

VETERINARIA



Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay

Año LX Vol. 46 N° 177-178-179-180 Enero - Diciembre de 2010

Cerro Largo 1895 - Montevideo - Uruguay - Tel-Fax (598) 2408 6174 - 2409 9458 - E-mail: smvu@smvu.com.uy

Página Web: www.smvu.com.uy

Contenido

Editorial

Trabajo Científico - Arbitrado

- Aislamiento de Complejo *Mycobacterium avium* (MAC) en parques zoológicos y reservas de fauna de Uruguay en el período 1978-2008 **Artículo Original**
Errico, F.; Silva-Paravís, M.; Castro-Ramos, M. 9
- Estudio comparativo de tres técnicas diagnósticas para la Leucosis Enzoótica Bovina y análisis del efecto de enfermedades concurrentes sobre la fórmula leucocitaria **Artículo Original**
Rama, G.; Meikle A.; Puentes, R.; Moratorio G.; Nicolini, P.; Pessina P.; Furtado A.; Pritsch, O. 15
- Frecuencia alélica del Síndrome de Estrés Porcino en Uruguay (análisis por PCR-RFLP) **Comunicación Corta**
Montenegro, M.; Castro, G.; Barlocco, N.; Llambí, S. 23
- Caracterización de septicemia hemorrágica bacteriana (SHB), diagnosticadas en peces ornamentales de Uruguay **Artículo Original**
Carnevia, D.; Letamendía, M.; Perretta, A.; Delgado, E. 27
- Perfiles metabólicos y endócrinos en perros sanos: influencia de la ingesta y el sexo **Comunicación Corta**
Pessina, P.; Sosa, C.; Araújo, M.; Orellana, B.; Brambillasca, S.; Cajarville, C.; Meikle, A. 33

Diagnóstico- Arbitrado

- Intoxicación por *Wedelia glauca* en bovinos en Uruguay
Rivero, R.; Adrien, M.L.; Matto, C.; Novoa, F.; Uriarte, G.; Charbonier, D. 39
- Detección viral en cachorros con diagnóstico presuntivo de Parvovirus canino (CPV)
Puentes, R.; Eliopulos, N.; Finger, P.; Castro, C.; Nunes, C.; Furtado, A.; Franco, G.; Hübner, O. S. 47
- «Shaking puppy syndrome» (síndrome del cachorro temblador) en Weimaraners: tres casos en una misma camada. Primer diagnóstico clínico en Uruguay
Delucchi, L.; Feijóo, G.; Duran, E. 51

XXXVIII Jornadas Uruguayas de Buiatría-3-5 junio, Paysandú, Uruguay

Instrucciones para los autores

Esta edición consta de 1700 ejemplares y se distribuye sin costo a todos los socios de la SMVU.
Los contenidos y opiniones incluidos en los artículos son responsabilidad exclusiva de los autores.
Se autoriza la reproducción parcial o total de lo editado mencionando la fuente.
Por convenio de la SMVU y Facultad de Veterinaria (16-12-1988), el Dpto. de Documentación y Biblioteca de la Facultad de Veterinaria, se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.



SOCIEDAD DE MEDICINA VETERINARIA DEL URUGUAY

(Creada el 10 de mayo de 1907)

Integrante de World Veterinary Association (W.V.A.)
Integrante de PANVET (Asociación Panamericana de Veterinarios)
Integrante de AUDU (Agrupación Universitaria del Uruguay)
Cerro Largo 1895 Tel: 2409 94 58 - 2408 61 74
E-mail: smvu@smvu.com.uy - Web: www.smvu.com.uy
ISSN 0376 - 4362 - Indizada en: Vet-CD/BEASTCD

REDACTOR RESPONSABLE:

Dr. Recaredo Ugarte

CONSEJO EDITOR "Profesor Walter García Vidal":

Dr. Ariel Aldrovandi
Dra. Alicia Baldovino
Dr. Uruguaysito Benavides
Dra. Rosario de los Santos
Dra. Jacqueline Maisonnave
Dr. Bernardo Otero
Dra. María Angélica Solari

Asesor Bibliotecológico:

Elba Domínguez

ARBITROS de los TRABAJOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS (1997 - 2010)

Arbiza, J.	(DMV)	URUGUAY	Leites, O.	(DMV)	URUGUAY
Bañales, P.	(DMV)	URUGUAY	Maisonnave, J.	(DMV)	URUGUAY
Berthelot, X.	(DMV)	FRANCIA	Martin, E.	(DMV)	URUGUAY
Camarotte, D.	(DMV)	URUGUAY	Martino, P.	(DMV)	URUGUAY
Cajarville, C.	(DMV)	URUGUAY	Meikle, A.	(DMV)	URUGUAY
Cardelino, R.	(Ing. Agr.)	URUGUAY	Merola, L.	(Dr.)	URUGUAY
Cardozo, E.	(DMV)	URUGUAY	Orcasberro, R.	(Ing. Agr.)	URUGUAY
Cardozo, H.	(DMV)	URUGUAY	Pellegrini	(DMV)	ARGENTINA
Carreto, L.	(DMV)	URUGUAY	Pérez Clariget, R.	(DMV)	URUGUAY
Castells, D.	(DMV)	URUGUAY	Petrucelli	(Ing. Agr.)	URUGUAY
Casas, O.R.	(DMV)	URUGUAY	Pimentel, C.	(DMV)	BRASIL
Cattaneo, G.	(DMV)	CHILE	Riet Correa, F.	(DMV)	BRASIL
Cuore, U.	(DMV)	URUGUAY	Rodríguez, H.	(DMV)	SUECIA
De Marco, R.	(MD)	URUGUAY	Sienra, R.	(DV)	URUGUAY
Dutra, F.	(DMV)	URUGUAY	Theis, J.H.	(DVM)	USA
Easton, C.	(DMV)	URUGUAY	Traldi, A.	(DMV)	BRASIL
Eddi, C.	(DMV)	ARGENTINA	Trejo González, A.	(DC)	MÉXICO
Feinstein, R.	(DMV)	SUECIA	Trica, G.	(DMV)	URUGUAY
Fernández, G.	(DMV)	URUGUAY	Tortora, J.	(DMV)	MÉXICO
Flores, E.	(DMV)	CHILE	Toscano, H.	(DMV)	URUGUAY
Galosi, C.	(DMV)	ARGENTINA	Uriarte, G.	(DMV)	URUGUAY
Gil, A.	(DMV)	URUGUAY	Varela, G.	(DMV)	URUGUAY
Lazaneo, E. †	(DMV)	URUGUAY	Vargas, L.	(DMV)	BRASIL
			Weiblen, R.	(DMV)	BRASIL

CONSEJO DIRECTIVO (Período 2010-2012)

Presidente: Dr. Carlos Morón
Vicepresidente: Dr. Ramiro Díaz
Secretario: Dr. Hugo Estavillo
Tesorero: Dr. Juan José Mari
Vocales: Dr. Juan Crescionini
Dr. Pablo Ocampo Carli
Dr. Eduardo Bianchi

COMISIÓN FISCAL (Período 2010-2012)

Presidente: Dra. Carla Faliveni
Dra. Gretel Koster
Dr. Heber Pose

SECRETARÍA DE LA SMVU

Paula Del Río
Correo electrónico: pauladelrio@smvu.com.uy
(Horario: 9 a 15 horas)
Laura Pagliari
Correo electrónico: laurapagliari@smvu.com.uy
(Horario: 12 a 18 horas)

CENTROS VETERINARIOS DE LA SMVU

ARTIGAS

Dr. Alfredo Acosta (Pte)
Dr. Ana Mayra Xavier (Sec)
Dr. José Gonçalves (Tes)
Treinta y Tres 413
miluna@adinet.com.uy (Pte)
anamayravet@gmail.com (Sec)
vgoncalvesarrieta@hotmail.com (Tes)

CERRO LARGO

Dr. Jorge Viera (Pte)
Dr. Gustavo Morales (Sec)
Dr. Roberto Cuadrelli (Tes)
Aparicio Saravia 928, Melo
vierrezendejorgealberto@gmail.com

COLONIA

Dr. Matías Pauletti (PTE)
Dr. Mette Bowman (SEC)
Dr. Hugo Betancour (TES)
Alfredo Zitarroza 1972 ap 004,
Colonia del Sacramento
matipau@gmail.com (Pres)
mette@adinet.com.uy (Sec)
betan@adinet.com.uy (Tes)

DURAZNO

Dr. Michel Despau (Pte)
Dr. Pablo Antonacci (Sec)
Dr. Carlos Burgues (Tes)
18 de julio 386
mpdespau@gmail.com (Pres)
cachoburg@hotmail.com (Tes)

FLORES

Dr. Mónica Oholeguy
Carlos M^a Ramírez 1012 (Trinidad)
mmog@adinet.com.uy

FLORIDA

Dr. Alejandro López (Pte)
Isabel Pereira (Vice)
Dr. Antonio Carrau (Sec)
Dr. Santiago De Izaguirre (Tes)
Independencia 908
alelodos@adinet.com.uy (Pres)
isapel@montevideo.com.uy (Vice)
sandeiza@adinet.com.uy (Tes)
apcarrau@adinet.com.uy (Sec)

LA LÍNEA

Dr. Diego Rega
Bulevar Cardona s/n (Prolesa)
dicla@adinet.com.uy

LAVALLEJA

Dr. Raúl Oyenard (Pte)
Dr. Paula Trelles (Vice)
Dr. Margarita Affonso (Sec)
Dr. Luis Pérez Suárez (tes)
Wiliman 418, Minas
raulo@adinet.com.uy (Pte)
margaffonso@adinet.com.uy (Sec)
luisperezvet@hotmail.com (Tes)

MALDONADO

Dr. Adriana López Quintana (Pta)
Dr. Diego San Martín (Vice)
Dr. Adriana Barcía (Sec)
Dr. Luis García (Tes)
25 de mayo 890, Madonado
cevema@adinet.com.uy

PASO DE LOS TOROS

Dr. Carlos Casadei
Florencio Sánchez 1028
ruccasadei@hotmail.com

PAYSANDÚ

Dr. Lauro Antía
Uruguay 1189
cmvpdu@adinet.com.uy

RÍO NEGRO

Dr. Gustavo Fischer
Jose Martireneé 1967 (Young)
fischerl@montevideo.com.uy

RIVERA

Dr. Rafael Carriquiry
Nieto Clavera 671 (Rivera)
carri@montevideo.com.uy

ROCHA

Dr. Pablo Pertusso (Pte)
Dr. Rosario Cabrera (Sec)
Batlle y Ordoñez 234
pabloep1@hotmail.com

ruta 7

Dr. Ruben Araujo
Av. Centenario s/n (Cerro Chato)
gateada113@adinet.com.uy

SALTO

Dr. Enrique Villalba (Pte)
Dr. Jorge Moller (Vice)
Dr. Jaime Sanchís (Sec)
Dr. Isabel Macchi (Tes)
Diego Lamas 2304, Salto
centroveterinario@adinet.com.uy

SAN JOSÉ

Dr. Juan Crescionini
Laboratorio Asoc. Rural s/n y Suiza
cvtsj@adinet.com.uy

SORIANO

Dr. Laura Vallejo
Ricardo Detomasi 678 (Mercedes)
lauravallejo678@hotmail.com

TACUAREMBÓ

Dr. Marcelo Cortés (Pte)
Dr. Alvaro Seoanes (Vice)
Dr. Gabriel Licandro (Tes)
25 de mayo 175, Tacuarembó
centromedicoveterinariotbo@hotmail.com

TREINTA Y TRES

Dr. Adelaida Pérez (Pta)
Dr. Luis Taran (Vice)
Dr. Laura Tarigo (Sec)
Pablo Zufregui 1413
cmvtreintaytres@gmail.com
adepineyro@gmail.com

FILIALES ESPECIALISTAS, COMISIONES Y DELEGATURAS DE LA SMVU

AUVELA Asoc. Uruguaya de Veterinarios Laboratoristas
Presidente: Dra. Virginia Diana. E-mail: labarsj@adinet.com.uy

AUVE Asoc. Uruguaya de Vet. Equina
Presidente: Dr. Rúben Acosta. E-mail: auve@adinet.com.uy
Secretaria: Dra Rita Rocca. E-mail: auve@adinet.com.uy

SUVEPA Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en Pequeños Animales
Presidente: Dr. Ariel Sáez E-mail: gridegre@adinet.com.uy
Secretaria: Alicia Requa. E-mail: suvepa@adinet.com.uy

AMEVEA Asociación Med. Veterinarios especializados en Aves
Presidente: Dr. Daniel Umpiérrez. E-mail: mlorenzo@internet.com.uy

AUVEPA
Asoc. Uruguaya de Veterinarios de la Pesca y Acuicultura
Presidente: Dr. Rafael Chiesa. E-mail: rfchiesa@calur.com.uy

AVEPA: Asoc. de Veterinarios Esp. Protección Alimentos. E-mail: fortled@adinet.com.uy
Presidente: Dr. José Luis Fort. **Integrantes:** Dr. Ignacio Pereira; Dr. Jorge Marra; Dr. Juan José Murguía;
Dra. Susana Mancebo; Dr. Hugo Martínez

AVEACA: E-mail: aveaca@ciudad.com.ar

SUVEAS: Dr. Eduardo Tavares. E-mail: etavares@adinet.com.uy

INTEGRACIÓN DE COMISIONES

TRIBUNAL ARBITRAL DE HONOR Y DISCIPLINA

Ac. Dr. Raúl Casas Olascoaga raulo@adinet.com.uy
Ac. Dr. Elbio Sosa elbiososa@adinet.com.uy
Ac. Dr. Alberto Sanner sanner@adinet.com.uy
Ac. Dr. Rúben Fostel rfostel@adinet.com.uy
Dr. Mariano Carballo mcasoc@adinet.com.uy

SOCIEDAD URUGUAYA DE BUIATRÍA

E-mail: mangonzal@adinet.com.uy

Presidente Ad Honorem:

Ac. Dr. Recaredo Ugarte

Presidenta: Ac. Dra. Adriana Rodríguez

COMISIÓN DE REPRODUCCIÓN

Dr. Daniel Cavestani daniel.cavestany@gmail.com
Dr. Luis Cuenca cuenca@adinet.com.uy
Dr. Leandro Fernández
Dr. Guillermo de Nava gtdens@adinet.com.uy
Dr. Aníbal Duran del Campo durananibal@hotmail.com
Dr. Charles Coubrough coubrough@adinet.com.uy

COMISIÓN DE ENFERMEDADES PODOALES (SMVU)

Dr. Roberto Acuña robacu@adinet.com.uy
Dr. Daniel Alza dalza@prolesa.conaprole.com.uy
Dr. Elbio Pereyra epalbeitar@hotmail.com
Dr. Daniel Pereyra

COMISIÓN DE BIOTECNOLOGÍA

Dr. Gonzalo Leaniz gleaniz@santaelena.com.uy
Dra. Lucy Kelly gokelly@adinet.com.uy

COMISIÓN DE RABIA DEL MSP

Dr. Fernando Echezarreta fechezar@adinet.com.uy
Dra. Helena Guarino hguari@yahoo.com
Dra. Delvey Anchieri danchieri@adinet.com.uy

COMISIÓN COORDINADORA DEL ÁREA DE CIENCIAS AGRARIAS

Dr. Julio García Lagos
Dra. Analia Cobo Leturia
Dr. Sebastián Fernández

DELEGATURA DE CONHASA

Dr. Rodolfo Azaretto azaretto@montevideo.com.uy
Dr. Roberto Lizasuain milzasuain@adinet.com.uy
Dra. Carla Faliveni rolima@adinet.com.uy
Dr. Jorge Slavica slavivet@adinet.com.uy

DELEGATURA DE AUDU

Dra. Stella Quintana walofa@adinet.com.uy

DELEGATURA DE LA COMISIÓN NACIONAL HONORARIA DE LUCHA CONTRA ZONOSIS

Dr. Ariel Saez arisaes@hotmail.com.
Dr. Jesús Falcón
Dr. Francisco Capano meta@adinet.com.uy

COMISIÓN DE LEUCOSIS (DELEGATURA)

Dr. Luis Bolla labollac@gmail.com
Dra. Helena Guarino hguari@yahoo.com
Dra. Isabel Pereira isapel@montevideo.com.uy
Dra. Celia Nin celia.nin@gmail.com

COMISIÓN DE BRUCELOSIS (DELEGATURA)

Dr. Ramiro Díaz hsm@netgate.com.uy
Dr. Luis Bolla labollac@gmail.com
Dra. Ana Sierra anasierraguerra@hotmail.com
Dra. Virginia Diana vdiana@adinet.com.uy
Dra. Mónica Oholeguy mmog@adinet.com.uy
Dr. Omar Aguirre cuns.aguirre@gmail.com

COMISIÓN DE GARRAPATA

Dra. Patricia Messa doctoramesa@hotmail.com
Dr. Lauro Artía lauronet@adinet.com.uy
Dr. Daniel Arostegui elrefugio@adinet.com.uy
Dr. Sebastián Fernández sfernan@adinet.com.uy
Dr. Ulises Cuore ucuore@adinet.com.uy

COMISIÓN DE ACREDITACIONES LEY 17950 (DELEGATURA)

Dr. Ramiro Díaz hsm@netgate.com.uy
Dr. Juan C. Dibarbouré
Dr. Pedro Hermann villalba@adinet.com.uy

COMISIÓN DE EEB (DELEGATURA) (SMVU)

Dra. Deborah César dcesar@adinet.com.uy
Dr. Rodolfo Rivero rodolfo@adinet.com.uy

COMISIÓN UNIDAD SALUD DE LA UBRE

Dra. Raquel Bianco rbianco@conaprole.com.uy
Dra. Elena Torres jomatteo@yahoo.com
Dr. Ruben E. Gianechini edgarnel@adinet.com.uy
Dr. Manrique Laborde mlaborde@mgap.gub.uy
Dr. Mette Bouman mette@adinet.com.uy

COMISIÓN PÁGINA WEB Y MULTIMEDIA

Dr. Humberto Tommasino
Dr. Oscar Caponi
Dr. Juan Dogliotti

COMISIÓN DE REVISTA CIENTÍFICA

revistavet@yahoo.com Tel: 408-6174 - 409-9458 Lunes de 17 a 19 hs.
Dra. María A. Solari mariasolari@adinet.com.uy
Dra. Jacqueline Maisonnave jacmaiso2004@yahoo.com
Dr. Uruguaycito Benavides
Dr. Ariel Aldrovandi
Dra. Alicia Baldovino abaldovino@adinet.com.uy
Dra. Rosario de los Santos rdelos@montevideo.com.uy
Dr. Bernardo Otero botero@montevideo.com.uy
Elba Dominguez

COMISIÓN DE REVISTA SMVU

Dr. Carlos Morón cmoron@hotmail.com.
Dra. Raquel Bianco rbianco@conaprole.com.uy
Dr. Ignacio Pereyra ipc@montevideo.com.uy

CAJA DE JUBILACIONES DE PROFESIONALES UNIVERSITARIOS

Dra. Stella Quintana walofa@adinet.com.uy
Dr. Daniel Alza dalza@prolesa.conaprole.com.uy
Dr. Juan J. Mari jmari@adinet.com.uy

ASUNTOS UNIVERSITARIOS

Dr. Julio García Lagos jugala@adinet.com.uy
Dr. Carlos Estevez cesteves@adinet.com.uy
Dra. Cecilia Martín mcmvet@internet.com.uy
Dr. Ignacio Pereyra ipc@montevideo.com.uy
Dr. Sebastián Fernández sfernan@adinet.com.uy

AGRUPACIÓN UNIVERSITARIA DEL URUGUAY (Y COLEGIACIÓN)

Dra. Adriana Rodríguez magonzal@adinet.com.uy
Dra. Stella Quintana walofa@adinet.com.uy

COMISIÓN DE REPRODUCCIÓN

Dr. Daniel Cavestani
Dr. Luis Cuenca
Dr. Leandro Fernández
Dr. Guillermo de Nava
Dr. Aníbal Duran del Campo
Dr. Charles Coubrough

COMISIÓN DE ZONOSIS

Dr. Pablo Mazzoni mazben@adinet.com.uy
Dr. Claudio Cardozo quilla@adinet.com.uy

COMISIÓN DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

Dra. Ma. Angélica Solari mariasolari@adinet.com.uy
Dr. Ulises Cuore

COMISIÓN DE BIENESTAR ANIMAL

Dr. Andrés Arroyo
Dra. Griselda de Gregorio

COMISIÓN DE BIOTECNOLOGÍA (SMVU)

Dr. Gonzalo Leaniz
Dra. Lucy Kelly

COMISIÓN DE ACREDITACIONES LEY 17950 (DELEGATURA)

Dr. Ramiro Díaz
Dr. Juan C. Dibarbouré
Dr. Pedro Hermann

PLANISA

Dr. Mariano Carballo mcasoc@adinet.com.uy
Dr. Marcelo Rodríguez mdrodriguez@mgap.gub.uy
Dra. Lilian Perdomo perdomoarosa@gmail.com

COMISIÓN DE BIENESTAR ANIMAL

Dra. Stella Huertas stellamaris32@hotmail.com
Dr. Enrique Winterhalter enriquewinterhalter@gmail.com
Dr. Ariel Sáez arisaez@hotmail.com
Dra. Griselda de Gregorio gridegre@gmail.com
Dra. Lourdes Francia lourdesfrancia@gmail.com
Dr. Fernando Vila fervila@adinet.com.uy
Dr. Gonzalo Arbulo gonzaloarbulo@gmail.com

**GRUPO PERMANENTE DE PRODUCTOS
VETERINARIOS
DECRETO 160/97 (DELEGATURA)**

Dr. Ariel Saez arisaez@hotmail.com
Dr. Claudio Cardozo quilla@adinet.com.uy

**COMISIÓN DE ESPECIALISTAS
ASESORES**

Dr. Casas Olascoaga raulo@adinet.com.uy
Dr. Carlos Correa ccorream@multi.com.uy
Dr. Carlos Morón cmoron@hotmail.com

LA PUBLICACIÓN TÉCNICA «VETERINARIA» Y LA PROFESIÓN

Con más de cincuenta años de existencia, lo que la convierte en la publicación técnica mayor tiempo en Uruguay, VETERINARIA, no sólo ha sido la precursora en el País como publicación de alto contenido técnico, si no que en realidad ha significado una antorcha como guía en el camino de la profesión y lo proyecta hacia un horizonte siempre desafiante, pero al mismo tiempo de inestimable matiz orientador.

Debemos ser conscientes de lo anterior, para comprender y apoyar el esfuerzo callado, constante y sin reclamos de ningún tipo, de un grupo de muy capacitados técnicos, que piensan y trabajan por todos nosotros, buscando aportarnos nuevos conocimientos, con la garantía de ser una publicación arbitrada.

Estamos trabajando en tres proyectos para regular y proteger el accionar de los

Veterinarios y al mismo tiempo supervisar su gestión y nos llama realmente la atención, la cantidad de campos profesionales que se encuentran presentes y otros vienen en camino mediante la inquietud de colegas precursores. Esta realidad y el significado que representa para nosotros lo que sucede y vendrá en muy poco tiempo, multiplica la necesidad de ofertas de actualización técnica y de alternativas innovadoras. Si hiciéramos una relación de todas las opciones de orientación que hoy disponemos, podríamos seguramente, valorar mucho más nuestra profesión y al tiempo de respetarla, proyectarla sobre la sociedad para que definitivamente reconozca al Veterinario en el sitio de las profesiones líderes en Uruguay y en el mundo.

Para al renovar en forma permanente los conocimientos que tenemos e incremen-

tarlos, debemos comprender y aceptar que el título profesional es sólo la herramienta básica para cultivar las instancias que vendrán y mañana tendremos nuevas historias y realidades, cada vez más profundas y más desafiantes, para nuestras vidas.

Por ello este modesto homenaje a esta señera publicación, revolucionaria en su origen y única razón, en su continuidad; a los tan esforzados como capacitados editores, a todos los técnicos que aportan para el éxito, muchas gracias y un llamado a todos para unirnos a este esfuerzo con un pequeño, pero seguramente fructífero, aporte que la hará cada día más destacada e imprescindible en nuestra biblioteca de consulta y como apoyo al acervo del conocimiento.

Recaredo Ugarte
Presidente



Aislamiento de Complejo *Mycobacterium avium* (MAC) en parques zoológicos y reservas de fauna de Uruguay en el período 1978-2008

Errico, F.¹; Silva-Paravís, M.^{2,3}; Castro-Ramos, M.^{2*}

RESUMEN

En el período 1978-2008 se procesan cuarenta y siete muestras de animales provenientes de parques zoológicos y reservas de fauna de Uruguay. Se desarrollan estudios bacteriológicos estandarizados para cultivar y caracterizar micobacterias a partir de muestras de: bazo, epiplón, estómago, ganglios, hígado, páncreas, peritoneo, pleura, pulmón, riñón e hisopados nasales y traqueales. De las cuarenta y siete muestras procesadas se aíslan trece cepas del complejo *Mycobacterium avium* (MAC): nueve de muestras de aves (un águila mora, dos faisanes, un pavo real, un pato blanco, dos patos comunes, un cuervo, y una pava de monte), de mono capuchino, de ciervo axis, de coatí y de cabra de Gabón. Se recomienda implementar normativas sanitarias de tuberculización a todos los animales de zoológicos y reservas de fauna, y proceder a implementar medidas sistemáticas de higiene y desinfección en los «hábitats». Además por tratarse de una zoonosis, establecer medidas de prevención e higiene para el personal encargado del cuidado de los animales de estos establecimientos, como así a los visitantes de estos espacios recreativos.

Palabras clave: mycobacterium- zoológico-zoonosis

SUMMARY

Forty-seven samples of animals from zoological parks and reserves of fauna of Uruguay were processed in the period 1978-2008. Bacteriological studies to cultivate and characterize *Mycobacteria* samples from spleen, omentum, stomach, nodes, liver, pancreas, peritoneum, pleura, lung, kidney and nasal and tracheal secretion were made. Of the Forty-seven processed samples thirteen strains of *Mycobacterium avium* (MAC) were isolated from birds: nine samples of (Moorish Eagle, two pheasants, a Peacock, a White Duck, two common ducks, a Raven, and kettle of Mount), of Capuchin monkey of de red deer axis, of coati and goat of Gabon. We recommend implementing intradermal tuberculin test to all animals in zoos and wildlife reserves, and proceed to implement systematic measures of hygiene and disinfection in the «habitats». In addition, because it is a zoonosis, establishing measures of prevention and hygiene for personnel in the charge of animals care in these establishments, as well as visitors to these recreational spaces.

Key words: mycobacterium - zoological-zoonosis

INTRODUCCIÓN

El complejo *Mycobacterium avium* (MAC) comprende las especies de crecimiento lento [*M. avium* (Mav) y *M. intracellulare* (Mintra)], de distribución ubicua en el ambiente (4, 16).

La bibliografía sobre ocurrencia de tuberculosis aviar es profusa en casi todas las regiones del mundo (13, 21, 31, 36, 39). Esta enfermedad se presenta en aves en cautiverio y en estado silvestre. También causa enfermedad en animales domésticos como es el caso de cerdos y cabras (24, 25, 27). Hay comunicaciones de esta patología en visones (*Mustela vison*) y en coatíes (*Nasua nasua*) en cautiverio y en especies en estado silvestre como es el caso de ciervos rojos en Escocia (1, 21, 28). En humanos, las especies del

MAC se asocian con patologías como linfadenitis cervical en niños, enfermedad pulmonar crónica e infecciones genitourinarias en adultos, e infecciones diseminadas en individuos con SIDA (8, 18, 21). Durante la prolongada pandemia de VIH/SIDA, el bacilo tuberculoso aviar ha tenido una incidencia muy particular con respecto a la salud pública (1, 19, 44).

En Argentina y Uruguay, en la década de los años 1970 y 1980 la presencia del MAC, es constante en numerosas investigaciones tanto en animales como humanos (2, 5, 11, 14, 38).

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es presentar los resultados de aislamiento y caracterización de cepas del Complejo *M. avium* (MAC) de muestras provenientes de

parques zoológicos y reservas de fauna en el período 1978-2008.

1. Comunicación personal: Castro-Ramos, M.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Métodos de bioseguridad en el campo

El operador de la extracción de la muestra con lesiones similares a tuberculosis, debe estar equipado con mameluco, botas, guantes, tapaboca y lentes descartables para posteriormente ser eliminados.

Las muestras sospechosas del MAC se extraerán con material quirúrgico (tijeras, bisturí, pinzas), las que se introducirán en bolsas estériles debidamente identificadas y colocadas en cajas (cartón, espu-

¹Departamento de Programas Sanitarios, División Sanidad Animal (DSA), Dirección General de los Servicios Ganaderos (DGSG), Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP), Montevideo, Uruguay.

²Laboratorio de Tuberculosis, División de Laboratorios Veterinarios (D.L.A.V.E.) «Miguel C. Rubino», DGSG, MGAP, Montevideo, Uruguay.

³Sección Serología-Brucelosis, DILAVE «Miguel C. Rubino».

* Ruta 8 Brig. Gral. J. A. Lavalleja, km 17,500, C.P 12100, Montevideo, Uruguay. Correo electrónico: micastro@mgap.gub.uy

Recibido: 10/12/09 Aprobado: 1/9/10

maplast o madera). Además incluirá el protocolo de remisión de muestras (especie, lesiones encontradas, órganos que remite y antecedentes del establecimiento) y refrigerante.

Se enviará al laboratorio dentro de las 24 horas de su extracción.

b) Métodos de bioseguridad en el laboratorio

El laboratorio cuenta con cabina de bioseguridad clase II A/B3, equipo de trituration de las muestras (Stomacher), centrífuga con camisa de bioseguridad (IEC), incinerador eléctrico de asa y estufas de cultivo exclusivas para el cultivo de micobacterias.

El operador debe estar equipado con vestimenta de uso exclusivo de laboratorio, guantes, lentes y tapaboca.

c) Origen de las muestras

Las muestras enviadas al laboratorio provenían de diferentes parques zoológicos y reservas de fauna de Uruguay. Totalizaron cuarenta y una muestras de zoológicos y seis de reservas de fauna. Ellas pertenecían a: dos pingüinos (*Spheniscus magellanicus*), un ganso (*Anser anser*), un águila mora (*Genaroaetus melanoleucus*), tres patos comunes (*Anas clypeata*), un pavo real (*Pavo cristatus*), dos faisanes de collar (*Phasianus colchicus*), una urraca azul (*Cyanocitta cristata*), un cuervo (*Corvus corax*), un pato blanco (*Bucephala alveola*), una pava de monte (*Penélope obscura*), tres jaguares (*Panthera onca*), un tigre (*Panthera tigris*), un oso pardo (*Ursus arctos*), diez leones marinos sudamericanos (*Otaria flavescens*), tres lobos marinos sudamericanos de dos pelos (*Arctocephalus australis*), tres gatos montés (*Felis silvestris*), dos cabras (*Capra hircus*), una cabra de Gabón, un ciervo axis (*Axis axis*), una mangosta (*Herpestes ichneumon*), dos chimpancés (*Pan troglodytes*), un mono capuchino (*Cebus capucinus*), un elefante (*Elephus maximus*), un roedor (rata de agua), un hurón (*Mustela putorius furo*), y un coatí (*Nasua nasua*), (Cuadro 1).

d) Muestras enviadas

Se estableció previamente con los responsables de zoológicos o reservas, que frente al hallazgo de lesiones similares a tu-

berculosis, el material enviado debía ser debidamente acondicionado, refrigerado y acompañado de un protocolo con la información del origen, especie, lesiones encontradas y órgano/s remitido/s. Las muestras recepcionadas durante el periodo 1978 -2008 se presentan discriminadas en el cuadro 1, detallándose los órganos y otros materiales biológicos examinados que correspondieron a cada animal. En dos ocasiones se recibieron dos cadáveres de aves enteras (un faisán de collar y un pato blanco). También cuatro cadáveres de leones marinos sudamericanos y un cadáver de mono chimpancé. De las cuarenta y siete muestras, solamente cinco no fueron procesadas mediante estudios histopatológicos (un gato montés, y cuatro hisopados nasales y traqueales de jaguar), las restantes muestras fueron analizadas en la Sección de Histopatología de nuestra institución. (Figura 1).

e) Aislamiento e identificación

1) Método de descontaminación: El procesamiento de descontaminación de todas las muestras se cumplió de acuerdo a los métodos descritos por (Tacquet), utilizándose el ácido oxálico al 5% (40).

2) La baciloscopía: Se realizó utilizando la técnica de Ziehl-Neelsen (6).

3) El cultivo y aislamiento: Se siguieron con rigurosidad los procedimientos descritos por el Centro Panamericano de Zoonosis (6). Para ello, se emplearon los medios de cultivo a base de huevo: Löwenstein-Jensen y Stonebrink. Las siembras se incubaron durante dos meses a 37 °C en estufa de cultivo, efectuándose una lectura semanal.

4) Identificación de micobacterias: Las cepas aisladas se identificaron en base al aspecto microscópico (Ziehl-Neelsen), tiempo de desarrollo, comparación de cre-

Cuadro 1.

Nº de individuos	Muestras analizadas
Especie animal	
2 pingüinos	sacos aéreos
1 ganso	peritoneo
1 águila mora	hígado
3 patos comunes	hígado
un pavo real	hígado, pulmón
2 faisanes	bazo, hígado, riñón
1 urraca azul	hígado, intestino
1 pato blanco	hígado
1 cuervo	hígado
1 pava de monte	hígado
3 jaguares	pulmón, hisopados nasales y traqueales
1 tigre	pulmón
1 mangosta	pulmón
1 rata de agua	epidermis
2 chimpancés	ganglios, pulmón
1 elefante	material purulento
1 cabra de Gabón	hígado
10 leones marinos	ganglios, pulmón
1 oso pardo	páncreas
3 lobos marinos	pulmón
2 cabras	hígado, pulmón
1 hurón	bazo, hígado, pulmón
3 gato montés	pulmón, riñón
1 coatí	pulmón, riñón
1 ciervo axis	hígado, riñón
1 mono capuchino	hígado, riñón



Figura 1. Lesiones típicas granulomatosas de un trozo de hígado de Pava de monte (*Penélope obscura*).

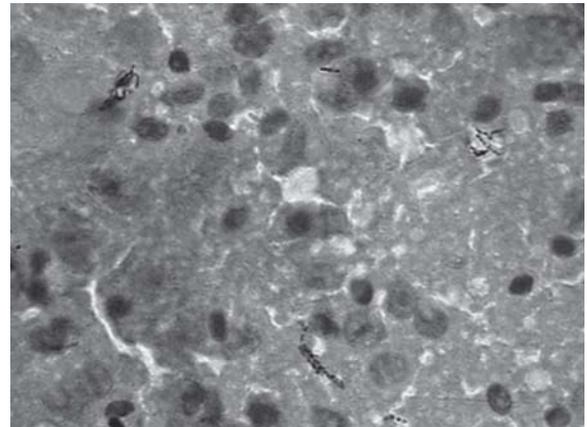


Figura 2. Ziehl-Neelsen donde se observan Bacilos Acido Alcohol Resistentes de un sedimento sembrado de órgano de ave.

cimiento entre los medios de Löwenstein-Jensen y Stonebrink, morfología de las colonias, cromogenicidad, fotocromogenicidad y temperatura de crecimiento de acuerdo a los métodos descritos en el Manual del Centro Panamericano de Zoonosis/OPS-OMS.

La caracterización de las cepas aisladas se complementó con las siguientes pruebas bioquímicas: niacina, reducción de nitrato, catalasa a temperatura ambiente y 68 °C, hidrólisis de Tween 80, reducción de telurito de potasio al 0,2%, B-D galactosidasa, ureasa y pirazinamidasa. (32, 37).

RESULTADOS

De las cuarenta y siete muestras estudiadas, se aislaron y tipificaron 13 (trece) cepas del complejo *M. avium* (MAC). Nueve cepas se aislaron de muestras de aves (un águila mora, dos faisanes, un pavo real, un pato blanco, dos patos comunes, un cuervo, y una pava de monte), de mono capuchino, de ciervo axis, de coatí y de cabra de Gabón. (Figura 2, Cuadro 2).

DISCUSIÓN

Durante las décadas de 1970 y 1980 hubo un aumento de los estudios de las cepas pertenecientes al complejo *M. avium* (MAC) tanto en salud animal como salud pública, incluso en relación al plano ecológico (3, 29, 35, 42). Debido a las características intrínsecas de los agentes MAC, las contaminaciones más frecuentes y de

mayor riesgo para la diseminación de la infección (circulación microbiana) son los santuarios o nichos donde se congregan las aves y otras especies animales en los bordes húmedos de corrientes y depósitos de agua. En este trabajo se demostró la presencia de subespecies integrantes del complejo *M. avium* (MAC) en animales silvestres y en cautiverio y su proliferación mediante heces, orina y aguas de ríos, arroyos y lagos contaminados, como lo corroboraron diferentes investigaciones en diversas regiones del mundo (12, 15, 17).

En humanos, debido a la pandemia de VIH-SIDA, el complejo aviar habría jugado un papel importante en las patologías causando infección pulmonar e incluso tuberculosis generalizada (4, 7, 20, 44). En medicina pediátrica se encontró la presencia de *M. avium* en linfadenitis cervical, infección pulmonar y enfermedad diseminada (10, 33).

El control de los microorganismos del complejo *Mycobacterium avium* es difícil por la participación fundamental en esta dispersión de las aves migratorias y los reservorios naturales (21, 26, 30, 34).

En cuanto al complejo *M. avium*, en parques zoológicos y reservas de fauna, nuestros hallazgos coinciden con los descriptos por diferentes autores: por ejemplo (Kearns) (26), quien publicó casos de *M. avium*, el primero, en el sistema óseo de una paloma de alas blancas (*Columba corensis*) y el segundo en un tragopan de Cabot (*Tragopan caboti*), el cual presen-

taba granulomas tuberculosos en el ceco, hígado y bazo. Montali (30), en el National Zoological Park de Estados Unidos de América en un período de siete años comprobó la infección de *M. avium* en ciento treinta y siete aves, causadas principalmente, por el serotipo 1. Thoen y Himes (41), hicieron una compilación de infecciones micobacterianas en parques zoológicos y reservas de Estados Unidos de América, comprobaron diferentes casos de *M. avium*, por ejemplo, de canguros y monos con complicaciones digestivas y ganglionares. En el año 2009 en Argentina, Traversa (43) confirmó la presencia de *M. avium* entre otras micobacterias en pumas (*Felis concolor*). A su vez en el zoológico «La Máxima» de la ciudad de Olavarría de Argentina, Jorge (23) aisló *M. avium* de *Rhea americana* y de *Gallus* sp.

En las aves la forma más común de infectarse y contraer la enfermedad es a través de la exposición a gran número de microorganismos patógenos en el ambiente donde se congregan y habitan. Aves y otras especies animales con sistemas inmunes deprimidos o aves y otros animales jóvenes también suelen ser susceptibles. La transmisión vertical es posibilitada por la contaminación fecal del huevo y se sospecha que se produce antes de la ovoposición. La transmisión horizontal puede ocurrir por compartir un mismo espacio ambiental propenso al hacinamiento.

Cuadro 2. Relación entre animales, órganos sembrados, lesiones, baciloscopia, aislamiento e identificación.

<u>Especie</u>	<u>Organo</u>	<u>Lesiones</u>	<u>Ziehl-Neelsen</u>	<u>Aislamiento</u>	<u>Identificación</u>
Águila mora	hígado	si	+ BAAR	sí	MAC
Faisán	hígado	si	+ BAAR	sí	MAC
Faisán	bazo/hígado	si	+ BAAR	sí	MAC
Pavo real	hígado/pulmón	si	+ BAAR	sí	MAC
Pato blanco	hígado	si	+ BAAR	sí	MAC
Pato común	hígado	si	+ BAAR	sí	MAC
Pato común	hígado	si	+ BAAR	sí	MAC
Cuervo	hígado	si	+ BAAR	sí	MAC
Pava de Monte	hígado	si	+ BAAR	sí	MAC
Mono capuchino	hígado/riñón	si	+ BAAR	sí	MAC
Ciervo axis	hígado/riñón	si	+ BAAR	sí	MAC
Coatí	bazo, epiplón	si	+ BAAR	sí	MAC
Cabra de Gabón	bazo, hígado	si	+ BAAR	sí	MAC

BAAR: Bacilos Acido Alcohol Resistentes; MAC («*Mycobacterium avium* complex»).

CONCLUSIONES

1. La prueba tuberculínica, como diagnóstico indirecto, es la herramienta más eficaz para la prevención de la enfermedad. Esta debería efectuarse una vez al año a todos los animales incluidas las aves de parques o reservas. El hallazgo de «reactores» a la prueba intradérmica trae como consecuencia la identificación del animal infectado, su segregación del ambiente y ulterior sacrificio sanitario y el envío de sus órganos al laboratorio para su estudio bacteriológico e histopatológico. Además se recomienda efectuar la cuarentena correspondiente a los nuevos individuos que ingresen al establecimiento.
2. Las medidas sistemáticas de higiene y desinfección de lugares comunes donde habitan los animales son necesarias, incluidas las jaulas, comederos y bebederos, como también los diversos equipos utilizados y desechos de la alimentación, limpieza, etc.
3. Debido al carácter de zoonosis del complejo *M. avium* (MAC), se recomienda establecer un programa de prevención y cuidado del personal de zoológicos y parques de reserva de animales.
4. Los agentes de la salud responsables de los zoológicos o reservas de animales, deben disponer de un programa de comunicación e información para los visitantes de estos espacios comunitarios y advertir sobre los riesgos, principalmente en seres humanos inmunocomprometidos, incluyendo personas jóvenes y de edad avanzada.

