospital de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República Oriental del Uruguay, registradas entre los años 2005 y 2010 ( $n=9277$ ). En este período se recabaron solamente datos de todos los cánceres encontrados. Los datos obtenidos se registraron en planillas diseñadas para considerar las siguientes variables: edad, sexo, raza y tipo de cáncer. Se determinó la proporción de los casos existentes de cáncer en los caninos atendidos en el Hospital de la Facultad de Veterinaria. Para el año 2010 únicamente se realizó un estudio de tipo caso-control (Cohen y col., 1974; Priester y Mantel 1971) en el que se consideraron los casos clínicos cuyos diagnósticos excluían el cáncer como controles. De estos casos se registraron únicamente variables como edad, sexo y raza. En el grupo cáncer (casos = pacientes con cáncer) además de registrar estas variables se registró el tipo de cáncer.

Los cánceres se clasificaron según su localización: piel, mama, tumor venéreo transmisible (TVT) (se tomó como un grupo independiente por su alta frecuencia), aparato reproductor (pene, próstata, vagina, útero y ovario), testículos (por su alta frecuencia se consideró en forma independiente), óseos, linfáticos, perineales, cavidad oral y vasculares (hemangiomas y hemangiopericitomas). Debido a la baja frecuencia del resto de los cánceres todos ellos se agruparon en la categoría «otros». Las edades se agruparon en tres rangos: de 0 a 5 años; de 6 a 10 años y de 11 a 20 años. Se registraron 42 razas que se mantuvieron

como tales acorde a la frecuencia de las mismas: el Pastor Alemán, el Cocker, el Doberman, el Bóxer, el Rottweiler, el Caniche, el Dogo y las cruza; mientras que en «otras» se agruparon el resto de las razas puras con menor frecuencia de aparición.

## Análisis estadístico

**Años 2005-2010:** se realizó una descripción de los tipos de cáncer en términos de números de casos clínicos y porcentaje del total de cáncer de acuerdo a la categoría de edad, sexo y raza acorde al test de Chi cuadrado.

**Año 2010:** Se analizaron los datos utilizando una regresión logística sobre la variable cáncer (respuesta, 0 - 1) incluyendo las variables explicativas edad, sexo y raza. Además se calculó el «odds ratio» (razón de posibilidades, chance) para el grupo cáncer en relación a los controles, para las variables sexo, edad y raza. Se consideró significativo una  $P \leq 0,05$  y los valores entre  $P > 0,05$  y  $\leq 0,15$  se consideraron como tendencia.

## RESULTADOS

### Número de casos

Entre los años 2005 y 2010 se registraron 9277 caninos atendidos en el Hospital de la Facultad de Veterinaria de los cuáles 1175 tenían cáncer. La casuística del cáncer en el período estudiado estuvo entre 0,11 y 0,15. En el año 2010 se evaluaron un total de 1429 fichas clínicas de las cuales 1217 correspondieron a controles y 212 a casos de cáncer. La casuística para el año 2010 fue de 0,15.