Referencias Bibliográficas

1. **Baquero-Artigao, F.** (2005). Infección pediátrica por micobacterias no tuberculosas. *An Pediatr (Barc)*; 62 (5): 458-66.
2. **Barrera, L.; Kantor, I. N. de.** (1987). *Nontuberculous mycobacteria* and *Mycobacterium bovis* as a cause of human disease in Argentina. *Trop. Geogr. Med.* 39, 222-227.
3. **C.; Burki, D.; Telenti, A.; Bodmer, T.** (1995). Genotypic characterization of *Mycobacterium avium* strains recovered from animals and their comparison to human strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 371-373.
4. **Brooks, R. W.; Parker, B. C.; Gruft, H.; Falkinham, J. O. 3rd.** (1984). Epidemiology of infection by *Nontuberculous mycobacteria*. V. Numbers in eastern United States soils and correlation with soil characteristics. *Am Rev Respir Dis* 130: 630-3.
5. **Castro-Ramos, M.; Llerena, P.; Errico, F.; Muller, G.; Neirotti, V.; Silva Paravis, M.; Silveira, F.V.; César, D.; Berisso, H.** (2001). *Mycobacterias* aisladas en la División de Laboratorios Veterinarios (DILAVE) «Miguel C. Rubino» en el período 1979-1999. En: Encuentro Nacional de Microbiólogos, 5°, Montevideo, Uruguay. Libro de Resúmenes, Montevideo, Sociedad Uruguaya de Microbiología, Facultad de Ciencias, pp. 21.
6. **Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS.** (1979). Bacteriología de la tuberculosis humana y animal. (Dra. I. N. de Kantor). Serie Monografías Científicas y Técnicas, CPZ-11, 63 páginas.
7. **Chin, D. P.; Hopewell, P.C.; Yajko, D. M.; Vittinghoff, E.; Horsburgh, C. H. Jr.; Hadley, W. K. et al.** (1994). *Mycobacterium avium* complex in the respiratory or gastrointestinal tract and the risk of *M. avium* bacteremia in patients with human immunodeficiency virus infection. *J. Infect. Dis.* 169: 289-95.
8. **Correa, W. M.; Correa, C. N. M.** (1974). *Micobacterias* patogénicas do Grupo III de Runyon. Ocorrência em enfermos no Brasil. *Arq. Inst. Biol., Sao Paulo*, 41 (3): 135-139, jul/set.
9. **Cromie, R. L.; Brown, M. J.; Price, D. J.; Stanford, J. L.** (1991). Susceptibility of captive wildfowl to *Avian tuberculosis*: the importance of genetic and environmental factors. *Tubercle* 72, 105-109.
10. **De José, M. I.; Baquero-Artigao, F. & the Spanish Pediatric-AIDS Collaborative Group.** (1999). Disseminated *Mycobacterium avium* complex infection in HIV-infected spanish children. Berlin: 9th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.
11. **Di Lonardo, M.; Isola, N. G.; Ambroggi, M.; Fulladosa, G.; Kantor, I. N. de** (1983). Enfermedad producida por *Micobacterias* no Tuberculosas en Buenos Aires, Argentina. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 95 (2):134-140.
12. **du Moulin, G. C.; Stottmeier, K. D.** (1978). Use of Cetylpyridinium Chloride in the decontamination of Water for Culture of *Mycobacteria*. *Applied and Environmental Microbiology*, Nov. Vol. 36, N°5: 771-773.
13. **Dvorska, L.; Matlova, L.; Ayele, W.Y.; Fischer, O.A.; Amemori, T.; Weston, R.T.; Alvarez, J.; Beran, V.; Moravkova, M.; Pavlik I.** (2007). *Avian tuberculosis* in naturally infected captive water birds of the Ardeidae and Threskiornithidae families studied by serotyping, IS901 RFLP typing, and virulence for poultry. *Veterinary Microbiology* 119, 366-374.
14. **Errico, F.; Bermúdez, J.** (1980). Identificación de *Mycobacterias* en suínos. *Veterinaria (Montevideo)* 17: 117-119.
15. **Falkinham, J. O.; Nichols, G.; Bartram, J.; Dufour, A.; Portaels, F.** (2004). 2. Natural ecology and survival in water of mycobacteria of potential public health significance. World Health Organization. *Pathogenic Mycobacteria in Water: A Guide to Public Health Consequences, Monitoring and Management.* Edited by S. Pedley, J. Bartram, G. Rees, A. Dufour and J. Cotruvo.
16. **George, K. L.; Parker, B. C.; Gruft, H.; Falkinham, J. O. 3rd** (1980). Epidemiology of infection by *Nontuberculous mycobacteria* II Growth and survival in natural waters. *Am Rev Respir Dis.* 122: 89-94.
17. **Gossle, S.; Wolinsky, E.** (1976). Water as a Source of Potentially Pathogenic *Mycobacteria*. *American Review of Respiratory Disease*, Volume 113.
18. **Hazra, R.; Robson, C. D.; Perez-Atayde, A. R.; Husson, R. N.** (1999). Lymphadenitis due to *Nontuberculous mycobacteria* in children: presentation and response to therapy. *Clin Infect Dis* 28: 123-9.
19. **Hoffner, S. E.; Kallenius, G.; Petrini, B.; Brennan, P. J.; Tsang, A. Y.** (1990). Serovars of *Mycobacterium avium* Complex Isolated from Patients in Sweden. *Journal of Clinical Microbiology*, June, p. 1105-1107.
20. **Horsburgh, C. R. Jr.; Cohn, D. L.; Roberts, R. B.; Masur, H.; Miller, R. A.; Tsang, A.Y.; Iseman, M. D.** (1986). *Mycobacterium avium* M. Intracellulare isolates from patients with or without acquired immunodeficiency syndrome. *Antimicrob. Agents Chemother.* 30: 955-957.
21. **Huitema, H.** (1970). First international seminar on bovine tuberculosis for the Americas, 83-92 (Santiago de Chile) 21-25 September.
22. **Inderlied, C. B.; Kemper, C. A.; Bermúdez, L. E.** (1993). The *Mycobacterium avium* complex. *Clin Microbiol Rev* 6: 266-310
23. **Jorge, M. C.; Traversa, M. J.; Schettino, D. M.; Bernardelli, A.; Zumárraga, M.; Cataldi, A.; Romero, C., Grand H. M.** (2007). Tuberculosis en *Rhea americana* y *Gallus sp.* en cautiverio. In *Vet Volumen* 9, número 1: xxx-xxx
24. **Jorgensen, J. B.; Engbaek, H. C.; Dam, A.** (1972a). An Enzootic of Pulmonary Tuberculosis in Pigs caused by *M. avium* 2. *Bacteriological Studies.* *Acta vet. scand.*, 13, 68-86.

25. **Jorgensen, J. B.; Haarbo, K.; Dam, A.; Engbaek, H. C.** (1972b). An Enzootic of Pulmonary Tuberculosis in Pigs caused by *M. avium* 1. Epidemiological and Pathological Studies. Acta vet. scand., 13, 56-67.
26. **Kearns, K. S.** (2003). *Mycobacteriosis aviar* In: Recent Advances in Avian infectious Diseases, K. S. Kearns and B. Loudis (Eds.). Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA.
27. **Lesslie, I. W.; Ford, E. J.; Linzell, J. L.** (1960a). Vet. Rec., 72; 25.
28. **Mc Diarmid, A.** (1964). Vet. Rec., 76; 52.
29. **Meissner, G.; Anz, W.** (1977). Sources of *Mycobacterium avium* Complex Infection. Resulting in Human Diseases. American Review of Respiratory Disease, Volume 116, 1057-1064.
30. **Montali, R. J.; Bush, M.; Thoen, C. O.; Smith, E.** (1976). Tuberculosis in Captive Exotic Birds, JAVMA, Vol 169, N°9, November 1.
31. **Odiawo, G. O.; Mukurira, J. M.** (1988). Avian cerebral tuberculosis. Veterinary Record 122, 279-280.
32. **Office International Epizooties** (2000). Chapter 2.7.8 *Avian tuberculosis*, Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines
33. **Olivier, K. N.; Weber, D. J.; Wallace, R. J. Jr.; Faiz, A. R.; Lee, J-H.; Zhang Y.; et al.** (2003). *Nontuberculous mycobacteria* I: Multicenter prevalence study in cystic fibrosis. Am. J. Respir. Crit Care Med.; 167: 828-34
34. **Pavlik, I.; Svastova, P.; Bartl, J.; Rychlik, I.** (2000). Relationship between IS901 in the *Mycobacterium avium* complex strains isolated from birds, animals, humans and environment and virulence for poultry. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 7, 212-217.
35. **Ritacco, V.; Kremer, K.; Van Der Laan, T.; Pijnenburg, J. E. M.; De Haas, P. E. W. ; Van Soolingen, D.** (1997). Use of IS901 and IS1245 in RFLP typing of *Mycobacterium avium* complex: relatedness among serovar reference strains, human and animal isolates. Int. J. Tuberculosis Lung Dis., 2, 242-251.
36. **Rubino, M. C.** (1945). Compilación de Trabajos Científicos del Dr. Miguel C. Rubino, f) Tuberculosis en las aves. 1ª Ed., Ministerio de Ganadería y Agricultura República Oriental del Uruguay. Impresora Uruguaya S.A. Pág. 42.
37. **Runyon, E. H.; Karlson, A. G.; Kubica, G. P.; Wayne, L.G.** (1980). *Mycobacterium*. En: Lennette, E.H.
38. **Sáenz, A.; Errico, F.** (1984). *Mycobacteria* isolated from apparently normal swine lymph nodes in Uruguay. Bull. Pan Am. Health organ 18 (1) 63-68.
39. **Saxegaard, F.** (1981). Serological investigations of *Mycobacterium avium* and *M. avium*-like bacteria isolated from domestic and wild animals Acta vet. scand., 22, 153-161.
40. **Tacquet, A.; Tison, F.; Devulder, B.; Roos, P.** (1967). Techniques for decontamination pathological specimens for culturing Mycobacteria. Bull. Int. Union against Tuberc. 39: 21-24
41. **Thoen, C. O.; Himes, E. M.** (1981). Infectious Diseases of Wild Mammals Tuberculosis, Second Edition, Edited by Davis J. N., Karstad L. H., Trainer D. O., The Iowa State University Press, AMES IOWA, USA, 263-274,.
42. **Thorel, M. F.; Huchzermeyer, H.; Weiss, R.; Fontaine, J. J.** (1997). *Mycobacterium avium* infections in animals. Literature review. Vet. Res., 28, 439-447.
43. **Traversa, M.; Etchechoury, I.; Jorge, M.C.; Schettino D. M.; Bernardelli, A.; Zumárraga, M.; Paolicchi, F.; Cataldi, A.; Canal, S.** (2009). Mycobacterial isolation from *Felis concolor* in captivity. Braz. J. vet. Res. Anim. Sci. Sao Paulo, v. 46, n. 1, p. 25-31
44. **Yakrus, M. A.; Good, R.** (1990). Geographic Distribution, Frequency, and Specimen Source of *Mycobacterium avium* Complex Serotypes Isolated from Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. Journal of Clinical Microbiology, May p. 926-929.

Estudio comparativo de tres técnicas diagnósticas para la Leucosis Enzoótica Bovina y análisis del efecto de enfermedades concurrentes sobre la fórmula leucocitaria

Rama, G.^{1,2}; Meikle A.²; Puentes, R.³; Moratorio G.¹; Nicolini, P.²; Pessina P.²; Furtado A.³; Pritsch, O.⁴

RESUMEN

En este trabajo se compara la sensibilidad y especificidad de las metodologías de inmuno-difusión en gel agar (IDGA), ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) tradicional en el diagnóstico de Leucosis Enzoótica Bovina (LEB), en 65 vacas Holando. Además, se reporta el porcentaje de animales positivos que presentan linfocitosis y cambios en la fórmula leucocitaria y que pertenecen a dos tambos de los cuales sólo uno presenta registros sanitarios diarios. Los cálculos de sensibilidad y especificidad se realizaron considerando al ELISA y a la PCR como métodos de referencia. En el primer caso, los resultados son: 72 % y 100 % para IDGA, 94 % y 77 % para PCR. Por otra parte, al tomar PCR como método de referencia, el resultado fue: 45 % y 100 % para IDGA, 61 % y 97 % para ELISA, respectivamente. El análisis comparativo de los métodos mostró que la PCR presentó mayor sensibilidad, seguido por el ELISA y la IDGA. Al evaluar la linfocitosis se demostró que el promedio de linfocitos aumentó significativamente en los animales infectados con el virus de la leucosis bovina (VLB), no pudiendo descartarse que la presencia de enfermedades concurrentes también afecte de forma relevante el número total de leucocitos.

Palabras clave: Leucosis Enzoótica Bovina, IDGA, ELISA, PCR, linfocitosis.

SUMMARY

Sensitivity and specificity of agar gel immunodiffusion (AGID) test, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and traditional polymerase chain reaction (PCR) for the diagnosis of Enzootic Bovine Leukosis (EBL) were studied in 65 Holstein cows. Besides, we report the percentage of positive animals that present lymphocytosis and changes in the leukocyte formula in two farms, from which only one of them has sanitary records. For the analysis of sensitivity and specificity, ELISA and PCR were considered as the reference methods. In the first case results were: 72 % and 100 % for AGID and 94 % and 77 % for PCR, respectively. When PCR was used as the reference method the results were: 45 % and 100 % for AGID and 61 % and 97 % for ELISA, respectively. The comparative analysis of these methods showed that PCR is more sensitive, followed by ELISA and AGID. Average lymphocytes counts are significantly increased in animals infected with the Bovine Leukosis Virus (BLV), but the total number of lymphocytes is also affected by concurrent diseases.

Key words: Enzootic Bovine Leukosis, AGID, ELISA, PCR, lymphocytosis

INTRODUCCIÓN

La Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) es una enfermedad infecciosa, crónica, producida por un retrovirus denominado Virus de la Leucosis Bovina (VLB) que infecta preferencialmente a los linfocitos B, causando una transformación maligna que puede concluir en una leucemia crónica o en la aparición de linfosarcoma (Ferrer, 1980). Afecta a los bovinos en general, pero las producciones intensivas como los tambos son las más afectadas (de la Sota, 2004). La LEB tiene un impacto significativo en la producción, desde el punto de vista sanitario y económi-

co, debido a la mortalidad causada directamente por la patología tumoral, por la alteración directa del del sistema inmune del ganado infectado (que produce el aumento concomitante de otras enfermedades infecciosas) y por las restricciones que son impuestas a la exportación de ganado en pie, semen y/o embriones infectados (Trainin y col., 2005). Asimismo, pueden detectarse rastros de linfocitos infectados con VLB (ADN proviral) en productos cárnicos y lácteos presentes en el mercado (Felmer y col., 2006), por lo que las restricciones podrían potencialmente extenderse también a la exportación de estos productos.

En un trabajo realizado en 1996 en el Noreste del Uruguay, donde se muestrearon 30 predios y se analizaron 400 animales por la técnica de ELISA, la prevalencia de LEB fue de 20 %, presentando el 77 % de los predios, algún caso positivo al virus (Mederos e Irigoyen, 1998). En un plan piloto de monitoreo de salud animal realizado en 1998 por la Facultad de Veterinaria se determinó un 46,6 % de seroprevalencia en 53 establecimientos muestreados en el departamento de Florida (Gil, A) (1998)⁵. En el año 2003, la seroprevalencia por ELISA en 60 establecimientos de los departamentos de San José, Florida y Colonia fue de 77 %,

¹Unidad Biofísica de Proteínas, Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay.

²Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Las Plazas 1550, Montevideo, Uruguay, tel.: 26223106, Correo electrónico: gramamar@hotmail.com

³Área Inmunología, Instituto de Patobiología, Departamento de Microbiología, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.

⁴Departamento Inmunobiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

⁵Comunicación personal.

Recibido: 15/3/10 Aprobado: 20/8/10

72 % y 57 %, respectivamente (Zaffaroni y col., 2007). Se sugirió que la falta de programas de control de esta enfermedad, así como la exigencia de libre de Leucosis Bovina para la exportación animal, llevó a un aumento de su prevalencia en nuestro país (Acta 84, Comisión Nacional Honoraria de Salud Animal, CONAHSA, 2005)⁶.

La transmisión del VLB puede ser horizontal o vertical. La transmisión horizontal es considerada la más importante y generalmente ocurre por malas prácticas iatrogénicas, por contacto con sangre, mucosas, remanentes de tejidos infectados y por insectos hematófagos (Mammerickx y col., 1987; de la Sota, 2004). La transmisión vertical ocurre hasta en un 15 % de los casos y tiene lugar cuando un animal infectado lo transmite a la prole por vía transplacentaria o vía digestiva a través del calostro (Martín y col., 2000).

En los bovinos pueden distinguirse tres fases luego de la infección con VLB: a) una fase inaparente, caracterizada por la integración del ADN proviral al genoma de los linfocitos infectados y por la producción de anticuerpos (Ac) específicos contra antígenos virales, principalmente contra la glicoproteína (gp) 51 de la envoltura viral (Portetelle y col., 1989); b) Linfocitosis Persistente (LP), desarrollada por un 30 al 70 % de los animales infectados con edades entre 3 y 6 años, que desde el punto de vista clínico demuestran estar sanos (Beier, 2008); c) enfermedad tumoral propiamente dicha (leucemia / linfoma / linfosarcoma), presente en un 0,1 al 10 % de los animales infectados y que es la forma irremediamente mortal (Ferrer, 1980; Burny y col., 1988).

Los animales que presentan linfoma pueden ser detectados mediante diagnóstico clínico, pero aquellos infectados asintomáticos y/o con LP requieren de pruebas de laboratorio para detectar la infección por el VLB. La detección serológica de Ac principalmente contra la gp51 de la envoltura viral, mediante las técnicas de inmunodifusión en gel agar (IDGA) o por el ensayo por inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA) constituyen los métodos más comúnmente usados para la identificación de animales infectados (Martín y col., 2000; González y col., 2001).

Estas técnicas son reconocidas por la Organización Internacional de Epizootias (OIE) (Beier, 2008) y aceptadas por la mayoría de las autoridades gubernamentales, incluido nuestro país, como pruebas oficiales para el diagnóstico del VLB. Por otra parte, se ha descrito el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) como método diagnóstico directo, que detecta secuencias del gen *env* codificante de la gp51 del VLB (Ballagi-Pordany y col., 1992; Felmer y col., 2006). Esta metodología también es aceptada actualmente por la OIE como prueba de diagnóstico del VLB, aunque como prueba confirmatoria de las pruebas serológicas mencionadas (Beier, 2008).

Para el control de esta enfermedad es muy importante la unificación de criterios sobre el método de diagnóstico a utilizar (Acta 84, CONAHSA, 2005), por lo que se debe conocer la sensibilidad (S) y especificidad (E) de los diversos métodos validados y disponibles. Guarino y col. (1989) compararon los diagnósticos por IDGA, ELISA indirecto y ELISA por competición y determinaron un 10 % más de animales positivos mediante las dos técnicas de ELISA utilizadas que por la IDGA. Si bien la IDGA, el ELISA y la PCR se encuentran disponibles en nuestro país, ya sea como método de aplicación oficial en el diagnóstico del VLB (IDGA) o en investigación (ELISA y PCR), no hay reportes en Uruguay de estudios comparativos de estas tres herramientas diagnósticas en un mismo trabajo.

Las alteraciones hemáticas fueron consideradas indicativas de la fase pretumoral y constituyeron la base del diagnóstico en los planes de control y erradicación de la LEB, durante muchos años. Sin embargo, con el desarrollo e introducción de la IDGA, se pudieron evidenciar importantes limitaciones de S y E de los parámetros hematológicos, perdiéndose el interés por los mismos como herramienta de diagnóstico, epidemiología y control, ya que se demostró que del conjunto de animales que presentaban leucocitosis, la mayor proporción eran VLB positivos por ELISA (Sierra y col., 1998). Además, se determinó que los animales seropositivos tienen mayor promedio de leucocitos y linfocitos circulantes que los

seronegativos, mientras que no encontraron diferencias significativas promedio con respecto a los neutrófilos, eosinófilos y monocitos. Por otro lado, Collazo y col. (2002) mostraron que la frecuencia de muestras con recuento de leucocitos totales aumentado es significativamente mayor en vacas seropositivas con respecto a sus congéneres seronegativos.

No se han hallado reportes respecto al porcentaje de animales positivos para VLB con linfocitosis y/o recuento celular de la línea blanca en animales clínicamente sanos según registros sanitarios.

Los objetivos de este trabajo fueron comparar la S y E de las metodologías de IDGA, ELISA y PCR tradicional usadas para el diagnóstico de la LEB, así como establecer el porcentaje de animales positivos, clínicamente sanos y con registros sanitarios diarios, que presentan linfocitosis y cambios en la fórmula leucocitaria. Si bien existen estudios comparativos de estas metodologías a nivel internacional, este trabajo pretende profundizar sobre las técnicas que se encuentran disponibles en Uruguay y que son utilizadas para diagnóstico e investigación, como herramientas potenciales a ser utilizadas en futuros programas de erradicación de la leucosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

El protocolo experimental fue realizado de acuerdo a las pautas de experimentación animal de la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la Universidad de la República.

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de 115 animales de raza Holando: 76 vacas de 3 a 7 años de edad, pertenecientes a un tambo localizado en el Departamento de Paysandú (Tambo I) y 39 vacas de 3 años, de un tambo del Departamento de Flores (Tambo II). Para la obtención del ADN y del suero se extrajeron 6 ml de sangre mediante venopunción coccígea en tubos BD Vacutainer® (Becton Dickinson, NJ, USA) con y sin anticoagulante (K₂ EDTA), respectivamente. Para el posterior análisis de los sueros por IDGA y ELISA las muestras se centrifugaron antes de las 48 h durante 10 min a 2000 rpm y luego se almacena-

⁶www.mgap.gub.uy/dgsg/CONAHSA/ACTAS/Acta%2084.pdf

ron a -20 °C hasta su procesamiento. Para el recuento celular y la extracción de ADN, las muestras se almacenaron a 4 °C por 24 hs hasta que se procesaron. Para el análisis comparativo de las diferentes técnicas de diagnóstico, se consideraron 65 muestras (sueros/ADN) del Tambo I. Para el recuento celular (leucocitos/mm³) se utilizaron las 115 muestras pertenecientes a los dos tambos. Para el diagnóstico de la fórmula leucocitaria se seleccionaron 76 muestras de acuerdo al resultado obtenido por el ELISA: 19 positivas y 18 negativas del Tambo I y 19 positivas y 20 negativas del Tambo II. El Tambo I contaba con la información de registros sanitarios diarios, lo que permitió clasificar a los animales en sanos y enfermos, mientras que en el Tambo II no existía esta información, por lo que se asumió la presencia de animales sanos y enfermos.

Inmunodifusión en gel de agar (IDGA)

La técnica fue realizada utilizando un *kit* comercial, gentilmente cedido por la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de La Plata (FCV-UNLP) – Argentina (aprobado por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agrolimentaria, SENASA, Argentina, Exp. 41.285/87). Las muestras fueron procesadas siguiendo las indicaciones del fabricante (FCV-UNLP-Argentina). Se utilizó una solución de agar al 1% en *buffer* Tris-HCl con 8.5% de NaCl pH 8, se sembraron 35 ul de cada muestra y se incubó a temperatura ambiente en cámara húmeda hasta su lectura final a las 72hs. Se utilizó un control positivo, incluido en el *kit*, por cada dos muestras problema. Esta técnica está incluida en el manual de test diagnósticos de animales terrestres (Beier, 2008).

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA)

Se utilizó un *kit* comercial que detecta Ac contra el VLB en suero bovino con 98% de S y 100% de E (Laboratorio VMRD, cod. 5505.20, WA, USA., aprobado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos-USDA-). Las muestras se procesaron de acuerdo a las indicaciones del fabricante y se utilizaron 50 µl de suero diluido 1:25. La lectura se realizó a 620 nm en un espectrofotómetro de rango visible (Thermo Fisher Scientific Inc.,

USA). Se utilizaron tres controles positivos débiles por placa, y se estableció la línea de corte para cada placa a partir del promedio de las lecturas de las densidades ópticas (D.O) de estos sueros controles.

Extracción de ADN y reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

EL ADN genómico se aisló mediante digestión con proteinasa K y precipitación con solución de NaCl, según el protocolo modificado de Miller, Dykes y Polesky (1988). Se realizó una PCR anidada para amplificar una región altamente conservada del gen *env* que codifica para la gp51 de la envoltura viral del VLB. Para la primera ronda de amplificación se utilizaron los cebadores: 5'-ATG CCY AAA GAA CGA CGG-3' (sentido) y 5'-CGA CGG GAC TAG GTC TGA CCC -3' (antisentido). El programa de termociclado utilizado fue: 2 min a 95 °C, y 35 ciclos de 45 seg a 95 °C, 45 seg a 58 °C, 1 min a 72 °C y una extensión final de 7 min a 72 °C, y se obtuvo un producto de amplificación correspondiente a un fragmento de 903 pares de bases (pb) (Moratorio, G) (2009)⁷. A partir de 5 ul del producto de esta primera amplificación se realizó una segunda ronda de PCR (amplificación anidada), utilizando los cebadores 5'-CTT TGT GTG CCA AGT CTC CCA GAT ACA-3' (sentido) y 5'-CTG TAA ATG GCT ATC CTA AGA TCT ACT GGC-3' (antisentido). Las condiciones de amplificación fueron: 2 min a 95 °C y 35 ciclos de 45 seg a 95 °C, 45 min a 57 °C y 1 min a 72 °C. El tamaño del fragmento obtenido fue de 440 pb (Ballagi-Pordani y col., 1992). En ambas reacciones se trabajó con un volumen final de 50 ul compuesto por: 100 ng de ADN genómico (primera ronda) o 5 ul del primer producto de amplificación (segunda ronda), 1x *buffer* (20mM Tris HCl pH 8.4, 50mM KCl), 200 nM de cada cebador, 0.2 mM de dNTPs, 1.5 mM de MgCl₂ y 0.2 U de Taq polimerasa (Invitrogen, CA, USA). Los ciclados se realizaron en un termociclador Multigene (Corbett, modelo CG1-96) y los productos de amplificación se visualizaron en un transiluminador UV (Syngene, Synoptics, Ltd.) luego de su electroforesis en gel de agarosa al 2 % y posterior tinción con bromuro de etidio (EtBr). Los pro-

ductos fueron comparados con aquellos visualizados al utilizar el 100 bp DNA ladder (Invitrogen, CA, USA) como marcador de peso molecular. En todos los ensayos se utilizó como control positivo ADN de células FLK (Fetal Lamb Kidney) persistentemente infectadas con el VLB (Van der Maaten y Millar, 1975). Como control sistémico de la presencia de ADN genómico en las muestras a diagnosticar se amplificó un fragmento de 400 pb del gen GAPDH para cada muestra (Tiscornia y col., 2004). Como control negativo se utilizó agua destilada filtrada en lugar de ADN genómico.

Cálculos de sensibilidad y especificidad

Para comparar los tres métodos utilizados se calcularon los siguientes parámetros: $S = (VP / (VP + FN)) * 100$ y $E = (VN / (VN + FP)) * 100$, donde VP: Verdadero Positivo, VN: Verdadero Negativo, FP: Falso Positivo y FN: Falso Negativo (Crowther, 2009).

Recuento Leucocitario Total (RLT) y Diferencial (RLD)

El RLT (leucocitos/mm³) se realizó en las 115 muestras pertenecientes a los dos Tambos, utilizando una cámara de Neubauer, coloreando con el reactivo de Turk (0.5 ml de Ácido acético y dos gotas de azul de metileno en 100 ml de agua destilada) y por observación mediante microscopía óptica (Nikon, modelo Alphaphoto YS2). En el Tambo I solo se consideraron los animales clínicamente sanos (n=67), es decir, sin registro de enfermedades desde un mes antes hasta un mes después del muestreo. Los animales enfermos que se excluyeron fueron 5 VLB positivos y 4 VLB negativos por ELISA. El RLD se realizó en 76 muestras seleccionadas de acuerdo al resultado del ELISA (19 positivas y 18 negativas del Tambo I; 19 positivas y 20 negativas del Tambo II), mediante la observación al microscopio óptico de frotis sanguíneos teñidos según el protocolo del *kit* Tinción-15 (Biopur, Rosario, Argentina). Los animales fueron clasificados en las siguientes categorías de acuerdo al número de linfocitos/mm³ de sangre: normal (<6500 linfocitos/mm³ para 3-6 años de edad y <5500 linfocitos/mm³ para >6 años); mo-

⁷Comunicación personal.

deradamente aumentado (6500-9000 linfocitos/mm³ para 3-6 años y 5500-7500 linfocitos/mm³ para >6 años) y patológicamente aumentado (>9000 linfocitos/mm³ para 3-6 años y >7500 linfocitos/mm³ para >6 años) (Tolle, 1965).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2009). El recuento de leucocitos fue evaluado mediante un modelo que incluyó los efectos de grupo: positivo vs negativo por ELISA, Tambo analizado (I y II) y estado de salud (sano vs enfermo, para el Tambo I). La normalidad de la distribución de los valores de leucocitos y del porcentaje de linfocitos, monocitos y polimorfonucleados (PMN), fue evaluada mediante un test de normalidad. Debido a que la distribución de monocitos no fue normal, fue corregida aplicando el logaritmo. El nivel de significancia considerado fue $\alpha=0.05$

RESULTADOS

Estudio comparativo entre la IDGA el ELISA y la PCR

Los controles positivos fueron correctamente diagnosticados por las tres metodologías (Fig.1, datos no mostrados para IDGA y ELISA). En la Figura 2 se muestra el porcentaje de diagnósticos positivos y negativos para VLB obtenidos por cada una de las tres metodologías utilizadas. Para las 65 muestras procesadas, los resultados del diagnóstico fueron: 13 positivas y 52 negativas por IDGA; 18 positivas y 47 negativas por ELISA; 28 positivas y 37 negativas por PCR. Todos los diagnósticos positivos por IDGA también resultaron positivos por ELISA y PCR. Solo una muestra que se determinó como positiva por ELISA resultó ser negativa por PCR e IDGA. Esta muestra presentó una D.O. de 0.49 unidades de absorbancia y la línea de corte para esa placa de ELISA se estableció en 0.46 unidades de absorbancia. El ELISA diagnosticó un 6 % más de muestras positivas que la IDGA, correspondientes a 5 muestras mientras que la PCR detectó un 23 % y un 17 % más de positivos que la IDGA, respectivamente (Fig.2).

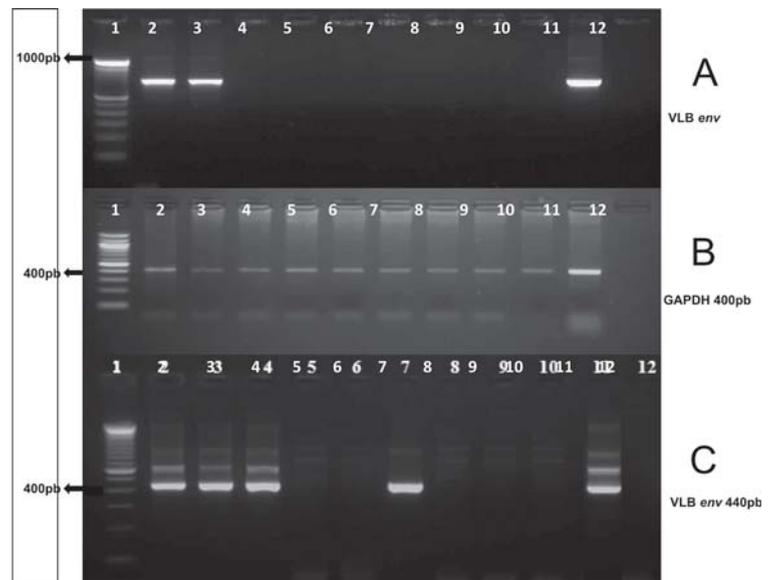


Figura 1. Foto de la primera y segunda amplificación por PCR con el control de GAPDH. Carril 1: marcador de peso molecular de 100 pb. Carriles 2 al 10: muestras de ADN bovino para su diagnóstico. Carril 11: control positivo (FLK-VLB). Carril 12: control negativo (agua destilada). En el gel A se observa el resultado de la primera amplificación. La banda de 900 pb en los carriles 2 y 3 diagnostica estas muestras como positivas. El gel B corresponde al control con el gen GAPDH y verifica la presencia de ADN en las 9 muestras y la ausencia en el control negativo con agua destilada en el carril 12. El gel C muestra la segunda amplificación de 440 pb que diagnostica a las muestras 2, 3, 4 y 7 como positivas y a las muestras 5, 6, 8, 9 y 10 como negativas.

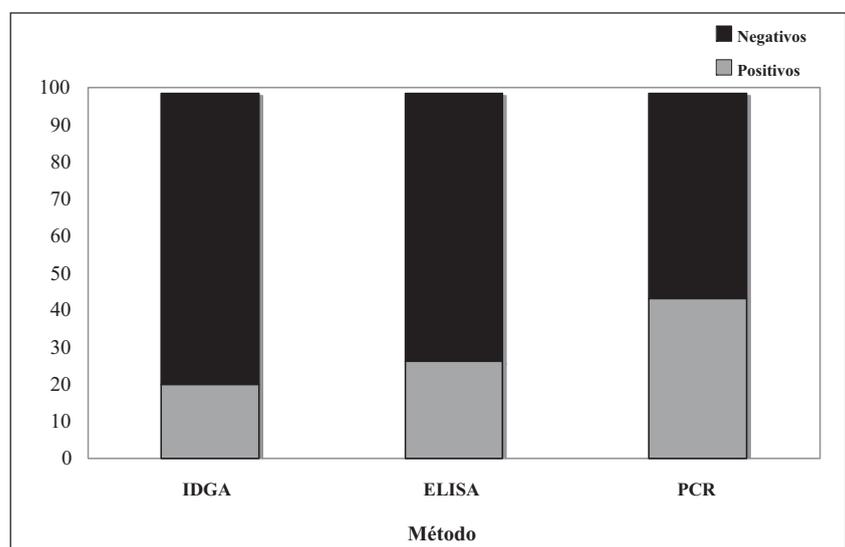


Figura 2. Porcentaje de animales positivos y negativos determinados por inmunodifusión en gel agar (IDGA), Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Cuadro 1. Porcentaje de Sensibilidad y Especificidad calculadas tomando a las técnicas de ELISA y PCR como métodos de referencia.

Referencia		Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
ELISA	IDGA	72	100
	PCR	94	77
PCR	IDGA	45	100
	ELISA	61	97

En el Cuadro 1 se muestran los valores de S y E para los métodos comparados, tomando al ELISA y a la PCR como métodos de referencia.

La seroprevalencia determinada por ELISA fue de 23,6 % en el Tambo I y 48,7% en el Tambo II.

Recuento Leucocitario Total y Diferencial

En la Figura 3 se muestra el porcentaje de animales positivos y negativos al VLB por ELISA y que presentaron niveles

normales, moderadamente aumentados o patológicamente aumentados de linfocitos (Tolle, 1965). Se observa que el 92 % de los animales VLB negativos presentó valores normales de linfocitos, mientras que el 66 % de los positivos presentó niveles patológicamente aumentados.

El Cuadro 2 resume los resultados del recuento celular promedio de los animales positivos y negativos al VLB en los dos tambos analizados (considerando solo los animales sanos para el Tambo I). Al comparar animales negativos al VLB en-

tre tambos, se observa que en el Tambo I estos presentaron un número de leucocitos significativamente menor ($P=0.004$) que los negativos al VLB del Tambo II. Sin embargo, al considerar la totalidad de los animales negativos al VLB del Tambo I (sanos + enfermos), el promedio de leucocitos no resultó diferente entre los tambos ($6067/\text{mm}^3 \pm 640$ vs $7312/\text{mm}^3 \pm 541$, $P=0.16$). La diferencia observada en el número de leucocitos para los animales negativos de ambos tambos afectó al número promedio de linfocitos y de PMN, pero no afectó los porcentajes promedio de estos tipos celulares. En el caso de los monocitos, si bien no existieron diferencias en su número, se observó que el porcentaje resultó mayor en los animales negativos a VLB del Tambo I que en los del Tambo II ($P=0.004$). Al considerar animales positivos a VLB entre tambos, no se observaron diferencias respecto al número de leucocitos ni de los distintos tipos celulares de la fórmula leucocitaria. Sin embargo, si hubo diferencias entre los porcentajes de linfocitos y monocitos ($P=0.027$ y $P=0.026$, respectivamente). Por otra parte, los animales positivos a VLB presentaron un número de leucocitos y linfocitos significativamente mayor que los VLB negativos en ambos tambos ($P<0.01$ en todos los casos). En el Tambo I, no se observaron diferencias entre animales negativos y positivos al VLB respecto al número de PMN. Sin embargo, en el Tambo II éstos resultaron mayores, en número y porcentaje, en los animales negativos ($P=0.01$). No se observaron diferencias en el número de monocitos, ni en relación al resultado del ELISA ni entre los tambos.

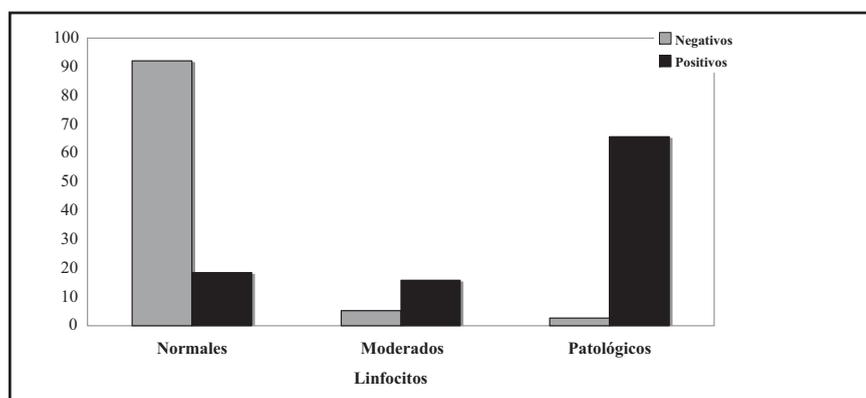


Figura 3. Porcentaje de animales positivos y negativos por ELISA con niveles normales, moderadamente aumentados y patológicamente aumentados de linfocitos.

Cuadro 2. Promedio (Células/ $\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$) de Leucocitos totales, Linfocitos, Polimorfonucleados (PMN) y Monocitos en vacas positivas (P) y negativas (N) por ELISA, para cada tambo. Entre paréntesis se muestran los valores en porcentaje.

ELISA	Tambo 1		Tambo 2	
	N	P	N	P
Leucocitos	4807 ± 647^a	8014 ± 647^{bc}	7312 ± 541^b	9252 ± 556^c
Linfocitos	2299 ± 549^a (48% ^a)	5197 ± 549^c (61% ^b)	3710 ± 460^b (51% ^a)	6564 ± 472^c (70% ^c)
PMN	2370 ± 313^a (48% ^a)	2583 ± 313^a (36% ^b)	3515 ± 262^b (47% ^a)	2584 ± 259^a (28% ^b)
Monocitos	137 ± 50^{ab} (3.1% ^a)	233 ± 73^a (2.6% ^a)	86 ± 42^b (1.1% ^b)	103 ± 43^{ab} (1.1% ^b)

Las letras distintas en la misma fila y misma variable (número/porcentaje) difieren $P<0.05$.

DISCUSIÓN

Los métodos diagnósticos usados de rutina para el diagnóstico de LEB en Uruguay incluyen IDGA y ELISA preponderantemente, los cuales están diseñados para detectar la presencia de anticuerpos específicos contra el VLB. Asimismo, han sido descritos métodos moleculares que mediante amplificación por PCR de secuencias virales específicas buscan detectar la presencia del ADN proviral insertado en los linfocitos infectados. Estos últimos métodos no son utilizados de rutina en nuestro país.

En este trabajo, nos propusimos comparar las técnicas de IDGA, ELISA y PCR como herramientas diagnósticas de la LEB disponibles en nuestro país.

Los resultados obtenidos muestran que el método diagnóstico más sensible fue la PCR, siendo IDGA la que detectó menor número de animales positivos. Estos resultados coinciden con trabajos anteriores (Fechner y col., 1996; Martín y col., 2001; Trono y col., 2001; Felmer y col., 2006; Camargos y col., 2007). Si bien la S de la IDGA y del ELISA fue menor que la de la PCR, la E de ambos métodos fue mayor.

El hecho de que la PCR tradicional detecte animales que presentan ADN proviral y que sean serológicamente negativos, puede deberse a la presencia de animales inmunotolerantes a VLB (Fechner y col., 1997; Monti y col., 2005). Paralelamente, la PCR permitiría detectar animales infectados antes de que estos desarrollen una respuesta inmunológica, animales cursando un período prolongado de latencia o animales con una baja carga de exposición del virus, así como la detección del virus en terneros infectados que recibieron calostro de madres seropositivas (Kaaden y col., 1982).