### Tipos de Cáncer

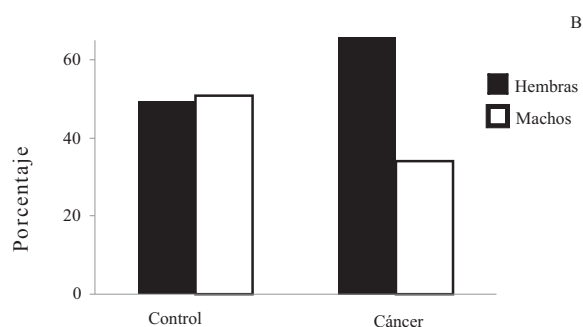
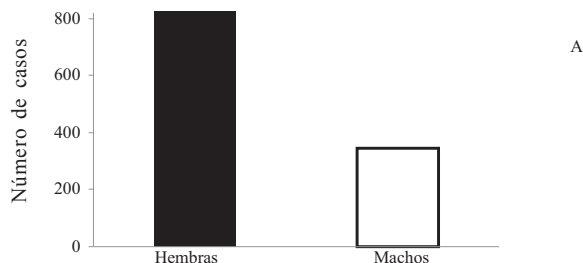
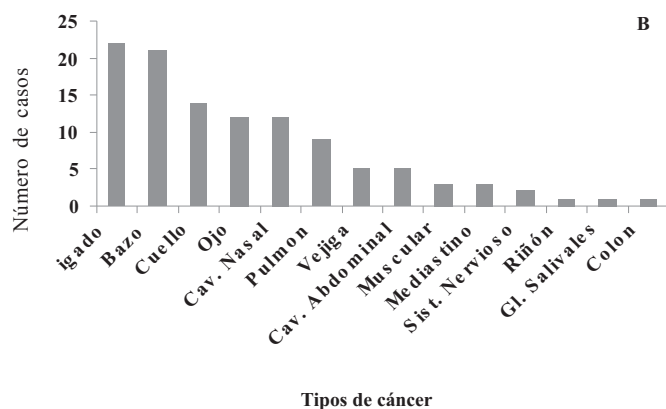
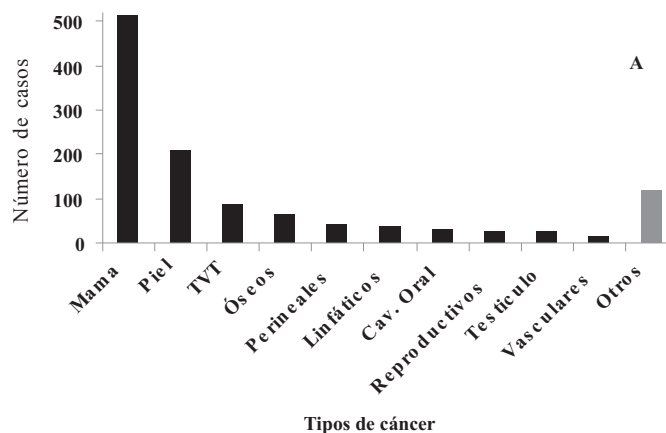
El tipo de cáncer que se presentó con mayor frecuencia fue el de mama (513/1171) y en segundo lugar el de piel (209/1171), en tercer lugar el tumor venéreo transmisible (TVT) (86/1171), cuarto el cáncer óseo (64/1171), quinto el cáncer perineal (40/1171) (Cuadro 1, Figura 1A). Con frecuencia más baja (3,3% a 1,5%) se encontraron el cáncer linfático, el de cavidad oral, los reproductivos (pene, próstata, vagina, útero, ovario), el de testículo (se consideró separado por su mayor frecuencia) y los vasculares (hemangiomas y hemangiopericitomas) (Figura 1A). Los cánceres que presentaron menor número de casos se agruparon en «otros» destacándose el cáncer de hígado y bazo (Figura 1B).

### Sexo

En los años 2005 a 2010 de los 1175 casos de cáncer registrados 828 fueron hembras (70,6%) y 345 machos (29,4%), Figura 2A. A excepción de los cánceres reproductivos, que estuvieron asociados directamente al género y del cáncer perineal que afectó principalmente a los machos con un 80% (32/40), los otros tipos de cáncer afectaron de igual manera a machos y hembras. En el año 2010 el género estuvo asociado a la frecuencia de aparición de cáncer ( $P < 0,0001$ ), hubo una mayor proporción de hembras con cáncer que machos. Para el año 2010 el grupo control incluyó 599 hembras y 618 machos y el grupo con cáncer 140 hembras y 72 machos (Figura 2B). El «odds ratio» de que una hembra presente cáncer respecto a un macho es de 1.7 ( $P=0,001$ ).

**Cuadro 1.** Porcentaje de tipo de cáncer registrado en perros atendidos en el Hospital de la Facultad de Veterinaria de Uruguay en el período 2005 a 2010

Tipo de cáncer	Porcentaje (%)
Mama	43,8
Piel	17,9
TVT	7,3
Óseo	5,5
Perineal	3,4
Linfático	3,3
Cavidad oral	2,7
Reproductivo	2,4
Testículo	2,3
Vascular	1,5
Otros	9,9
Total	100