Por otro lado, Fechner y col (1997) proponen que ciertas variantes en la secuencia del VLB podrían ser menos inmunogénicas que otras generando, por lo tanto, resultados serológicos negativos en animales infectados. Sin embargo, otros estudios no logran determinar una correlación entre el genotipo del VLB y el estado serológico de los animales infectados, y proponen que las diferentes respuestas antivirales podrían estar relacionadas con el estado de la infección y otros factores del hospedador (Licursi y col., 2002). En particular, la expresión del gen

BoLA DRB3.2 ha sido asociada a la susceptibilidad o resistencia del hospedador al aumento de la carga viral (Juliarena y col., 2008).

En otros trabajos se reportaron casos de muestras seropositivas en las que no se pudo amplificar el ADN del virus (Del Fava y Pituco, 2004; Monti y col., 2005). Esto se puede explicar por la existencia de fluctuaciones en el número de linfocitos infectados, por la ubicación de los mismos en el hospedador o porque existan variaciones genéticas en el virus que afecten el reconocimiento del ADN proviral por los cebadores usados en la PCR (Camargos y col., 2005). No obstante, sería conveniente repetir la muestra discordante determinada como positiva por ELISA (con baja D.O.) y negativa tanto por PCR como por IDGA.

Si bien la PCR es más sensible, la IDGA y el ELISA son los métodos recomendados por la OIE y los más utilizados en los planes internacionales de erradicación de la enfermedad. Asimismo, la aplicación de la PCR requiere de un laboratorio que cuente con la infraestructura necesaria para el manejo de técnicas de virología molecular, donde se pueda tener las precauciones adecuadas, y a través de los procedimientos de control, validar la calidad de los resultados (Beier, 2008). Asimismo, la mayor susceptibilidad a la contaminación de la PCR, hace que el conocimiento y la experiencia del operario sean factores de mayor importancia que en las demás técnicas.

El uso de la PCR sería adecuado como método diagnóstico complementario en aquellos animales que sean negativos al VLB por IDGA y positivos o levemente positivos (baja D.O.) por ELISA, en los cuales se quiera confirmar la presencia del ADN proviral en el genoma de los linfocitos del huésped. En este sentido, el diagnóstico por PCR puede constituir un gran aporte en los programas de erradicación, especialmente en aquellos rodeos con una baja prevalencia de animales infectados, ya que se pueden detectar infecciones recientes, entre 2-4 semanas más temprano que mediante la IDGA (Naif y col., 1992; Kelly y col., 1993; González y col., 2001).

Respecto al recuento celular, un mayor porcentaje de animales positivos al VLB presentó niveles patológicamente aumen-

tados de linfocitos, lo que explica que el promedio de leucocitos en estos animales fuera mayor en comparación a los negativos. Si bien la diferencia entre los animales positivos y negativos con niveles patológicamente aumentados de linfocitos (66 % vs 3 %, respectivamente) es marcada, existen trabajos donde se reporta una variabilidad de 30% a 70% de animales infectados que presentan linfocitosis persistente (Felmer y col., 2006). Para determinar el establecimiento de linfocitosis persistente, se debería evaluar más de una muestra por animal, obtenidas con un intervalo de semanas o meses, ya que se considera que el nivel de linfocitos debe mantenerse aumentado durante un mínimo de tres meses (Chamizo, 2005).

La cantidad de linfocitos resultó menor en los animales negativos al VLB del Tambo I que los negativos del Tambo II. Teniendo en cuenta que, al considerar solo los animales sanos en el Tambo I, el número promedio de leucocitos fue significativamente inferior que en el Tambo II (donde no se pudo determinar el estado sanitario de los animales), es de relevancia la determinación de la fórmula leucocitaria (porcentaje). Es decir, cuando para el Tambo I se incluyeron los animales enfermos, no se observaron cambios significativos en los porcentajes promedio del RLD, pero sí en el número promedio de células/mm³ de sangre. Por lo tanto, es importante que en el hemograma cada tipo celular esté explícito tanto en número de células/mm³ como por el porcentaje que representa en la fórmula leucocitaria. Para la determinación de efectos de la LEB sobre el recuento celular, se debe considerar la presencia de enfermedades concurrentes (muy frecuentes en vacas lecheras en producción).

Por otra parte, la edad del animal también afecta el recuento celular, siendo en general mayor el número de linfocitos en terneros (Tolle, 1965). Por lo tanto, el hecho de que en el Tambo II los animales sean más jóvenes, también podría estar influyendo en que presenten mayor porcentaje de linfocitos comparado con los del Tambo I. Asimismo, la prevalencia de LEB en el Tambo II es mayor, lo que hace pensar que en este rodeo la carga viral también sería mayor.

Este trabajo muestra una importante prevalencia de la LEB (27,8 % en el Tambo I

y 48,7% en el Tambo II) incluso en animales jóvenes (Tambo II). La falta de un plan de manejo sanitario adecuado para la erradicación de la enfermedad (Acta 84, COHNAS) y la aplicación del programa de vacunación contra la fiebre aftosa en el 2001 se han propuesto como razones que podrían explicar el aumento de la prevalencia de LEB en Uruguay en la última década (Zaffaroni y col., 2007).

Los programas de erradicación de la leucosis bovina implican separar los animales positivos de los negativos, por lo cual es imprescindible contar con metodologías diagnósticas de alta sensibilidad. La comparación de métodos diagnósticos de LEB realizada en este trabajo, demuestra que los animales con resultados positivos obtenidos por IDGA y ELISA se clasifican en el grupo de animales infectados. En cambio, un cierto porcentaje de los animales con resultados negativos

usando estas metodologías, en realidad son positivos al utilizar la PCR como método diagnóstico. Por lo tanto, debido a la mayor sensibilidad demostrada, se debería utilizar la PCR como técnica confirmatoria de segunda línea para asegurar la negatividad de un rodeo.

El impacto y distribución de la enfermedad a nivel nacional y regional es indiscutible, así como también, las dificultades inherentes a su control y/o erradicación, por lo tanto, el aumento de la investigación científica interinstitucional en este tema y la transferencia tecnológica al sector productivo aportan importantes insumos para la solución de este complejo problema de sanidad animal.

CONCLUSIONES

La comparación de los diferentes métodos diagnósticos actualmente disponibles en Uruguay demostró que la técnica de

PCR presentó una mayor sensibilidad, seguido por el ELISA y por la IDGA.

El número promedio de linfocitos aumentó significativamente en los animales que presentan el VLB, aunque no puede descartarse que la presencia de enfermedades concurrentes afecte de forma relevante el número total de estos.

Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de La Plata, Argentina por la gentil donación del Kit de IDGA con el que se analizaron las muestras.

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Proyecto FPTA – INIA N° 174; y LIA-CNRS-France.

A la Dra. Lourdes Adrien por su colaboración en la toma de muestras.

Referencias Bibliográficas

- Ballagi-Pordany, A.; Klintevall, K.; Merza, M.; Klingeborn, B.; Belak, S.** (1992). Direct detection of bovine leukaemia virus infection: practical applicability of a double polymerase chain reaction. *J. Vet. Med. (B)*. 39: 69-77.
- Beier, D.** (2008). Enzootic Bovine Leucosis. En: Vallat, B. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees). 2a. ed. Paris, Ed. OIE, pp. 723-738.
- Burny, A.; Cleuter, Y.; Kettmann, R.; Mammerickx, M.; Marbaix, G.; Portetelle, D.; Van den Broeke, A.; Willems, L.; Thomas, R.** (1988). Bovine leukemia: facts and hypotheses derived from the study of an infectious cancer. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 32: 149-170.
- Camargos, M.F.; Junior, C.A.O.; da Cruz, C.J.M.; Lessa, L.M.; Rocha, M.A.; Stancek, D.; Pellegrin, A.O.; Reis, J.K.P.; Leite, R.C.** (2005). Testes de diagnóstico para o vírus da leucemia bovina. *Comunicação científica. R. Bras. Ci. Vet.* 12(1)(3): 149-150.
- Camargos, M.F.; Feliziani, F.; De Giuseppe, A.; Lessa, L.M.; Reis, J.K.P.; Leite R.C.** (2007). Evaluation of diagnostic test to bovine leukemia virus. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinaria*. 102: 169-173.
- Chamizo, E.G.** (2005). Leucosis Bovina Enzootica: Revisión. *REDVET*. VI (7): 2-25. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070505.html>.
- Collazo, L.; Sienra, R.; Irabuena, O.; Guarino, H.; Navarro, M.; Lavarello, L.** (2002). Estudio epidemiológico de la Leucosis Bovina Enzootica en Ganado lechero. *Jorn. Urug. Buiatría XXX*. Paysandú, Uruguay. p. 322-325.
- Crowther, J.R.** (2009). *The ELISA Handbook*. 2nd ed.. Humana Press. pp 568.
- de la Sota, M.D.** (2004). Manual de procedimiento Leucosis Bovina Enzootica, Dirección Nacional de Luchas Sanitarias, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, SENASA, Argentina. 9:1-27. <http://kogi.udea.edu.co/talleres/Medicina/.../leucosis%20senasa.pdf>.
- Del Fava, C.; Pituco, E.M.** (2004). Infecção pelo Virus da Leucemia Bovina (BLV) no Brasil. *Divulgação Técnica. Biológico*, San Pablo, 66(1)(2):1-8.
- Fechner, H.; Kurg, A.; Geue, L.; Blankenstein, P.** (1996). Evaluation of Polymerase chain reaction (PCR) application in diagnosis of bovine leukaemia virus (BLV) infection in naturally infected cattle. *J. Vet. Med.* 43: 621-630.
- Fechner, H.; Blankenstein, P.; Looman, A.C.; Elwert, J.; Geue, L.; Albrecht, C.; Kurg, A.; Beber, D.; Marquardt, O.; Ebner, D.** (1997). Provirus variants of the bovine leucemia virus and their relation to the serological status of naturally infected cattle. *Virology*. 237: 261-269.
- Felmer, R.; Zúñiga, J.; Recabal, M.** (2006). Estudio comparativo de un PCR anidado, ELISA, IDGA en la detección del virus de la leucosis bovina en muestras de leche, sangre y leche. *Arch. Med. Vet.* 38 (2):137-141.
- Ferrer, J.** (1980). Bovine Lymphosarcoma. *Adv. Vet. Sc. Comp. Med.* 24:1-68.
- González, E.T.; Oliva, G.A.; Valera, A.; Bonzo, E.; Licursi, M.; Etcheverrigaray, M.E.** (2001). Leucosis Enzootica Bovina:

- Evaluación de técnicas de diagnóstico (ID, ELISA-I, WB, PCR) en bovinos inoculados experimentalmente. *Revista Analecta Veterinaria*. 21(2):12-20.
- Guarino, H.; Saizar, J.; Sienra, R.** (1989). Comparación de las técnicas de Inmunodifusión en Gel Agar (IDGA) e Inmunoenzimáticas (ELISA), en el diagnóstico serológico de la Leucosis Bovina Enzoótica. *Jorn. Urug. Buiatría XVII*. Paysandú, Uruguay. 4:1-7.
- Juliarena, M.A.; Poli, M.; Sala, L.; Ceriani, C.; Gutiérrez, S.; Dolcini, G.; Rodríguez, E.M.; Mariño, B.; Rodríguez-Dubra, C.; Esteban, E.N.** (2008). Association of BLV infection profiles with alleles of the BoLA-DRB3.2 gene. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 39: 432-438.
- Kaaden, O.R.; Lange, S.; Romanowski, W.; Marré, H.; Pfeilsticker, J.; Roselius, R.** (1982). Transient viraemia with bovine leukaemia virus in bulls. *Zentralbl. Veterinarmed.* 29(4): 269-274.
- Kelly, E.J.; Jackson, M.K.; Marsolais, G.; Morrey, J.D.; Callan, R.J.** (1993). Early detection of bovine leukemia virus in cattle by use of the polymerase chain reaction. *Am. J. Vet. Res.* 54(2):205-209.
- Mammerickx, M.; Portetelle, D.; de Clercq, K.; Burny, A.** (1987). Experimental transmission of enzootic bovine leukosis to cattle, sheep and goats: infectious doses of blood and incubation period of the disease. *Leuk. Res.* 11: 353-358.
- Martín, D.; Arjona, A.; Viana, M.; Soto, I.; Barquero, N.; Gómez-Lucía, E.** (2000). Comparación de métodos serológicos y virológicos para el diagnóstico de la infección por el virus de la leucosis bovina enzoótica. *Med Vet.* 17:133-141.
- Martín, D.; Arjona, A.; Soto, I.; Barquero, N.; Viana, M.; Gómez-Lucía, E.** (2001). Comparative study of PCR as direct assay and ELISA and AGID as indirect assays for the detection of Bovine Leukaemia Virus. *J. Vet. Méd.* 48: 97-106.
- Mederos, A.; Irigoyen, D.** (1998). Relevamiento Epidemiológico de Diarrea Viral Bovina, Rinotraqueítis Infeciosa Bovina y Leucosis Bovina en predios lecheros del nordeste del Uruguay. *Jorn. Urug. Buiatría XXVI*. Paysandú, Uruguay. p. 19-20.
- Miller, S.A.; Dykes, D.D.; Polesky, H.F.** (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 12: 319-325.
- Monti, G.E.; Frankena, K.; Ángel, K.; Ángel, B.; Buist, W.; Tarabla, H.D.; M De Jong, M.C.** (2005). Evaluation of a new antibody-based enzyme-linked immunoabsorbent assay for the detection of bovine leucemia virus infection in dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 17: 451-457.
- Moratorio, G.; Obal, G.; Dubra, A.; Correa, A.; Bianchi, S.; Buschiazzo, A.; Cristina, J.; Pritsch, O.** (2010). Phylogenetic analysis of Bovine Leukemia Viruses isolated in South America reveals diversification in seven distinct genotypes. *Arch. Virol.* 2010.
- Naif, H.M.; Daniel, R.C.; Cogle, W.G.; Lavin, M.F.** (1992). Early detection of bovine leukemia virus by using an enzyme-linked assay for polymerase chain reaction-amplified proviral DNA in experimentally infected cattle. *J. Clin. Microbiol.* 30(3): 675-679.
- Licursi, M.; Inoshima, Y.; Wu, D.; Yokoyama, T.; González, E.T.; Sentsui, H.** (2003). Provirus variants of bovine leukemia virus innaturally infected cattle from Argentina and Japan. *Veterinary Microbiology*. 96: 17-23.
- Portetelle, D.; Couez, D.; Bruck, C.; Kettmann, R.; Mammerickx, M.; Van Der Maaten, M.; Bresseur, R.; Burny, A.** (1989). Antigenic variants of bovine leukaemia virus (BLV) are defined by amino acid substitutions in the NH₂ part of the envelope glycoprotein gp51. *Virology*. 1: 27-33.
- Sienra, R.; Nuñez, A.; González, A.; Ceretta, M.E.; Guarino, H.; Morón, C.** (1998). Características Hematológicas en relación a la infección por el virus de la Leucosis Bovina Enzoótica en ganado Lechero. *Jorn. Urug. Buiatría XXVI*, Paysandú, Uruguay. p. 23-25.
- Tiscornia, A.C.; Cayota, A.; Landoni, A.I.; Brito, C.; Oppezzo, P.; Vuillier, F.; Robillo, C.; Digiero, G.; Gabús, R.; Pritsch, O.** (2004). Post-transcriptional regulation of inducible nitric oxide synthase in chronic lymphocytic leukemia B cells in pro- and antiapoptotic culture conditions. *Leukemia*. 18(1): 48-56.
- Tolle, A.** (1965). Zur Beurteilung quantitativer hematologischer Befunde im Rahmen der Leukose - Diagnostik beim Rind. *Zbl. Vet. Med.* 12 : 281.
- Trainin, Z.; Brenner, J.** (2005). The direct and indirect economic impacts of bovine leukemia virus infection on dairy cattle. *Israel journal of veterinary medicine*. 60(4): 94-105.
- Trono, K.G.; Pérez-Filguiera, D.M.; Duffy, S.; Borca, M.V.; Carrillo, C.** (2001). Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. *Vet. Microbiol.* 83: 235-248.
- Van der Maaten, M.J.; Miller, J.M.** (1975). Replication of bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Bibl. Haematol.* 43: 360-362.
- Zaffaroni, R.; Piaggio, J.; Nuñez, A.; de Freitas, J.; Suanes, A.; Cernicchiaro, N.; Gil, A.** (2007). Evolución temporal de la seroprevalencia de la Leucosis Bovina Enzoótica (LBE) en la cuenca lechera sur del Uruguay. *V Jornadas técnicas veterinarias, Montevideo, Uruguay*. p. 150-151.

Frecuencia alélica del Síndrome de Estrés Porcino en Uruguay (análisis por PCR-RFLP)

Montenegro, M.¹; Castro, G.¹; Barlocco, N.²; Llambí, S.¹

RESUMEN

El Síndrome de Estrés Porcino (SEP) es una enfermedad hereditaria causada por una mutación puntual (C→T) en el gen que codifica para el receptor de la ryanodina (CRC1). El SEP genera importantes pérdidas económicas en la industria porcina debido a muerte súbita de los animales y/o disminución en la calidad de la carne. Los marcadores moleculares de ADN constituyen un método seguro para la determinación genotípica de dicha mutación. En el presente trabajo, se estudio la frecuencia alélica de esta mutación mediante PCR-RFLP en un total de 64 animales de diferentes razas (cerdos criollos Pampa Rocha, híbridos comerciales, Landrace, Large White y Duroc). De estos el 48.43% presentó genotipo homocigota normal (NN), el 40.62% presentaron un genotipo heterocigota portador de la mutación (Nn) y un 10.93% presentaron un genotipo homocigota recesivo afectados (nn). Este es el primer trabajo donde se determina en Uruguay por técnicas moleculares: a) presencia de individuos portadores, Nn (razas Landrace, Large White e híbridos comerciales), b) presencia de animales afectados, nn (raza Landrace e híbridos comerciales), c) ausencia del alelo n en cerdos Pampa Rocha, en la muestra poblacional analizada.

Palabras clave: Porcino, síndrome de estrés, PCR-RFLP.

SUMMARY

Porcine Stress Syndrome (PSS) is a hereditary disease caused by a point mutation (C→T) in the gene encoding the ryanodine receptor (CRC1). The PSS generates significant economic losses in the swine industry due to sudden death of animals and / or decrease in the quality of the meat. DNA molecular markers are a safe method for genotype determination of the mutation. In this paper, we study the allele frequency of this mutation by PCR-RFLP in a total of 64 animals of different breeds (Creole pigs Pampa Rocha, hybrids, Landrace, Large White and Duroc). Of these, 48.43% had a homozygous normal genotype (NN), 40.62% had a heterozygous genotype, being mutation carriers (Nn) and the other 10.93% had a homozygous recessive genotype (nn). This study is the first one in Uruguay where, using molecular techniques, the following groups could be determined in a sample from a population: a. Carriers Nn (Landrace, Large White and commercial hybrids); b. affected animals nn (Landrace and commercial hybrids) and c. Pampa Rocha animals where the n allele was not present.

Key words: Porcine, Stress Syndrome, PCR-RFLP

INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Estrés Porcino (SEP) es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva causada por una mutación puntual (C→T) en el gen que codifica para el receptor de la ryanodina (CRC1). Esta sustitución provoca un cambio aminoácido (arginina → cisteína) en dicha proteína la cual funciona como canal de calcio en el retículo sarcoplásmico (Fuji y col., 1991). El gen CRC1 se encuentra localizado en el par autosómico 6 presentando dos variantes alélicas asociadas al SEP. El alelo normal es dominante sobre el alelo mutado identificándose al genotipo homocigota dominante con la nomenclatura NN (individuos normales), genotipo heterocigota, Nn (portadores de la mutación) y genotipo homocigota recesivo, nn (individuos susceptibles al SEP) (Bonelli y Schifferli, 2001). La frecuencia de la mutación varía dependiendo de las razas, siendo alta en Pietrain (hasta 97% del alelo

mutado), media en Landrace (35%) y media a baja en Large White (19%) (Riojas-Valdés y col., 2005). La mutación provoca una apertura del canal de calcio impidiendo su cierre (Riojas-Valdés y col., 2005). Se produce así un aumento en la concentración de calcio citoplasmático en el miocito, incrementándose el metabolismo aeróbico, la glucogenólisis y la glucólisis, agotando el ATP, la glucosa y el oxígeno. Esto genera un exceso de dióxido de carbono, ácido láctico, potasio y calor en la sangre, además de un desorden en el equilibrio de iones intra y extracelular y un aumento en la cantidad de agua en la célula. La asociación entre la respuesta al estrés fisiológico, con hipercalcemia, produce como consecuencia final el paro cardíaco del animal. El estado de contracción permanente de la célula muscular provoca hipertrofia muscular, lo cual produce el aumento del desarrollo muscular de la canal (Reiner, 1993). La

canal de los animales homocigotos recesivos manifiesta un disminución rápida e importante del pH post mortem como consecuencia del incremento del metabolismo causado por el estrés (transporte, faena, cópula, calor excesivo, etc.) (Pommier y col., 1998). De esta manera, el SEP genera importantes pérdidas económicas en la industria porcina debido a la muerte súbita de los animales susceptibles al estrés y a una disminución en la calidad de la carne (carnes pálidas, exudativas y blandas) (Leach y col., 1996).

Por otro lado se ha visto la ventaja del efecto gen sobre la producción y diversos autores encuentran que los animales Nn presentan una mejor conversión y ganancia diaria de peso frente a los NN (Puentes Martínez, y Pérez Ede, 2007).

Los marcadores moleculares de ADN constituyen un método seguro para la determinación genotípica de portadores de patologías hereditarias causadas por

¹Instituto de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo-Uruguay. Correo electrónico: silvia.llambi@gmail.com.

²Facultad de Agronomía, Departamento de Producción Animal y Pasturas, Universidad de la República (UdelaR), Montevideo-Uruguay.

Recibido: 5/8/10 Aprobado: 1/11/10

mutaciones puntuales (Bonelli y Schifferli, 2001). Uno de los métodos empleados en la determinación de la mutación es la técnica de PCR y RFLP (polimorfismo en el largo de los fragmentos de restricción). Este consiste en la amplificación por PCR de una secuencia del gen donde se encuentra la mutación mediante la utilización de oligonucleótidos específicos con una posterior digestión de dicho fragmento con enzimas de restricción (ER) (Bonelli y Schifferli, 2001).

Hernández y col. (2008) mediante PCR-RFLP, amplifican un fragmento de 659pb del gen CRC1 que incluye a la mutación y mediante cortes con la enzima Alw21I identifican animales portadores genotipo, Nn (fragmentos de 524, 358, 166 y 135pb), animales normales, genotipo NN (fragmentos de 524 y 135 pb) y animales enfermos genotipo nn (fragmentos 358,166 y 135pb).

En nuestro país se identifica por primera vez la mutación mediante técnicas con marcadores moleculares por Montenegro y col. (2009). El objetivo de este trabajo fue realizar el estudio de las frecuencias alélicas para el polimorfismo mencionado utilizando la técnica de PCR-RFLP en una muestra de animales pertenecientes a la raza local Pampa Rocha (de interés a nivel de conservación de recursos zoogenéticos) y razas de importancia comercial para nuestro País (Large White, Landrace, Duroc e híbridos).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se procedió a la extracción de ADN partir de 5 mL sangre periférica de 64 animales de diferentes razas: 28 híbridos, 14 Pampa Rocha, 14 Landrace, 5 Large White y 3 Duroc. Se entiende por híbridos a las cruza estandarizadas para venta comercial. Dentro de los híbridos estudiados se incluyen animales cruza de Duroc x Pampa Rocha, Landrace x Large White, y Pietrain x Large White. Los animales muestreados pertenecen a diferentes establecimientos: Unidad de Producción de Cerdos del Centro Regional Sur (Facultad de Agronomía-UdelaR); Servicio Veterinario de Remonta del Campo Militar N°1 (localidad los Cerrillos) y a empresas de chacinados.

En el aislamiento de ADN se empleó un kit de extracción (AxyPrep, Axygen). Para la técnica de PCR se utilizaron un

par de oligonucleótidos que flanquean la secuencia de 659pb donde se encuentra la mutación: F-CRC1 5'-TCC AGT TTG CCA CAG GTC CTA CCA-3' y R-CRC2 3'-ATT CACCGG AGT GGA GTC TCT GAG-5' (Villareal y col., 2005). Para dicha técnica se optimizó un programa de desnaturalización inicial de 94 °C/5 minutos, seguido de 30 ciclos con desnaturalización a 94 °C/1 minuto, hibridización a 58 °C/1 minuto y extensión a 72 °C/1 minuto, con un programa de extensión final a 72 °C/5 minutos. Para aumentar la especificidad de la reacción de PCR se utilizó DMSO (dimetilsulfóxido). Para la técnica de RFLP, se utilizó 10U de la endonucleasa de restricción Alw21I durante 3 h a 37 °C, con una posterior inactivación de la enzima a 65 °C durante 20 minutos y una desnaturalización con proteínasa K, incubándose a 37 °C durante 1 h (Hernández y col., 2008). Los productos obtenidos se visualizaron en geles de agarosa (2% tinción bromuro de etidio) y minigeles de acrilamida (6 % tinción nitrato de plata). Para el cálculo de las frecuencias alélicas se utilizó el software de diseño público Popgene 32 versión 1.32 (Yeh y col., 2000).

RESULTADOS

En los 64 animales se observó una banda de amplificación de tamaño esperado (659 pb) al realizar la PCR. La frecuencia para el alelo N fue de 0.687 y para el alelo n fue de 0.313 de acuerdo al análisis realizado con el software Popgene 32 versión 1.32.

Del 100% de los animales analizados por PCR-RFLP, el 48.43% presentaron genotipo normal (NN, banda de 524pb), el 40.62% con genotipo heterocigota, portadores de la mutación (Nn, bandas de 524 y 358pb), y el 10.93% con genotipo (nn, banda de 358pb), siendo estos individuos afectados por el SEP. En los Nn y nn aparecen las bandas 166 y 135pb muy tenues mientras que en NN aparece la banda de 135pb. Estas bandas en general aparecen muy tenues en los geles de acrilamida y no interfieren en la lectura del genotipado de los animales (Hernández y col.; 2008). En cuadro 1 se observan los diferentes genotipos de acuerdo a las razas analizadas. En la figura 1, se observa un gel de acrilamida con el patrón de restricción característico para el corte con la enzima de restricción Alw21I.

Cuadro 1. Frecuencia por razas de los genotipos para el SEP.

Raza	Genotipo NN	Genotipo Nn	Genotipo nn	Nº Total
Pampa Rocha	14	0	0	14
Landrace	1	8	5	14
Large White	4	1	0	5
Duroc	3	0	0	3
Híbridos	9	17	2	28
Totales (%)	31 (48.43)	26 (40.62)	7 (10.93)	64 (100%)

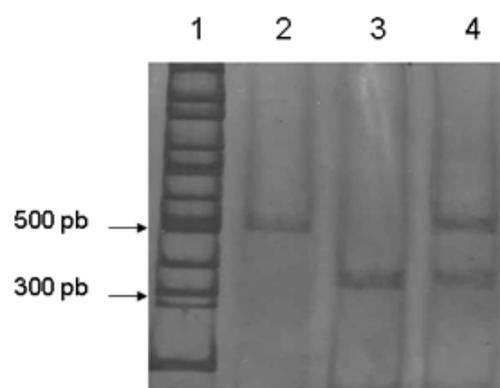


Figura 1. Gel de acrilamida al 6% teñido con nitrato de plata. Carril 2: genotipo de un cerdo de raza Large White donde se distingue una única banda de 524 pb, tratándose de un individuo con genotipo normal (homocigota dominante). Carril 3 y 4: individuos de la raza Landrace, en el primer caso se observa una única banda de 358 pb, por lo cual el individuo es homocigota recesivo; mientras que en el segundo caso se observan dos bandas de 524 y 358 pb lo cual permite afirmar que este animal es heterocigota (portador de la mutación).

DISCUSIÓN

Los individuos más susceptibles encontrados en este estudio, entre portadores y enfermos, son los híbridos y los Landrace mientras que en la raza local Pampa Rocha no se encontraron animales portadores ni enfermos. En cerdos híbridos, estudios previos indican una frecuencia de la mutación causante del SEP de un 16%, mientras que en Landrace es de un 35%. En el caso de las razas Large White y Duroc, la frecuencias previas encontradas son de 19 y 15% respectivamente (Riojas-Valdés y col., 2005). De todas maneras no se pueden hacer inferencias respecto a la prevalencia de la mutación en las diferentes razas debido al bajo número de animales analizados para cada una de las mismas.

Se destaca como principal resultado que mediante la técnica de PCR-RFLP, se detectó por primera vez en nuestro país la presencia de la mutación puntual causante del SEP, pudiéndose identificar animales portadores y enfermos. La información generada permitirá eliminar a estos individuos como reproductores, disminuyendo de esta manera la frecuencia de dicha mutación. Debemos tener en cuenta que esta patología hereditaria afecta a la industria porcina (Bonelli y Schifferli, 2001). Por otro lado existe la tendencia de producir animales con menos grasa y más músculo llevando a que los productores seleccionen animales heterocigotos

(efecto gen asociado a mayor rendimiento de la canal y menos grasa) (Puentes Martínez y Pérez Ede, 2007). Sin embargo, el beneficio de la selección realizada a favor de los portadores aún se encuentra en discusión. Esta selección posibilitó el aumento de la frecuencia, así como su difusión a través de reproductores seleccionados para esta característica.

La optimización de las técnicas empleadas (PCR-RFLP), podría ser empleada como metodología para el diagnóstico de esta patología hereditaria así mismo como una herramienta para identificar portadores y realizar cruzamientos dirigidos aplicados a mejorar la producción porcina.

Por otro lado, resultó interesante el estudio del recurso zoogenético local Pampa Rocha, debido a que se generaron datos que contribuyen con la caracterización genética de la misma, aspecto muy importante a tener en cuenta cuando se quieren realizar estudios para la conservación de una raza. En un principio se esperaba encontrar animales portadores de la mutación o enfermos, debido a que esta raza tendría en sus orígenes sangre de las razas Berkshire y Poland China (Kelly y col., 2004), en esta última la prevalencia de la mutación causante del Síndrome estudiado es de un 80% (Bonelli y Schifferli, 2001). Sin embargo, todos los cerdos Pampa Rocha analizados resultaron normales, no encontrándose hasta el momento individuos portadores o enfermos.

Estos datos resultan de interés, considerando que es una raza local utilizada por pequeños y medianos productores del este de nuestro país (Departamento de Rocha), y que podría ampliarse su uso por otros productores. Este resultado también podía esperarse al tratarse de una raza local, en la cual se supone que ha sido mínima la aplicación de métodos de selección.

CONCLUSIONES

Mediante el uso de técnicas moleculares (PCR y marcadores moleculares) se detectó por primera vez en nuestro país; la presencia de la mutación puntual causante del Síndrome de Estrés Porcino, pudiéndose identificar animales portadores y enfermos. La optimización de las técnicas empleadas (PCR-RFLP), podría ser utilizada como metodología para el diagnóstico de esta enfermedad hereditaria contribuyendo a la mejora genética en producción porcina. En la muestra de la raza Pampa Rocha no se detectó el alelo mutante.

Agradecimientos

A colegas veterinarios y productores de la industria porcina por facilitarnos las muestras sanguíneas. A Br. Wanda Iriarte, Br. Rody Artigas, Dra. Mónica Martínez y Dra. Rosa Gagliardi por la colaboración técnica en el laboratorio. A la ANII (Agencia Nacional en Investigación e Innovación) y CSIC-UdelaR por la financiación del presente trabajo.

Referencias Bibliográficas

- Bonelli, A. M.; Schifferli, R. (2001). Síndrome Estrés Porcino. Arch. Med. Vet. v.33 n.2, p 125-135.
- Fuji, J.; Otsu, K.; Zorsato, F.; de Leon, S.; Khanna, V.K.; Weiler, J.E.; O, Brien, P.J.; MacLennan, D.H. (1991). Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. Science. 253, p. 448-451.
- Hernández, D. Y.; Posso Terranova, A. M.; Muñoz Flores, J. E. (2008). Detección de una mutación puntual en el gen receptor Ryanodina (Ryr1) en cerdos criollos colombianos. Acta Agron (Palmira). 57 (4), p275-278.
- Kelly, L.; Clop, A.; Vadell, A.; Nicolini, P.; Monteverde, S. (2004). El cerdo Pampa Rocha como recurso zoogenético en Uruguay. Marcadores moleculares. Veterinaria (Montevideo) v. 39 (155-156), p. 15-16.
- Leach, L.M.; Ellis, M.; Sutton, D.D.; McKeith, F.K., Wilson, E.R. (1996). The growth performance, carcass characteristics, and meat quality of halothane carrier and negative pigs. J Anim. Sci, 74, p 934-943.
- Montenegro, M.; Artigas, R.; Gagliardi, R.; Castro, G.; Llambí, S. (2009). Primer diagnóstico molecular del síndrome de estrés porcino en Uruguay (técnica de PCR-RFLP). 6as Jornadas Técnicas de Facultad de Veterinaria. Montevideo-Uruguay, pp 128.
- Pommier, S.A.; Pomar, C.; Godbout, D. (1998). Effect of the Halothane genotype and stress on animal performance, carcass composition and meat quality of crossbred pigs. Can J. Anim. Sci. 78, p 257-264.
- Puentes Martínez.; Pérez Ede.; T. (2007). Canalopatías en veterinaria: dos ejemplos de interés. Rev. Complutense de Ciencias Veterinarias: Vol 1 (2): 603-611.
- Reiner, G. (1993). A new physiological pathway controlling muscle growth and its potential relevance for pig production. Pig News and Information. 14, p 123-125.

Riojas Valdés, V.; Canales, J.; Gómez de la Fuente, J.; Dávalos, G.; Hernández, G.; Salinas, J. (2005). Frecuencia alélicas del síndrome de estrés Porcino en Nuevo León, mediante análisis PCR-RFLP. *Vet. Méx.*, 36 (3),p261-267.

Villareal, P.; Diéguez, F.J.; Rodríguez, M. (2005). Estandarización de una prueba de ADN para detectar el Síndrome de Estrés Porcino (SEP) en cerdos cubanos. *Rev. Ciencia Agrícola*, Tomo 39, (1), p69-74.

Yeh, F.C.; Yang, R.; Boyle, T.J.; Ye, Z.; Xiyan, J.M. (2000). POPGENE 32, Microsoft Window-based Freeware for Population Genetic Analysis, Version 1.32; Molecular Biology and Biotechnology Centre,

Caracterización de septicemia hemorrágica bacteriana (SHB), diagnosticadas en peces ornamentales de Uruguay

Carnevia, D.¹; Letamendía, M.¹; Perretta, A.¹; Delgado, E.²

RESUMEN

Se realizó un relevamiento de enfermedades bacterianas que afectan peces ornamentales en Uruguay. Se colectaron peces visiblemente afectados en comercios y criaderos, se realizó examen clínico, luego necropsias de los mismos, se tomaron muestras para histopatología y se realizaron aislamientos bacterianos a partir de riñón, líquido ascítico o lesiones en piel. Las bacterias se aislaron en medio TSA y luego se identificaron mediante kit API 20 NE. De un total de 105 casos clínicos estudiados el 57,6% correspondieron a un cuadro de Septicemia Hemorrágica Bacteriana (SHB). En el presente trabajo caracterizan los cuadros, pudiéndose reconocer tres formas clínicas: Aguda Septicémica, Subaguda Ascítica y Crónica Ulcerosa. Se describe para cada forma clínica la sintomatología, los peces afectados y las bacterias aisladas. La forma más común es la Aguda Septicémica (63,1 % de los casos), la que suele cursar con ectoparasitosis severas y presentar alta morbilidad y mortalidad. Las bacterias más comúnmente involucradas son *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas fluorescens*, si bien otros gram negativos fueron aislados. Es necesario resaltar que estas bacterias potencialmente pueden ser zoonosis.

Palabras clave: peces ornamentales, septicemia hemorrágica bacteriana, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*.

SUMMARY

In the present work a survey of bacterial diseases affecting ornamental fish in Uruguay was performed. Fish evidencing signs of disease were collected in pet-shops and farms, post-mortem examinations, histopathology became and samples for bacteriology were taken. The isolates were obtained from kidney, ascitic fluid or skin lesions. Bacteria were isolated in TSA and then were identified by API 20 NE kit. From a total of 105 samples, 57.6% of clinical cases were identified as Bacterial Hemorrhagic Septicemia (SHB) showing three different clinical forms: Acute septicemic Ascitic Subacute and Chronic Colitis. For each clinical form, symptoms, the affected fish species and the bacteria isolated are described. The most common clinical form is Acute Septicemic (63.3% of cases), which is usually associated with severe ectoparasitosis with high morbidity and mortality. The most commonly involved bacteria are *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*, although other Gram-negative were isolated. It should be stressed that these bacteria could be potentially zoonotic.

Key words: ornamental fish, bacterial hemorrhagic septicemia, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens*.

INTRODUCCIÓN

Los peces ornamentales son mascotas cada vez más comunes. En Uruguay se comercializan unos 500.000 peces por año, de los cuales unos 350.000 son criados en el país (6). La venta de peces ornamentales se ha integrado en los últimos años a la profesión veterinaria, siendo comercializados en un gran número de clínicas veterinarias en Montevideo y en prácticamente todas las capitales de los departamentos. Tanto en comercios como en criaderos ocurren periódicamente epizootias con elevada mortalidad, lo que atenta contra la rentabilidad de estas empresas. En la mayoría de los casos, estas epizootias son ocasionadas por bacterias o parásitos oportunistas que aprovechan el sistema inmune debilitado de los peces

ya sea por estrés o por malas prácticas de manejo, para producir las afecciones (5, 47). Algunas de las especies bacterianas que afectan a los peces ornamentales pueden constituir zoonosis (11, 32, 37). Si bien existen investigaciones con respecto a enfermedades bacterianas en peces ornamentales tanto a nivel internacional como en nuestro país, los trabajos son generalmente referidos a aislamientos bacterianos pero ninguno de estos realiza un análisis de los cuadros clínicos asociados a estas afecciones (7, 8, 9, 24, 25, 27, 28, 34, 39).

En este contexto, se ha comenzado a desarrollar en el Área Acuicultura del Instituto de Investigaciones Pesqueras, una línea de investigación tendiente a caracterizar las enfermedades bacterianas que

afectan los peces ornamentales de Uruguay a efectos de definir medidas de control y tratamientos adecuados para dichas patologías. En particular en este trabajo se exponen los primeros resultados referidos a una de las bacteriosis más frecuentemente encontrada: la Septicemia Hemorrágica Bacteriana (SHB). Se realiza una caracterización de los cuadros clínicos que presenta, así como la identificación de las bacterias involucradas y de las especies de peces más susceptibles a esta afección.

MATERIALES Y MÉTODOS

El relevamiento se llevó a cabo desde enero de 2005 a junio de 2006. Se colectaron peces en 10 criaderos (50 muestreos) y en 14 comercios de peces ornamentales (55 muestreos). En cada caso se eligieron

¹Área Acuicultura y Patología de Organismos Acuáticos, Instituto de Investigaciones Pesqueras. Facultad de Veterinaria, Tomás Basaños 1160, Montevideo, 11300, Uruguay. Correo electrónico: dcarnevia@gmail.com.

²Área Ciencias del Mar, Instituto de Investigaciones Pesqueras, Facultad de Veterinaria.

Recibido: 8/3/10 Aprobado: 24/9/10

aqueños individuos con signos externos de presentar alguna afección (aparentemente enfermos). Todos los ejemplares fueron transportados hasta el laboratorio de ictiopatología del Instituto de Investigaciones Pesqueras, donde fueron examinados y evaluados sus signos clínicos. A los ejemplares con lesiones de piel se les extrajeron muestras para análisis bacteriológico y preparación de frotis para observación en fresco al microscopio óptico. Luego se procedió a sacrificar los peces por sobredosis de anestésico (Eugenol a 0.04 mg/litro) o descerebrado según Carnevia *et al.*, 2006, practicando luego una necropsia (10). Se observaron entonces los órganos internos, registrando cualquier signo de alteración patológica, y se sacaron muestras para histopatología y para bacteriología. Las muestras de bacteriología se tomaron desde riñón según lo recomendado por Noga (1995), sembrándose también líquido ascítico en los casos que cursaron con ascitis (35). Para el aislamiento de las bacterias se utilizó medio TSA (tripticasa soja agar) incubado a 25-28 °C durante 24 a 48 horas. Luego se realizó observación de motilidad, tinción de Gram y test de oxidasa; para posteriormente ser sembrados en kit API 20 NE para su identificación, el que fue incubado a 25-28 °C durante 24 a 48 horas. En algunos casos se tomaron muestras de hígado y bazo para histopatología, las que se fijaron en Bouin y luego fueron incluidas, cortadas a 5-7 micras, montadas y teñidas con Hematoxilina y Eosina según técnicas convencionales (23). Para la identificación de parásitos fueron empleadas las descripciones de Reichembach-Klinke (1976), Eiras (1994) y Woo (1998) (15, 41, 48). Todas las observaciones y resultados fueron registrados en planillas elaboradas al efecto.