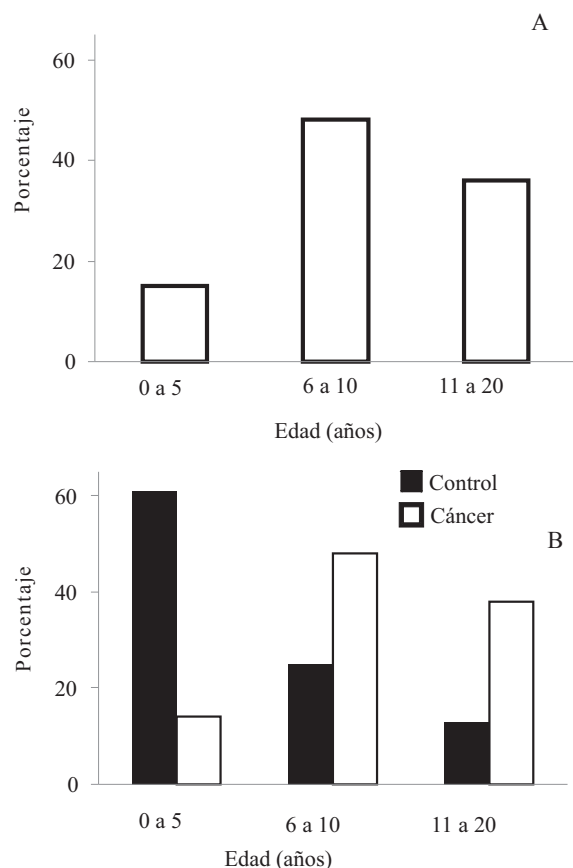


**Figura 2.** Número de casos de cáncer distribuidos por sexo años 2005 – 2010 (A) y porcentaje de hembras y machos en grupo control y grupo cáncer año 2010 (B).

**Figura 1.** Número de casos clínicos según el tipo de cáncer (A) y número de «otros» cánceres (B) años 2005 - 2010.

**Edad**

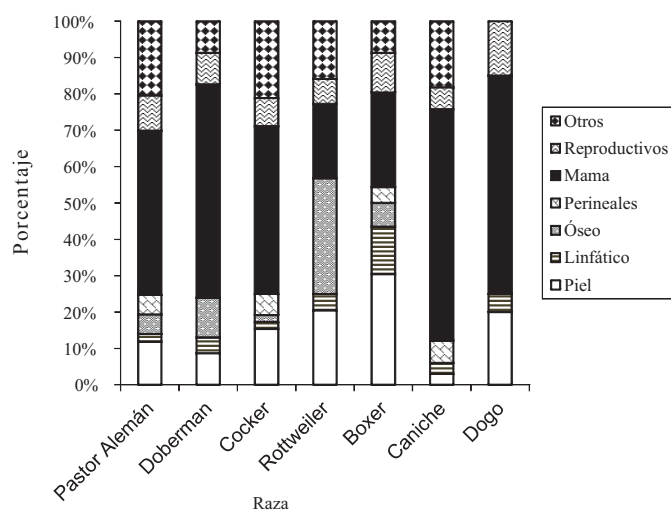
Durante los años 2005 a 2010 la franja etaria que registró más caninos con cáncer fue la de 6 a 10 años (564 casos), luego la de 11 a 20 (427 casos) y por último la de 0 a 5 años (180 casos) (Figura 3A). En el año 2010 la edad afectó la frecuencia de aparición de las neoplasias ( $P < 0,0001$ ). El número de animales con cáncer respecto los controles de la misma franja etaria fueron: 30 vs 746 de 0 a 5 años, 81 vs 161 de 11 a 20 años y 101 vs 310 de 6 a 10 años (Figura 3B). El «odds ratio» de que un perro de mediana edad (6 a 10 años) presente cáncer respecto a un animal joven (0-5 años) fue de 11,5 ( $P < 0,0001$ ) mientras que en animales gerontes (11 a 20 años) aumentó a 17,2 ( $P < 0,0001$ ). En los caninos jóvenes (0 a 5 años) se registró el mayor número de casos de TVT, 52% (45/86). En la franja etaria de 6 a 10 años se encontró el 45% (93/209) de los tumores de piel, el 52% (264/513) de los tumores de mama, el 54% (21/39) de los tumores linfáticos y el 55% (35/64) de los tumores óseos. En la franja de 11 a 20 años se registraron el 60% (24/40) de los tumores perineales, el 45% (25/55) de los tumores reproductivos, el 45% (14/31) de los tumores de la cavidad oral, así como el 47% (8/17) de los tumores vasculares.