RESULTADOS

La SHB fue detectada como afección en el 57,6 % de los casos clínicos estudiados durante el relevamiento, siendo la patología más frecuente. En base a la epizootiología, sintomatología y lesiones se pudieron distinguir tres presentaciones clínicas de la afección (aunque algunas epizootias presentaron más de una forma clínica): a) una forma **aguda septicémica**, generalmente asociada a ectoparasitosis severa, cuyos principales síntomas fueron similares a ésta (letargia,

anorexia, opacidad de piel, algunas hemorragias superficiales e insuficiencia respiratoria), b) una forma **subaguda ascítica**, con severa ascitis y lepidortosis y c) una forma **crónica ulcerosa** (Cuadro 1). La forma más común encontrada fue la aguda septicémica (63,1 % de los casos) seguida por la subaguda ascítica (21,1 %) y la crónica ulcerosa (15,7 %). Las principales bacterias aisladas fueron *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas fluorescens*, encontrando además otros gram negativos en cuadros muy severos (Cuadro 2). En cuanto a las lesiones encontradas en las necropsias y en la histopatología, tenemos que en la forma aguda septicémica encontramos hígado con infiltración y degeneración grasa (en 47,0 % de las necropsias), aumento de melanomacrófagos en hígado y bazo (31,0 % de las necropsias) y hemorragias petequiales en órganos internos (20 % de las necropsias); en la forma subaguda ascítica hemorragias en peritoneo, degeneración y necrosis de células hepáticas (43,0 % de las necropsias), contenido ascítico seroso (50,0 % de las necropsias), serosanguinolento (25,0 % de las necropsias) o purulento (25,0 % de las necropsias) y en el 50,0 % de las necropsias múltiples abscesos en peritoneo, bazo, riñón e hígado (Figura 1); en la forma crónica ulcerosa las principales lesiones encontradas además de las úlceras en piel, fueron hígado friable y con abundantes melanomacrófagos (40,0 % de las necropsias), cursando el 20,0 % de las

necropsias sin lesiones evidentes de órganos internos.

Las familias de peces ornamentales más afectadas por las formas aguda septicémica y subaguda ascítica fueron Cyprinidae y Poeciliidae, mientras que la forma ulcerosa solo se presentó en Poeciliidae y Anabantidae.

Los ectoparásitos encontrados en conjunto con estos cuadros de Septicemia Hemorrágica Bacteriana fueron: *Gyrodactylus* sp.; *Dactylogyrus* sp.; *Trichodina* sp.; *Ichthyobodo necator* y *Piscinoodinium* sp. (Cuadro 3).

DISCUSIÓN

La SHB es la afección bacteriana más común en peces de cultivo debido a que las bacterias involucradas (*Aeromonas* spp. y *Pseudomonas* spp.) suelen estar siempre presentes en los ecosistemas acuáticos y actúan como patógenos oportunistas (1, 4, 5, 35, 49). En el presente estudio se pudieron definir tres formas clínicas de presentación de la afección, cada una de las cuales cuenta con sintomatología propia.

La AGUDA SEPTICÉMICA fue la forma más común de presentación (63,1 % de los casos), tal como lo describen otros autores (1, 18, 35). En esta forma clínica si bien pueden reconocerse múltiples síntomas (Cuadro 1), ninguno es patognomónico por sí solo (42). Lo que si es significativo son las lesiones encontradas en la necropsia e histopatología: hemorra-

Cuadro 1. Síntomas, número de casos y familias de peces ornamentales en que se diagnosticó la Septicemia Hemorrágica Bacteriana.

Forma clínica	Síntomas detectados	Nº de casos	% de casos	Familia de peces en que se presenta (%)
Aguda septicémica	Anorexia, letargia, opacidad de piel, hemorragias petequiales en piel y aletas, aletas replegadas, opérculos abiertos, insuficiencia respiratoria.	24	63,1	Ciprínidos (62,5%) Poecílidos (25,0%) Anabántidos (4,2%) Calíctidos (4,2%) Cíclidos (4,2%)
Subaguda ascítica	Anorexia, letargia, ascitis, lepidortosis	8	21,1	Ciprínidos (87,5%) Poecílidos (12,5%)
Crónica ulcerosa	Letargia, adelgazamiento, úlceras en piel	6	15,8	Poecílidos (66,7%) Anabántidos (33,3%)

Cuadro 2. Bacterias aisladas de las tres formas clínicas de Septicemia Hemorrágica Bacteriana.

Forma clínica	Bacterias aisladas	Nº aislamientos	% aislamientos
Aguda Septicémica	<i>Aeromonas hydrophila</i>	11	42,3
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	5	19,2
	<i>Vibrio alginolyticus</i>	2	7,7
	<i>Aeromonas veroni/sobria</i> , <i>Pseudomona aeruginosa</i> , <i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i> , <i>Actinobacillus sp.</i> , <i>Burkholderia pseudomallei</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Alcaligenes</i> <i>fecalis</i> , <i>Plesiomonas shigelloides</i> , <i>Stewanella putrefasciens</i> .	1 c/u	3,8 c/u
Subaguda ascítica	<i>Aeromonas hydrophila</i>	4	40,0
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3	30,0
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> , <i>Vibrio alginolyticus</i> .	1 c/u	10,0 c/u
Crónica ulcerosa	<i>Aeromonas hydrophila</i>	6	100,0



Figura 1. A y B: Granulomas en hígado de *Poecilia sphenops* con un cuadro de SHB forma subaguda ascítica (100 x). C: Granuloma en riñón de *Carassius auratus* con cuadro de SHB forma subaguda ascítica (200 x).

gias petequiales en músculos y en órganos internos; esplenomegalia con destrucción de gran número de melanomacrófagos, degeneración de hepatocitos; así como el aislamiento de bacterias a partir

del riñón (1, 32). En nuestro estudio las principales lesiones encontradas fueron en el hígado (infiltración y degeneración grasa y aumento de melanomacrófagos) y bazo (aumento de melanomacrófagos);

encontrándose además hemorragias petequiales en órganos internos pero solo en un 20,0 % de los casos.

Otros autores señalan también los géneros *Aeromonas* y *Pseudomonas* como los más comunes en peces de agua dulce (1, 3, 5, 24, 34, 44). Si bien estos dos géneros fueron los más encontrados, en algunos casos se aislaron otras bacterias (Cuadro 2) que deben considerarse como invasoras solamente en peces con sistema inmune muy afectado por la propia afección o por otras causas (parasitosis severas, mal manejo). Si bien está citada SHB por *Vibrio* spp. nosotros lo aislamos en pocas oportunidades, posiblemente porque es más común en peces de agua salobre o marinos y el presente estudio comprendió solamente peces dulceacuícolas (27, 29). Los grupos de peces ornamentales más afectados fueron Ciprínidos (*Carassius auratus* y *Brachydanio rerio*) y Poecílidos (*Poecilia sphenops*, *P. reticulata*, *Xiphophorus helleri*). Menos frecuente fue en Anabántidos (*Coleocheilichthys lalia*), Calíctidos (*Corydoras paleatus*) y Cíclidos (*Symphysodon aequifasciata*). Esta forma cursa con alta prevalencia y alta mortalidad y debe realizarse

Cuadro 3. Parásitos encontrados en peces ornamentales con Septicemia Hemorrágica Bacteriana.

Parásitos	Forma Aguda Septicémica		Forma Subaguda Ascítica		Forma Crónica Ulcerosa	
	Nº (*)	% (**)	Nº	%	Nº	%
<i>Gyrodactylus sp.</i>	9	37,5	0	0,0	1	16,7
<i>Dactylogyrus sp.</i>	8	33,3	2	25,0	0	0,0
<i>Trichodina sp.</i>	7	29,2	1	12,5	0	0,0
<i>Ichthyobodo necator</i>	4	16,7	0	0,0	0	0,0
<i>Piscinoodinium sp.</i>	1	4,2	0	0,0	1	16,7
Total de casos con parásitos.	17	71,5	2	25,0	2	33,3

(*) número de peces en que se encontraron los parásitos. (**) porcentaje de los peces con la forma clínica, en que se encontraron los parásitos.

un diferencial con intoxicaciones agudas y con trastornos por incorrectas condiciones ambientales (acidosis, temperaturas inadecuadas, intoxicaciones, etc.). En el 71,5 % de los casos cursó asociada con ectoparasitosis severa, siendo los parásitos encontrados en mayor frecuencia: *Dactylogyrus sp.* (37,5 % de los casos), *Gyrodactylus sp.* (33,3 %), *Trichodina sp.* (29,2 %) e *Ichthyobodo necator* (16,7%). Esta alta prevalencia de monogéneos difiere con el trabajo de Havelka (1974), que cita como parásitos encontrados en carpas (*Cyprinus carpio*) con SHB a: *Chilodonella cyprini*, *Trichodina domerguei*, *Diplostomum spathaceum* y *Piscicola geometra*; así como hongos del género *Saprolegnia* pero no cita a Monogéneos (20).

La forma SUBAGUDA ASCÍTICA es un cuadro descrito por varios autores afectando peces ornamentales (5, 12, 19, 43, 45). En este estudio se presentó en el 21,1% de los casos y cursó con anorexia, letargia, severa ascitis y lepidortosis como síntomas clínicos, presentando como lesiones internas hemorragias en peritoneo, lesiones en hígado (degeneración y necrosis), contenido ascítico fue en su mayoría seroso pero también observamos serosanguinolento o purulento y en el 42,0 % de las necropsias múltiples abscesos en peritoneo, bazo, riñón e hígado (7). Fijan (1972) la considera una bacteriosis subaguda o crónica que cursa con una enteritis, una severa peritonitis y un síndrome hidrópico caracterizado por ascitis, lepidortosis y

exoftalmía en su fase terminal. Aoki (1998) cita como lesiones típicas de esta afección: necrosis catarral de mucosa intestinal, degeneración de hepatocitos, necrosis de glomérulos renales y degeneración de epitelio de los túbulos renales (1, 19). En la mayoría de nuestros casos clínicos no observamos alteraciones importantes en el tubo digestivo, por lo que suponemos que la patogenia en peces ornamentales puede diferir con la descrita en peces de consumo.

La mayoría de los aislamientos correspondieron a los géneros *Aeromonas* y *Pseudomonas* (90,0 % de los aislamientos) coincidiendo con lo citado por Tesarcik (1977) y Aoki (1998). Los grupos de peces ornamentales más afectados fueron Ciprínidos (*Carassius auratus*) y Poecílidos (*Poecilia reticulata* y *Poecilia sphenops*) (1, 46).

Se debe plantear un diferencial con riñón poliquístico o tumores de órganos abdominales (son enfermedades crónicas que cursan con aumento de tamaño del abdomen pero no con lepidortosis, anorexia y letargia) y con Síndrome Amoniotélico Ambiental (cursa con leve ascitis en ciprínidos desencadenada en forma aguda o subaguda por intoxicación con amoníaco).

La forma CRÓNICA ULCEROSA fue encontrada solo en un 15,8 % de los brotes, cursando con anorexia, adelgazamiento y úlceras en piel. Esta forma de presentación de la S.H.B. está citada por numerosos autores, presentando baja prevalencia y baja mortalidad, pudiendo

muchos peces incluso curar las lesiones quedando como portadores (1, 2, 3, 5, 13, 33, 35, 40). Esta forma fue encontrada en Poecílidos (*Poecilia reticulata*, *Poecilia latipinna* y *Xiphophorus variatus*) y Anabántidos (*Trichogaster trichopterus* y *Colisa lalia*), si bien está citada en otras familias de peces de agua dulce. Las principales lesiones encontradas por nosotros, además de las úlceras en piel, fueron en el hígado (friable y con abundantes melanomacrófagos). La única bacteria aislada fue *Aeromonas hydrophila*. Diversos autores citan cuadros donde aíslan *A. hydrophila*, *Pseudomonas sp.*, *Flavobacterium sp.* y *Edwardsiella sp.* (13, 28, 36). Iqbal *et al.* (1999) describe un Síndrome Ulcerativo Epizootico en peces de agua dulce de Asia, desde donde se aíslan *Aeromonas* móviles (*A. hydrophila*, *A. veroni* biotipo *sobria* y *A. jandaei*) afectando Ciprínidos (*Cyprinus carpio*, *Puntius gonionotus* y *Aristichthys nobilis*), Anabántidos (*Osphronemus gouramy*) y Cíclidos (*Oreochromis niloticus*) que tiene aspectos comunes con los casos identificados en la presente investigación, salvo la prevalencia: mientras que en Asia fueron epizootias con alta prevalencia en las poblaciones de peces en cultivo, en este relevamiento siempre fueron peces aislados dentro de un lote los que presentaron este cuadro (21). Se debe plantear un diferencial con heridas por traumatismos y con Enfermedad Ulcerativa del *Carassius* (en la cual suele intervenir *Aeromonas salmonicida* forma atípica) y solo se aíslan bacterias desde las

lesiones en piel pero no cursan con septicemia (14, 16, 17, 30).

Muchas de las bacterias involucradas en los tres cuadros pueden representar riesgo de zoonosis. Están citados desde cuadros de enteritis y de heridas de piel infectadas por estas bacterias en personas sanas, hasta cuadros de septicemias y peritonitis en personas inmunodeprimidas

(por VIH o quimioterapia), por lo que se debe tener cuidados higiénicos al manipular peces afectados (11, 22, 31, 37, 49).

CONCLUSIONES

Se describe por primera vez para peces ornamentales en Uruguay la forma clínica de presentarse la Septicemia Hemorrágica Bacteriana, pudiendo reconocer tres formas : Aguda Septicémica, Subaguda Ascítica y Crónica Ulcerosa.

La forma más común es la Aguda Septicémica, la que suele cursar con ectoparasitosis severas y presentar alta morbilidad y mortalidad.

Las bacterias más comúnmente involucradas son *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas fluorescens*, si bien otros gram negativos pueden ser aislados.

Referencias Bibliográficas

1. **Aoki, A.** (1998). Motile *Aeromonas hydrophila* in Woo, P. y Bruno, D. (eds) Fish Diseases and Disorders. v3: Viral Bacterial and Fungal Infections. Wallingford, CABI Publ.: 427-454.
2. **Austin, B.; Stobine, M.** (1992). Recovery of presumptive *Pseudomonas pseudoalcaligenes* from skin lesions of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, otterwise infected with enteric redmouth. Jour. Fish Dis. 15: 541-543.
3. **Bernoth, E.** (1995). Motile *Aeromonas* Septicaemia- MAS. in Schlotfeldt, H-J. y Aldeman, D. (eds) What should I do? A practical guide for the fresh water fish farmer. Bull. European Assoc. Fish Pathol. 15: supplement 60p.
4. **Bullock, L.; Conroy, D.; Snieszko, F.** (1971). Bacterial Diseases of Fishes in Snieszko, F. y Axelrod, H. Diseases of fishes. Neptune, T.F.H. Publ.Inc. : 4-141.
5. **Carnevia, D.** (1993). Enfermedades de los peces ornamentales. Buenos Aires, AGRO VET, 320p.
6. **Carnevia, D.; Rosso, A.** (2001). Relevamiento de Pisciculturas de Peces Ornamentales en Uruguay: datos productivos. VII Congr. Nac. Vet., 19-22 Noviembre, Montevideo, Uruguay. Resumen en CD-Room.
7. **Carnevia, D.; Letamendía, M.; Delgado, E.** (2007). Infección por *Pseudomonas stutzeri* (Bacteria: Pseudomonadaceae) en *Carassius auratus* (Pisces: Cyprinidae), primera cita. V Jornadas Técnicas Veterinarias, Montevideo. p106.
8. **Carnevia, D.; Chaves, L.** (2005). Resultados preliminares sobre bacterias aisladas de *Corydoras paleatus* (Pisces, Callishthyidae) comercializados como peces ornamentales en Uruguay. Act. VIII Jorn. Zool. Uruguay: p 48 (resumen).
9. **Carnevia, D.; Chaves L.; Friss de Kereki, C.** (2004). Caracterización de siete cepas de *Aeromonas hydrophila* (Bacteria, Aeromonadaceae) aisladas de peces ornamentales en Uruguay. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. <http://www.civa2003.org>
10. **Carnevia, D.; Carreira, S.; Francescoli, G.; Loureiro, M.; Silva, A.** (2006). Manejo del animal no tradicional de experimentación. in CHEA. Manejo de Animales de Experimentación, Tradicionales y No Tradicionales. Montevideo, Oficina del Libro FEFMUR. : 65-101.
11. **Chacko, K.; Vineeth, R.; Jaibi, K.; Latha, C.; Nanu, E.** (2006). Fish borne bacterial zoonosis. Intas Polivet 7(2):207-211.
12. **Chansue, N.; Tangtrongiros, J.; Koeypusa, W.; Wngtaratchai, J.** (1999). Clinical pathological studies of goldfish with abdominal swelling syndrome. Proceedings of 37th Kasertat University Annual Conference: 199-203.
13. **Chowdhury, M.; Zahura, U.; Habib, K.; Khatun, M.; Muniruzzaman, M.** (2001). Ulcer type of disease in the fishes of small-scale farmer's pond in Bangladesh. 6th Asian Fisheries Forum Book of Abstracts. p. 67.
14. **Cipriano, R.C.** (1983). Furunculosis: Pathogenicity, mechanisms of bacterial virulence, and the immunological response of fish to *Aeromonas salmonicida*. CSA Illumina. Database ASFA1: Biological Sciences and Living Resources.
15. **Eiras, J.** (1994). Elementos de Ictioparasitología. Porto, Fundação Eng. António de Almeida. 339p.
16. **Elliot, D.** (1986). A study of pathogenesis of goldfish ulcer disease caused by atypical *Aeromonas salmonicida*. DISS. ABST. INT. PT. B - SCI. & ENG. Vol. 47: p207.
17. **Elliot, D.; Shotts, E., Jr.; McCarthy, D.** (1977). Etiology of six cases of ulcer disease in goldfish, *Carassius auratus*. Fish Health News, 6(4): 189-190.
18. **Euzeby, J.** (2008). Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. [Http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/farde.html](http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/farde.html).
19. **Fijan, N.** (1972). Infectious dropsy in carp- a disease complex. Diseases of fish, edited by L.E. Mawdesley-Thomas. Symp. Zool. Soc. Lond, 30: 39-51.
20. **Havelka, J.** (1974). The health condition of fish in the River Vltava. Bul.VURH Vodn. 10: 38-43.
21. **Iqbal, M.; Tajima, K.; Ezura, Y.** (1999). Pathogenicity of Motile *Aeromonas* Species Isolated from Fishes with Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) in Southeast Asian Countries. Bull. Fac. Hokkaido Univ. 50: 93-100.
22. **Janda, J.; Abbott, S.** (1996). The genus *Aeromonas* in Austin, B.;

- Altwegg, M.; Gosling, P. y Joseph, P. (eds.) Human pathogens. . Chichester, John Willey & Sons. : 149-173.
23. **Keim, A.** (1982). Manual de métodos parasitológicos e histopatológicos en piscicultura. INAPE, Inf. Téc. N° 31. 49p.
 24. **Kuo, T.; Chung, Ch.** (1994). A survey of bacterial diseases from infectious aquarium fishes. Mem.Coll. Agric.Natl. Taiwan Univ. 34: 239-246 (resumen en ingles).
 25. **Letamendía, M.; Carnevia, D.** (2007a) Bacterias del género *Vibrio* (Eubacteria: Vibrionacea) aisladas de peces ornamentales enfermos en Uruguay. V Jornadas Técnicas Veterinarias, Montevideo. p 101-102.
 26. **Letamendía, M.; Carnevia, D.** (2007b). Bacterias gram negativas halladas en peces ornamentales de la familia Poeciliidae en Montevideo y Costa de Oro, Uruguay. V Jornadas Técnicas Veterinarias, Montevideo. p.102.
 27. **Locatelli, L.; Pavolleti, E.; Moroni, P.; Cabra, S.; Gilli, P.; Prearo, D.; Prearo, M.** (2003). Main bacterial pathologies found in national and imported aquarium fish. Boll. Soc. Ital. Patol. Ittica 15(36):p42.
 28. **Majumder, B.; Sarker, M.; Khan, M.** (2001). Incidence of ulcer type of disease in wild fishes of Bangladesh. Bangladesh J. Fish. Res. 5: 163-168.
 29. **Manfin, A.; Rubini, S.; Caffara, M.; Volpin, M.; Alborati, L.; Fioraranti, M.** (2002). Bacterial and parasitological diseases in ornamental fishes coming from extra E.U countries: preliminary results. Boll. Soc. Ital. Patol. Ittica 14(33):44-54.
 30. **Maurice, S.; Tinman, S.** (2000). First observations of carp erythrodermatitis caused by atypical *Aeromonas salmonicida* in Israeli bred *Cyprinus carpio*. Isr. J. Aquacult./Bamidgheh. 52: 36-45.
 31. **Miller-Morgan, T.** (2001). The risks and the reality: bacterial diseases, marine ornamentals and human health. Marine ornamental 2001: collection, culture and conservation. Abstracts (n.p) resumen en ASFA.
 32. **Miyazaki, T.; Kaige, N.** (1985). A histopathological study on motil aeromonad disease of crucian carp. Fish Pathology 21: 181-185.
 33. **Nabi, N.; Jabeen, M.; Hashain, A.** (2000). Recovery of multiple drug resistant Pseudomonads associated with an ulcerative condition in an airbreathing murrel, *Chana gachua* Bl. Asian Fish Sci. 13: 105-115.
 34. **Negrete, P.; Romero, I.** (1999). Presence of bacteria pathogens in ornamental fish. Hidrobiologica (Iztalpalaca) 9: 85-94.
 35. **Noga, E.** (1995). Fish diseases: diagnosis and treatment. St. Louis, Mosby.
 36. **Pal, J.; Pradhan, K.** (1990). Bacterial involvement in ulcerative condition of air-breathing fish from India. Journal of Fish Biology, 36: 833-839.
 37. **Perdomo, M.; Carnevia, D.** (2001). Zoonosis transmitidas a partir de peces ornamentales. VII Congr. Nac. Vet., 19-22 Noviembre, Montevideo, Uruguay. Resumen en CD-Room.
 38. **Perretta, A.; Carnevia, D.; Conijeski, D.** (2007). Identificación de bacterias del género *Aeromonas* aisladas de episodios de mortalidad en esturion siberiano (*Acipenser baeri*) cultivado en Uruguay. V Jornadas Técnicas Veterinarias, Montevideo.
 39. **Prearo, M.; Amato, G.; Locatelli, C.; Arsieri, P.; Solenne, A.; Prearo, D.; Abete, M.; Pavolleti, E.** (2005). Main bacterial pathologies in aquarium killiefishes: preliminary note. Ittiopatologia 2(1):21-34.
 40. **Quin, Y.; Chi, X.; Su, Y.; Wang, D.; Chen, X.** (2004). The pathogeny of ulcer disease in *Epinephelus awoara*. J. Fish China 28: 297-302 (resumen ingles).
 41. **Reichembach-Klinke, H.** (1976). Claves para el diagnóstico de las enfermedades de los peces. Zaragoza, Acribia. 89p.
 42. **Schlotfeldt, H.; Alderman, D.** (1995). What should I do? A practical guide for the fresh water fish farmer. Bull. European Assoc. Fish Pathol. 15: supplement 60 p.
 43. **Soltani, M.; Mirzargar, S.; Abrahamzadeh, H.** (1998). Occurrence of a motil *Aeromonas* septicemia in the imported oramental fish oscar, *Astronotus ocellatus*: isolation, characterization and pathogenicity. J.Fac.Vet. Mad. Univ.Teheran 53: 63-65.
 44. **Stickney, R.** (1996). Principles of Aquaculture. New York, John Wiley and Sons, Inc. 503p.
 45. **Teixeira Filho, A.** (1976). Occurrence of the *Pseudomonas punctata* (Shaperclaus), in ornamental fish, *Carassius auratus* L. and carps, *Cyprinus carpio* L., in Brazil. Bol Inst. Pesca Sao Paulo 4: 37-42.
 46. **Tesarcik, J.** (1977). Studies in the realtions between air bladder inflammation and infectious dropsy in carps. Pap. Fri. Vodnany 10: 75-90.
 47. **Wedemeyer, G.** (1996). Phisiology of fish in intensive culture system. NY, Chapman and Hall. 231p.
 48. **Woo, P.** (2006). Fish Diseases and Disorders. v1: Protozoan and Metazoan Infections. Wallingford, CABI Int. 465p.
 49. **Woo, P.; Bruno, D.** (1998). Fish Diseases and Disorders. v3: Viral Bacterial and Fungal Infections. Wallhigford, CABI Publ. 874p.

Perfiles metabólicos y endócrinos en perros sanos: influencia de la ingesta y el sexo

Pessina, P.¹; Sosa, C.²; Araújo, M.¹; Orellana, B.³; Brambillasca, S.⁴; Cajarville, C.⁴; Meikle, A.¹

RESUMEN

Se busca determinar el efecto de la ingesta y del sexo sobre las concentraciones séricas de la glucosa, colesterol, ácidos grasos no esterificados (AGNE), proteínas totales, albúmina, insulina, cortisol, tiroxina (T4) y hormona estimulante de la tiroides (TSH) en caninos Cocker Spaniel (4 hembras y 3 machos). El sangrado se realiza cada hora desde 2 horas pre-ingesta hasta 9 horas post-ingesta. La determinación de metabolitos se realiza en suero por espectrofotometría y la hormonal por radioinmunoanálisis. La ingesta provoca una disminución en las concentraciones séricas de los ácidos grasos y aumento de la insulina ($P < 0.0001$ para ambas variables), mientras que no afecta las de colesterol. Dos horas post-ingesta los niveles de albúmina disminuyen. Las concentraciones de T4 aumentan al momento de la ingesta y se mantienen elevadas por 4 horas. Las hembras presentan mayores concentraciones de colesterol (2.4 ± 0.07 vs 1.9 ± 0.08 g/L, $P < 0.05$) y tienden a presentar mayores concentraciones de insulina (11.9 ± 1.6 vs 8.0 ± 1.8 μ UI/ml, $P = 0.12$) y cortisol (2.29 ± 0.11 vs 1.99 ± 0.13 μ g/dL, $P = 0.08$) que los machos. La ingesta y el sexo modifican las concentraciones séricas de algunos de los metabolitos y hormonas estudiadas, demostrándose así la influencia que el momento de sangrado y el género tienen al momento de validar resultados.

Palabras clave: canino, ingesta, sexo, metabolitos, hormonas.

SUMMARY

Food Intake and gender effects on serum levels of glucose, cholesterol, non-sterified fatty acids (NEFA), protein, albumin, insulin, cortisol, thyroxin (T4) and thyroid stimulating hormone (TSH) are investigated in Cocker Spaniel dogs (4 females, 3 males). Blood sampling is performed hourly from 2 hours before to 9 hours after intake. Determination of metabolites and hormones are performed by spectrophotometry and radioimmunoanalysis respectively. Intake affects NEFA and insulin concentrations, while it has no effect on cholesterol. Albumin concentration decreases 2 hs post intake. T4 concentrations increase at intake and remain high for 4 hours. Females present higher cholesterol (2.40 ± 0.07 vs 1.91 ± 0.08 g/L, $P < 0.05$), and tend to present higher insulin (11.9 ± 1.6 vs 8.0 ± 1.8 μ UI/ml, $P = 0.12$) and cortisol (2.29 ± 0.11 vs 1.99 ± 0.13 μ g/dL, $P = 0.08$) concentrations than males, respectively. Food intake and sex affect serum concentrations of some metabolites and hormones, demonstrating that they should be taken into account when a sample is taken for diagnosis.

Key words: canine, intake, gender, metabolites, hormones.

INTRODUCCIÓN

Los niveles séricos de glucosa, colesterol, insulina y otros metabolitos dependen entre otros factores, de la composición química de la dieta, del estado físico del animal (estrés) y de la hora del día en que se toma la muestra (Kraft y col., 1994; Nguyen y col., 1998). Los protocolos de extracción para cada metabolito están bien especificados en humanos y si bien existen algunos trabajos en perro, el veterinario frecuentemente extrae la muestra sin considerar algunos aspectos que pueden incidir en el resultado, tales como la hora de toma de muestra o el momento respecto a la ingesta, entre otros factores.

No hemos encontrado trabajos en los cuales se haya realizado una determinación completa de perfiles metabólicos y endócrinos en perros sanos. Algunos estudios presentan únicamente las variaciones de glucosa, colesterol e insulina post-prandiales (Kraft y col., 1994; Treiber y col., 2005). Además, en la mayoría de los ensayos, los sangrados se realizan a las 2 y 4 horas post-ingesta, desconociendo las variaciones metabólicas y endócrinas posteriores esperables en caninos como resultado de que éstos ingieren su comida una vez al día. Hoh y col., (2006) observaron que la concentración plasmática de tiroxina (T4) presenta variaciones a lo largo del día, siendo mayor entre las 11:00

y las 14:00 h. No hemos encontrado reportes sobre los efectos de la ingesta en las concentraciones de las hormonas mencionadas anteriormente.

Por otro lado, existen escasos reportes respecto del efecto del sexo sobre la concentración de metabolitos y hormonas. Las concentraciones de colesterol son más altas en hembras que en machos caninos (Kaspar y Norris, 1977; Pessina y col., 2009). Para otras especies (humanos, ruminantes) se encontró un efecto del sexo sobre las concentraciones basales de cortisol (Woods y col., 2003), pero en perros no se ha encontrado un efecto del mismo (Reimers y col., 1990; Pessina y col., 2009). En el mismo sentido, no se

¹Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República Oriental del Uruguay.

²Dpto. de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España.

³Servicio de Diagnóstico, Laboratorio de Diagnóstico, Tegucigalpa, Honduras.

⁴Nutrición Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República Oriental del Uruguay.

Recibido: 16/7/10 Aprobado: 27/10/10

encontró efecto del sexo sobre las concentraciones de T4 (Reimers y col., 1990).

La importancia de conocer las variaciones fisiológicas de hormonas y metabolitos en relación con la ingesta y el género, radica en poder determinar los rangos fisiológicos que permitan posteriormente evaluar muestras de animales con diferentes patologías. El objetivo de este estudio es determinar si existen variaciones post-prandiales y de género (machos vs hembras) en las concentraciones plasmáticas de metabolitos y hormonas que se utilizan frecuentemente en el diagnóstico de numerosas patologías.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

El estudio se realizó en Unidad Experimental de Nutrición Canina del Departamento de Nutrición de la Facultad de Veterinaria y el protocolo experimental fue aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal de la Universidad de la República, Uruguay. Se utilizaron siete perros Cocker Spaniel adultos sanos entre 6 y 9 años (3 machos y 4 hembras), con un peso de $11,9 \pm 0,7$ kg (XDS). Los perros se mantuvieron en jaulas individuales y fueron alimentados a las 9:00 am diariamente con 27 g MS/kg^{0.75}/d de un alimento comercial (Excellent, Purina, Nestlé, Bs. As., Argentina; 22 % proteína bruta, 10 % extracto etéreo, 4 % fibra bruta y 8 % cenizas), teniendo libre disponibilidad al agua de bebida. Previo a las determinaciones los animales tuvieron un período de adaptación a la dieta y a las condiciones experimentales de siete días. La extracción de las muestras de sangre se realizó mediante venopunción de la vena safena, de manera seriada cada hora, comenzando 2 horas antes de la ingesta, hasta 9 horas después de la misma. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 1500 rpm por 15 minutos y el suero se almacenó a -20 °C hasta la realización de los ensayos. Las concentraciones de glucosa, colesterol, insulina y cortisol fueron determinadas en todas las muestras, mientras que el resto de los metabolitos y hormonas fueron determinadas cada dos horas debido a que el suero no fue suficiente para las restantes determinaciones.

Determinación de metabolitos

Los métodos de análisis y los kits usados para la determinación de metabolitos realizada en el Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay, fueron: Glucosa mediante el método GOD (glucosa oxidasa) POD (peroxidasa) 4 AF (4-aminofenazona) (Wiener lab, Rosario-Argentina); Colesterol por el método CHOD-PAP (Wiener Lab 861231904, Rosario, Argentina), Proteínas Totales por la Reacción de Biuret (Wiener Lab 864102502); Albúmina por Verde de Bromocresol (Wiener Lab 861250000) y Ácidos grasos no esterificados (AGNE) por el método ACS-ACOD (Wako Chemicals, 994-75409, Los Angeles, USA). Todas las determinaciones se realizaron en un sólo ensayo. Los coeficientes de variación (CV) intraensayo para los controles Standatrol y A-plus (Wiener Lab) para todos los metabolitos fueron menores a 10 y 12 % respectivamente. Las concentraciones de todos los metabolitos analizados fueron procesadas por espectrofotometría (Photometer, BTS-305, Biosystems).

Determinación hormonal

Las determinaciones hormonales se realizaron en el Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay. La determinación de insulina en plasma se realizó por radioinmunoanálisis (RIA) en fase sólida utilizando un kit comercial DPC (Diagnostic Product Corporation, Los Angeles, USA). La sensibilidad del ensayo fue de 1,6 µUI/mL. Todas las determinaciones se realizaron en un solo ensayo y el CV intraensayo del control (15 µUI/mL) fue de 5.7%.

Las concentraciones de cortisol se determinaron por un RIA en fase sólida utilizando kits DPC. La sensibilidad del ensayo fue de 0.35 µg/dL. Los CV intraensayo para controles bajos (1.0 µg/dL) y medios (5.0 µg/dL) fueron 3.4 % y 5.3 %, respectivamente.

La T4 se determinó por RIA en fase sólida y la hormona estimulante de la tiroides (TSH) por un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) utilizando kits comerciales DPC. La sensibilidad del ensayo de T4 fue de 0.36 mg/dL. Los CV intraensayo para T4 fueron de 7.5 % para el control bajo (0.64 mg/dL) y 4.6 % para el

control alto (1.7 mg/dL). La sensibilidad del ensayo de TSH fue de 0.02 ng/mL. Los CV intraensayo para TSH fueron de 10.6 % para el control bajo (0.26 ng/mL) y 8.2 % para el control alto (2.9 ng/mL).

Análisis estadístico

El análisis de medidas repetidas en el tiempo fue utilizado para todas las variables, mediante un procedimiento mixto (PROC MIXED de SAS®. Statical Analysis System, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA 2000), que incluyó como efectos fijos sexo y hora de sangrado y la interacción entre ambos. Los datos se presentan como promedios mínimos cuadrados y los errores estándares. Las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0.05$.

RESULTADOS

Concentraciones de metabolitos

En la Tabla 1 se resumen los efectos del sexo, hora de muestreo y su interacción sobre las concentraciones de los diferentes metabolitos. Las concentraciones de glucosa fueron afectadas únicamente por la hora de muestreo respecto a la ingesta. A pesar de que las concentraciones de glucosa disminuyeron a las 3 y 5 horas post-ingesta, no se observaron grandes variaciones (Figura 1 A).

Las concentraciones de colesterol estuvieron afectadas por el sexo: las hembras tuvieron mayores concentraciones de colesterol que los machos (2.4 ± 0.07 vs 1.9 ± 0.08 g/L, $P < 0.0001$), pero no se observó efecto de la hora de muestreo (Figura 1 B).

La hora del muestreo de sangre afectó la concentración de AGNE ($P < 0.0001$), pero no hubo efecto del sexo ni de la interacción. Se observó un descenso significativo en la concentración de AGNE desde la hora de ingesta hasta la hora 6 post-ingesta (0.66 vs 0.19 mM, $P < 0.0001$), observándose un aumento significativo a la hora 8 (0.19 vs 0.44 mM, $P < 0.0001$; Figura 1 C).

Las concentraciones de albúmina tendieron a ser afectadas por la hora de muestreo ($P = 0.06$) y no estuvieron afectadas por el sexo ni por la interacción entre sexo*hora (Tabla 1). Las concentraciones de albúmina disminuyeron significativamente después de la ingesta durante el período evaluado ($P < 0.05$; Figura 1 E).

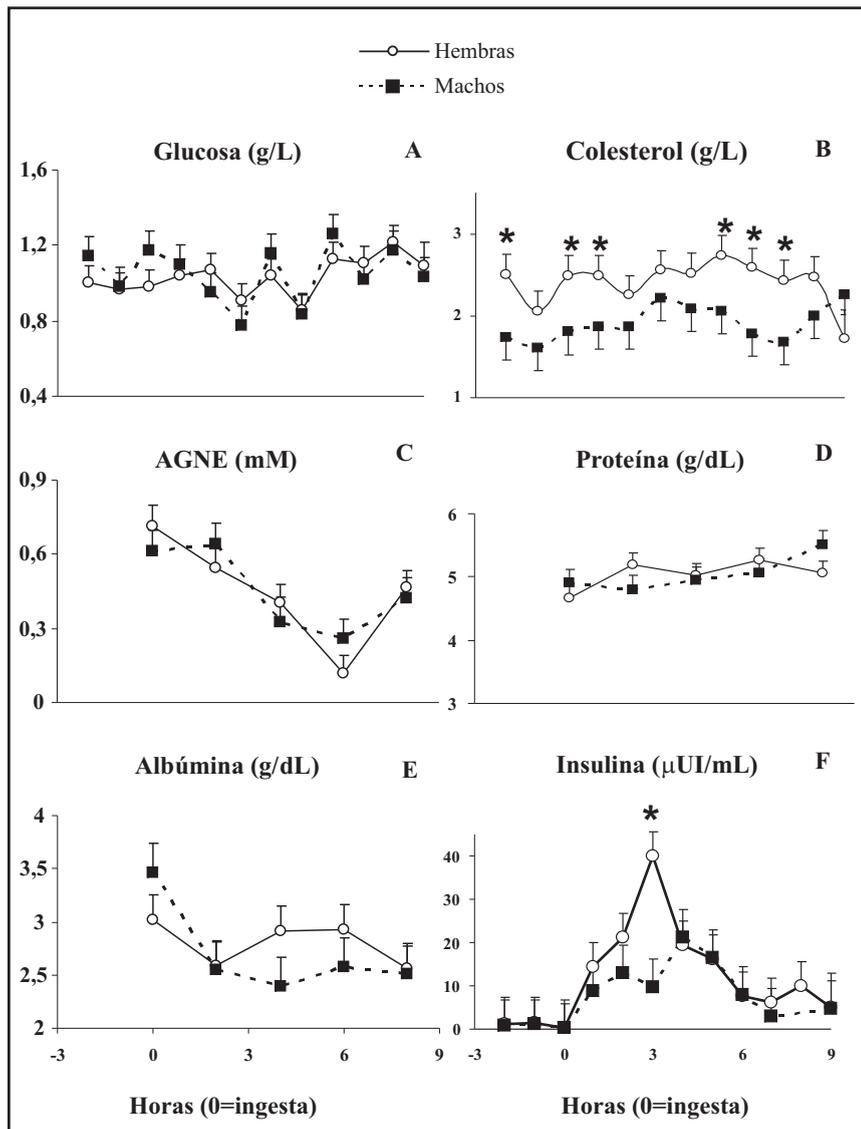


Figura 1. Concentraciones de glucosa (A), colesterol (B), ácidos grasos (AGNE, C), proteínas plasmáticas totales (D), albúmina (E) e insulina (F) en plasma de 7 perros Cocker Spaniel sanos machos y hembras antes y después de la ingesta. Los asteriscos indican diferencias entre género, $P < 0.05$.

Las concentraciones de proteínas totales estuvieron positivamente correlacionadas con las de glucosa ($r=0.37$, $P=0.03$, $n=35$) y con las de insulina ($r=0.40$, $P=0.01$, $n=35$).

Concentraciones hormonales

Las concentraciones plasmáticas de insulina estuvieron afectadas por la hora de muestreo de sangre ($P<0.0001$). Se observó un aumento en las concentraciones de insulina a la hora post-ingesta (0.39 vs 11.6 $\mu\text{UI/ml}$, $P<0.0001$), presentando

el pico máximo 3 horas post-ingesta (24.8 $\mu\text{UI/ml}$, $P<0.0001$). A partir de esta hora los niveles descendieron manteniéndose superiores a los niveles pre-ingesta por 5 horas (Figura 1 F). Las hembras tendieron a presentar mayores niveles de insulina que los machos (11.9 ± 1.6 vs 8.0 ± 1.8 $\mu\text{UI/ml}$, $P=0.128$), y esta diferencia fue significativa a las 3 horas post-ingesta (40 ± 5.5 vs 9.6 ± 3.4 $\mu\text{UI/ml}$, $P=0.0007$).

Las concentraciones de cortisol estuvieron afectadas por la hora de muestreo (Figura 2 A) y tendieron a ser mayores en

las hembras que en los machos (2.29 ± 0.11 vs 1.99 ± 0.13 $\mu\text{g/dL}$, $P=0.083$). Las hembras presentaron mayores niveles en el momento de la ingesta (hora 0) y una hora después ($P<0.05$). Independientemente del género, los niveles de cortisol aumentaron una hora post-ingesta, pero volvieron a niveles basales a las dos horas post-ingesta (Figura 2 A). Un nuevo aumento se observó a las 4 horas post-ingesta para luego disminuir hacia el final del experimento. Las concentraciones de cortisol estuvieron positivamente correlacionadas con las de colesterol ($r=0.23$, $P<0.05$, $n=79$).

Las concentraciones de T4 fueron afectadas por la hora de muestreo ($P=0.0045$) y no se observó efecto del sexo ni de la interacción sexo*hora (Cuadro 1). Las concentraciones de T4 aumentaron al momento de la ingesta y se mantuvieron altas hasta las 4 horas posteriores a la misma; los niveles disminuyeron a las 6 horas post-ingesta (Figura 2 B). Las concentraciones de T4 estuvieron positivamente correlacionadas con las de insulina ($r=0.35$, $P=0.03$, $n=35$).

En contraste, las concentraciones de TSH no fueron afectadas ni por sexo ni por la hora, pero se encontró una tendencia a la interacción entre ambos ($P=0.15$). Mientras que los niveles de TSH en las hembras aumentaron a las 6 hs post-ingesta comparado con los niveles pre-ingesta ($P=0.03$); en los machos los niveles tendieron a disminuir a las 6 hs post-ingesta respecto de las concentraciones a las 2 hs post-ingesta ($P=0.14$; Figura 2 C).

DISCUSIÓN

En este estudio se demostró que aún dentro de los rangos normales existen variaciones de acuerdo con la hora de muestreo post-ingesta y al género en determinados parámetros metabólicos y endocrinos. Si bien este trabajo confirma hallazgos previos o esperables de la fluctuación de metabolitos y hormonas respecto de la ingesta, es el primero en determinarlos para tiroxina y cortisol. Uno de los hallazgos más interesantes y originales del estudio son las concentraciones más altas de insulina y cortisol encontradas en las hembras, que se añaden a reportes en el mismo sentido respecto a lo que sucede con las concentraciones de colesterol.

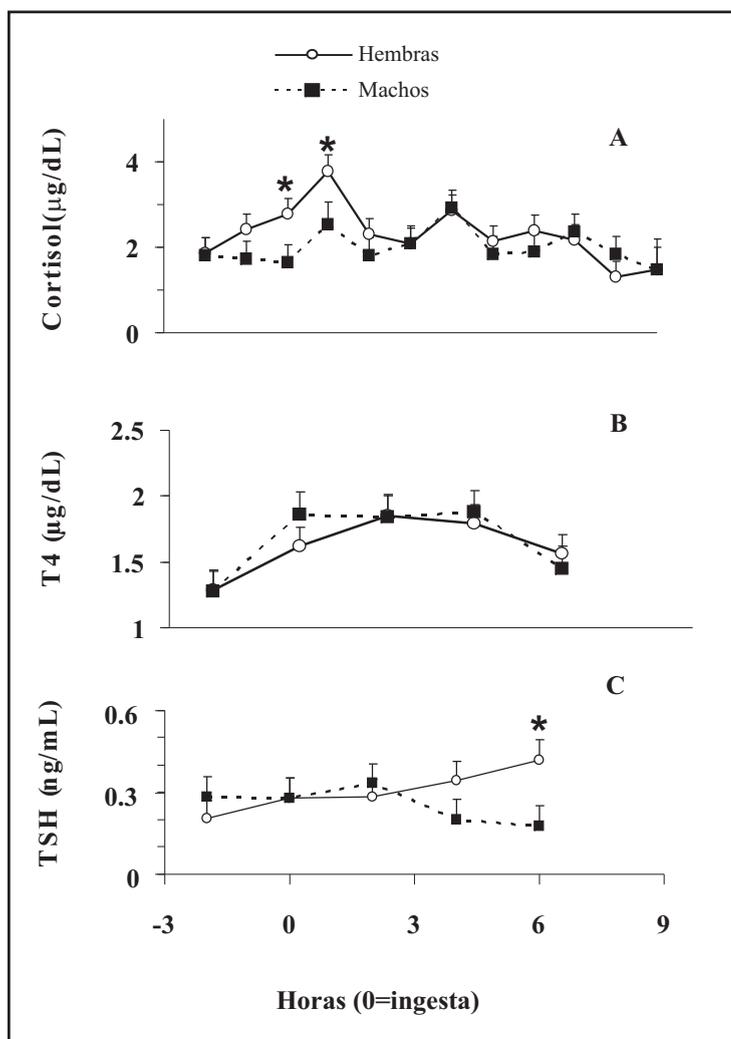


Figura 2. Concentraciones de cortisol (A), tiroxina (B) y TSH (C) en plasma de 7 perros Cocker Spaniel sanos machos y hembras antes y después de la ingesta. Los asteriscos indican diferencias entre género, $P < 0.05$.

Cabe señalar que todos los valores observados en este estudio para metabolitos y hormonas se encontraron dentro de los rangos fisiológicos normales descritos en la bibliografía para perros adultos sanos (Farver, 1997).

En este estudio, no se encontraron variaciones relevantes de la glucosa sanguínea. Por el contrario, Nyugen y col., (1998) y Brambillasca y col., (2010) demostraron importantes cambios en la glicemia dependiendo del tipo de ingesta entre los 15 a 60 minutos post-ingesta. Por la metodología de muestreo no podemos aseverar que no existieron cambios previos en los niveles de glucosa (es decir, cam-

bios rápidos post-ingesta antes de la hora), pero los niveles encontrados a la hora y dos horas post-ingesta no se modificaron a diferencia de lo reportado por Nyugen y col., (1998) y Brambillasca y col., (2010). Es sabido que la glicemia está finamente regulada, por lo que no se esperaban grandes variaciones de la misma. Es interesante señalar que la concentración más baja de glucosa se encontró a las 3 horas post-ingesta conjuntamente con los niveles más elevados de insulina, lo que concuerda con el rol estimulante de ésta favoreciendo el transporte de glucosa hacia la célula. Por otro lado, la ingesta estimula rápidamente la secreción de in-

ulina por parte de los islotes pancreáticos provocando un aumento importante y sostenido en el tiempo, como ha sido comunicado previamente (Wolever y col., 1998). Ishioka y col., (2005) observaron niveles de insulina más altos entre las 2 y 5 horas post-ingesta, lo que concuerda con los resultados de nuestro estudio.

La disminución en la concentración de AGNE desde la hora de la ingesta hasta las 4 y 6 h post-ingesta, podría explicarse por el ingreso de nuevos nutrientes al organismo y una disminución de la lipólisis. Por otro lado, se encontró un aumento a la hora 8 post-ingesta, el cual podría deberse a que se han consumido las reservas energéticas de primera elección (glucógeno hepático) y se activan los mecanismos lipolíticos para consumir la grasa almacenada. Este aumento en ácidos grasos fue consistente con la disminución encontrada en las concentraciones de insulina. En contraposición, Bertolucci y col., (2008) no encontraron cambios en la concentración de AGNE post-ingesta, pero sí reportaron aumentos en las concentraciones de colesterol a las 7 horas luego de la misma. Esto se contradice con lo reportado en el presente trabajo en donde las concentraciones de colesterol no variaron post-ingesta. Metodologías diferentes y/o tipos de dieta podrían ser la causa de estas contradicciones entre trabajos.

No hemos encontrado reportes en la bibliografía respecto de variaciones de las concentraciones post-ingesta de albúmina en caninos. Siendo que la albúmina representa alrededor de un 50% de las proteínas totales, hubiera sido esperable una variación conjunta de ambas variables y no hemos encontrado una explicación para este hallazgo. La correlación encontrada entre proteínas plasmáticas e insulina reafirma el rol anabólico de esta hormona que estimula la síntesis de macromoléculas en general.

El aumento de tiroxina post-ingesta es consistente con reportes en los cuales se demostró que la hormona liberadora de tirotrópina (TRH) está modulada por la ingesta en otras especies (Popovic y Duntas, 2005). La correlación positiva encontrada entre insulina y T4, sostiene la hipótesis de que la insulina actúa centralmente como señal de disponibilidad de energía promoviendo la secreción de

Cuadro 1. Valores de P para los efectos fijos considerados para los metabolitos y hormonas estudiados.

	Sexo	Hora	Sexo*Hora
Glucosa	NS	**	NS
Colesterol	***	NS	NS
AGNE	NS	***	NS
Proteínas totales	NS	0.14	NS
Albumina	NS	0.06	NS
Insulina	0.128	***	NS
Cortisol	0.083	**	NS
T4	NS	**	NS
TSH	NS	NS	0.15

AGNE = ácidos grasos no esterificados; T4 = Tiroxina; TSH = Hormona estimulante de la tiroides. NS = no significativo, ** = P<0.01 y *** = P<0.001.

TRH como ha sido sugerido previamente en roedores (McCarty, 1995). A su vez, el aumento de T4 correspondiente aumenta la tasa metabólica y la respiración celular.

Los niveles de colesterol variaron de acuerdo al sexo, presentando las hembras niveles más altos. Esto es consistente con trabajos previos en diferentes razas caninas de otros laboratorios (Kaspar y Norris, 1977; Barrie y col., 1993) y el nuestro propio (Pessina y col., 2009); siendo la diferencia entre un 15 – 20 % mayor en las hembras. No hemos encontrado otros trabajos respecto al efecto del sexo sobre las concentraciones de metabolitos en caninos.

El efecto del género en las concentraciones hormonales fue uno de los hallazgos más interesantes de este trabajo. En el presente estudio hemos encontrado que los niveles de cortisol tendieron a ser mayores en las hembras que en los machos; observándose esta diferencia en el momento de la ingesta y una hora después de la misma. En un trabajo reciente (Pessina y col., 2009), no hemos encontrado efecto del género en los niveles basales de cortisol, pero la respuesta al test de estimulación con ACTH - en términos de concentraciones de cortisol - es significativamente mayor en las hembras que

en los machos. Se debe destacar que en el presente experimento, las mayores concentraciones de cortisol encontradas en las hembras fueron asociadas a la ingesta; lo que sugiere que es la respuesta a la ACTH endógena liberada por el estrés del manejo (alimentación). Es decir, ambos experimentos sugieren una respuesta diferencial de género a la ACTH. Una de las razones que explicarían este hallazgo, es que las concentraciones del precursor del cortisol - el colesterol - son más altas en hembras que en machos, como ha sido reportado previamente (Pessina y col., 2009). La correlación positiva entre cortisol y colesterol sostiene esta hipótesis. No hemos encontrado otro trabajo en caninos que fundamente dicho efecto, aunque en otras especies (humanos, rumiantes) se demostró que las concentraciones de leptina (hormona peptídica secretada principalmente por el tejido adiposo) son mayores en hembras que en machos y esto se asoció con una distribución diferencial de la grasa acorde al sexo (Woods y col., 2003; Ishioka y col., 2007).

En el mismo sentido, las concentraciones de insulina fueron mayores en las hembras a las 3 horas post-ingesta y no tenemos una explicación evidente para este hallazgo. En ovejas se encontró que los niveles de insulina aumentaban alrededor

del estro asociados a los altos niveles de estradiol- 17 β (Sosa y col., 2006). En ratas, se ha demostrado que los estrógenos aumentan la secreción pancreática de insulina (Nadal y col., 1998; Morimoto y col., 2001), por lo que podría sugerirse una posible influencia de los estrógenos sobre los niveles de insulina en las perras del presente trabajo, aunque con nuestros datos no disponemos de elementos para demostrarlo.

CONCLUSIÓN

Resumiendo, en este estudio se demostró que en perros adultos sanos determinados parámetros metabólicos varían de acuerdo al sexo y a la hora de muestreo tras la ingesta. Los hallazgos son consistentes en señalar que de existir diferencias acorde al género, las hembras presentan mayores concentraciones de hormonas y metabolitos en general. Estos resultados deberían tenerse en cuenta a la hora de elegir un protocolo de muestreo adecuado para determinar algunos parámetros sanguíneos que puedan estar influenciados por dichos factores. Dado que en el presente estudio se observaron fluctuaciones post-ingesta, se sugiere que en la medida de lo posible, dicho muestreo se realice en ayunas o lejos de la comida.

Referencias Bibliográficas

- Bertolucci, C.; Fazio, F.; Piccione, G.** (2008). Daily Rhythms of Serum Lipids in Dogs: Influences of Lighting and Fasting Cycles. *Comparative Medicine*. 58 (5): 485–489.
- Brambillasca, S.; Purtscher, F.; Britos, A.; Repetto, J.L.; Cajarville, C.** (2010). Digestibility, fecal characteristics, and plasma glucose and urea in dogs fed a commercial dog food once or three times daily. *Can Vet J*. 51(2):190-4.
- Hoh, W.; Oh, T.** (2006). Circadian variations of serum thyroxine, free thyroxine and 3,5,3' triiodothyronine concentrations in healthy dogs. *J. Vet. Sci.* 7(1): 25–29.
- Ishioka, K.; Hosoya, K.; Kitagawa, H.; Shibata, H.; Honjoh, T.; Kimura, K.; Saito, M.** (2007). Plasma leptin concentration in dogs: effects of body condition score, age, gender and breeds. *Res. Vet. Sci.* 82(1):11-5.
- Ishioka, K.; Hatai, H.; Komabayashi, K.; Soliman, M.M.; Shibata, H.; Honjoh, T.; Kimura, K.; Saito, M.** (2005). Diurnal variations of serum leptin in dogs: effects of fasting and feeding. *Vet. J.* 169(1):85-90.
- Farver, T.** (1997). Concepts of Normality in Clinical Biochemistry, In: Kaneko, J J.; Harvey, J W.; Bruss, M (Eds), *Clinical biochemistry of domestic animals*, 5th Ed.
- Kaspar, L.V.; Norris, W.P.** (1977). Serum chemistry values of normal dogs (beagles): associations with age, sex, and family line. *Lab. Anim. Sci.* 27(6):980-5.
- Kraft, W.; Weskamp, M.; Dietl, A.** (1994). Serum cholesterol in the dog. *Tierarztl. Prax.* 22(4):392-7.
- McCarty, M.F.** (1995). Central insulin may up-regulate thyroid activity by suppressing neuropeptide Y release in the paraventricular nucleus. *Med Hypotheses*. 45(2):193-9.
- Morimoto, S.; Cerbón, M.A.; Alvarez-Alvarez, A.; Romero-Navarro, G.; Díaz-Sánchez, V.** (2001). Insulin gene expression pattern in rat pancreas during the oestrous cycle. *Life Sci.* 68: 2979–2985.
- Nadal, A.; Rovira, J.M.; Ouahiba, L.; Leon-Quinto, T.; Andreu, E.; Ripoll, C.; Soria, B.** (1998). Rapid insulinotropic effect of 17 β - estradiol via a plasma membrane receptor. *FASEB J.* 12: 1341–1348.
- Nguyen, P.; Dumon, H.; Biourge, V.; Pouteau, E.** (1998) Measurement of postprandial incremental glucose and insulin changes in healthy dogs: influence of food adaptation and length of time of blood sampling. *J. Nutr.* 128 (12):2659S -2662S.
- Nguyen, P.; Dumon, H.; Biourge, V.; Pouteau, E.** (1998). Glycemic and insulinemic responses after ingestion of commercial foods in healthy dogs: influence of food composition. *J. Nutr.* 128(12):2654S -2658S.
- Pessina, P.; Fernández-Foren, A.; Cueto, E.; Delucchi, L.; Castillo, V.; Meikle, A.** (2009). Cortisol secretion after adrenocorticotrophin (ACTH) and dexamethasone tests in healthy female and male dogs. *Acta Vet Scand* 17;51:33.
- Popovic, V.; Duntas, L.H.** (2005). Leptin TRH and ghrelin: influence on energy homeostasis at rest and during exercise. *Horm Metab Res* 37(9): 533-7.
- Reimers, T.J.; Lawler, D.F.; Sutaria, P.M.; Correa, M.T.; Erb, H.N.** (1990). Effects of age, sex, and body size on serum concentrations of thyroid and adrenocortical hormones in dogs. *Am J Vet Res.* 51:454-457.
- Sosa, C.; Abecia, J.A.; Forcada, F.; Viñoles, C.; Tasende, C.; Valares, J.A.; Martín, G.B.; Meikle, A.** (2006). Effect of undernutrition on endometrial gene expression of progesterone and oestrogen receptors and on endocrine profiles during the ovine oestrous cycle. *Reproduction, Fertility and Development* 18: 447-458.
- Treiber, K.H.; Boston, R.C.; Kronfeld, D.S.; Staniar, W.B.; Harris, P.A.** (2005). Insulin resistance and compensation in Thoroughbred weanlings adapted to high-glycemic meals. *J. Anim. Sci.* 83:2357-2364.
- Wolever, T.M.; Chiasson, J.L.; Csimas, A.; Hunt, J.A.; Palmason, C.; Ross, S.A.; Ryan, E.A.** (1998). Variation of postprandial plasma glucose, palatability, and symptoms associated with a standardized mixed test meal versus 75 g oral glucose. *Diabetes Care.* 21(3):336 - 40.
- Woods, S.C.; Gottoh, K.; Clegg, D.J.** (2003). Gender difference in the control of energy homeostasis. *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 228(10):1175-80.

Intoxicación por *Wedelia glauca* en bovinos en Uruguay

Rivero, R.¹; Adrien, M.L.²; Matto, C.¹; Novoa, F.³; Uriarte, G.⁴; Charbonier, D.³

RESUMEN

Se describe un foco de intoxicación espontánea por *Wedelia glauca* en bovinos, registrándose muertes agudas en vacas de segunda parición, en el Departamento de Soriano. De un lote de 130 vacas preñadas, enfermaron y murieron en forma aguda 23 animales (morbilidad 17,6%, mortalidad 17,6% y letalidad 100%). Las alteraciones macroscópicas más destacadas en las necropsias practicadas se observaron a nivel de hígado con aumento de tamaño, congestión y patrón acinar acentuado. En la vesícula biliar edema y engrosamiento de sus paredes. En el intestino delgado y grueso se observaron áreas congestivas e hemorrágicas. Al examen histopatológico el hígado presentaba severa necrosis centroacinar difusa con hemorragias e infiltración grasa predominantemente periportal. A nivel renal se observó degeneración y necrosis tubular y en intestino severa enteritis con infiltrado inflamatorio mononuclear. Se administró experimentalmente 2 y 5 gr de las partes aéreas de *Wedelia glauca* planta seca por kg de peso vivo a dos terneros, resultando tóxica a la dosis de 5 gr de MS/kg de pv. Los hallazgos macroscópicos y microscópicos se correspondieron con los encontrados en los animales afectados espontáneamente, comprobando la toxicidad de dicha planta. *Wedelia glauca* es considerada plaga en Argentina siendo la principal planta tóxica de la Pampa húmeda que ocasiona más muertes en bovinos, de ahí su importancia en la identificación y el control de la misma en Uruguay.

Palabras clave: *Wedelia glauca*, bovino, planta hepatotóxica, necrosis centrolobulillar

SUMMARY

An outbreak of spontaneous intoxication by *Wedelia glauca* in bovine, with sudden deaths in cows in the county of Soriano is reported. Of 130 pregnant cows 23 animals were affected (morbidity 17,6%, mortality 17,6% and lethality 100%). The most important macroscopic findings were swollen liver, congestion and mottled appearance with red areas intercalated with yellow areas. Gallbladder had oedema and enlarged wall. Small and large intestine with congestion or hemorrhagic areas. Histopathological examinations of the liver showed severe periacinar hemorrhagic necrosis and periportal fatty infiltration, whereas kidney had tubular degeneration and necrosis. Intestine had severe enteritis with mononuclear cell infiltration. Aerial parts of dried *Wedelia glauca* were administered at dose of 2 and 5 gr of DM/kg of body weight to two calves, being toxic at dose of 5 gr of DM/kg of bw. Macroscopic and microscopic lesions of this animal were similar to those observed in the cows affected spontaneously, confirming the toxicity of this plant. *W. glauca* is considered plague in Argentina, being the main toxic plant of Pampa Húmeda region and causes largest number of deaths in cattle. For this reason, it is important to identify and control the plant in Uruguay.

Key words: *Wedelia glauca*, bovine, hepatotoxic plant, centrolobular necrosis

INTRODUCCIÓN

Wedelia glauca (Asteraceae), también conocida como «yuyo sapo», «sunchillo», «clavel amarillo», «flor de sapo», entre otros, está descrita como tóxica para bovinos, ovinos, suinos, equinos y caprinos (Morán y Kosik, 1965; Riet-Correa, 1978; De Diego y Solla, 1991; López y col., 1991; Collazo y Riet-Correa, 1996; Rodríguez Armesto y col., 2003). Es una maleza originaria de las zonas subtropicales de América del Sur, invasora de cultivos como maíz, papa, girasol, algodón, alfalfa, montes frutales; además de jardines, parques, orillas de

caminos, baldíos y potreros (Marzocca, 1979). Se encuentra en la región centro y norte de Argentina, sur de Brasil y Uruguay (Gallo, 1987).

Es una planta perenne, de 30 cm a 1 m de altura, con rizomas horizontales largos y tallos erectos, simples o poco ramificados, estriados; hojas opuestas, de ápice agudo, enteras, paucidentadas o con 2 ó 3 dientes basales y peciolo corto (Marzocca, 1979). Tiene flores dispuestas en capítulos terminales, amarillos y pocas por planta (Figura 1). Se propaga por semillas y rizomas; vegeta a fines del invierno, flore-

ce en verano y fructifica en otoño; en los meses restantes vive solo la parte subterránea de la planta, creciendo en forma de manchones en las zonas altas de los potreros (INTA, 2007). Es una de las plantas tóxicas más importantes de la Argentina. En los registros del Servicio de diagnóstico del INTA Balcarce es la planta que produce mayores casos de mortalidad en la pampa húmeda, donde se encuentra ampliamente distribuida (Odrizola, 2003). En Uruguay no se han reportado casos de intoxicación por esta planta en bovinos, existiendo solo un re-

¹DILAVE "Miguel C. Rubino", Laboratorio Regional Noroeste C.C. N° 57037, Paysandú-Uruguay, C.P. 60.000. Correo electrónico: rrivero@mgap.gub.uy.

²Facultad de Veterinaria, Estación Experimental "Dr. Mario A. Cassinoni", Paysandú.

³Departamento Técnico CADOL, Dolores, Uruguay.

⁴Sección Patología Clínica Laboratorio Central "Miguel C. Rubino", Montevideo, Uruguay.

Recibido: 15/310 Aprobado: 4/10/10



Figura 1. *Wedelia glauca* en estado de floración (verano).

gistro de un foco de intoxicación colectiva en suinos (Riet-Correa, 1978).

Su principio activo es un diterpenoide denominado Atractilósido, el cual tiene acción hepatotóxica. Tiene una estructura muy similar a los carboxiatractilósidos que contiene el *Cestrum parqui* (duraznillo negro) (Riet-Correa y col., 2009). Este principio activo actúa inhibiendo la fosforilación oxidativa a nivel de las mitocondrias, provocando una necrosis hepática centro-lobulillar (Scheingart y Pomilio, 1984).

Según algunos autores los rumiantes y suinos no consumen la planta voluntariamente cuando hay disponibilidad de forraje (Morán y Kosik, 1965; Platanow y López, 1978; Collazo y Riet-Correa, 1996). Los cuadros de intoxicación se presentan en animales jóvenes o que fueron transportados y desconocen la misma o en situaciones de escasez forrajera (Morán y Kosik, 1965; Platanow y López, 1978). En cambio en cerdos la planta es consumida voluntariamente en otoño cuando la misma está en estado de fructificación, produciéndose casos espontáneos de intoxicación (Morán y Kosik, 1965). Odriozola (2003) menciona que *W. glauca* cuando se encuentra en estado de floración es consumida por bovinos de cualquier edad aún con buena disponibilidad de forraje.

La distribución de presentación de los focos en la provincia de Buenos Aires registra dos épocas principales de mortandad, una en setiembre-octubre cuando la planta se encuentra en estado de rebrote y otra mayor en marzo-abril, cuando se encuentra en estado de floración-fructificación (Odriozola, 2003). También puede verse asociado al consumo de heno, ya que la planta conserva su toxicidad tras el secado (Platanow y López, 1978). Existen descripciones de varios focos de intoxicación por esta planta en Argentina en la que se encontraba presente en fardos de *Medicago sativa* (Alfalfa) y de *Setaria italica* (Moha) (Rodríguez Armes-to y col., 2003).

Entre las 2 a 46 h luego del consumo se presenta un cuadro de intoxicación aguda. Los signos clínicos se caracterizan por depresión, anorexia, constipación, temblores musculares, timpanismo, decúbito, opistótonos, nistagmo, movimientos de pedaleo y muerte. Pero en general a nivel de campo se encuentra a los animales muertos sin observarse signos previos (De Diego y Solla, 1991; Collazo y Riet-Correa, 1996).

Las lesiones macroscópicas más destacadas se localizan en hígado donde se observa aumento de tamaño, congestión y acentuación del patrón acinar con áreas rojas intercaladas con áreas amarillentas,

de aspecto semejante al que ocurre en el hígado de nuez moscada observado en la insuficiencia cardíaca. Histológicamente el hígado presenta necrosis periacinar hemorrágica, dilatación de los sinusoides, proliferación de células de Kupffer, hepatocitos del área periportal y de la región intermedia con degeneración vacuolar del citoplasma (Morán y Kosik, 1965; Collazo y Riet-Correa, 1996; Rodríguez Armes-to y col., 2003; INTA, 2007).

El objetivo de este trabajo es describir un reciente caso de intoxicación espontánea por *W. glauca* en bovinos, así como la comprobación experimental de la toxicidad de la planta en bovinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del foco

Los datos epidemiológicos, clínicos y patológicos fueron obtenidos en la visita realizada al establecimiento.

En el mes de junio de 2009 el Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE fue consultado por un foco de muertes agudas en bovinos en el departamento de Soriano (5^{ta} seccional policial). Se trataba de un predio agrícola-ganadero con mayor énfasis en agricultura, que contaba con tres potreros de rastrojo de sorgo granífero recientemente cosechado de 38, 40 y 16 ha respectivamente, en los cuales se introdujeron animales para su pastoreo. Las muertes ocurrieron en solo uno de ellos de 38 ha de superficie, donde se detectó la presencia de una maleza verde en estado de fructificación con una altura de 30 a 50 cm.

En el potrero donde se presentaron las muertes, se encontraba un lote de 130 vacas preñadas de segunda parición, de las cuales enfermaron en forma aguda y murieron 23 animales con una morbilidad de 17,6%, mortalidad de 17,6% y letalidad del 100%. Los animales habían sido introducidos desde hacía 2 días. Durante este período los mismos no fueron vigilados. Al concurrir al potrero se encontraron varios animales muertos y otros en decúbito lateral, con convulsiones, pedaleo y depresión. Solo uno de los animales presentó signos de agresividad con intentos de pararse. Todos los bovinos afectados murieron posteriormente en pocas horas (Figura 2), siendo el resto retirados inmediatamente de ese potrero.



Figura 2. Animales muertos por consumo de *Wedelia glauca* en el foco.

Reconocimiento, recolección y procesamiento de la planta

El potrero problema (rastrojo de sorgo granífero) donde ocurrieron las muertes, se encontraba invadido por una planta verde, la cual fue enviada para su tipificación a la Cátedra de Botánica de la Facultad de Agronomía (Universidad de la República).

Plantas de *W. glauca* en su porción aérea de dicho potrero fueron colectadas a los efectos experimentales en el mes de junio de 2009. Se trasladaron al Laboratorio de Análisis Primario de Muestras Vegetales de la Estación Experimental «Mario A. Cassinoni» de la Facultad de Agronomía. Las mismas fueron depositadas en bolsas de material arpillera y colocadas en estufa de secado, a una temperatura de 60 °C durante el tiempo necesario para su total secado (48 h). Tras la desecación se procedió a realizar la molienda de las plan-

tas en molino mecánico Standard, con malla de poros de 1 mm de diámetro. La planta molida fue fraccionada en partes equivalentes a las dosis a suministrar en el experimento en bolsas individuales de material polietileno.

Para determinar el porcentaje de materia seca se tomaron muestras al azar de planta verde que fueron pesadas en balanza electrónica, embolsadas en envase de papel y colocada a secar en estufa a 60 °C. Una vez completado el proceso de secado se pesaron las muestras nuevamente y se realizaron los cálculos correspondientes.

Experimento

Se seleccionaron 3 terneros machos castrados de 4 meses de edad de raza Holando, con un rango de 90 a 100 kg de peso vivo, clínicamente sanos, identificados mediante caravanas numeradas, pesados

en balanza y desparasitados con Ivermectina al 1%. Los animales fueron sometidos a un examen clínico pormenorizado previo, y luego durante el experimento se realizaron controles diarios evaluando el comportamiento general, la frecuencia cardíaca y respiratoria, temperatura rectal, movimientos ruminales y grandes funciones. Fueron colocados en un potrero libre de malezas, con buena disponibilidad de forraje natural y agua.

Las dosificaciones de la planta se realizaron en dosis única mediante sonda oro esofágica de material polietileno, de 19 mm de diámetro, utilizando como lubricante interno vaselina sólida.

Dos de los animales, caravanas N°5885 de 97,5 kg de pv y N°5883 de 97,2 kg de pv recibieron 2 y 5 gr de parte aérea de planta seca/kg de pv de *W. glauca*, respectivamente. Como animal testigo se utilizó un ternero identificado con el N°5896 de 94,5 kg de pv que no recibió tratamiento (Cuadro 1).

Se realizaron extracciones de sangre diarias sin anticoagulante a todos los animales, con el fin de determinar los niveles séricos de aspartato amino transferasa (ASAT) y gamma glutamil transferasa (GGT). Las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos y el suero obtenido de las mismas fue enviado a la Sección de Patología Clínica del Laboratorio Central, División de Laboratorios Veterinarios «Miguel C. Rubino» (DILAVE), donde fueron procesados por la técnica de espectrofotometría, utilizando un auto analizador Vitalb selecta 2.

Se realizó la necropsia del animal que resultó muerto como consecuencia de la intoxicación experimental en las instala-

Cuadro 1. Intoxicación experimental por *Wedelia glauca* en bovinos. Animales utilizados, peso, dosis administradas y signos clínicos observados.

Animal	Peso inicial animal (kg)	Dosis de planta seca (g MS/kg de pv)	Estado de la planta	Signos clínicos		Evolución
				Horas de inicio	Duración	
5896 (control)	94,5	0	-	-	-	-
5885	97,5	2,0	En frutificación	-	-	Sin signos
5883	97,2	5,0	En frutificación	10	2	Muerte

ciones del Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE. Muestras de tejido extraídos para estudios histopatológicos, tanto de las necropsias practicadas a nivel de campo, como de la reproducción experimental fueron fijadas en formol bufferado al 10%, embebidas en parafina, cortadas en secciones de 5 micras de espesor y teñidas con hematoxilina y eosina.

RESULTADOS

Descripción del foco y reconocimiento de la planta

La planta colectada fue tipificada por la Dra. Gabriela Speroni de la Cátedra de Botánica (Facultad de Agronomía) como *Wedelia glauca* (Ortega) O.Hoffm. ex Hicken. Se encontraba distribuida en todo el potrero, principalmente en la parte más alta del mismo y en forma de manchones (Figura 3). No se detectaron otras plantas tóxicas, siendo la única que invadía el rastrojo mencionado. Según el propietario del establecimiento, *W. glauca* se encuentra en el predio desde hace varios años, principalmente en bordes de chacras, contra los alambrados.

En el establecimiento existían antecedentes de muertes agudas de origen hepato-

tóxico, caracterizadas por necrosis periacinar que eran atribuidas a *Cestrum parqui* (duraznillo negro), estableciendo por parte del propietario un control de esta maleza.

En la recorrida de los otros dos potreros de rastrojo de sorgo existentes, linderos al potrero problema, no se encontró la presencia de *W. glauca*, existiendo además animales pastoreando en los mismos sin alteraciones clínicas.

En el potrero donde ocurrieron las muertes existió previamente un monte de *Celtis tala* (Tala) donde se encontraban plantas de *W. glauca*, que fue removido a principios del año 2008, posteriormente se realizó laboreo convencional, donde se implantó un trigo forrajero y luego sorgo granífero cosechado en junio de 2009.

Las alteraciones macroscópicas más destacadas en las tres necropsias practicadas se observaron a nivel de hígado con aumento de tamaño, congestión y patrón acinar acentuado con áreas rojas intercaladas con áreas amarillas (Figura 4). En la vesícula biliar había edema y engrosamiento de sus paredes y en intestino delgado y grueso áreas congestivas o hemorrágicas. Los riñones presentaban coloración

pálida. Al examen histopatológico las principales lesiones se destacan en hígado presentando una severa necrosis centroacinar difusa con hemorragias e infiltración grasa a predominio periportal y necrosis tubular en los riñones. En intestino había severa enteritis con infiltrado inflamatorio mononuclear.

El porcentaje de materia seca de las muestras procesadas para el desarrollo experimental, fue de 26,4% para la porción aérea de la planta.

Reproducción experimental

El animal N°5885 dosificado con 2 gr de MS de la parte aérea de *W. glauca*/kg de pv, no presentó signos clínicos. El ternero N°5883 que recibió una dosis de 5 gr de MS de porción aérea de la planta/kg de pv murió a las 12 horas de suministrada la misma (Cuadro 1). Los signos clínicos observados fueron: depresión, anorexia, temblores, decúbito, movimientos de pedaleo y muerte.

Los hallazgos macroscópicos observados en la necropsia se encontraban principalmente en el hígado, caracterizándose por presentación de patrón acinar con congestión y leve aumento de tamaño del mismo. También se observaron congestión pulmonar, corazón con petequias a nivel de epicardio, riñones con áreas hemorrágicas, abomaso e intestino delgado con congestión de mucosa y encéfalo con leve congestión de las meninges craneanas.

Las principales alteraciones histopatológicas se observaron a nivel de hígado con necrosis centrolobulillar hemorrágica difusa. A nivel de zona intermedia y periportal, los núcleos presentaban picnosis,



Figura 3. Presencia de plantas de *Wedelia glauca* en rastrojo de sorgo del potrero problema (junio, 2009).

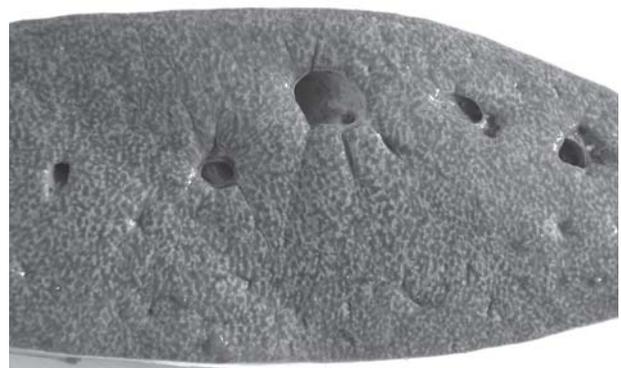


Figura 4. Hígado de un bovino muerto a causa de la intoxicación espontánea por *Wedelia glauca*. Acentuación del patrón acinar con áreas rojas (oscuras) intercaladas con áreas amarillas (claras).

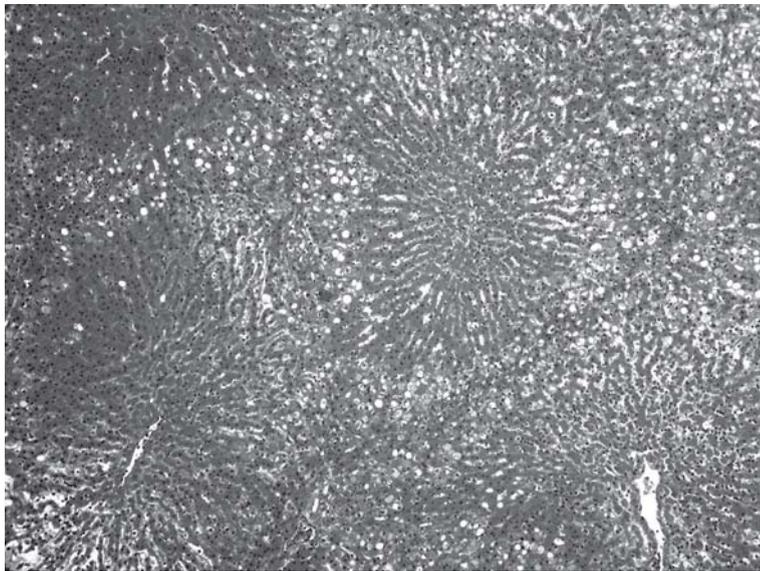


Figura 5. Hígado de ternero N° 5883. Reproducción experimental por *Wedelia glauca*. Necrosis centrolobulillar hemorrágica difusa. H.E. 250X.

cariorexix o cariólisis y moderada vacuolización del citoplasma de los hepatocitos (Figura 5). En los pulmones había moderada congestión y edema y en el sistema nervioso central discreta vacuolización de la sustancia blanca. En el intestino delgado se observaba enteritis catarral moderada y abomaso con edema de mucosa y discreto infiltrado inflamatorio. En riñones se constató congestión, edema, moderada degeneración y necrosis tubular. La concentración de ASAT para el animal N°5885 sufrió un aumento en las primeras 24 h sobre los valores de referencia

(40-90 U/L) para luego mantenerse dentro de los rangos normales (Figura 6). La concentración de GGT prácticamente no sufrió una variación significativa (Figura 7). Debido a la muerte en forma aguda dentro de las primeras 12 hs del animal N°5883 dosificado con 5 g de MS de parte aérea de planta seca/kg de pv, no se pudo obtener muestras de sangre para determinar la concentración de ASAT y GGT post-dosificación. La concentración de ASAT y GGT para el animal testigo estuvo dentro de los rangos normales (Figuras 6 y 7).

DISCUSIÓN

La reproducción experimental de la enfermedad por la administración de *W. glauca* en bovinos demostró que el foco de campo fue causado por la ingestión de dicha planta, comportándose como tóxica a la dosis de 5 g de las partes aéreas de planta seca/kg de pv. Teniendo en cuenta el porcentaje de materia seca de la planta entera (26,4 % MS), correspondería a 19 g de partes aéreas de planta verde/kg de pv. Las dosis tóxicas determinadas experimentalmente por diferentes autores se encuentran entre 5 a 10 g/kg de pv de planta verde en ovinos y bovinos (Collazo y Riet-Correa, 1996), 4 a 10 g de hoja verde/kg de pv en bovinos (INTA, 2007) y 4 g de hoja verde/kg de pv en bovinos (Odriozola, 2003). Collazo y Riet-Correa (1996) no encontraron diferencias en las dosis necesarias para producir la enfermedad entre los meses de noviembre y marzo, indicando que no habría variación de toxicidad de la planta durante su ciclo vegetativo. Según Odriozola (Comunicación personal, 2010) tampoco habría cambios en la toxicidad según el ciclo vegetativo de la planta y las intoxicaciones en las diferentes épocas ocurrirían por una variación en la palatabilidad. Por el contrario Giusti (1934) menciona que la toxicidad de *W. glauca* varía con la época del año. De acuerdo a Odriozola (Comunicación personal, 2010), existiría una variación de toxicidad de acuerdo a las diferentes zonas geográficas de Argentina, ya que experimentos realizados por dicho in-



Figura 6. Concentración de la enzima aspartato amino transferasa (ASAT) durante el periodo experimental. Día 0= dosificación. Animal N° 5885 dosificado con 2 g de MS/kg de pv, de partes aéreas de planta de *Wedelia glauca* y animal N° 5896 control. Valores de referencia normales: (40-90 U/L).

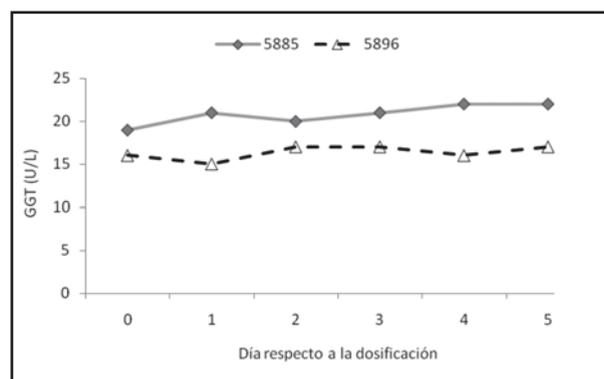


Figura 7. Concentración de la enzima gamma glutamil transferasa (GGT) durante el periodo experimental. Día 0= dosificación. Animal N° 5885 dosificado con 2 g de MS/kg de pv, de partes aéreas de *Wedelia glauca* y animal N° 5896 control. Valores de referencia normales: (4-20 U/L).

investigador no lograron reproducir la intoxicación con plantas de *W. glauca* de determinada región, en dosis única por sonda oro-esofágica a 4 g de MS/kg de pv. Por otra parte Giusti (1930) no consiguió reproducir la intoxicación administrando diariamente 2 a 12 g de planta verde a bovinos y 3 a 6 kg a ovinos por periodos de 6 a 20 días, siendo que la planta fue consumida espontáneamente en este experimento. Collazo y Riet-Correa (1996) en sus ensayos sugieren que la intoxicación por *W. glauca* ocurre solamente cuando la dosis tóxica es ingerida en un corto periodo de tiempo de pocas horas; en correspondencia a lo sucedido en el brote registrado, ya que los animales enfermaron y murieron en las primeras 48 horas, siendo posteriormente retirados del potrero en cuestión.

Son factores también a tomar en cuenta en el desarrollo de la intoxicación, el posible desconocimiento de la planta por parte de los animales y la introducción de los mismos inmediatamente a la cosecha del sorgo, con una alta carga instantánea de 3,42 animales/ha, siendo *W. glauca* la única fuente de forraje verde disponible, permitiendo el alto consumo de la planta.

Es importante destacar que el foco diagnosticado sucedió en invierno, en el mes de Junio, época donde de acuerdo a la bibliografía la parte aérea de la planta desaparece y no se registran brotes (INTA, 2007; Odriozola, 2003). La posible explicación de la presencia de la planta en dicha época, con una altura de entre 30 a 50 cm y en estado de fructificación estaría dada por la cobertura y protección que le proporcionaban las plantas de sorgo granífero antes de su cosecha.