**Figura 3.** Porcentaje de casos de cáncer distribuidos por franjas etarias años 2005 - 2010 (A) y porcentaje de grupo control y grupo cáncer según franja etaria año 2010 (B).

**Raza**

Durante los años 2005 a 2010 se registraron más casos clínicos de cáncer en la raza Pastor Alemán con un 7,9% (93/1170), luego la Cocker con un 4,4% (52/1170), seguido de la Doberman y la Boxer con un 3,9% (46/1170), luego la Rottweiler con un 3,7% (44/1170), la raza Caniche con un 2,8% (33/1170) y por último la Dogo con un 1,7% (20/1170). Las cruza o mestizos fueron los que presentaron la mayor frecuencia con un 54,5% (638/1170). Dado que en el período 2005-2009 no se contó con un grupo control no se puede aseverar que raza presentó mayor frecuencia. Para el año 2010 el número de animales con cáncer respecto los controles de la misma raza fueron: 10 vs 64 para la raza Caniche, 8 vs 60 para el Pastor Alemán, 10 vs 41 para la Cocker, 13 vs 37 para la Boxer y 9 vs 25 para la raza Rottweiler. El odd ratio de que un Rottweiler o un Bóxer presenten cáncer respecto a los animales cruce fue de un OR de 2,2 (P=0,095) y 1,9 (P=0.098) respectivamente. La raza Bóxer presentó mayor proporción de cáncer de piel y linfático que las otras razas, y la raza Rottweiler presentó mayor proporción de cáncer óseo que las demás razas estudiadas (Figura 4).



**Figura 4.** Proporción del tipo de cáncer en cada raza años 2005 - 2010.

**DISCUSIÓN**

La casuística de cáncer en perros atendidos en el Hospital de Facultad de Veterinaria en el período 2005 - 2010 estuvo entre 0,11 y 0,15. Si bien los datos obtenidos no representan la población de perros en general permiten hacer una estimación adecuada de la casuística para describir las características generales de la distribución del cáncer en caninos (Reif, 2009). En un estudio realizado en 3 años consecutivos en el Estado de California, USA, se reportó un ratio de incidencia anual de 3,8 casos de cáncer por cada 1000 perros, definiéndose la población control en este como todos los casos que son llevados al veterinario para algún tipo de control (Withrow y Vail, 2007). No hemos encontrado en la literatura estudios similares al nuestro que permitan comparar resultados.

El género afectó la frecuencia de aparición de cáncer, estando las hembras más representadas que los machos, este dato es coincidente con lo reportado por Egenvall y col. (2000) quienes observaron una morbilidad de 2,66% en hembras y 1,58% en machos. Los machos presentaron más tumores perineales, lo que concuerda con lo reportado por Conroy (1983), que menciona que el riesgo de padecer este tipo de tumor es 5 a 10 veces mayor en machos que en hembras.

La glándula mamaria fue el órgano más afectado por tumores seguido de la piel, para ambos estudios (2005 - 2010, año 2010). Estos datos difieren con lo reportado en trabajos de origen estadounidense o europeo, donde la piel ocupa el primer lugar y la mama el segundo órgano afectado (Dorn y col., 1968; Theilen y Madewell, 1979). Esta diferencia estaría dada por la esterilización a edad temprana que se realiza en estos países tanto de hembras como de machos. No obstante, esta claramente demostrado que las hormonas sexuales intervienen en el desarrollo de



los tumores mamarios caninos. Las perras tienen 7 veces más riesgo de cáncer mamario, comparadas con las castradas y la edad en que se realiza la ovariectomía guarda relación directa con el riesgo de padecer neoplasia mamaria (Ogilvie y Moore, 2008).