No existe un marco de hipótesis claro de la razón de la difusión de *W. glauca* en un solo potrero. La posible causa de la dispersión de la planta en dicho potrero podría estar asociada a la remoción del monte de *Celtis tala* donde había *W. glauca*, y posterior distribución a través del

laboreo convencional. La dispersión a través de semillas, tanto cerealeras como forrajeras, no se puede descartar, y debería tenerse en cuenta en el futuro, aunque en este caso la semilla de sorgo granífero sembrada en los tres potreros tenía un mismo origen y solo en uno de ellos se desarrolló la planta, donde ya se había constatado la presencia de la misma previamente a la siembra del cereal mencionado.

Los signos clínicos y hallazgos patológicos fueron característicos de un cuadro hepatotóxico agudo con necrosis periacinar. Estos hallazgos fueron similares tanto en los casos clínicos espontáneos y en la reproducción experimental, como a los reportados en la bibliografía para los bovinos, ovinos y cerdos (Morán y Kosik, 1965; Platanow y Lopez, 1978; Riet-Correa, 1978; De Diego y Solla, 1991; Lopez y col., 1991; Collazo y Riet-Correa, 1996; Odriozola, 2003; Rodríguez Armesto y col., 2003).

El animal N° 5885 que recibió la dosis 2 g de MS de partes aéreas de planta/kg de pv no presentó signos clínicos pero tuvo un aumento moderado de la enzima ASAT en las primeras 48 h, revelando una lesión hepatocítica de acuerdo con lo reportado por Collazo y Riet-Correa (1996). Los niveles de GGT no presentaron incrementos por encima del rango normal.

El principio activo de *W. glauca*, es un diterpenoide denominado Atractilósido que forma parte de los carboxiatractilósidos. Compuestos similares también se encuentran en las plantas de *Cestrum parqui* (duraznillo negro) y *Xanthium cavanillesii* (abrojo grande), (Riet-Correa y col, 2009). Existen otras plantas que producen necrosis hepática centrolobulillar como *Cestrum parqui*, *Xanthium cavanillesii*, *Cycas revoluta* y *Sesaea vesitioides*. La larva *Perreyia flavipes* también produce necrosis periacinar siendo su principio activo un heptapéptido deno-

minado pergidin. Ninguna de las plantas mencionadas, ni la larva *Perreyia flavipes* se encontraban en el potrero problema.

Como se mencionó anteriormente la maleza *W. glauca* es una planta perenne, muy invasiva lo que es de tener en cuenta para el control de la diseminación de la misma (Marzocca, 1979; INTA, 2007). Está ampliamente difundida en Argentina y es declarada plaga de la agricultura en ese País, por decreto desde el año 1932 (INTA, 2007). Existen en la bibliografía algunas alternativas para el control químico de esta maleza. Además de medios mecánicos, como extracción manual o laboreo, se recomienda la sal dimetilamina del ácido 2,4-dichlorofenoxiacético (2,4-D) como herbicida, combinado con labranzas adecuadas, a dosis de 2 L/ha (Burkart, 1974). También se puede utilizar el Glifosato que se recomienda a diferentes dosis según el estado de la misma, aunque *W. glauca* posee cierta tolerancia a este herbicida (Dow AgroScience, 2010). Las dosis de glifosato recomendadas son, a 2 L/ha (plantas de semilla de hasta 12 cm de altura), 2.5 L/ha (plantas de más de 15 cm de altura), 3.5 L/ha (rebrotos a partir de rizomas, con más de 4 hojas), 4.5 L/ha (plantas en floración) y 5.5 L/ha (plantas de más de 50 cm de altura), (Monsanto Argentina S.A.I.C, 2009). Debido a la tolerancia innata de *W. glauca* al Glifosato (especies que naturalmente toleran ciertas dosis comerciales de glifosato), es indicado el ester 1-metilheptil del ácido fluroxypyr, herbicida sistémico de acción hormonal a dosis de 300 a 450 cm³/ha para el control de la misma (Starane*Xtra®), (Dow AgroScience, 2010).

Un aspecto importante a tener en cuenta es el reconocimiento de *W. glauca* por parte de técnicos y productores, ya que existen otras plantas tóxicas que presentan un cuadro clínico y patológico similar a ésta lo que podría llevar a confundir focos si no es reconocida correctamente.

Referencias Bibliográficas

1. **Burkart, A.** (1974). Flora ilustrada de Entre Ríos. Buenos Aires, Ed. INTA, 627 p.
2. **Collazo, L.; Riet-Correa, F.** (1996). Experimental intoxication of sheep and cattle with *Wedelia glauca*. *Vet Human Toxicol.* 38:200-203.
3. **De Diego, L.G.; Solla, D.** (1991). *Wedelia glauca* (sunchillo), comunicación de un caso de intoxicación en bovinos. *Veterinaria (Argentina).* 7:50-51.
4. **Gallo, G.** (1987). Plantas tóxicas para el ganado en el cono sur de América, 2a. ed., Buenos Aires, Ed. Hemisferio Sur, 216 p.
5. **Giusti, L.** (1930). Experiencias sobre la toxicidad de la *Wedelia glauca* (Ortega). *Rev. Med. Vet. Argentina.*, 12 (5):179-201.
6. **Giusti, L.** (1934). Experiencias sobre la acción fisiológica de la *Wedelia glauca* y del *Astragalus bergii*. *Rev. Agr. Argentina.*, T1 (3): 223-228.
7. **INTA** (2007). Plantas hepatotóxicas agudas *Wedelia glauca*. Noticias y comentarios N°418. 3 p.
8. **López, T.A.; Odriozola, E.R.; Eyherabide, J.J.** (1991). Toxicidad vegetal para el ganado. Patología, prevención y control. Cerbas-INTA, Estación experimental Agropecuaria Balcarce. pp: 46-47.
9. **Monsanto Argentina S.A.I.C.** (2009) Manual de uso de Roundup full II. Buenos Aires. Argentina.
10. **Marzocca, A.** (1979). Manual de Malezas. Buenos Aires, Ed. Hemisferio Sur, 564 p.
11. **Morán, B.L.; Kosik, C.V.** (1965). Intoxicación en cerdos por «*Wedelia glauca*» (Ortega). *Rev. Fac. C. Vet. La Plata,* 16:115-119.
12. **Odriozola, E.** (2003). Intoxicaciones de frecuente diagnóstico en la Pampa húmeda Argentina. XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría. Paysandú. pp: 19-25.
13. **Platanow, N.S.; Lopez, T.A.** (1978). *Wedelia glauca*. Estudios sobre su toxicidad. *Producción Animal (Argentina)* 6:620-625.
14. **Riet-Correa, F.** (1978). Enfermedades de los suinos diagnosticadas por el Centro de Investigaciones Veterinarias «Miguel C. Rubino» durante el período 1969-1976. *Veterinaria (Montevideo) Supl. N°2:* 5-10.
15. **Riet-Correa, F; Medeiros, R; Pfister, J; Schild, A.L; Dantas, A.** (2009). Poisoning by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian livestock. Patos, Ed. Sociedade Vicente Pallotti, 246 p.
16. **Rodríguez Armesto, R.; Peralta, C.; Zimmerman, R.; Ochoteco, M.; Repetto, A; Picco, E.J.** (2003). Mortandad en bovinos atribuible a la ingestión de *Wedelia glauca*. *Veterinaria (Argentina).* 20:745-751.
17. **Schteingart, C.D.; Pomilio, A.B.** (1984). Attractyloside, toxic compound from *Wedelia glauca*. *J. Nat. Prod.* 47(6): 1046-1047.
18. **Dow AgroScience.** 2010. http://www.dowagro.com/PublishedLiterature/dh_037b/0901b8038037be79.pdf?filepath=/013-50080.pdf&fromPage=GetDoc. http://www.dowagro.com/ar/herbicidas/barbecho/malezas_tolerantes.htm . Fecha consulta: 23/01/2010.



Detección viral en cachorros con diagnóstico presuntivo de Parvovirus canino (CPV)

Puentes, R.¹; Eliopulos, N.¹; Finger, P.²; Castro, C.²; Nunes, C.²; Furtado, A.¹; Franco, G.¹; Hübner, O. S.²

RESUMEN

Dentro de las causas infecciosas más importantes de gastroenteritis hemorrágica en caninos, se puede citar a la Parvovirus causada por Parvovirus canino (CPV). Es una enfermedad presente en el Uruguay que afecta principalmente a cachorros, produciendo cuadros de diarreas que pueden llevar a la muerte de los animales en pocos días. El diagnóstico de CPV se realiza principalmente de forma clínica, aunque existen técnicas de laboratorio como la Inmunocromatografía (IC) Hemaglutinación (HA), ELISA y PCR para el diagnóstico definitivo de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue confirmar la infección en casos agudos con diagnóstico presuntivo de CPV mediante tests de IC y HA. Un total de 26 muestras fecales fueron analizadas. La IC fue capaz de detectar 15/26 (58%) y la HA detectó 16/26 (61,5%). Las posibles causas de las diferencias encontradas entre la clínica y el resultado del laboratorio pueden deberse entre otras cosas a la sensibilidad de los tests utilizados, al momento de la toma de muestra o al diagnóstico clínico equivocado. En cualquier caso, los resultados de este trabajo advierten sobre las posibles diferencias que se pueden encontrar entre la clínica y las técnicas de IC y HA, debiéndose ser cauteloso en la interpretación de resultados obtenidos para esta enfermedad.

Palabras clave: Parvovirus Canino, diagnóstico, gastroenteritis.

SUMMARY

One of the main infectious causes of hemorrhagic gastroenteritis in canines, is Parvovirus caused by Canine Parvovirus (CPV). This is a disease in Uruguay which affects mainly puppies causing diarrheas that can lead to death of animals within a few days. The main method of diagnosis is the clinical, although there are laboratory techniques such as immunochromatography (IC), hemagglutination (HA), ELISA and PCR for the final diagnosis of the disease. The aim of this work was to confirm the infection in acute cases with presumptive diagnosis of CPV through IC and HA test. A total of 26 fecal samples were analyzed. IC was able to detect 15/26 (58%) and HA detected 16/26 (61,5%). The differences found between the clinic and the laboratory results may be, among other causes, due to the sensibility of the tests used, the time of sampling or a mistaken clinical diagnosis. As it is shown in the results derived from this study, differences between the clinical diagnosis and the IC and HA techniques can be found, therefore interpretation of results should be of concern when the diagnosis of this disease is made.

Keys words: Canine Parvovirus, diagnosis, gastroenteritis.

INTRODUCCIÓN

Parvovirus canino tipo 2 (CPV-2) es el agente etiológico de la Parvovirus canina, considerada la causa más importante de enteritis viral en cachorros (Kapil y col 2007). El virus infecta el epitelio intestinal, produciendo necrosis de las criptas y atrofia de las vellosidades. Los animales afectados, cursan generalmente con un cuadro de depresión, vómitos, anorexia y diarrea (gastroenteritis mucoide a hemorrágica), que puede llevarlos a la muerte en pocos días. La enfermedad es más común en cachorros no vacunados, pudiendo producir además miocarditis no supurativa con infiltrado celular depen-

diendo de la edad al momento de la infección (Nho y col 1997, Greene, 2007).

Luego de su aparición a fines de la década del 70, CPV-2 fue reemplazado por un nuevo tipo denominado CPV-2a, el cual junto a otra mutación (CPV-2b), se extendieron por todo el mundo. Más recientemente en el año 2000 emergió el genotipo CPV-2c (Hoelzer & Parrish 2010). Estas 3 variantes virales, son las detectadas en la actualidad en casos clínicos de Parvovirus canina en todo el mundo, habiendo desaparecido de la naturaleza el genotipo CPV-2, presente en la mayoría de las vacunas comerciales actuales. En el Uruguay, si bien existen

pocas investigaciones sobre Parvovirus Canina, es una enfermedad diagnosticada clínicamente desde hace varias décadas, siendo CPV-2c la variante más encontrada en la actualidad (Perez y col 2007).

Los antecedentes epidemiológicos y la sintomatología clínica, permiten la realización de un diagnóstico presuntivo de la enfermedad en la mayoría de los casos. Sin embargo existen otras causas de gastroenteritis en perros. Por lo tanto, el diagnóstico definitivo debería ser realizado por alguna técnica disponible para la detección viral de CPV como la Hemaglutinación, Inmunocromatografía, ELISA o PCR.

¹Área de Inmunología – Dpto de Ciencias Microbiológicas, Facultad de Veterinaria - UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Correo electrónico: rpuentes@adinet.com.uy

²Faculdade de Veterinaria, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas – Rio Grande do Sul – Brasil.

Recibido: 18/6/10 Aprobado: 25/10/10

El objetivo de este trabajo fue verificar la concordancia entre el diagnóstico presuntivo de Parvovirus canino realizado por clínicos veterinarios y el diagnóstico de laboratorio realizado por tests inmunodiagnósticos (Inmunocromatografía y Hemaglutinación).

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Se colectaron muestras de materia fecal de 26 casos de gastroenteritis en caninos, con diagnóstico clínico presuntivo de Parvovirus canino y en la fase aguda de la enfermedad.

Los animales eran en su totalidad cachorros (entre 1.5 y 6 meses de edad), de distintas razas (Galgo, Rottweiler, Ovejero Alemán, Dogo, Cimarrón, Labrador, Pittbul, Caniche y distintas cruas).

Las muestras provinieron de diversas zonas de Montevideo (Pocitos, Manga, Puntas de Manga, Sayago, Parque Rodó y Buceo), siendo tres de ellas del Departamento de Treinta y Tres.

En cuanto a la sanidad de los animales muestreados, 5 eran de animales vacunados contra la *Parvovirus canina* y 21 eran de animales no vacunados.

Test de Inmunocromatografía

Para la detección de antígenos virales, se utilizó un test de Inmunocromatografía comercial disponible en el mercado, con una sensibilidad de detección del 99% (comparado con Hemaglutinación) según información del fabricante. Las muestras fueron tomadas a partir de hisopados rectales o directamente de la materia fecal fresca y procesadas siguiendo el protocolo del kit utilizado.

Test de Hemaglutinación (HA)

Por otro lado, se utilizó otra técnica de referencia para el diagnóstico de Parvovirus canino. La técnica de HA fue realizada según descripta por Senda et al. (1988). Brevemente, se hicieron diluciones de la muestra de materia fecal desde pura hasta 1/64 en buffer BABS pH 9 (1.5 M NaCl, 0.5 M H₃BO₃, 1.0 M NaOH, 0.2% BSA) y se incubó con el mismo volumen de una solución conteniendo 0.5 % de eritrocitos frescos de cerdos diluidos en buffer VAD pH 6.0 (0.15 M NaCl, 0.3 M Na₂HPO₄, 0.15 M

NaH₂PO₄). La mezcla fue incubada a 4 °C y leída luego de 30 minutos. Como cepa control positivo se utilizó la cepa Cornell (CPV-2, ATCC - VR2017) y el título viral fue expresado como la mayor dilución que produce completa hemaglutinación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de muestras procesadas, 58% (15/26) fueron positivas para CPV por Inmunocromatografía y 61.5% (16/26) positivas por Hemaglutinación, no encontrándose diferencias significativas en los resultados según la técnica utilizada.

Además, las 15 muestras positivas por IC fueron positivas por HA, concordando así los resultados de ambos métodos.

En cuanto al sexo del animal, se encontró un mayor porcentaje de hembras positivas (70%) que de machos (46%) para cualquiera de los dos métodos diagnósticos utilizados.

En cuanto a la raza no se pudo analizar si había asociación entre la raza y el resultado para CPV, ya que en el muestro habían muchas razas representadas, pero con pocas muestras de cada una.

El diagnóstico clínico de Parvovirus canino es relativamente fácil de realizar, ya que la anamnesis y los antecedentes epidemiológicos, así como la sintomatología clínica, nos permiten suponer la presencia de este patógeno. Sin embargo, las muestras negativas analizadas en este experimento sumaron un total de 42% y 38.5% para IC y HA respectivamente, lo que nos hace pensar que la técnica utilizada no fue capaz de detectar la presencia del virus o el agente causal de la gastroenteritis no era Parvovirus canino en todos los casos.

Aunque Parvovirus es el principal agente infeccioso de gastroenteritis en cachorros, otros patógenos han sido encontrado en casos de diarrea, como por ejemplo Coronavirus canino, Distemper canino, Reovirus e *Isospora canis*. Además se han encontrado casos de co-infecciones de Parvovirus junto con otros agentes patógenos (Decaro y col 2007). En este experimento no se buscaron otros patógenos para hacer el diagnóstico diferencial, ya que el objetivo central fue verificar la concordancia entre el diagnóstico clínico presuntivo y el laboratorio a través de técnicas inmunodiagnósticas.

La confirmación de la causa del cuadro clínico es importante, sea infecciosa o no, ya que el tratamiento y el pronóstico de la enfermedad pueden variar. Si bien para Parvovirus Canino, al igual que para otras virosis, el tratamiento en la actualidad sigue siendo de sostén fundamentalmente, a base de fluidoterapia, vitamínicos y antibióticos, se debería hacer un diagnóstico definitivo para predecir el pronóstico del paciente, al igual que instaurar medidas de manejo adecuadas, evitando el contagio del virus a otros animales (Greene, 2007).

Parvovirus canino es un virus que ha recobrado importancia en el mundo, debido a las nuevas variantes virales emergentes en la actualidad. En ningún país donde se ha estudiado la enfermedad recientemente, se ha podido detectar el genotipo original (CPV-2) en muestras clínicas (Hoelzer y Parrish 2010). Esto es importante ya que la mayoría de las vacunas existentes son elaboradas con CPV-2 y la inmunidad cruzada entre los distintos genotipos es discutida (Truyen 2006).

De hecho en este trabajo, 3 de las muestras positivas, eran de animales con historia de vacunación. Estos datos concuerdan con otros autores, que han encontrado CPV-2c en animales vacunados (Perez y col 2007, Calderón y col 2009). En nuestro caso no podemos discutir acerca de la eficacia de las vacunas, ya que la información sobre la vacunación del animal puede ser relativa, al igual que el estado de la vacuna a la hora de la inyección en el animal.

Sin embargo, a pesar de que algunos autores afirman que las vacunas existentes protegen contra los nuevos genotipos virales (Spibey y col 2008), diversos autores han sugerido la revisión de las vacunas utilizadas en la actualidad, teniendo en cuenta la protección relativa existente contra las nuevas variantes virales (Prattelli y col 2001, Truyen 2006, Oshima y col., 2008).

Desde el punto de vista clínico, a pesar de que 11 y 10 de las muestras analizadas fueron negativas por IC y HA respectivamente, no podemos afirmar que el diagnóstico clínico fue equivocado ya que las técnicas disponibles actualmente no son capaces de detectar todos los casos positivos de CPV. El momento para la toma de la muestra es importante, debiéndose

considerar que la excreción viral ocurre principalmente en los primeros 8 y 12 días pos infección. Luego de ese período es probable que no se pueda detectar el virus (Decaro y col 2005). Las muestras analizadas en este experimento fueron tomadas en la fase aguda de la infección, lo que supone que deberían estar excretando el virus. Investigaciones previas, analizando 89 muestras de gastroenteritis, han logrado detectar CPV por Inmuno cromatografía y Hemaglutinación en el 46% y 56% respectivamente, mientras que por Real Time PCR se detectó en el 82% de los casos (Desario y col 2005). Estos resultados son similares a los hallados en nuestro trabajo. Una posible hipótesis que podría explicar la menor sensibilidad encontrada en la IC y HA con relación a las de detección de DNA viral (ej. PCR), se refiere al hecho de que los anticuerpos a nivel de mucosas logra-

rían neutralizar al virus, impidiendo la detección de antígenos virales por estos dos métodos (Desario y col 2005).

Por lo tanto, si bien la Real Time PCR es una técnica más sensible y capaz de reducir las posibles muestras falsas negativas, en este trabajo utilizamos técnicas más accesibles y de uso frecuente, por el hecho de que son herramientas sencillas, rápidas y de costo relativamente bajo, pudiendo ser realizadas por clínicos veterinarios.

Los resultados de este trabajo, plantean la discusión acerca de la utilidad de las técnicas Inmuno cromatografía y/o Hemaglutinación, para el diagnóstico de la Parvovirus canina. Por un lado, es probable que en algunos de los animales diagnosticados clínicamente la causa de gastroenteritis hemorrágica no fuera CPV. Por otro lado, si bien no se utilizó una

técnica más sensible para minimizar los posibles falsos negativos, existen casos clínicos de CPV que no son detectados por IC y/o HA (Desario y col 2005), lo que se traduce en una alerta para los veterinarios frente a un resultado negativo por cualquiera de los métodos inmuno diagnósticos utilizado en este experimento (IC o HA).

Agradecimientos

Al Dr. Mario Quintero y a su equipo de «Veterinario en Casa» (Puntas de Manga), Dr. Gustavo Fernández (Veterinaria «Don Bicho» – Treinta y Tres), Dr. Santiago Camacho (Veterinaria «San Roque» - Sayago), Dr. Arturo Juambeltz (Veterinaria «Pets» - Pocitos) y al Hospital de la Facultad de Veterinaria (UdeLaR) por colaboraren con el envío de muestras de casos clínicos.

Referencias Bibliográficas

- Calderón, M.; Mattiona, N.; Bucafuscob, D.; Fogel, F.; Remorinid, P.; La Torre, J. (2009). Molecular characterization of canine parvovirus strains in Argentina: Detection of the pathogenic variant CPV2c in vaccinated dogs. *Journal of Virological Methods* 159. 141–145.
- Decaro, N.; Desario, C.; Campolo, M.; Elia, G.; Martella, V.; Ricci, D.; Lorusso, E.; Buonavoglia, C. (2005). Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *J Vet Diagn Invest* 17: 133–138.
- Decaro, N.; Desario, C.; Elia, G.; Campolo, M.; Lorusso, A.; Mari, V.; Martella, V.; Buonavoglia, C. (2007). Occurrence of severe gastroenteritis in pups after *Canine parvovirus*. Vaccine administration: A clinical and laboratory diagnostic dilemma. *Vaccine*, 25:1161–1166.
- Desario, C.; Decaro, N.; Campolo, M.; Cavalli, A.; Cirone, F.; Elia, G.; Martella, V.; Lorusso, E.; Camero, M.; Buonavoglia, C. (2005). *Canine parvovirus* infection: Which diagnostic test for virus? *Journal of Virological Methods*. 126, 179–185.
- Greene. (2007). Enfermedades infecciosas del perro y el gato. 3° edición. Intermedica.
- Hoelzer, K. and Parrish, C. (2010) The emergence of parvoviruses of carnivores. *Vet. Res.* 41:39.
- Kapil, S.; Cooper, E.; Lamm, C.; Murray, B.; Rezabek, G.; Larry Johnston, L.; Campbell, G.; Johnson, B. (2007). *Canine parvovirus* Types 2c and 2b Circulating in North American Dogs in 2006 and 2007. *Journal of Clinical Microbiology*. 45(12): 4044–4047.
- Nho, W.; Sur, J.; Doster, A.; Kim, S. (1997). Detection of *Canine parvovirus* in naturally infected dogs with enteritis and myocarditis by in situ hybridization. *J Vet Diagn Invest* 9:255-260.
- Oshima, T.; Hisaka, M.; Kawakami, K.; Kishi, M.; Tohya, Y.; Mochizuki, M. (2008). Chronological Analysis of *Canine parvovirus* Type 2 Isolates in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 70(8): 769–775.
- Perez R.; Francia L.; Romero V.; Maya L.; Lopez I.; Hernandez M. (2007). First detection of *Canine parvovirus* type 2c in South America, *Vet. Microbiol.* 124:147–152.
- Pratelli, A.; Cavalli, A.; Martella, V.; Tempesta, M.; Decaro, N.; Carmichael, L.; Buonavoglia, C. (2001). *Canine parvovirus* (CPV) vaccination: Comparison of neutralizing antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b modified live virus vaccine. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 8: 612–615.
- Spibey, N.; Greenwood, N.; Sutton, D.; Chalmers, W.; Tarpey, I. (2008). *Canine parvovirus* type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c virus. *Vet. Microbiol.* 128(1-2), 48-55.
- Truyen, U. (2006). Evolution of *Canine parvovirus*: a need for new vaccines? *Vet. Microbiol.* 117, 9-13.



«Shaking puppy syndrome» (síndrome del cachorro temblador) en Weimaraners: tres casos en una misma camada. Primer diagnóstico clínico en Uruguay

Delucchi, L.¹; Feijóo, G.²; Duran, E.²

RESUMEN

Tres cachorros de un mes de edad, de una misma camada de la raza Weimaraner, dos machos y una hembra, fueron traídos a consulta presentando temblores generalizados que afectaban todo el cuerpo incrementándose su intensidad en la última semana. Los temblores rítmicos empeoraban ante distintos estímulos ambientales o por intención (al mamar o comer), con el ejercicio físico o excitación pero los temblores se detenían durante el sueño. Por el examen clínico y estudios colaterales se diagnosticó «shaking puppy syndrome» o síndrome del cachorro temblador provocado por un retraso en la mielinización. La única alteración encontrada en los estudios realizados a los cachorros fue serología positiva a *Neospora caninum* al igual que en la madre. En el presente caso los signos neurológicos remitieron en un período de 6 meses, permitiendo a los 3 animales llevar una vida normal, siendo este su primer reporte en Uruguay.

Palabras clave: hipomielinización, temblores, caninos

SUMMARY

Three one-month-old Weimaraner puppies of the same litter, two males and one female, showed whole body tremors that had been increasing during the week before consulting. The rhythmic tremors had been worsening as a response to different ambient stimuli or intention (i.e. suckling or feeding), physical exercise and excitement, but the tremors stopped when the puppies sleep. Physical examination and others studies suggested a «shaking puppy syndrome» caused by delayed myelination. The only observed serologic alteration was positive titers to *Neospora caninum* in the three puppies and the mother. In the present case, the neurological signs improved in a period of six months allowing a normal life. The present case is the first report of the disease in Uruguay.

Key words: hypomyelination, tremors, dogs

INTRODUCCIÓN

La hipomielinización es la falla en establecer una vaina de mielina normal en los axones del sistema nervioso central y fue descrita en varias razas de perros; Chow Chow (Vandeveldt y col., 1977), Dálmata (Greene y col., 1977), Springer spaniel (Griffiths y col., 1981), Bearnese (Palmer y col., 1987) y Weimaraner (Kornegay y col., 1987; Viott y col., 2007).

La enfermedad en cachorros de la raza Springer spaniel aparece de forma espontánea y cursa con signos neurológicos de tal magnitud que generalmente provocan la muerte de los animales afectados. Se presentan temblores severos a partir de las 2 semanas de edad acompañados de intensas crisis convulsivas (Nandon y col., 1990).

El ensamblado de las capas de la vaina de mielina depende del proceso de diferenciación de los oligodendrocitos a partir de células progenitoras pluripotenciales. Este proceso depende de señales que jugarían un rol importante en las vías de desarrollo diferencial de oligodendrocitos o astrocitos II (Nandon y col., 1990). Se ha sugerido que la proteína proteolípídica de la mielina (PLP) y la DM-20, una transcripción alternativa del gen del ensamblado de la PLP, son proteínas estructurales en la vaina de mielina y serían determinantes en la maduración del oligodendrocito (Hudson y col., 1987). DM-20 tendría inicialmente un rol preeminente sobre PLP. Niveles bajos de PLP, la alteración en la relación entre ambas proteínas y su mutación pueden explicar el «shaking puppy syndrome» (Nandon y col., 1990). Palmer y colaboradores

(1987) reportó que la enfermedad en otras razas podría ser una enfermedad hereditaria debido a una condición autosómica recesiva.

En otros casos reportados en Weimaraners, comenzaron a mostrar signos clínicos entre 1 y 3 semanas de edad (Kornegay y col., 1987; Viott y col., 2007). Los cachorros afectados padecen temblores que comienzan en los miembros posteriores y provocan el característico movimiento de «sube y baja» del cuerpo del animal (Kornegay y col., 1987; Viott y col., 2007). Al afectarse cabeza y cuello, esto impide una lactancia normal, y otras funciones como micción o defecación se pueden encontrar afectadas (Viott y col., 2007). Generalmente en la raza Weimaraner a diferencia de otras razas el pronóstico de la enfermedad es bueno, remitiendo los signos en la medida que el cachorro

¹Asistente Departamento de Patología y Clínica de Pequeños Animales. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República. Lasplacas 1550. CP11.600. Montevideo. Uruguay. Correo electrónico: ldelucchi@fvvet.edu.uy

²Colaborador Departamento de Patología y Clínica de Pequeños Animales. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República. Lasplacas 1550. CP11.600. Montevideo. Uruguay

Recibido: 8/3/10 Aprobado: 5/11/10

ro crece aunque ocasionalmente, animales con signos muy severos pueden morir por problemas para alimentarse.

Hallazgos patológicos de cachorros Weimaraner afectados incluyen axones del SNC con poca o sin mielina, no afectándose células del sistema nervioso periférico. La enfermedad puede atacar distintas zonas del SNC pero parece afectarse con mayor frecuencia los cordones ventrales y laterales de la médula espinal con una aparente predominancia del número de astrocitos sobre los oligodendrocitos sugiriendo una diferenciación glial anormal (Kornegay y col., 1987). Vacuolización de la sustancia blanca subcortical con mielinización pobre también fue encontrada en Weimaraners afectados (Viott y col., 2007).

MATERIALES Y MÉTODOS

Tres cachorros de la misma camada, 2 machos y 1 hembra de la raza Weimaraner, de 4 semanas de edad, fueron examinados en el Hospital Veterinario de la Facultad de Veterinaria por presentar temblores musculares que les afectaban todo el cuerpo y se fueron incrementando en la última semana. Los temblores, rítmicos, aumentaban por estímulos ambientales o por intención (mamar o comer) incluso el simple ejercicio físico, pero cesaban durante el sueño.

Al examen físico de los cachorros los mismos eran normotermos, con respiración normal y a la auscultación cardíaca y sistema respiratorio no se encontraron anomalías. Las mucosas orales y conjuntivas se encontraron pálidas. Al examen neurológico los animales presentaban ataxia y dismetría. Los reflejos tuvieron respuesta normal y presentaban sensibilidad dolorosa. En cuanto a la evaluación visual la respuesta del reflejo consensual visual estaba disminuida en los tres cachorros. Los mismos presentaban incontinencia fecal y urinaria no así el resto de los hermanos de camada. La intensidad de los temblores aumentaba de tal forma que impedía la marcha de los animales.

Dado los datos patronímicos, anamnesis y signos clínicos se diagnóstico presuntivamente hipomielinización con signos sugestivos de hipoplasia de cerebelo.

Se le indicaron estudios de patología clínica de rutina; hemograma, química sérica incluyendo funcional hepático, análisis

de orina y serología para distemper canino, *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum*. Se le indicaron radiografías de tórax y ecografía de abdomen.

Los propietarios declinaron en autorizar la toma de muestras de líquido cefalorraquídeo para su posterior análisis y otros estudios invasivos, por los posibles riesgos.

RESULTADOS

Uno de los machos y la hembra presentaron leucocitosis (20300 y 41100/mm³) con linfocitosis (65 y 56% respectivamente). No se encontraron otras alteraciones en los valores sanguíneos y en orina, teniendo uno de los machos valores totalmente normales. Los estudios serológicos para distemper canino y *Toxoplasma* fueron negativos pero en cambio los 3 cachorros presentaron títulos para *Neospora caninum* por el método de inmunofluorescencia indirecta; 2 cachorros con valores altos (1/400 y 1/800 para la hembra y el macho con leucocitosis, y 1/200 para el macho restante). La madre también fue chequeada para *Neospora* y resultó positiva con títulos de 1/6400. Los demás estudios realizados así como los de imagen (radiografía de tórax y ecografía de abdomen) resultaron normales. Dado los títulos contra *Neospora caninum* y los signos de incontinencia, se le prescribió Sulfa-trimetoprim (Bactrim, Roche) en la formulación líquida, durante 20 días a una dosis de 15 mg/kg, vía oral, b.i.d.

A los 60 días de su primera visita, los cachorros ya controlaban los esfínteres, los temblores habían cedido y solo persistía un moderado temblor de intención.

A los 120 días en su segundo control, se le repitieron todas las pruebas de laboratorio resultando normales. La evaluación clínica no presentó déficits neurológicos, controlaban normalmente los esfínteres, la marcha y el trote eran coordinados remitiendo la ataxia. Los títulos contra *Neospora caninum* fueron entre 1/50 y 1/200. A la edad de seis meses los tres cachorros mejoraron y fueron adoptados por distintos propietarios. Se les indicó un plan de vacunación con pocos antígenos (Distemper, Parvovirus y Rabia en vía separada) por la predisposición que tiene la raza a desarrollar osteodistrofia hipertrófica (McMurray, 2001; Harrus y col., 2002).

DISCUSIÓN

Los tres casos de mielinización retrasada o hipomielinización en cachorros de la raza Weimaraner tuvieron curso clínico y posterior recuperación similar a lo descrito por otros autores. A pesar de la serología positiva para *Neospora caninum*, esta no es suficiente para concluir que la causa de la enfermedad fue dicho parásito ya que alguno de los animales presentó títulos bajos. En la literatura al respecto no hemos encontrado antecedentes de este tipo de cuadros en Weimaraner que se acompañen con serología a esta parasitosis. Los antecedentes disponibles muestran que *Neospora caninum* ocasiona lesiones neurológicas con signos de inflamación del cerebelo en animales adultos y que además presentan otros signos neurológicos que indican una mayor difusión topográfica de la lesión (Lorenzo y col., 2002; Cantile y Arispice, 2002).

El uso de antibiótico en el presente caso se justificó no solo por aquellos cachorros con serología positiva, sino que al tener problemas en sus conductas de eliminación (incontinencia fecal y urinaria) corrían riesgo de infecciones por microorganismos oportunistas. Los tratamientos descriptos para *Neospora* no deben ser menores de 4 semanas llegando hasta 18 semanas para lograr la remisión de los signos de la enfermedad (Crookshanks y col., 2007). En nuestros casos solo se le prescribió por 20 días aunque los cachorros continuaron una mejoría lenta y extendida en el tiempo pero sostenida, alejada del consumo del antibiótico. La leucocitosis es una alteración inespecífica que pudo ser provocada por procesos inflamatorios de origen infeccioso u otras causas. La linfocitosis pudo ser causa también por stress o estímulo inmunológico prolongado. En los casos de *Neospora* se espera encontrar los eosinófilos elevados en términos porcentuales, cosa que no sucedió en ninguno de los tres cachorros.

La causa exacta del desorden en la mielinización de los cachorros Weimaraner todavía no está del todo aclarada, pero sí existe acuerdo en otras razas que su causa sería genética (Palmer y col., 1987).

La hipomielinización en la raza Weimaraner se puede revertir con el tiempo a pesar de ser estos cachorros de difícil ma-

nejo para sus propietarios en los primeros meses de vida. Estos animales deberían ser castrados teniendo en cuenta la sospecha de ser una enfermedad hereditaria ligada al cromosoma X (Nandon y col., 1990).

CONCLUSIONES

Podemos concluir entonces que es una enfermedad de buen pronóstico y que la recuperación dependerá que los propietarios estén bien informados y reciban educación sobre el manejo del cachorro

descartándolo como reproductor. Dado su carácter hereditario, los criadores de la raza en nuestro país deberán tener en cuenta la presencia de la enfermedad cuando se planifica la producción de ejemplares.

Referencias Bibliográficas

- Cantile, C.; Arispice, M.** (2002). Necrotizing cerebellitis due to *Neospora caninum* infection in an old dog. *Journal of Veterinary Medicine J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* Feb; 49 (1). pp 47-50.
- Crooshanks, J.L.; Taylor, S.M.; Haines, D.M.; Shelton, D.** (2007). Treatment of canine pediatric *Neospora caninum* myositis following immunohistochemical identification of tachyzoites in muscle biopsies. *Can Vet J.* 48: 506-508.
- Greene, C.E.; Vandavelde, M.; Hoff, E.J.** (1997). Congenital cerebrospinal hypomyelinogenesis in a pup. *J Am Vet Med Assoc.* 171 (6) pp. 534-536.
- Griffiths, I.R.; Duncan, I.D.; McCulloch, M. et al.** (1981). Shaking pups: a disorder of central myelination in the Spaniel dog. Part 1. Clinical, genetic and light-microscopical observations. *J Neurol Sci.* Jun; Vol. 50(3) pp. 423-433.
- Harrus, S.; Waner, T.; Aizenberg, S.N. et al.** (2002). Development of hypertrophic osteodystrophy and antibody response in a litter of vaccinated Weimaraner puppies. *J Small Anim Pract.* Jan; 43(1) pp27-31.
- Hudson, L.D.; Berndt, J.A.; Puckett, C. et al.** (1987). Aberrant splicing of proteolipid protein mRNA in the dysmyelinating jimpy mutant mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Mar; 84(5) pp. 1454-1458.
- Kornegay, J.N.; Goodwin, M.A.; Spyridakis, L.K.** (1987). Hypomyelination in Weimaraner dogs. *Acta Neuropathol.* 1987. Vol. 72 (4) pp. 394-901.
- Lorenzo, V.; Pumarola, M.; Sisó, S.** (2002). Neosporosis with cerebellar involvement in an adult dog. *J Small Anim Pract.* Feb; 43 (2). pp 76-79.
- McMurray, M.** (2001). Weimaraner warning. *Can. Vet. J.* Jun;42(6) p 417.
- Nandon, N.L., Duncan, I.D., Hudson, L.D.** (1990). A point mutation in the proteolipid protein gene of the 'shaking pup' interrupts oligodendrocyte development. *Development (Cambridge).* 110 (2) pp. 529-537.
- Palmer, A.C.; Blakemore, W.F.; Wallace, M.E. et al.** (1987). Recognition of 'trembler', a hypomyelinating condition in the Bernese mountain dog. *Vet Rec.* June 27; Vol. 120 (26) pp. 609-612.
- Vandavelde, M.; Braund, K.G.; Walker, T.L., et al.** (1977). Dysmyelination of the central nervous system in the Chow-Chow dog. *Acta Neuropathol* June 30. 42 (3) pp. 211-215.
- Viott, A.M.; Figuera, R.A.; Kommers, G.D. et al.** Hypomyelination in Weimaraner dogs: case report. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2007. 59 (4) pp. 899-902.



**XXXVIII JORNADAS URUGUAYAS
DE BUIATRÍA
3-5 JUNIO, PAYSANDÚ, URUGUAY**



Pérdidas reproductivas desde el servicio al destete en la región litoral oeste del Uruguay

Bidondo Moreira, A.¹; Blanc, J E.²; Moraes, J.²

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar las pérdidas reproductivas desde el servicio al destete, se estudió el momento en que ocurren, durante nueve años (1999-2007), en un rodeo de cría comercial ubicado en el litoral oeste de nuestro país. Fueron estudiados 7841 vientres de los cuales 5316 (67.8%) fueron vacas y 2525 (32.2%) restante fueron vaquillonas. Se dividieron las pérdidas reproductivas por etapas en: embrionarias, fetales, al parto y parto-destete. El porcentaje de preñez del predio fue de 89,9%, muy superior a la media país, con un promedio de pérdidas al servicio de 10%, durante la preñez fueron de 4,5%, al parto 2,73% y las pérdidas parto-destete el 3%. Obteniéndose un porcentaje de pérdidas tacto-destete de 10,3% y un procreo general promedio de 78,6%. Los porcentajes de pérdidas encontrados son considerados normales de acuerdo a la bibliografía consultada y muy por debajo de los estimados en nuestro país.

SUMMARY

With the objective to evaluate the moment reproductive losses and between mating and weaning, occur was studied during a period of nine years (1999-2007) in a beef breeding herd located on the west litoral area of Uruguay. Were studied 7841 animals, 5316 (67.8%) cows and 2525 (32.2%) heifers. Reproductive losses were divided into different stages: embryonic, fetal, at calving and from calving to weaning. Pregnancy rate of the herd was 89.9%, highly superior to the average percentage of our country, with 10% losses at breeding, 4.5% losses during pregnancy, 2.73% at calving and 3% calving-weaning. The percentage of losses obtained from pregnancy diagnosis to weaning was 10.3% and a general weaning rate of 78.6%. According to literature the percentages of losses obtained are considered normal, and sharply below those estimated in our country.

¹Ejercicio Liberal. Correo electrónico: stoodmay@hotmail.com

²Dpto. de Salud en los Sistemas Pecuarios, Facultad Veterinaria de Paysandú.

Resultados de cuatro años de aplicación de un programa de inseminación a tiempo fijo en vacas lecheras coincidente con el primer día de la estación reproductiva invernal

de Nava, G.T.¹; Rodríguez Sabarrós, M.²; Romero, D.¹; Rodríguez Galluzzo, J.¹; Gil, A.³

RESUMEN

Se presentan los resultados reproductivos alcanzados durante 4 años consecutivos con un programa de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) coincidente con el primer día de la estación reproductiva invernal. Se sincronizaron unas 2.659 vacas Holando en producción y ciclando a las que se les administró 8 µg de acetato de buserelina (GnRH) intramuscular (i.m.) a la colocación de un dispositivo intravaginal con progesterona en el día -10, 800 µg de delprostenate i.m. al retiro del dispositivo intravaginal en el día -3 (p.m.), 8 µg de GnRH en el día -1 (p.m.) y fueron artificialmente inseminadas en el día 0 (a.m., 10 a 18 hs después de la última GnRH). Las tasas de preñez promedio a la IATF y la tasa de preñez acumulada a los 30 días fueron de 45,5% y 60,9%, respectivamente. No fueron afectadas entre diferentes años, pero variaron entre establecimientos. Periodos postparto hasta la IATF más prolongados y un menor número de lactancias resultaron en mejores tasas de preñez.