El efecto de la edad resultó un factor importante en la aparición de casi todos los tipos de neoplasias. Los animales gerontes resultaron más afectados seguidos de los de mediana edad. Estos resultados concuerdan con lo reportado por numerosos autores quienes postulan que la mayoría de los tumores ocurren en perros mayores de nueve años y que el cáncer es una de las causas de muerte más común en perros geriátricos (Dobson y col., 2002; Withrow y Vail, 2007). El tumor venéreo transmisible, fue encontrado mayormente en la edad de 0-5 años, se explica en gran medida por coincidir con la etapa de mayor actividad reproductiva de los animales. En el mismo sentido Bravo y col. (2009) reportan que al ser una neoplasia transmitida sexualmente los animales de mayor riesgo son los perros de 4 a 5 años de edad. En el análisis de los años 2005 a 2010 también encontramos que en los tumores perineales la categoría de edad más afectada fue la de 11 a 20. En acuerdo con nuestros resultados, Martins y col. (2008) reportan que son los machos mayores de 8 años los más afectados.

En el año 2010, las razas Rottweiler y la Boxer tendieron a presentar una mayor proporción de cáncer que las demás razas. Estos datos coinciden con lo reportado en la bibliografía donde el Boxer es considerado como una raza de alto riesgo frente a varios tipos de tumores (Cohen y col., 1959; Bravo y col.,

2010). De la misma manera Bonnett y col. (2005) reportan que la tasa de tumores en Bóxer es casi cuatro veces mayor a la de los Golden Retriever.

Con respecto a la proporción del tipo de cáncer por raza se encontró que la raza Rottweiler presentó mayor proporción de cáncer óseo que las demás razas estudiadas coincidiendo con lo publicado por Flores (1986) donde se postula que el sarcoma estaría relacionado a la mayor tasa de crecimiento o al mayor trauma que sufren los huesos en perros grandes, por el simple hecho de crecer más rápido y soportar un peso mayor que las razas pequeñas. Por otra parte, la raza Bóxer presentó mayor proporción de cáncer de piel y linfático que las otras razas, lo que concuerda con lo publicado por Dorn y col. (1968), donde se identificó a la raza Bóxer como una raza de alto riesgo para el linfoma maligno.

### CONCLUSIONES

En este estudio el 11% al 15% de los perros atendidos en el Hospital de Facultad de Veterinaria en el período 2005-2010 presentaron cáncer. Además se demostró que el sexo y la edad son factores asociados a la presencia del cáncer, siendo las hembras y los perros gerontes seguidos de los de mediana edad los más afectados. Las razas Rottweiler y Bóxer tendieron a presentar mayor proporción de cáncer que las demás razas.

### Agradecimientos

Quisiéramos agradecer a la Dra. Ana Meikle por sus aportes, corrección de este manuscrito y a la Sra. Isabel Sartore por el relevamiento de datos.

### Referencias Bibliográficas

- Bonnett BN, Egenvall A, Hedhammar A, Olson P. (2005). Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: I. Breed-, gender-, age- and cause-specific rates. *Acta Vet Scand* 46:105-20.
- Bravo D, Cruz-Casallas P, Ochoa J. (2010). Prevalencia de neoplasias en caninos en la Universidad de los Llanos, durante 2004 a 2007. *MVZ Córdoba* 15:1925-1937.
- Bronson RT. (1982). Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. *Am J Vet Res* 43:2057-2059.
- Cohen D, Reif JS, Brodey RS, Keiser H. (1974). Epidemiological analysis of the most prevalent sites and types of canine neoplasia observed in a veterinary hospital. *Cancer Res* 34:2859-2868.
- Conroy JD. (1983). Canine skin Tumors. *J Amer Anim Hosp Assoc* 19:91-115.
- Dobson J, Samuel S, Milstein H, Rogers Wood J. (2002). Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. *J Small Anim Pract* 43:240-246.
- Dorn CR, Taylor DON, Schneider R. (1968). Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda Country. *J Natl Cancer Inst* 40:307-318.
- Egenvall A, Bonnett BN, Olson P. (2000). Gender, age, breed and distribution of morbidity and mortality in insured dogs in Sweden during 1995 and 1996. *Vet Rec* 146: 519-525.
- Flores E. (1986). Epidemiología del cáncer en perro y gato. *Monografías Med Vet* 8:39-48.
- Kelsey J, Antony S, Moore A, Clickman, L (1998). Epidemiologic studies of risk factors for cancer in pets dogs. *Epidemiol Rev* 20:204-217.
- Martínez de Merlo EM, Pérez Díaz C. (2007). Influencia de la edad en el desarrollo del cáncer. *RECEVET* 2:1-4.
- Martins AM, Vasques-Pevser A, Torres LN, Matera JM, Dagli ML. (2008). Retrospective systematic study and quantitative analysis of cellular proliferation and apoptosis in normal, hyperplastic and neoplastic perianal glands in dogs. *Vet Comp Oncol* 6:71-79.
- Ogilvie GK, Moore A. (2008). Manejo del paciente canino oncológico: Guía práctica para la atención compasiva. Buenos Aires, Argentina, Inter-Médica, 676 pp.
- Priester WA, Mantel N. (1971). Occurrence of tumors in domestic animals. Data from 12 United States and Canadian colleges of veterinary medicine. *J Natl Cancer Inst* 47: 1333-1344.