SUMMARY

Reproductive performance of 2,659 lactating dairy cows submitted to a fixed time artificial insemination (FTAI) programme over 4 years in 5 dairy farms is presented. The synchronization protocol for FTAI consisted on 8 µg buserelina acetate (GnRH) given intramuscularly (i.m.) plus an intravaginal progesterone insert on day -10, 800 µg delprostenate i.m. at insert removal on day -3, 8 µg GnRH i.m. on day -1 and FTAI on day 0 (10 a 18 hs after de last GnRH injection). Beginning of the winter breeding season was considered as day 0. Cows detected in heat were submitted to AI since day 1. Pregnancy rate to FTAI and accumulated 30 day pregnancy rate were 45,5% and 60,9%, respectively. These were not affected by year but by farm. Postpartum interval and lactation number influenced the reproductive performance. Cows with long postpartum interval and less number of lactations had higher pregnancy rates than cows with short postpartum interval and high number of lactations.

¹Ejercicio Liberal. Correo electrónico: gtdens@adinet.com.uy

²Área de Mejoramiento Genético, Facultad de Veterinaria.

³Departamento de Bioestadística e Informática, Facultad de Veterinaria.

Rendimiento comercial en cortes minoristas del pistola en carcasas provenientes de cruzamientos de razas británicas, continental y cebuina en el Uruguay

Franco, J.¹; Oliveira, G.²; Gimeno, D.³; Feed, O.⁴; Bentancur, O.⁵

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del genotipo sobre las variaciones en peso individual de los cortes y su resultado en el valor comercial del corte pistola en novillos faenados al mismo grado de terminación. Se utilizaron 245 novillos de las razas británicas puras (Hereford, n = 35 y A. Angus n = 10), cruza F1 (n = 111), retrocruzas (n = 67) y F2 (n = 22), provenientes de padres de las razas A. Angus, Hereford, Salers y Nelore sobre madres Hereford. La edad a la faena fue de 730 ± 52 días. Las cruza Británicas X Salers obtuvieron cortes más pesados en bife, nalga de adentro, bola de lomo y garrón en relación a las razas británicas puras y sus cruza. Del mismo modo, esta cruza, logró pesos mayores en lomo que las razas británicas puras. Por su parte, las cruza Británicas x Nelore, lograron los mayores pesos de cuadril, cola de cuadril y nalga de afuera en relación a las cruza entre británicas. No se evidenciaron diferencias significativas en ninguno de los pesos 9 cortes del pistola entre las cruza Británicas x Salers y Británicas x Nelore. Todos los novillos cruza obtuvieron mayores valores de carne vendible y mayores valores de índice comercial en el corte pistola frente a la raza pura.

Palabras clave: cruzamientos, cortes del pistola, bovinos

SUMMARY

The aim of this research was studied the genotype effect on the variations in individual cuts weight and the result in the commercial value of the pistol cut in steers slaughtered at the same degree of fat cover levels. 245 steers from British pure breeds (Hereford, n=35-Angus, n=10), F1 (n= 111), criss-cross (67) and F2 (n= 22) crosses, breeding sires of Angus, Hereford, Salers and Nelore mated to Hereford dams were used. They were slaughtered at 730± 52 days. British X Salers crosses obtained higher weight in strip loin, inside; knuckle and shank in relation to the British breeds and his crosses and achieved major loin weight than British pure breeds. British x Nelore crosses achieved the major weight of Top Sirloin, tri-tip and outside in relation to the British crosses. British x Nelore and British X Salers did not demonstrate significant differences in any of the 9 cuts of the pistola. All crosses steers obtained major values of salable meat and commercial index in the pistol cut in relation to pure breeds.

Key words: crossbreeding, pistol cuts, cattle

Efecto del cipionato de estradiol sobre la sincronización de las ovulaciones y el porcentaje de preñez en vaquillonas Holando Argentino tratadas con dispositivos intravaginales con progesterona

Callejas, S.¹; Larghi, J.¹; Uslenghi, G.¹; Catalano, R.¹; Cledou, G.²; Cabodevila, J.¹

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue comparar el uso de dos sales de estradiol, benzoato de estradiol (BE) y cipionato de estradiol (CPE) administradas a las 24 horas post retiro de un dispositivo intravaginal con progesterona (DISP) sobre: el diámetro del folículo dominante, distribución de las ovulaciones y porcentaje de preñez en vaquillonas Holando Argentino. Se utilizaron 20 vaquillonas (24 meses de edad y 2,5 de condición corporal –escala 1 a 5). El día 0 se colocó un DISP (1 g P4) más 2 mg de BE vía intramuscular (im). El día 7 se retiraron los DISP y se inyectaron im 150 mcg de D-Cloprostenol; el día 8 las vaquillonas fueron distribuidas aleatoriamente a recibir 1 mg de BE o 1 mg de CPE, im. El día 9 (52-54 h) se realizó IATF, utilizando un toro de probada fertilidad. Las vaquillonas fueron examinadas por medio de ecografías en los días 0, 7, 8, 9, 10, 11, 18, 36, 42 y 86 para determinar estructuras ováricas, gestación y mortalidad embrionaria. Los diámetros del folículo dominante en el momento del retiro del DISP (10,8±2,0 mm) y del folículo ovulatorio (14,2±1,7 mm) no difirieron entre tratamientos (P>0,05). La distribución de las ovulaciones fue afectada por el tratamiento, al igual que el intervalo retiro del dispositivo-ovulación (76,8±11,6 h y 62,4±7,6 h; CPE vs BE, respectivamente; P<0,05). El porcentaje de preñez fue similar entre tratamientos en los diferentes periodos analizados (70,0% en el día 87). Se concluye que la administración de CPE en lugar del BE a las 24 horas de retirado el dispositivo afecta el momento y la distribución en que se producen las ovulaciones post tratamiento. Si bien el porcentaje de preñez no se afectó en el presente trabajo se deberían realizar experimentos que evalúen el efecto del momento en que se realiza la IATF en relación a la ovulación, utilizando distintas calidades de semen.

SUMMARY

The objective of this work was to compare the use of two salts of estradiol (EB vs ECP) injected 24 h post progesterone intravaginal device removal (PID) on dominant follicle diameter, ovulation distribution and pregnancy rate in Holstein heifers. Twenty heifers (24 months, 2.5 body condition - scale 1 to 5 -) were used. On Day 0 (beginning of synchronization treatments), heifers received a PID and 2 mg EB; on Day 7, PID was removed and 150 mcg of D-Cloprostenol were injected; on Day 8, heifers were randomly assigned to receive 1 mg EB or 1 mg of ECP. On Day 9 (52-54 h after PID removal), FTAI, with semen of a proven fertility bull, was made. Heifers were examined by trans-rectal ultra-sonography on days 0, 7, 8, 9, 10, 11, 18, 36, 42 and 86 to determine ovarian structure and for gestation diagnosis. The follicle diameters at PID removal (10.8±2.0 mm) and ovulation time (14.2±1.7 mm) were not different between treatments (P>0.05). On the other hand, ovulation time (76.8±11.6 h and 62.4±7.6 h; ECP vs. EB, respectively; P<0.05) and its distribution were different (P<0.05). The pregnancy rate, evaluated at different periods, was similar between treatments (70.0 % on day 87). It is concluded that the use of EPC or EB injected 24 after PID removal affects the ovulation time and its distribution. The pregnancy rate was unaffected in this work; however, further work is required to determine the relationship between seminal quality and the time when FTAI is made in relation to the ovulation time.

¹Área de Reproducción. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. Tandil. Buenos Aires. Correo electrónico: callejas@vet.unicen.edu.ar

²Laboratorios Biogénesis Bagó, Argentina.

Efecto de dispositivos intravaginales con diferentes cantidades de progesterona sobre la dinámica folicular y ovulación en vacas para carne cíclicas

Gonzalez Chaves, S.^{1,2}; Uslenghi, G.²; Cledou, G.³; Cabodevila, J.²; Callejas, S.²

RESUMEN

Se utilizaron 30 vacas Angus sin cría al pie, cíclicas (condición corporal: $3,4 \pm 0,4$; escala 1 a 5), con el objetivo de evaluar el efecto de utilizar dispositivos intravaginales con tres cantidades de progesterona sobre la dinámica folicular que ocurre durante el tratamiento y la respuesta ovulatoria a los mismos. Las vacas fueron distribuidas aleatoriamente a tres grupos: **1) Grupo 0,558g**: El día 0 se colocó un dispositivo intravaginal (DISP) con 0,558 g de progesterona y se inyectó 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE). El día 8, se retiró el DISP y se administró 150 µg de D-Cloprostenol. El día 9 se inyectó 1 mg de BE. **2) Grupo 1g**: Idem tratamiento anterior utilizando un DISP con 1 g de progesterona. **3) Grupo 1,3g**: Similar al anterior con la colocación de tres camisas suplementarias que aportan 100 mg de progesterona cada una. Se realizaron ecografías de los ovarios en el día 0, repitiéndose cada 48 horas hasta el día 6; luego cada 24 horas hasta el día 9 y a partir de ese momento cada 12 horas hasta el día 12. Una nueva ecografía se realizó el día 22. El 83,3% de las vacas iniciaron una onda de crecimiento folicular luego de colocado el dispositivo intravaginal, comenzando a los $4 \pm 1,3$ días ($P > 0,05$). Los diámetros del folículo dominante al momento de retirar el dispositivo intravaginal (0,558g = $10,7 \pm 1,9$ mm; 1g = $11,0 \pm 1,6$ mm y 1,3g = $10,9 \pm 1,3$ mm; $P > 0,05$) y a las 24 horas posteriores (0,558g = $11,8 \pm 2,8$ mm; 1g = $11,3 \pm 2,6$ mm y 1,3g = $11,2 \pm 2,0$ mm; $P > 0,05$) no difirieron entre tratamientos. El 66,7% de las vacas ovularon, ocurriendo a las $71,4 \pm 9,9$ h de retirado el dispositivo ($P > 0,05$), con un diámetro promedio del folículo ovulatorio de $12,6 \pm 1,6$ mm ($P > 0,05$). El tamaño del folículo dominante en el momento de retirar el dispositivo intravaginal, no difirió entre animales que posteriormente ovularon y aquellos que no lo hicieron ($11,1 \pm 1,7$ mm; $P > 0,05$). Se concluye que las cantidades de progesterona evaluadas en el presente trabajo no afectan la dinámica folicular que ocurre durante el tratamiento, como la ovulación posterior

SUMMARY

The objective of the work was to evaluate the effect of intravaginal devices (ID) with three different doses of progesterone upon follicular dynamics during treatment and ovulation response. Thirty non-lactating, cyclic, Angus cows (body condition: 3.4 ± 0.4 ; 1 to 5 scale) were randomly assigned to three groups: 1) Group 0.558 g: On Day 0, an ID with 0.558 g of progesterone was fitted and 2 mg of Estradiol benzoate (EB) injected; Day 8, ID removal and 150 µg of D-Cloprostenol administration; Day 9 1 mg of EB was injected. 2) Group 1 g: Similar to previous treatment but using an ID with 1 g of progesterone. 3) Group 1.3 g: similar to the previous Group plus three additional shirts containing 100 mg of progesterone each one. Cows were examined by trans-rectal ultrasonography on day 0, and repeated every 48 hours up to the 6th day; then every 24 hours up to the 9th day and from that time every 12 hours up to the 12th day. Another ultrasound was made on day 22. 83.3% cows began a new follicular wave after 4 ± 1 days of ID insertion ($P > 0.05$). Diameters of the dominant follicle at (0.558 g = 10.7 ± 1.9 mm; 1 g = 11.0 ± 1.6 mm and 1.3 g = 10.9 ± 1.3 mm; $P > 0.05$) and after 24 hours of ID removal (0.558 g = 11.8 ± 2.8 mm; 1 g = 11.3 ± 2.6 mm and 1.3 g = 11.2 ± 2.0 mm; $P > 0.05$) did not differ between treatments. The ovulation rate was 66.7%, occurring after 71.4 ± 9.9 h of ID removal ($P > 0.05$), with an ovulatory follicular size of 12.6 ± 1.6 mm ($P > 0.05$). It is concluded that progesterone amounts, evaluated in this work, do not affect the follicular dynamics, occurring during the treatment period, not the later ovulation.

¹Becario de Estudio. Comisión de investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

²Área de Reproducción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Correo electrónico: callejas@vet.unicen.edu.ar

³Laboratorio Biogénesis Bagó. Argentina.

Uso de dispositivos intravaginales con progesterona para aumentar la eficiencia reproductiva en un rodeo de cría

González Chaves^{1,3}, S.; Cledou², G.; Cabodevila³, J. y Callejas³, S.

RESUMEN

Se utilizaron 251 vacas con cría (condición corporal de $3,0 \pm 0,4$; -escala 1 a 5; rango post parto de 30 a 74 días y sin cuerpo lúteo) para evaluar el efecto de utilizar dispositivos intravaginales con progesterona (DISP) combinados con la administración de benzoato de estradiol (BE) al momento de colocarlos sobre el porcentaje de preñez en los primeros días de un servicio natural (SN). Además, se estudió el efecto de utilizar o no BE al momento de retirar los DISP y de la implementación o no de una IATF. Las vacas fueron distribuidas aleatoriamente a 4 grupos: **1) DISP IATF SN (n=63)**: El día -10 se colocó un DISP con 1 g de progesterona y se inyectó 2 mg de BE vía intramuscular (im). El día -2, se retiró el DISP y se administró 150 µg de D-Cloprostenol, im. El día -1 se inyectó 1 mg de BE, im. El día 0 se realizó IATF a las 52-53 h post DISP. Al día 10, los animales de este grupo se unieron con el resto, y recibieron servicio natural. **2) DISP SN (n=63)**: El día -10, se colocó un DISP y una inyección de 2 mg de BE, im. El día -2 se retiro el DISP. El día 0 comenzó el SN. **3) DISP BE SN (n=66)**: Idem ratamiento anterior más la inyección de 1 mg de BE, im el día -1. **4) Control (n=59)**. No recibió tratamiento hormonal, comenzando el SN el día 0. Para la IATF se utilizó semen congelado / descongelado de un toro de probada fertilidad. El día -10 se revisaron los ovarios por ecografía. El diagnóstico de gestación se realizó el día 62, determinando los porcentajes de preñez de los primeros 19 días de servicio y final (34 días). Se observó un mayor porcentaje de preñez en los primeros 19 días de servicio en los grupos DISP IATF SN (71,4%) y DISP SN (63,5%) con respecto a los grupos DISP BE SN (39,4%) y Control (35,6%; $P < 0,05$). En el periodo siguiente (20 a 34 días de servicio), las vacas del grupo Control (65,8%) se preñaron en mayor proporción que la de los grupos DISP IATF SN (27,8%) y DISP SN (34,8%; $P < 0,05$). La preñez final no difirió entre grupos. Se concluye que en vacas con cría sin cuerpo lúteo, el uso de un DISP con 1 g de progesterona seguido de una IATF permite aumentar el número de vacas preñadas en los primeros días de un servicio natural. Este efecto también se observa cuando se coloca el DISP junto con una inyección de BE y se los destina a servicio natural.

SUMMARY

Two hundred and fifty one cows (body condition score: 3.0 ± 0.4) with a post-partum period ranging between 30 to 74 days and without corpus luteum were used to evaluate the effect of progesterone intravaginal device (ID) combined with estradiol (EB) at the of device insertion on the pregnancy rate in the first days of breeding service (BS). Also, the effect of using or not benzoate estradiol at the time of device removal and of the implementation of FTAI was studied. The cows were randomly assigned to four groups: 1) ID FTAI BS (n = 63): on day -10 ID (1 g of progesterone) was inserted and 2 mg of BE were injected. On day - 2, ID was removed and 150 µg of D-Cloprostenol were injected. On day - 1, 1 mg of EB was injected. Day 0, 52-53 h post ID removal, FTAI was made. On day 10, these animals joined the other groups for breeding service. 2) ID BS (n = 63): Day - 10, ID was insert and an injection of 2 mg EB was administered. Day - 2, ID was removed. Day 0, BS began. 3) EB ID BS (n = 66): Idem previous treatment plus an injection of 1 mg of EB on day - 1. 4) Control (n = 59). No hormonal treatment was administered, beginning the BS on day 0. Frozen semen, from a fertility proven bull, was used for FTAI. On day -10, ovaries were examined by ultrasonography. Pregnancy diagnosis was performed on day 62, determining the pregnancy rate at days 20 and 34 of breeding service. A higher pregnancy rate was observed after 19 days of service in the ID FTAI BS (71.4%) and ID BS (63.5%) groups compared to groups ID EB BS (39.4%) and control (35.6%, $P < 0.05$). In the following period (20 to 34 days of service), cows of the control group presented higher a pregnancy rate than those of the other groups. The pregnancy rate at day 34 did not differ between groups. It is concluded that in cows with breeding service without corpus luteum, the use of an ID with 1 g of progesterone in association with luteolytic agent and EB, followed by FTAI, allow to increase the number of pregnant cows in the first days of breeding service. This effect is observed also when treatment with an ID associated with EB at device insert is followed by breeding service.

¹ Becario de Estudio. Comisión de investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

² Laboratorios Biogénesis Bagó, Argentina.

³ Área de Reproducción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Correo electrónico: sscallejas@vet.unicen.edu.ar

Efecto de reducir la dosis de GnRH para sincronizar las ovulaciones en vaquillonas Holando Argentino tratadas con dispositivos intravaginales con progesterona

Vater, A.¹; Rodríguez Aguilar, S.¹; Borda, L.¹; Stefano, A.³; Cabodevila, J.²; Callejas, S.²

RESUMEN

Se utilizaron 85 vaquillonas Holando Argentino, cíclicas, con 18 a 25 meses de edad y una condición corporal uniforme de 4 (escala 1 a 5) para evaluar la reducción al 50% de la dosis de un análogo sintético de la GnRH utilizada para sincronizar la ovulación en animales tratados con un dispositivo intravaginal con progesterona. El día 0 se les colocó un dispositivo intravaginal con 1,2 g de progesterona y se les administraron vía intramuscular (im) 2 mg de benzoato de estradiol. El día 7 se retiró el dispositivo y se aplicaron im 150 µg D (+) Cloprostenol. El día 9, los animales fueron IATF y distribuidos aleatoriamente para recibir im: 5 µg (**GnRH5**) o 10 µg (**GnRH10**) de Buserelina. A los 32 días post IATF se realizó el diagnóstico de gestación mediante ecografía. Se evaluó el efecto de la dosis de GnRH sobre el porcentaje de preñez a la IATF, utilizando el Proc. CATMOD del SAS. No se observaron efectos de la dosis de GnRH sobre el porcentaje de preñez a la IATF (GnRH5: 66,7% y GnRH10: 67,5%; P>0,05). Se concluye que la reducción de la dosis de 10 µg a 5 µg de Buserelina, administrada en el momento de realizar la IATF, no afecta el porcentaje de preñez que se obtiene en vaquillonas Holando Argentino tratadas con un dispositivo intravaginal con 1,2 g progesterona.

SUMMARY

The objective was to compare the reduction to 50% of the dose of synthetic GnRH analogue used to ovulation synchronize in Holstein Heifers treated with a 1.2 g of progesterone-intravaginal device (PID). Eighty five heifers, cyclic, with 18 to 25 months of age and a 4 body condition score (scale 1 to 5) were used. On Day 0 heifers received a PID and 2 mg EB; on Day 7 PID was removed and was injected 150 mcg of D-Cloprostenol. On Day 9, heifers were TAI and were randomized to receive 5 µg (GnRH5) or 10 µg (GnRH10) of Buserelina. Thirty two days after TAI gestation diagnosis were done by ultrasonography. No effects of the dose of GnRH on the pregnancy rate were observed (GnRH5: 66.7% and GnRH10: 67.5%; P>0.05). Reducing the doses of 10 µg to 5 µg of Buserelina, administered at the TAI does not affect the pregnancy rate after TAI in Holstein Heifers treated with a 1.2 g progesterone intravaginal device.

¹Asesor privado. Grupo ia total. Benito Juárez. Provincia de Buenos Aires. Argentina.

²Área de Reproducción. FISFARVET. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNCPBA. Tandil. Buenos Aires. Correo electrónico: callejas@vet.unicen.edu.ar

³Asesor privado. Tandil. Buenos Aires. Argentina.

Calidad de semen de toros suplementados con jabones cálcicos de ácidos grasos polinsaturados¹

Ramirez, M. M.²; Ospina Patino, H.³; Macedo Gregory, R.⁴; Angel, J.C.⁵

RESUMEN

Fue realizado un experimento con el objetivo de evaluar el efecto de la suplementación de toros con jabones cálcicos de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) sobre las características cualitativas del semen antes y después del descongelamiento. Fueron utilizados veinte toros de las razas Angus, Braford, Brangus e Hereford que recibieron una dieta base (pasto cortado + concentrado comercial + sal mineral) y suplemento isoenergético. Los tratamientos evaluados fueron: suplemento funcional: 200 g de Megalac-E®/animal/día y suplemento energético: 750 g de harina de Yuca (*Manihot esculenta*, Crantz)/animal/día. La colecta de semen fue realizada a cada 15 días utilizando vagina artificial y las muestras colectadas fueron evaluadas para volumen, concentración, motilidad, morfología, integridad de acrosoma y de la membrana de la cola, espermatozoides vivos y longevidad de los espermatozoides. El semen fresco de los toros suplementados con jabones cálcicos de PUFA presento valores superiores en la motilidad espermática, porcentaje de espermatozoides vivos y número de espermatozoides con acrosoma íntegro en relación a los toros que recibieron suplemento energético. En el semen descongelado estas diferencias fueron 22% mayores. La suplementación de toros con PUFA puede influenciar positivamente las características cualitativas del eyaculado, dando mayor resistencia a los espermatozoides sometidos a procesos de congelamiento y descongelamiento.

Palabras clave: PUFA, semen, harina de yuca

SUMMARY

An experiment was conducted to evaluate the effect of supplementation of adults with bulls calcium soaps of fatty acids polyunsaturated (PUFA) on the qualitative characteristics of semen before and after thawed. Twenty Hereford, Angus, Brangus and Braford mature bulls were used and received a basal diet (green forage + concentrate + mineral salt commercial) and isoenergetic supplement. The evaluated treatments were: functional supplement: 200 g Megalac-E®/animal/day and energy supplement: 750 g cassava meal (*Manihot esculenta* Crantz)/animal/day. The collection of semen was performed every 15 days using an artificial vagina and the samples were evaluated for volume, concentration, motility, morphology, acrosome and membrane tail integrity, live sperm and sperm longevity. The fresh semen of bulls supplemented with calcium soaps of PUFA showing values 11, 3 and 1.5% higher on sperm motility, percentage of live sperm cells and number of sperm with intact acrosome than bulls receiving energy supplementation. In thawed these differences were 22% higher. Supplementation of bulls with PUFA can positively influence the quality characteristics of ejaculate, giving greater resistance to sperm undergo the process of cryopreservation.

Key words: PUFA, semen, cassava meal

¹Parte de la disertación de Maestría financiada pela QGN.

²Aluna del PPG – Ciencias Veterinárias -UFRGS/ Porto Alegre, RS, Brasil. Correo electrónico: monicamaramirez@hotmail.com

³Profesor del PPG - Zootecnia - UFRGS/ Porto Alegre, RS, Brasil. Correo electrónico: harold.patino@ufrgs.br

⁴Profesor del PPG em – Ciências Veterinárias -UFRGS/ Porto Alegre, RS, Brasil. Correo electrónico: 00004237@ufrgs.br

⁵Aluno de Mestrado do PPG – Zootecnia -UFRGS/ Porto Alegre, RS, Brasil. Correo electrónico: caangelca13@hotmail.com

Concentración plasmática de colesterol y progesterona de novillas receptoras de embriones suplementadas con jabones cálcicos de ácidos grasos polinsaturados¹

Angel, J. C.²; Ospina Patino, H.³; Ramirez, M.M.⁴; Macedo Gregory, R.⁵

RESUMEN

Fueron utilizadas 44 novillas receptoras de embriones cruzadas Angus*Hereford (peso medio 385 kg) en un diseño experimental completamente aleatorio para evaluar los efectos de la inclusión de ácidos grasos insaturados (PUFA) en suplementos energéticos, sobre algunos parámetros plasmáticos y sobre el desempeño productivo y reproductivo. Los tratamientos evaluados fueron: suplemento funcional: donde las novillas recibieron suplemento conteniendo 150 gr de jabones cálcicos de PUFA (Megalac-E[®]); suplemento energético: donde las novillas recibieron un suplemento sin la inclusión de jabones cálcicos; y sin suplemento. Las novillas fueron mantenidas en un mismo potrero de campo natural mejorado y suplementadas diariamente de forma individual. Las novillas fueron pesadas cada 28 días y la sincronización de celo fue realizada utilizando dos dosis de PGF2 α con un intervalo de 11 días. Siete días después de la detección del celo fue realizada la medida del cuerpo lúteo y la transferencia de los embriones. Muestras de sangre fueron colectadas en el día de la transferencia de los embriones y en el día de la confirmación de preñes. El tipo de suplemento utilizado no afectó la tasa de preñes (34%) ni la concentración plasmática de insulina (14.1 μ IU/ml). Sin embargo, en la transferencia de embriones y en la confirmación de preñes las novillas suplementadas con jabones cálcicos de PUFAS presentaron aumentos en la ganancia de peso y en la concentración plasmática de colesterol y progesterona, en relación a las novillas que recibieron suplemento energético y a las que no fueron suplementadas.

Palabras clave: colesterol, progesterona, PUFA, tasa de preñes

SUMMARY

Forty four Angus*Hereford embryo recipients heifers (385 kg average body weight) were used in a completely randomized design to evaluate the effect of adding polyunsaturated fatty acids (PUFA) in energy supplements on some plasma parameters and productive and reproductive performance. The treatments evaluated were: functional supplement, with inclusion of 150 g of calcium soaps of fatty acids (Megalac-E[®]); energy supplement, without inclusion of calcium soaps and without supplementation. Embryo recipient heifers were kept in the same paddock of improved native pasture and supplementing daily individually. Heifers were weighed every 28 days and estrus synchronization was performed using two PGF2 α doses with an interval of 11 days. Seven days after estrus detection embryo transfer was performed. Blood samples were collected on the embryo transfer day and pregnancy confirmation day as well. The supplement type offered did not affect pregnant rate (34%) and plasma insulin concentration (14.1 μ IU/ml). However, on embryo transfer day and pregnancy confirmation day heifers supplemented with PUFA had increase in ADG and cholesterol and progesterone plasma concentration in relationship to heifers supplemented with energy supplement and without supplementation.

Key words: cholesterol, progesterone, PUFA, pregnancy rate

¹Parte de la disertación de Maestría del primer autor. Financiada por QGN

²Aluno del PPG – Zootecnia - UFRGS/Porto Alegre, RS, Brasil. Correio eletrônico:cangelca13@hotmail.com

³Profesor del PPG - Zootecnia - UFRGS/ Porto Alegre, RS, Brasil. Correio eletrônico:harold.patino@ufrgs.br

⁴Aluna del PPG – Ciencias Veterinárias -UFRGS/ Porto Alegre, RS. Correio eletrônico: monicamaramirez@hotmail.com

⁵Profesor del PPG – Ciencias Veterinárias -UFRGS/ Porto Alegre, RS,Brasil. Correio eletrônico: 00004237@ufrgs.br

Efecto del nivel de suplementación energética sobre la calidad de la carne y sobre el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de novillos terminados en pasturas de invierno

Ospina Patino, H.¹; Schuler Medeiros, F.²

RESUMEN

24 novillos cruza Aberdeen Angus x Charoles fueron utilizados en un diseño experimental completamente aleatorio para evaluar el efecto de niveles de suplementación energética sobre el desempeño, la calidad de la carne y el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular. Los tratamientos evaluados fueron niveles de un suplemento a base de maíz (0; 0,4; 0,8 e 1,2% PV) en una pastura de invierno de azevén anual (*Lolium multiflorum* L.) y avena (*Avena strigosa* Schreb) manejada de modo a que la oferta de forraje no limitase el desempeño animal. Los animales fueron suplementados diariamente (14:00 – 16:00) en comederos individuales y abatidos a medida que alcanzaron un mínimo de 4,5 mm de espesura de grasa en la garupa (evaluado con ultrasonografía). No fueron observadas diferencias en la deposición de grasa, evaluada *in vivo* por ultrasonografía al final de la etapa de desempeño, ni sobre la ganancia diaria de peso, que presentaron valores medios de 3,9 mm y 1,54 kg/día, respectivamente ($P>0,05$). Los niveles crecientes de suplementación no influenciaron la dureza (3,4 kg/cm²), marmóreo (5.6 points), pH (5.6), concentración de lípidos (9.4%), Color a* (15.2), Color b* (12.8) de muestras de carne del *Longissimus dorsi* ($P>0.05$). La claridad de la carne disminuyó linealmente con el incremento en los niveles de suplementación. El nivel de suplementación disminuyó linealmente la concentración de ácidos grasos de la serie n-3 y de ácido linolénico conjugado y aumento linealmente la relación n-6:n-3. La terminación de novillos en pasturas de invierno utilizando niveles crecientes de suplementación energética no afecta la calidad de la carne pero produce cambios en el perfil de lípidos de la grasa intramuscular.

Palabras clave: pastura de invierno, perfil de ácidos grasos, suplementación energética

SUMMARY

Twenty four Aberdeen Angus × Charolais steers were used in a completely randomized design to evaluate the effect of supplemental energy levels on performance, meat quality and fatty acid profile of intramuscular fat. The experimental treatments were levels of feeding (0, 0.4, 0.8 and 1.2% BW) of a corn based supplement in a winter pasture of annual ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) and oats (*Avena strigosa* Schreb) managed in order to avoid constraints to animal performance. Animals were supplemented daily (14:00 – 16:00) in individual pens and slaughtered when they achieved 4.5 mm of fat cover on the rump point (ultrasound evaluation). No differences were observed in fat deposition, measured in live animals with ultrasound at the end of the performance period, and in live weight gain, which had average values of 3.9 mm and 1.54 kg/d, respectively ($P>0.05$). Increasing levels of energy supplementation did not influence tenderness (3.4 kg/cm²), marbling (5.6 points), pH (5.6), lipid concentration (9.48%), Color a* (15.2), Color b* (12.8) in the *Longissimus dorsi* samples ($P>0.05$). Meat lightness (L*) were linearly increased with increasing levels of supplementation. Supplementation level linearly decreased n-3 series fatty acids and conjugate linolenic acid and linearly increased n-6:n-3 relationships. Fattening steers on winter pastures using increasing levels of energy supplementation doesn't result in differences in meat quality, but results in changes in fatty acids profile of intramuscular fat.

Key words: winter pasture, fatty acids profile, energy supplementation

¹ Profesor del PPG – Zootecnia – UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil. Correo electrónico: harold.patino@ufrgs.br

² Gerente del programa carne Angus. Asociación Brasileira de Angus. Porto Alegre, RS, Brasil. Correo electrónico: fsmedeiros@terra.com.br

Crecimiento de terneros holando alimentados con diferentes concentrados y sistemas de crianza

Rinaldi, C.¹

RESUMEN

Se evaluó el costo y la ganancia de peso de terneros holando en un tambo comercial. Se asignaron 8 terneros a cada tratamiento durante 49 días: T1 suministro de leche y ración comercial 18% PC, T2 tratamiento con iniciador ruminal (25% PC), ración balanceada y leche por 21 días, y T3 leche y concentrado balanceado por la mezcla de SGH de sorgo con núcleo proteico (18% PC). Los terneros tuvieron una ganancia diaria de peso en el período total de 0.549, 0.630 y 0.548 kg/día para T1, T2 y T3 respectivamente. Los costos relativos por kg de peso vivo producido fueron 100, 170 y 90% para T1, T2 y T3 respectivamente.

SUMMARY

It was evaluated the cost and the weight gain of Holstein calves in a commercial dairy operation. 8 calves were assigned to each treatment for 49 days: T1 provide with milk and commercial starter 18 PC %, T2 treatment with a ruminal initiator (25 PC %), starter and 21 days milk, and T3 milk and concentrate mixture with SGH (high moisture sorghum grain silage) and commercial protein nucleus (18 PC %). The calves had an average daily gain in the whole period of 0.549, 0.630 and 0.548 kg/day for T1, T2 and T3 respectively. The relative costs for kg produced weight were 100, 170 and 90 % for T1, T2 and T3 respectively.

¹Ing. Agr. UNICAMPO URUGUAY SRL. Correo electrónico: programagadero@unicampo.com.uy

Suplementación con bloques energéticos en vaquillonas de sobreño pastoreando en una forestación de *Eucalyptus globulus*

Magri, G.

SUMMARY

Two hundred heifers one and a half year weighting 216 ± 40 kg were divided into two groups to determine the effect of energy supplementation with nutritional blocks in animals grazing natural pastures in an *Eucalyptus Globulus* forest. The supplement offered was the Energy Block of Compañía Cibeles. This supplement was offered only in one group *ad libitum* during 45 days after the third of August 2009 (first period). Body weight was measured in order to determine the response to Energy supplementation. After the end of energy supplementation (second period), another measure of body weight was made in order to find some difference in body weight gain. During the supplementation period (first period) the average daily gain in animals with supplement was 0.333 kg compared with the treatment without supplement (0.234 kg). In the second period (end of supplementation), the animals that were supplemented, gained more than the animals that never ate blocks. (0.919 vs 0.754 kg/day). It was concluded that winter Energy supplementation with blocks enhance the daily gain in heifers grazing natural pastures in an *Eucalyptus Globulus* forest.

RESULTADOS

El consumo de Bloque en promedio fue de 0,272 kg por animal/día. Se pudo apreciar un período de reconocimiento del bloque en donde los consumos fueron bajos y luego se estabilizaron hasta el fin del período de suplementación.

La ganancia diaria promedio para los animales dentro de cada grupo y en el período que duró la suplementación fueron las siguientes:

Grupo suplementado: 0.333 kg/día

Grupo no suplementado: 0.234 kg/día.

Dentro del tratamiento suplementado hubieron animales que no consumieron bloques y cuyas ganancias fueron similares a las del testigo y otros que rápidamente hicieron uso del bloque y sus ganancias fueron muy superiores a las del testigo.

Finalizado el período de 45 días de suplementación, todos los animales compartieron las mismas condiciones de pastoreo. Los animales del grupo suplementado, a pesar de que ya no eran suplementados, aún registraron mejores tasas de ganancia que los del grupo no suplementado.

Se registraron en uno de los grupos de animales ganancias diarias de 0,919 kg/día para el grupo suplementado mientras que los animales del no suplementado ganaron 0,754 kg/día.

CONCLUSIONES

La suplementación con Bloques Energéticos durante 45 días al final del invierno logro mejorar el peso de entore en noviembre logrando que más animales lleguen a cumplir con los pesos deseados para esa fecha.

Los animales no solamente ganan más durante el período de suplementación sino que logran mayores tasas de ganancia en la primavera siguiente.

Esto determinó diferencias del entorno de 20 kg entre un grupo y el otro, que pueden ser decisivos a la hora de preñar esos vientres. Este ensayo nos ofrece la posibilidad de recomendar un manejo: pesar los animales el 1 de agosto y si los animales están con 230 kg suplementar con Bloques Energéticos durante 45 días. Esto permitiría que los animales lleguen con casi 20 kg más al entore y entren dentro de los pesos deseados.

¿Todas las vacas que se preñan logran destetar un ternero? que puede ser considerado normal

Bidondo Moreira, A.¹; Blanc, J E.²; Moraes, J.

RESUMEN

Con el objetivo de establecer rangos de pérdidas consideradas normales y como estas inciden en el bajo índice de procreo nacional, se realizó una revisión bibliográfica. Se intenta esclarecer que sucede con las vacas que son diagnosticadas como servidas y luego no logran destetar un ternero. A estos efectos se dividieron las pérdidas reproductivas por etapas en: embrionarias, fetales, al parto y parto-destete. Las pérdidas encontradas por muerte embrionaria van desde el 8 al 23%, mientras que aquellas atribuidas a las pérdidas fetales fluctúan entre el 2 y el 11%, las pérdidas al parto son del 2 al 6% y finalmente aquellas ocurridas en el período parto destete están situadas entre el 1 y 4%.

SUMMARY

With the aim of establishing ranks of reproductive losses considered as normal, and how these affect the low national reproductive results, a detailed revision of the literature was made. It attempted to establish what happen with those cows diagnosed as pregnant and are not capable of weaning a calf. For this, reproductive losses were divided in steps: embryonic, foetal, at calving and parturition weaning. Losses found because of embryonic death were 8-23%, while those attributed to foetal death 2-11%, at calving 2-6% and finally those occurred from calving to weaning 1-4%.

¹Ejercicio Liberal. Correo electrónico: stoomay@hotmail.com

²Dpto. de Salud en los Sistemas Pecuarios, Facultad de Veterinaria. Paysandú.

Determinación de la concentración de Ca, P y Mg durante la lactancia de vacas Holando y su interacción con las siguientes variables: estación del año, estado corporal, producción de leche, estado reproductivo y consumo de suplementos minerales

Albornoz L., Montebianco M., Peña S., Albornoz J.P.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar las concentraciones promedio de Ca, P y Mg sanguíneos y su interacción con la estación del año, estado corporal, producción de leche, estado reproductivo y consumo de suplementos minerales. Se trabajó sobre un total de 400 vacas lecheras en lactancia en 40 rodeos, el ensayo duro un año. Por primera vez en Uruguay se obtienen datos nacionales de valores sanguíneos de Ca, P y Mg sobre vacas en producción de raza Holando. Se notan relaciones significativas entre valores de Ca sanguíneo y estación del año y Calcio sanguíneo y vacas preñadas en el último tercio de la gestación y tendencias positivas en otras interacciones.

SUMMARY

The aim of this study was to determine the average concentrations of Ca, P and Mg blood and its interaction with the season, body condition, milk production, reproductive status and consumption of mineral supplements. We worked on a total of 400 lactating dairy cows in 40 herds, the trial lasted a year. For the first time in Uruguay national data are obtained blood levels of Ca, P and Mg on cows in the Holstein breed. Significant relationships are noted between values of blood Ca and season and Calcium blood and pregnant cows in the last third of gestation and positive trends in other interactions.

Principales características epidemiológicas de focos de intoxicación por *Senecio* spp. en bovinos diagnosticados por el Laboratorio Regional Noroeste, DILAVE «Miguel C. Rubino» en el período 1998-2010

Matto, C.¹; Giannechini, E.¹; Rivero, R.¹

RESUMEN

Se describen los focos de intoxicación por *Senecio* spp. en bovinos diagnosticados por el Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE en el período 1998-2010. Los focos diagnosticados en siete Departamentos del país se presentaron principalmente de forma epidémica en los años 2007 y 2009 asociados a períodos de sequías y carencias de forraje; registrándose escasos focos en el resto del período analizado. Octubre y noviembre son los meses donde se observan la mayoría de los brotes con casos clínicos, siendo las hembras adultas la categoría más afectada. La morbilidad registrada fue de 0,22% a 25% y la mortalidad de 0,22% a 64%. El 64% de los focos se observó en predios dedicados a la ganadería. En la histopatología los hígados presentaron fibroplasia, megalocitosis de los hepatocitos, proliferación canalicular y en algunos, presencia de nódulos de regeneración, característicos de la intoxicación por *Senecio* spp.

SUMMARY

Outbreaks of intoxication by *Senecio* spp. in bovine diagnosed by Northwest Regional Laboratory of DILAVE from 1998 to 2010 is described. Were diagnosed outbreaks in seven counties of the country, with an epidemic presentation in 2007 and 2009 related to droughts and shortage of forage; in the rest of the period few outbreaks were registered. October and November are months which most of the clinic cases are observed. Adult females is the category most affected with a morbidity of 0,22% to 25% and a mortality of 0,22% to 64%. The 64% of outbreaks were observed in cattle meat farms. Histologically, the livers showed variable severe degrees of fibrosis, hepatomegalocytosis, proliferation of bile duct epithelial cells, and in some of them, presence of regenerative nodules, which are characteristics of the intoxication by *Senecio* spp.

¹División Laboratorios Veterinarios «Miguel C. Rubino», Laboratorio Regional Noroeste. Paysandú, Uruguay. Correo electrónico: cmatto@gmgap.gub.uy.

Descripción de focos de intoxicación por *Cestrum parqui* (Duraznillo negro) en bovinos diagnosticados por el Laboratorio Regional Noroeste, DILAVE «Miguel C. Rubino» en el período 1998-2010

Matto, C.¹; Giannechini, E.¹; Rivero, R.¹

RESUMEN

Se describen los focos de intoxicación por *Cestrum parqui* en bovinos, diagnosticados en el área de influencia del Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE en el período 1998-2010. Esta patología es endémica en la región litoral oeste, con picos epidémicos relacionados básicamente a sequías y carencias forrajeras. Se observan mayor número de focos en las seccionales 4^a de Paysandú y 5^a de Río Negro donde los suelos poseen en general características de buena fertilidad. Los casos se presentan principalmente en otoño y primavera, afectando en su mayoría categorías jóvenes, con una morbilidad de 0,67% a 100% y mortalidad de 0,67% a 80%. El 59% de los focos se presentaron en sistemas ganaderos. Los registros de la base de datos del Laboratorio Regional Noroeste muestran que la intoxicación por *Cestrum parqui* es la enfermedad de etiología tóxica más importante dentro de su área de influencia.