15. Reif JS, Dunn K, Ogilvie GK. (1992). Passive smoking and canine lung cancer risk. *Am J Epidemiol* 135:234-239.
16. Theilen GH, Madewell B. (1979). *Veterinary Cancer Medicine*. Lea y Febiger, Philadelphia. 379 pp.
17. Vascellari M, Baioni E, Ru G, Carminato A, Mutinelli F. (2009). Animal tumor registry of two provinces in northern Italy: incidence of spontaneous tumors in dogs and cats. *BMC Vet Res*. 5:39.
18. Vogelstein B, Kinzler KW. (2004). Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med* 10:789-799.
19. Withrow SJ, Vail DM. (2007). *Oncología clínica de pequeños animales*. 4a ed. Barcelona. Elsevier, pp 69-76

## Sincronización de celos con Prostaglandina $F_{2\alpha}$ e Inseminación Artificial a celo visto en vaquillonas de carne



## Estrus Synchronization With Prostaglandin $F_{2\alpha}$ and Artificial Insemination After Detected Estrus in Beef Heifers

Mérola, D.<sup>1</sup>, Cuelho, N.<sup>1</sup>, Vázquez, A.<sup>2</sup>, Cavestany, D.<sup>3\*</sup>

### RESUMEN

Con el objetivo de colaborar a la información nacional sobre esquemas de manejo reproductivo en bovinos, se presentan los resultados de un trabajo de inseminación artificial (IA) en vaquillonas de carne, con un esquema de detección de celos y sincronización con Prostaglandina. Se utilizaron 378 vaquillonas de raza Hereford, Aberdeen Angus y sus cruizas en un protocolo que consistió en detección de celo e IA durante 6 días, administración de Prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (PG) al día 7 y detección de celo e IA por 5 días más. Los porcentajes de detección de celos, concepción y preñez se calcularon sobre los 12 días que duró el trabajo. El porcentaje de detección de celos fue de 87%, el de concepción (preñadas sobre inseminadas) fue del 72% y el de preñez (preñadas sobre ofrecidas) fue del 63%. El pico de ocurrencia de celos luego de la PG fue a las 48 y 72 horas del tratamiento (24,1% y 20,4%, respectivamente).

### SUMMARY

With the objective of collaborating to national information about reproductive management schemes in cattle, results of a program of artificial insemination (AI) in beef heifers synchronized with Prostaglandin and inseminated after heat detection are presented. A total of 378 heifers Hereford, Aberdeen Angus and their crosses were used in a protocol which consisted of detection of estrus and IA for 6 days, administration of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  (PG) at the 7th day and detection of estrus and IA for 5 days. Detection of estrus, conception and pregnancy rates were calculated on the 12 days that lasted the work. The percentage of estrus detection was 87%, of conception (pregnant over inseminated) was 72% and pregnancy (pregnant over offered) was 63%. Peak estrus occurrence after PG was at 48 to 72 hours of treatment (24.1-20.4%, respectively).

### INTRODUCCIÓN

Los programas de sincronización de celos con Prostaglandinas (PG) son herramientas comunes en los programas de inseminación artificial (IA) en vaquillonas. La IA se utiliza en un alto porcentaje, siendo la detección de celos el mayor problema para lograr una buena eficiencia reproductiva (Larson y Ball, 1992). Los protocolos de IA con PG resultan en una alta concentración de celos en un periodo de tiempo en el que se puede maximizar la detección de celo (Rusiñol y Cavestany, 2011). A pesar que este programa de manejo reproductivo es posiblemente el más comúnmente realizado para inseminar vaquillonas en nuestro país, los reportes de resultados son sumamente escasos; el objetivo de esta comunicación es, por lo tanto, presentar los resultados obtenidos en un programa de sincronización de celos con Prostaglandinas (PG), para aportar a la información nacional publicada en el tema.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado del 7 al 18 de noviembre del 2011 con vaquillonas Hereford y Aberdeen Angus y sus cruizas, de dos y cuatro dientes; los animales fueron seleccionados con 20 días de anterioridad a la iniciación del trabajo, tomando como criterio una condición corporal igual o mayor a 4 y con actividad ovárica determinada por palpación rectal. El total de animales utilizado

fue de 378. Al comienzo del trabajo se realizó detección de celo e inseminación dos veces diarias y al séptimo día se administró 2 cc de Prostaglandina  $F_{2\alpha}$  (PG) (15 mg de D-Cloprostenol, Celovet Prost, Gensur Ltd., Montevideo, Uruguay) a todas las vaquillonas que no fueron inseminadas en los días previos y se continuó con la detección de celos e IA por 5 días más; la duración total del trabajo fue, por lo tanto, de 12 días. A los 30 días de finalizado el trabajo se realizó diagnóstico de gestación por ultrasonografía.

### Definición de parámetros de eficiencia reproductiva

**Porcentaje de detección de celos (PDC):** Animales detectados en celo en 12 días dividido por total de animales ofrecidos y multiplicado por cien.

**Porcentaje de concepción (PC):** Animales preñados dividido animales servidos y multiplicado por cien.

**Porcentaje de preñez (PP):** Animales preñados dividido animales ofrecidos y multiplicado por cien, o (PDC x PC).

### RESULTADOS

En el cuadro 1 se resume el resultado del trabajo. Los porcentajes de detección de celos, concepción y preñez se calcularon sobre los 12 días que duró el trabajo. El porcentaje de detección de celos fue de 87%, el de concepción (preñadas sobre inseminadas) fue del 72%, el de preñez (preñadas sobre ofrecidas) fue del 63%. El pico de ocurrencia de celos luego de la PG fue a las 48 y 72 horas del tratamiento (24,1% y 20,4%, respectivamente).

<sup>1</sup>Estudiantes de Veterinaria,

<sup>2</sup>Médico Veterinario, Ejercicio Liberal, Florida,

<sup>3</sup>Departamento de Reproducción, Facultad de Veterinaria

\*Autor para correspondencia: daniel.cavestany@gmail.com

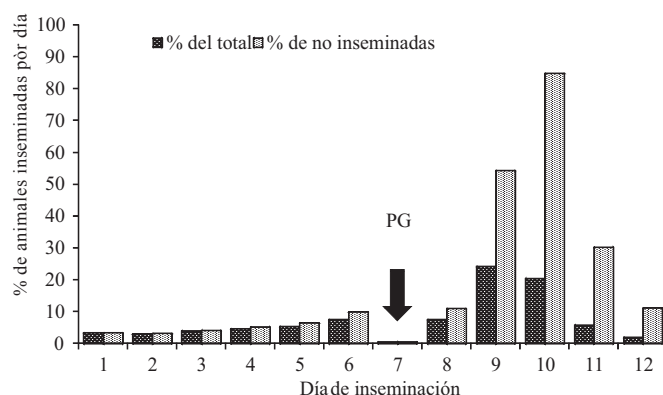
Recibido: 20/4/12 Aprobado: 7/5/12

nadas) fue del 72% y el de preñez (preñadas sobre ofrecidas) fue del 63% (cuadro 1).

**Cuadro 1.** Vaquillonas ofrecidas, inseminadas y preñadas durante el trabajo

Parámetro	Número	Porcentaje
Ofrecidas	378	100
Inseminadas (PDC)	327	87
Concepción (PC)	271	72
Preñez (PP)	271	63

En la figura 1 se muestra el porcentaje de vaquillonas inseminadas por día; éste se calculó de dos maneras diferentes, sobre el total de animales ofrecidos al comienzo del trabajo (% del total) y como el porcentaje de animales inseminados sobre los que restaban sin inseminar diariamente (% de no inseminados).



**Figura 1.** Porcentaje diario de animales detectados en celo, calculado sobre el total de la población ofrecida al comienzo del trabajo (barras negras) o calculando el porcentaje sobre los animales sin inseminar en cada día (barras grises).

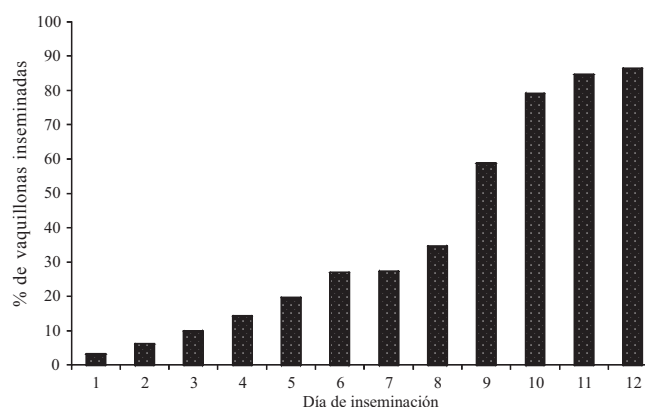
La incidencia promedio de celos diarios en los primeros 7 días fue de 3,9% considerando el total de animales ofrecidos al comienzo del trabajo. El «pico» de celos luego de la administración de PG ocurrió entre 48 y 72 horas luego del tratamiento, con porcentajes de animales en celo de 24,1% al día 9 y 20,4%

### Referencias Bibliográficas

- Rusiñol C, Cavestany D. (2011). Comparación de tres métodos de sincronización de celos y ovulaciones con y sin inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vaquillonas para carne. *Veterinaria (Uruguay)* 47:25-30.
- Cavestany D, Crespi D, Fernández A. (2010). Oestrus synchronisation and fixed time artificial insemination in beef heifers. *Anim Prod Sci* 50:670-674.

al día 10. El porcentaje de celos acumulados en los 7 primeros días fue de 27,2% y en los tres días siguientes al tratamiento fue de 51,9%. En los días 11 y 12 del trabajo se inseminaron 29 animales (7,5%), lo que completa el 87% de detección de celo obtenido en el trabajo. Por otra parte, si el cálculo se realiza sobre la población sin inseminar, los porcentajes de animales en celo en los días 9 y 10 aumentan a 54,2% y 84,6%. Los porcentajes de celos diarios calculados sobre los animales sin inseminar (los cuales, naturalmente, no se pueden agrupar) reflejan la respuesta al tratamiento.

En la figura 2 se muestra el porcentaje de celos acumulados, donde se puede apreciar mejor el efecto del tratamiento con PG.



**Figura 2.** Porcentaje acumulado de vaquillonas inseminadas en los 12 días del trabajo.

### DISCUSIÓN

La ocurrencia diaria de celos durante los primeros días del trabajo fue la esperada de una población ciclando (Smalley, 1981). La misma fue además aumentando diariamente hasta el día 6, luego del cual disminuyó a menos del 1%. Esto parecería reafirmar la ventaja del esquema planteado, detectando celo los primeros 6 días del trabajo, ya que representa animales en el diestro tardío y proestro, que iban a entrar en celo naturalmente. La respuesta a la sincronización fue la esperada (Rusiñol y Cavestany, 2011). Queda por explicar el porcentaje de animales que no se detectaron en celo en los 12 días del trabajo (PG incluida), que pueden ser animales en anestro o con síntomas débiles de celo, algo que también se ha detectado en trabajos previos (Cavestany y col., 2010).

- Larson LL, Ball PJH. (1992). Regulation of estrus cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology* 38:255-267.
- Smalley SA. (1981). Management problems of large dairies. *Vet Clin North Am: Large Anim Pract* 3:289-305.



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: [revistavet@yahoo.com](mailto:revistavet@yahoo.com)

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:

1. Trabajo Científico: artículo original, comunicación corta (reporte o caso clínico), revisión.
2. Trabajo Técnico o de Difusión o Nota Técnica (práctica veterinaria, diagnóstico, tecnológico, conferencia).
3. Comunicaciones cortas; no deberán exceder las 12 páginas.
4. 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.<sup>1</sup>, Gómez, J.<sup>2\*</sup>

**Dirección:** (en pie de página): ejemplo: <sup>1</sup>Departamento de Bovinos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Suipacha 698, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup> 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.