SUMMARY

Outbreaks of intoxication by *Cestrum parqui* in bovine, diagnosed in the influence area of Northwest Regional Laboratory of DILAVE from 1998 to 2010 is described. This disease is endemic in west litoral region, with epidemic outbreaks related to droughts and shortage of forage. The major number of outbreaks are in police sections 4^o of Paysandú and 5^o of Río Negro, where the soils have high fertility. Cases are observed mainly in autumn and spring, principally affecting young categories, with a morbidity of 0,67% to 100% and a mortality of 0,67% to 80%. Most of outbreaks are observed in cattle meat farms (59%). Records of Northwest Regional Laboratory database shows that the intoxication by *Cestrum parqui* is the most important toxic disease in their influence area.

¹División Laboratorios Veterinarios «Miguel C. Rubino», Laboratorio Regional Noroeste. Paysandú, Uruguay. Correo electrónico: cmatto@mgap.gub.uy.

2ª auditoría de bienestar animal en la industria frigorífica del Uruguay

Imelio, J.¹; Ibarlucea, A.²; Borca, A.³; Toyos, G.⁴

RESUMEN

Se auditaron 15 plantas frigoríficas exportadoras para evaluar las Buenas Prácticas Operativas (BPO) en Bienestar Animal, utilizando la metodología recomendada por el American Meat Institute y la Dra. Temple Grandin. Se compararon los resultados obtenidos con los de una Auditoría similar llevada a cabo en 2003. En términos generales, se observó una evolución favorable en cuanto al manejo de los animales en la Industria Frigorífica Exportadora Uruguaya

SUMMARY

15 export plants were audited to evaluate the Good Operating Practice (GOP) in Animal Welfare, using the methodology recommended by the American Meat Institute and by Dr. Temple Grandin. Results were compared with those of a similar audit carried out in 2003. In general terms, there was a favourable evolution regarding animal management in the Uruguayan Meat Exporting Industry.

¹Dirección de Control y Desarrollo de Calidad. INAC, Rincón 545, Montevideo. Correo electrónico: jimelio@inac.gub.uy

²Unidad de Ingeniería y Arquitectura. INAC, Rincón 545, Montevideo. Correo electrónico: aibarlucea@inac.gub.uy

³Dirección de Control y Desarrollo de Calidad. INAC, Rincón 545, Montevideo. Correo electrónico: aborca@inac.gub.uy

⁴Dirección de Control y Desarrollo de Calidad. INAC, Rincón 545, Montevideo. Correo electrónico: gtoyos@inac.gub.uy

Estado del ADN espermático en toros (*Bos taurus taurus*): diferencia entre primer y segundo eyaculado

Batista, C.^{1,2}; Lopez, A.¹; Petrocelli, H.¹

RESUMEN

Se estudió la fragmentación del ADN espermático en dos colecciones consecutivas de semen de 7 toros. El objetivo del trabajo fue estudiar el estado fragmentación de la cromatina espermática inmediatamente a la colecta. Las muestras fueron procesadas utilizando el Kit Sperm Halomax (*Bos taurus*) y luego fueron observadas en microscopio de fluorescencia, contabilizando un mínimo de 200 espermatozoides por preparado. Se observaron diferencias significativas ($P=0.016$) en la fragmentación del ADN espermático entre primer y segundo eyaculado presentando el segundo menor fragmentación del ADN espermático

SUMMARY

The fragmentation of the spermatic DNA was study in two consecutive collections of semen from 7 bulls. The aim was to study the state of spermatic chromatin immediately after collection. The samples were processed using Sperm Halomax (*Bos taurus*) Kit and were observed with fluorescence microscopy, counting a minimum of 200 spermatozoa per slide. Significant differences ($P=0.016$) in was observed between the first and second ejaculation, with the second ejaculate showing less fragmentation.

¹Departamento de Producción Animal y Pasturas.

²Estudiante de Maestría en Ciencias Agrarias, Orientación Ciencia Animal. Av. E. Garzón 780. CP. 12900. Montevideo

Efecto de la preñez temprana sobre la ganancia de peso durante el engorde, calidad de la canal y de la carne en vacas de descarte en condiciones de campo natural

Blanc, J¹; Franco, J²; Alvarez, A.³; Cabrera, M³; de Souza, J³; Bentancour, O⁴.

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto de la preñez temprana sobre la ganancia de peso, calidad de la canal y de la carne en vacas de descarte. Se utilizaron 39 Vacas Hereford y cruce Hereford por A. Angus, multíparas, estratificadas por peso y estado corporal, asignadas en forma aleatoria a dos tratamientos: Gestantes y Control (No gestantes). Ambos lotes fueron manejados en pastoreo sobre campo natural, durante 4 meses. La determinación de peso se realizó cada 15 días, con ayuno previo de 12 horas. La faena se realizó alcanzados los 4 meses de gestación. No se encontraron diferencias significativas en ganancia de peso ni en las variables de calidad instrumental de la carne. Se concluye que la gestación temprana no afecta significativamente la velocidad de engorde de vacas adultas. Se comprueba a su vez que el peso del útero gestado de 4 meses no afecta el rendimiento de la canal.

Palabras clave: *Preñez, ganancia diaria, calidad de carne, bovinos*

SUMMARY

The aim of this reseach was to study the effect of early pregnancy on weight gain, meat and carcass quality of culled cows 39 multiparous Hereford and Hereford–Angus crosses sorted by liveweight and condition score were randomly assigned to two treatments: pregnant and non pregnant. Both handled on natural field conditions for 4 months. The weighed was made every 15 days, with 12 hours of fasting. The cows were slaughtered when they reach a mean of 4 month of gestation No significant differences were found on daily weight gain and the characteristics of meat quality. It was concluded that early pregnancy does not significantly affect the rate of weight gain of culled cows. There is verified in turn that the weight of a 4 months gestational uterus does not affect carcass dressing

Key words: *Gestation, daily gain, meat quality, cattle*

¹Dpto. de Salud en los Sistemas Pecuarios-Facultad de Veterinaria- Correo electrónico: jeblanc@adinet.com.uy

²Dpto de Producción Animal y Pasturas-Facultad de Agronomía.

³Estudiantes de Tesis de grado-Facultad de Veterinaria.

⁴Dpto de Estadísticas y Cómputos-Facultad de Agronomía.

Estrés calórico y su influencia en el recuento de las células somáticas en leche

Hirigoyen, D.¹; Ihlenfeld, K.²

RESUMEN

Se describe el análisis y tratamiento estadístico que confirma una asociación directa entre el estrés calórico expresado en Índice de Humedad-Temperatura (ITH) y el recuento de células somáticas (RCS) en ganado de leche. Se analizaron 37.567 muestras de leche de 13 rodeos comerciales, provenientes de 5 departamentos del Uruguay, durante 3 veranos del 2008 al 2010. Los niveles de precipitación y las condiciones de manejo de los rodeo estarían demostrando que la dependencia no es exclusiva del ITH.

SUMMARY

This paper describe the analysis and statistical treatment that confirms on dairy cattle a direct association between the caloric stress expressed in Index of Humidity - temperature (ITH) and the somatic cells counts in milk. There were analyzed 37.567 samples of milk, from 13 commercial dairy farms, in 5 departments of the Uruguay, during 3 summers from 2008 to 2010. The levels of rainfall and the cattle management conditions would be demonstrating that of ITH is not an exclusive dependence.

¹ DMTV, MSc. Director COLAVECO, Pque. El Retiro, Nueva Helvecia, Colonia. www.colaveco.com

² QF. Encargada NIRS COLAVECO, Pque. El Retiro, Nueva Helvecia, Colonia. www.colaveco.com

Efecto de la alimentación a edades tempranas sobre el crecimiento y la pubertad en terneras Hereford

Viñoles, C.¹; Guggeri, D.¹; Cuadro, P.¹; Egaña, J.M.¹

RESUMEN

Para evaluar el impacto de la alimentación a edades tempranas sobre el crecimiento e inicio de la pubertad, se utilizaron 65 terneras Hereford de 66 ± 3 días de edad. Entre los 2 y 5.4 meses de edad, las terneras fueron alimentadas en 3 planos nutricionales diferentes: 1- con suplemento al pie de la madre ($n=18$; DC+S), 2- sin suplemento al pie de la madre ($n=18$; DC-S), 3- destetado en forma precoz ($n=18$, DP). Todas las terneras recibieron el mismo nivel alimenticio a partir de los 5.4 meses de edad. Se realizaron determinaciones de peso vivo y altura de anca para evaluar el crecimiento y ecografías ováricas para determinar la pubertad. Las terneras DC+S tuvieron mayor tasa de ganancia diaria (0.8 ± 0.02 kg/d) que las DC-S (0.6 ± 0.02 kg/d) y las DP (0.5 ± 0.02 kg/d), lo que determinó que se destetaran con mayor peso vivo y altura de anca. La edad a la pubertad fue menor en las terneras DC+S (10.8 ± 0.4 meses) respecto a las de DP (12.5 ± 0.6 meses; $P<0.05$), pero similar al de las terneras DC-S (11.2 ± 0.4 meses; $P>0.05$). Concluimos que la suplementación al pie de la madre marcó una ventaja en el desarrollo corporal, que no se reflejó en una menor edad a la pubertad respecto a terneras no suplementadas, pero sí respecto a las terneras destetadas en forma precoz.

SUMMARY

To evaluate the impact of daily weight gain (DWG) at early stages of their lives and its effect on puberty 65 Hereford calves aging 66 ± 3 days were used. One group was supplemented during the pre-weaning period ($n=18$; +S), another group remained no supplemented ($n=18$; -S). Both groups were weaned at 164 days of age (Conventional weaning, CW). The third group ($n=18$) was early weaned (70 ± 2 days; EW). From the time of CW all the calves were feed a high plane of nutrition. Ovarian ultrasonography and live weight were evaluated every 2 weeks and hip height every 8 weeks. Calves CW+S had a higher DWG (0.8 ± 0.02 kg/d) than CW-S (0.6 ± 0.02 kg/d) and EW (0.5 ± 0.02 kg/d), thus were heavier and taller at weaning. The difference in live weight remained for the duration of the study ($P<0.05$). Puberty occurred earlier in CW+S calves (10.8 ± 0.4 months) than in EW calves (12.5 ± 0.6 months), but did not differ from CW-S calves (11.2 ± 0.4 months, $P<0.05$). We conclude that supplementation of lactating calves accelerates their development, thus puberty occurs earlier than EW, but there is no advantage compared to CW-S calves.

¹ Programa Nacional de Carne y Lana. INIA Tacuarembó. Km 386. Ruta 5. Tacuarembó. Correo electrónico: cvinoles@tb.inia.org.uy

Efecto de la suplementación energética pre y pos-destete sobre la edad de faena en terneros y la edad a la pubertad en terneras Hereford

Horn, J.A.¹; Guggeri, D.²; Viñoles, C.²

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de una suplementación energética pre y pos-destete sobre la edad de faena en terneros y la edad al primer celo en terneras Hereford. Al inicio de la suplementación los animales tenían en promedio 143±3 días de edad y pesaban 119±4 kg de peso vivo. Se registró la evolución de peso vivo, las características de la canal a los 380 kg de peso vivo, y la manifestación de celo en las hembras. La tasa de ganancia de peso no estuvo afectada por el sexo, ni por la interacción grupo*sexo durante el periodo de suplementación. Los terneros machos (190±6 kg), y hembras (182±6 kg) suplementadas fueron mas pesados que los terneros machos (137±6 kg) y hembras (137±6 kg) no suplementados ($P<0.01$) al final del período de suplementación. Los machos que tuvieron acceso al suplemento llegaron al peso de faena (586 ±17 días) antes que los machos del grupo control (638 ± 18 días) y presentaron un mayor porcentaje de grasa corporal (27% vs 23%; $P<0.05$). El mayor peso de las terneras suplementadas no se reflejó en una menor edad a la primer manifestación estral (442±17 días; $P>0.05$). Concluimos que el suplemento energético aumentó la tasa de ganancia diaria de los terneros luego del destete, lo que se reflejó en una menor edad a la faena en machos, pero no afectó la edad al primer celo en las hembras.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the effect of an energetic supplement on the age at slaughter and at first estrus in male and female Hereford calves. Fifty Hereford calves were distributed by sex in two groups: 1- supplemented with sorghum from 140 to 310 days of age; 2) non-supplemented. At weaning, male calves were kept on a high plane of nutrition, while female grazed native pasture. There were no differences between male and female calves in average daily weight gain during the period of supplementation. Supplemented male (190±6 kg) and female (182±6 kg) calves were heavier than non-supplemented male (137±6 kg) and female (137±6 kg) calves. Supplemented calves were younger at slaughter (586 ±17 d) than non-supplemented calves (638 ± 18 d). Carcass composition was similar but supplemented calves had more fat (27%) than non-supplemented male calves (23%; $P<0.05$). The age at first estrus was similar between supplemented and non-supplemented female calves (442±17 d; $P>0.05$). We conclude that the energetic supplement increased the average daily weight gain after weaning, and reduced the age at slaughter in males, but had no effect of the age at first estrus in female calves.

¹ DMV. Pasante Brasileño. INIA Tacuarembó.

² Programa Nacional de Carne y Lana. INIA Tacuarembó. Km 386. Ruta 5. Tacuarembó. Correo electrónico: cvinoles@tb.inia.org.uy

Respuesta de la fermentación ruminal (ph) de vacas holstein pastoreando una pradera de festuca (*festuca arundinacea schreb cv. quantum*) sometida a tres intensidades de defoliación durante su ciclo productivo

Gutiérrez, F.; Mattiauda, D.A.; Motta, G.; Dutour J.; Bentancur, O.; Chilibroste, P. ¹

RESUMEN

Se llevó a cabo un experimento en el departamento de Paysandú (30° Sur), Uruguay con el objetivo de estudiar el efecto residual de la intensidad de pastoreo (Bajo, 7 cm; Medio, 10 cm; y Alto, 13 cm) aplicada durante el 2^{do} año de vida de la pastura sobre el comportamiento ingestivo y la fermentación ruminal de vacas Holando. Los animales pastorearon una pradera polifítica sembrada con Festuca, Trébol blanco y *Lotus corniculatus* durante Julio del año 2009. Se utilizaron 3 vacas primíparas fistuladas en un diseño de cuadrado latino que pastorearon entre las 08:30 y las 14:00 horas. Se suplementaron con concentrado en tres momentos: 2 kg en el ordeño matutino, 2 kg en el ordeño vespertino y 4 kg después del ordeño vespertino (cepos). Se tomaron muestras de licor ruminal 2 días a la semana, 10 momentos al día. El pH ruminal, no exhibió diferencias significativas entre los tratamientos (6,76 para el Alto, 6,75 para el Bajo y 6,78 para el Medio) mientras que se detectaron diferencias significativas para el efecto hora de muestreo ($p \leq 0,05$). La interacción hora*tratamiento no fue significativa. Los tratamientos de intensidad de pastoreo a la que se someta una pradera de festuca, trébol y lotus, no reflejaron diferencias importantes para la fermentación ruminal (pH) en su tercer año de ciclo productivo.

SUMMARY

We carried out an experiment in the Department of Paysandu (30 ° South), Uruguay with the objective of studying the residual effect of grazing intensity (Low, 7 cm, Medium, 10 cm High, 13 cm) applied during the 2nd year of life of the pasture on ingestive behavior and rumen fermentation of Holstein cows. The animals grazed on a meadow planted with Festuca polyphyletic, white clover and Lotus corniculatus during July of 2009. We used 3 fistulated primiparous cows in a Latin square design that grazed between 08:30 and 14:00 hours. Were supplemented with concentrate in 3 phases: 2 kg in the morning milking, 2 kg in the evening milking and 4 kg after the evening milking (traps). Samples of rumen fluid 2 days a week, 10 times a day. The ruminal pH, showed no significant differences between treatments (6.76 for the High, Low and 6.75 to 6.78 for the Environment), while significant differences were detected for the sampling time effect ($p \leq 0, 05$). Time * treatment interaction was not significant. The grazing intensity treatments to which it submits a meadow fescue, clover and lotus, showed no significant differences in rumen fermentation (pH) in its third year of production cycle.

¹Facultad de Agronomía, EEMA C, Paysandú.

Efecto de la inclusión de microorganismos biológicamente activos y un activador de la fermentación ruminal sobre el pH ruminal de vacas holando consumiendo ensilaje de sorgo

Froidevaux, R., Gonzalez, J., Peres de Figueredo, T., Rodriguez, F. Chilibroste, P.; Mattiauda, D.A.¹

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar el patrón de variación diaria de pH ruminal en vacas lecheras secas, comparando las alimentadas con ensilaje de sorgo, de las que además se las suplementó con un activador de la fermentación ruminal,

o microorganismos biológicamente activos. El diseño experimental fue un cuadrado latino de 3 tratamientos por 3 períodos. Como resultados se encontraron diferencias significativas en la variación de pH, sólo para los diferentes horarios de muestreo, lo que se atribuye al consumo de la dieta base es decir el ensilaje.

Palabras clave: pH ruminal, ensilaje de sorgo, activador fermentación ruminal

SUMMARY

The objective of this work was to evaluate the ruminal pH changes in dried dairy cows, comparing those feeding with sorghum silage, from the others that were also supplemented with a rumen fermentation promoter or biological activated microorganism. The experimental design used was a latin square of 3 treatments and 3 periods. As a result it was found a statistical difference in the variation of pH, only between different sampling hours; this was attributed to the pattern intake of the basic diet, the sorghum silage.

Key words: rumen pH, sorghum silage, rumen fermentation promotor

¹Estación experimental Mario A. Cassinoni, Ruta 3 km 363, Paysandú. Correo electrónico: dma@fagro.edu.uy

relación entre la hora de suplementación preparto y la disminución de partos nocturnos en hembras holando

Blanc, J.E.¹; Adrien, M.L.¹; Leone, V.²; Nopitsch, M.²; Viera, J.P.²

RESUMEN

Con el objetivo de disminuir partos nocturnos logrando una mejor supervisión de los mismos en horas diurnas, se investigó el efecto de la hora de suplementación pre parto en el inicio del parto en vacas Holando. Se registró la hora del parto sobre un total de 79 hembras preñadas de la raza Holando (48 multíparas y 31 primíparas), bajo diferentes tratamientos durante la parición de otoño (marzo, abril y mayo). Las vacas y vaquillonas bajo el tratamiento 1 fueron alimentadas con ración comercial preparto a las 8:30 AM horas, mientras que las del tratamiento 2 fueron alimentadas con la misma ración a las 07:00 PM horas. Los dos grupos se encontraban sobre campo natural y tenían acceso *ad-libitum* a heno de Moha (*Setaria italica*) en rollos enteros distribuidos en el potrero. Se estableció como parto diurno los ocurridos entre las 07:00 AM y las 06:30 PM horas, y nocturno los ocurridos después de las 06.30 PM y antes de las 07:00 AM hs. El porcentaje de partos durante el día en vacas alimentadas en la tarde-noche fue significativamente mayor que las alimentadas con la misma ración en la mañana (70,4% vs 33,3%).

SUMMARY

With the purpose of reduce night time calvings achieving better monitoring of them, we have investigated the effect of feeding time on the time of calving of Holstein cows. The time of parturition was recorded for a total of 79 Holstein pregnant females (48 multiparous and 31 primiparous) under different treatments, during autumn calvings (March, April and May). Cows and heifers under treatment 1 were fed with commercial prepartum ration at 8:30 AM., whereas those under treatment 2 were fed at 7:00 PM. with the same ration. Both groups were on natural field and had *ad-libitum* access to rolls of hay of Moha (*Setaria italica*) distributes in the paddock. Delivery was considered diurnal when it occurred between 7:00 AM and 6:30 PM, and nocturnal when it occurred after 6:30 PM and before 7:00 AM. The percentage of calving during daylight hours in night-fed cows (7:00 PM) was significantly higher than in day-fed cows (8:30 a.m.): 70.4% vs. 33.3%.

¹Dpto. de Salud en Sistemas Pecuarios-Facultad de Veterinaria.

²Estudiantes de tesis de grado. Facultad de Veterinaria.

Estabilidad térmica y al alcohol durante la lactancia en vacas

Barros, L.¹; Cardozo, R.²; Gonnet, V.²; Gutierrez, J.²

RESUMEN

Se estudiaron variaciones de composición y estabilidad térmica y al alcohol de la leche de vacas primíparas y múltiparas durante el período de lactancia. Se utilizó un modelo con 49 animales divididos en dos grupos, tomando muestras de leche del ordeño de la mañana y la tarde mensualmente en un tambo, con control de la alimentación y del manejo. Se analizaron las variables número de partos, período de lactancia y los parámetros de composición láctea: proteínas, grasa y lactosa y la estabilidad a la prueba térmica midiendo tiempo de coagulación y la estabilidad a la prueba de mezcla con alcohol en dilución simple y doble mediante análisis estadísticos. Los resultados indican que las leches de las vaquillonas tuvieron mayor inestabilidad térmica ($p < 0.01$) que la de las vacas múltiparas, parámetro que no varió con el período de lactancia. El número de partos no tuvo efectos sobre la estabilidad al alcohol en ninguna de sus dos concentraciones. En la composición de la leche, se relacionó únicamente valores más altos de lactosa con la prueba del alcohol pero no con termoestabilidad. No existió ninguna relación entre la estabilidad al calor y a las pruebas del alcohol ($p < 0,01$), descartándose este último método como predictor de estabilidad a la prueba térmica.

SUMMARY

The aim was to establish variations on milk composition and stability to heat and alcohol tests in the milk of dairy cows. The animals were divided in two groups of at least 20 cows: a group of cows multiparous and another group of heifers. A monitoring was realized monthly during the period of lactation included from March to October. Milk samples were taken in milking of the evening and morning period. Its composition was analyzed (proteins, fat and lactose) and also it was carried out two tests of stability in adding alcohol 1:1 (milk:alcohol 70 % Vol.) or in adding alcohol 2:1. A test of thermal stability was performed in tube using a bath of oil at 140 °C. The results of milk composition (protein, fat and lactose) were analyzed with statistical parametric and not parametric methods. The number of parturition of the dairy cows had an effect on the thermal stability of milk, characterized by the heifers presenting lower time of coagulation, otherwise, higher instability than showed by the milk of multiparous cows ($p < 0.01$). No relation was found between the period of lactation and the compositional variations with regard to thermal stability of milk. As a relationship between the alcohol test and the thermal stability ($p < 0.01$) in milk was not proved, the recommendation is not to use the alcohol test as a predictor of the thermal stability of milk.

¹DV, MSc., PhD. Departamento Patología y Clínica Rumiantes, Facultad Veterinaria. Correo electrónico: luisb@adinet.com.uy

²Doctor en Ciencias Veterinarias. Ejercicio liberal.

Resultados del diagnóstico de miasis en busca de los diferentes estadios larvarios de *Cochliomyia hominivorax* en el departamento de Artigas (enero – abril 2009)

Valledor, M. S.^{1,2}; Petraccia, L.¹; Décia, L.¹; Cabral, P.¹

RESUMEN

Al definir «miasis» se describen las infestaciones de animales domésticos, salvajes y del hombre por larvas de moscas (Diptera) de diferentes especies, que al menos durante un período de su ciclo, se alimentan de tejidos vivos, muertos o del alimento ingerido por el huésped. Se conoce comúnmente como «bichera», son cosmopolitas e incluye géneros como *Cochliomyia* sp. Su ciclo biológico es holometábolo y cualquiera de sus estadios permite diagnosticar el agente causal de la patología. Este trabajo surge en la fase operativa del proyecto «Programa Demostrativo de Control y Establecimiento de las Bases para un Futuro Programa de Erradicación del Gusano Barrenador del Ganado (GBG) en Países del Mercosur». En esta se recolectaron larvas de todas las «bicheras» halladas en predios de esa zona, con el fin de un diagnóstico positivo a *Cochliomyia hominivorax*. Las mismas fueron colectadas en tubos plásticos con alcohol 70%, identificadas y registradas en una planilla. Luego de acondicionados, se remitieron al laboratorio de Parasitología de Facultad de Veterinaria, donde se procedió a su diagnóstico. El objetivo de esta comunicación es presentar los datos obtenidos a partir del diagnóstico de dichas larvas y describir las características morfológicas de los Instar 1, 2 y 3 que permitieron el diagnóstico de las 13682 larvas como positivas a GBG y diferenciarlas de otros dípteros productores de miasis. En 13 semanas se procesaron 971 muestras, 870 procedieron de 23 predios identificados y 101 carecieron de ese dato. Todos los predios fueron positivos a GBG mientras un 70.8% de ellos presentó miasis mixtas. Del 14758 larvas procesadas, 13682 (92.7%) fueron positivas a GBG y 1076 (7.3%) negativas. De ellas fueron diagnosticadas como Instar 1 612 (4,48%) Instar 2 2288 (16,75%) y 10758 (78,77 %) Instar 3, de acuerdo a las características: longitud; forma; presencia, particularidades y disposición de las espinas tegumentarias; número de segmentos; espiráculos anteriores; tubos traqueales dorsales pigmentados; espiráculos posteriores. Se crean una base de datos, de materiales biológicos y registros digitales, que serán utilizados en docencia, y permitirán ampliar los conocimientos acerca de la fauna parasitológica existente en Uruguay.

SUMMARY

«Myiasis» is defined as the infestation made by fly larvae of different species (Diptera) to animals (both domestic and savage) and humans and that at least once in a period of its cycle feed themselves from live tissue or from the food ingested by the host. Widely known as «bichera» in Uruguay, they are cosmopolitan and include genres as the *Cochliomyia* sp. Their biological cycle is holometabolic and all of their stadiums allow to diagnose the agent that is the cause of the pathology. This work comes up at the operative phase of the project called «Demonstrative Program of Control and Establishment of the Grounds for a Future Program for the Eradication of the Cattle Screw-worm in the Mercosur Countries». In this phase larvae were collected from all the «bicheras» found in the cattle fields of the study zone, with the purpose of a positive diagnose of *Cochliomyia hominivorax*. The larvae were collected in plastic tubes with alcohol 70%, identified and registered in a chart. After being properly conditioned, they were sent to the Parasitology lab at the Faculty of Veterinary where its diagnostic was made. The target of this communication is to present the data obtained from the diagnosis of the larvae and to describe the morphologic characteristics of the Instar 1, 2 and 3 that allowed the diagnose of the 13682 larvae as positive to Cattle Screw-worm and differentiate them from other myiasis-producing diptera. In 13 weeks 971 samples were processed, 870 came from 23 identified cattle fields and 101 came from an unknown origin. All cattle fields were positive to Cattle Screw-worm while 70.8% of them presented mixed/combined myiasis. Of 14758 processed larvae, 13682 (92.7%) were positive to Cattle Screw-worm and 1076 (7.3%) were negative. Of the 14758, 612 (4,48%) were diagnosed as Instar 1, 2288 (16,75%) as Instar 2 and 10758 (78,77 %) as Instar 3 according to the the following characteristics: large, shape; presence, peculiarities and disposal of the spine teguments; number of segments; anterior spiracle; dorsal tracheal trunks dark; «posterior spiracle. From these samples a database was created with biological materials and digital registers that will be used for teaching, thus allowing the increase of knowledge regarding the parasitological fauna in Uruguay.

¹Departamento de Parasitología. Facultad de Veterinaria. Montevideo.

²Dirección General de Servicios Ganaderos – DILAVE «Miguel C. Rubino» (MGAP). Correo electrónico: msolvalledor@hotmail.com

Respuesta a la inmunización con vacunas comerciales para *Leptospira* en Uruguay

Alonzo, P.¹; Hernández, E.²; Ocampo, M.¹; Alegre, R.¹; Breijo, M.¹

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta humoral generada luego de la inmunización de bovinos con cuatro vacunas comerciales para *Leptospira* utilizadas en Uruguay. Los anticuerpos anti-*Leptospira* fueron evaluados mediante la técnica de Microaglutinación en placa (MAT) los días 0, 45 y 180 postvacunación. Solo una de las vacunas utilizadas indujo respuesta humoral detectable para todas las serovares presentes en su formulación. El resto no indujeron anticuerpos detectables para las serovares Pomona y Griptiphosa. En estas mismas formulaciones, bajos niveles de anticuerpos ($< 1/100$) fueron detectados para los serovares Wolffi, Tarassovi, Hardjo, Icterohaemorrhagiae y Bratislava. La metodología empleada en este trabajo no es la recomendada para evaluar potencia. Sin embargo, los resultados obtenidos plantean la interrogante de que estas vacunas no sean capaces de proteger frente al desafío de campo. En el futuro, ensayos que estudien la potencia utilizando el modelo en Hámsters, Cobayos o la propia especie destino deben ser realizados para contestar esta pregunta.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the humoral response generated after immunization of cattle with four commercial vaccines for Leptospirosis was used in Uruguay. Anti-*Leptospira* antibodies were evaluated by Microagglutination test (MAT) on days 0, 45 and 180 post-vaccination. Only one of the vaccines induced detectable humoral response to all serotypes present in its formulation. The rest did not induce detectable antibodies to serovars Pomona and Griptiphosa. Under these formulations, low levels of antibodies ($< 1 / 100$) were detected for Wolffi serovars, Tarassovi, Hardjo, Icterohaemorrhagiae and Bratislava. The methodology used in this paper is not recommended to assess potency. However, the results raise the question that these vaccines are unable to protect against challenge in the field conditions. In future, trials that examine the potency using the model in hamsters, guinea pigs or target species itself should be made to answer this question.

¹Unidad de Reactivos para Biomodelos de Experimentación, Facultad de Medicina, Universidad de la República.

²Departamento de Microbiología-Instituto de Higiene, Facultad de Medicina-Universidad de la República.

Identificación y cuantificación de variables que afectan el pH de la carne vacuna en 7 plantas frigoríficas

Feed, O.¹; Bentancur, O.²; Bianchi, G.³; Blanc, P.⁴; Salsamendi, M.⁵

RESUMEN

El pH de la carne determina variables de calidad del producto tales como características organolépticas y vida útil. Con el propósito de identificar y cuantificar diferentes factores que inciden sobre el pH de la carne, se analizaron 2218 registros en canales vacunas de 7 plantas frigoríficas del Uruguay durante los meses de verano a través de encuestas realizadas en plantas frigoríficas (n=7), camiones (n= 70) y productores (n= 88). Los resultados del presente trabajo permiten identificar algunas medidas de manejo y/o decisiones tomadas en diferentes eslabones de la cadena cárnica local que incidirían en la presencia de carne con pH e» 5,8.

Palabras clave: canales vacunas, manejo transporte y faena, pH.

SUMMARY

The meat pH determines product quality variables such as organoleptic and shelf life. In order to identify and quantify various factors that affect the pH of the meat, 2218 records were analyzed in beef carcass of 7 slaughterhouses in Uruguay during the summer months through surveys in the same plants (n = 7) trucks (n = 70) and producers (n = 85). The results of this study, allow to identify some management measures and / or decisions taken at different stages in the local meat chain influencing the presence of meat with pH e» 5.8.

Key words: beef carcasses, transport and slaughter handling, pH.

¹Prof. Adj. Bovinos de Carne. Fac. de Veterinaria, EEMAC. Correo electrónico: osfeed@fagro.edu.uy,

²Prof. Adj. Estadística y computos. Fac. de Agronomía EEMAC.

³Prof. Agdo. Producción Anim. y Pasturas. Fac. Agronomía EEMAC.

^{4 y 5}Estudiantes de tesis de Facultad de Veterinaria.

Enfermedades reproductivas en pequeños productores lecheros del Uruguay

Furtado, A.²; Cattáneo, M.¹; Bermúdez, J.¹; Puentes, R.^{2*}.

RESUMEN

Brucelosis y neosporosis son dos de las principales enfermedades que afectan la performance reproductiva en ganado lechero en el Uruguay. El objetivo de este trabajo fue reportar la presencia de anticuerpos específicos contra estos dos agentes causales de aborto bovino en ganado de aptitud lechera de rodeos de pequeños productores de contexto crítico en el Uruguay. Se muestreado 733 bovinos, hembras, adultos, pertenecientes a las cuencas lecheras de pequeños productores de los Departamentos de Durazno y Tacuarembó. Del total de muestras analizadas para *B. abortus*, todas fueron negativas y para *N. caninum*, se encontraron 211 animales positivos (28.79%), 517 negativos (70.53%) y 5 animales dudosos (0.68%). Los resultados obtenidos demuestran la presencia de anticuerpos específicos contra *N. caninum* en esta zona. Este es el primer reporte serológico de *N. caninum* en cuencas de pequeños productores lecheros de contexto crítico en el Uruguay.

Palabras clave: Sanidad, *Brucella abortus*, *Neospora caninum*, lechería, Uruguay.

SUMMARY

Brucellosis and neosporosis are two of the major diseases that affect reproductive performance in dairy cattle in Uruguay. The aim of this study was to report the presence of specific antibodies against these two causal agents of bovine abortion in cattle in Uruguay. Seven hundred thirty three cattle were sampled, females, adults, belonging to the dairy herds of small producers from the Departments of Durazno and Tacuarembó. From the total samples analyzed for *B. abortus*, all were negatives. To *N. caninum* 211 were positive (28.79%), 517 negative (70.53%) and 5 doubtful animals (0.68%). The results show the presence of specific antibodies against *N. caninum* in this area. This is the first serological report of *N. caninum* in small dairy farmers in critical context from Uruguay.

Key words: Health, *Brucella abortus*, *Neospora caninum*, dairy, Uruguay.

¹Área de Bacteriología. Facultad de Veterinaria. UdelaR. Uruguay.

²Área de Inmunología. Facultad de Veterinaria. UdelaR. Uruguay. Correo electrónico: rpuentes@adinet.com.uy

REVISTA DE LA SOCIEDAD DE MEDICINA VETERINARIA DEL URUGUAY

Veterinaria es la revista oficial de la Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay destinada a publicar artículos en idioma español sobre temas técnicos, científicos y otras comunicaciones referentes a las Ciencias Veterinarias.

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

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES DE TRABAJOS PARA PUBLICACIÓN

Normas Generales

Los trabajos se enviarán a la Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay, Consejo Editor de la revista Veterinaria, Cerro Largo 1895, CP11200, Montevideo, original y soporte informático (preferencia por correo electrónico a revistavet@yahoo.com).

El texto será archivado en formato "Word" y no deberá exceder de 20 páginas en formato A4, escrito en una sola carilla, con margen de 2,5 cm a cada lado y deberá estar escrito con caracteres de 12 puntos, con interlineado doble y numeración de líneas.

Los cuadros y figuras deben ir al final del manuscrito (cada una en hoja aparte).

Las fotografías o impresiones serán en blanco y negro (con 300 dpi de resolución como mínimo), en un máximo de 5 que serán adjuntadas al original, con leyenda en hoja aparte y numeradas al dorso indicando el borde superior derecho. Las fotografías o ilustraciones en color podrán ser publicadas pero a costo de los autores, no se aceptarán diapositivas.

Los autores solicitarán por nota aparte y con la firma de todos ellos la publicación del trabajo, designando a uno de los mismos para ser enviada la correspondencia (indicando dirección postal completa, teléfono, fax y correo electrónico), dejándose establecido que el mismo no se ha publicado ni se ha remitido a ninguna otra publicación periódica. Se aceptarán trabajos que hubieran sido publicados como resúmenes o comunicaciones cortas en congresos, simposios o jornadas, debiéndose en este caso indicarse en el pie de la primera página del artículo.

Los trabajos recibidos serán evaluados por el Consejo Editor pudiendo darle los destinos siguientes: aceptarlos, devolverlos a los autores para su adecuación o rechazarlos.

El Consejo Editor los clasificará en:

1. Trabajo Científico (artículo original, comunicación corta, revisión) y
2. Trabajo de Difusión (práctica veterinaria, diagnóstico, tecnológico, conferencia).

Los autores recibirán 10 separatas. 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.

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 reconocidos especialistas del tema nacionales e internacionales.

2. Trabajos de Difusión

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 Consejo Editor evaluará el trabajo y lo clasificará según su contenido en: prácticas veterinarias, casos clínicos, diagnósticos, tecnológicos, conferencias, educación, u otro según corresponda.

Normas de redacción para Artículos Originales

Contendrán los siguientes elementos:

Título: Será lo más breve y claro, reflejando exactamente lo que el trabajo contiene. Escrito en minúsculas.

Nombre de Autores: Apellido, Inicial del nombre; otro/s nombres ejemplo: Vidal, L.₁; Gómez, J.₂

Dirección de autores (en pie de página): ejemplo:

¹ Departamento de Bovinos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Suipacha 698, Buenos Aires, Argentina, tel.: (497)3002511, e-mail: vidal@facvet.com.

² Facultad de Veterinaria. Se detallará solamente la dirección postal completa del autor responsable o correspondiente, para los demás autores solamente el nombre de la institución.

RESUMEN

Dará una idea clara y precisa del contenido del artículo, conteniendo: objetivos, metodología, resultados, conclusión. No debe excederse de 200 palabras, escrito en español en tiempo presente y en un sólo párrafo luego del encabezado del título y los autores.

A continuación poner las Palabras clave: hasta cinco

SUMMARY Es la traducción del Resumen. Las palabras clave en inglés es Key words (basadas en el CAB Thesaurus).

INTRODUCCIÓN

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 en general (en el mundo, etc.) y en particular (en el país), eligiendo las informaciones más recientes y más relevantes. Se deben dar los fundamentos científicos del estudio y definir claramente cuál es el propósito de escribir el artículo, precisando en el último párrafo los objetivos del trabajo. Escrito en tiempo presente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los autores deben dar suficientes detalles para que un investigador competente pueda repetir los experimentos y definir el diseño experimental. Describir claramente los animales utilizados, su número, especie, género, raza, edad. El diseño que utilice animales debe estar aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA).

Mencionar los reactivos, drogas o medicamentos por su nombre genérico o químico o por marcas comerciales patentadas. Los métodos y procedimientos deben ser detallados y bibliográficamente referenciados. Deben precisarse con claridad, tiempos, temperaturas, etc. Los métodos de los análisis estadísticos deben señalarse y citarse bibliográficamente.

RESULTADOS

La descripción de los resultados obtenidos debe presentarse con claridad. Primeramente dar una visión general de los resultados experimentales y luego pueden describirse en cuadros o figuras (gráficos, dibujos, fotografías) los datos de los experimentos. No deben presentarse datos repetitivos o demasiado extensos. Deben usarse medidas del sistema métrico decimal dentro de lo posible u otras medidas convencionales. Los análisis estadísticos de datos deben señalar su significación. Debe redactarse en tiempo pasado.

DISCUSIÓN

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. 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

Se deberán sacar conclusiones que sean justificadas por los datos expresándolas en forma clara. Se deben resumir y globalizar las conclusiones parciales que se obtuvieron de diferentes resultados del trabajo. No deben darse conclusiones demasiado generales. Debe haber una coherencia entre los objetivos, los resultados y las conclusiones, pudiendo sugerirse recomendaciones.

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.

Referencias Bibliográficas

En el texto: Al final de cada párrafo se citará entre paréntesis (Apellido autor, año) o si los autores fueran dos se colocarán los (apellidos de ambos y el año) o si son varios (Apellido 1er Autor y col., año).

En la cita de comunicaciones personales: se cita el Nombre (apellido, inicial del nombre) (Año), se hace una llamada y se cita al pie de página con el texto: Comunicación personal. No citar en las referencias bibliográficas.

En el ítem de **Referencias bibliográficas:** Debe hacerse especial atención al texto de las referencias bibliográficas, no se aceptarán trabajos mal referenciados. Las referencias deben colocarse en orden alfabético de autores. Deberán citarse de la siguiente manera: Apellido seguido de coma y un espacio (,) y luego la(s) inicial(es) seguida(s) de un punto (.). Ej.: González, R. Si hubieran varios autores deben separarse entre sí por un punto y 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. o el nombre completo de la revista, seguido por el volumen, el número entre paréntesis, seguido por los números de páginas precedidos por dos puntos, ejemplos: 12:44-48. o también: 12(8):44-48. Ejemplo: **González, R.; López, A. (1989) Paraqueratosis en suinos. Am.J.Vet.Res. 12(8):44-48.**

En el caso de la cita de libros, se indicará Autores (Año) Título, n° de edición (salvo la 1era.), Lugar 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, In: 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.

No citar en ésta sección (referencias bibliográficas) las comunicaciones personales. Se citan al pie de la página en el texto.

Cuadros

Los cuadros deben tener un n° de identificación correlativo que figurará en el texto y contendrán un texto de título en la parte superior. Deben contener información sobre el experimento que lo autodefinan. Las referencias o símbolos de los cuadros se presentarán al pie del mismo en letra cursiva de tamaño 10 puntos. Ejemplo: Cuadro 1. 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 y Gráficos

Las figuras o gráficos deben tener un n° 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 figura o gráfico no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

Fotos

Las fotografías y especialmente las microfotografías deben contener una escala de referencia. Deben tener un n° 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.

Normas de redacción para Revisiones

Es un trabajo científico con el objetivo de efectuar una revisión o recapitulación actualizada de los conocimientos presentando una evaluación crítica de la literatura publicada según la perspectiva del autor. Este tipo de trabajo permite una mayor discrecionalidad en la presentación de la organización pero debe mantener rigor científico. Deberán describirse los objetivos y el alcance que se pretende lograr. La cita de bibliografía será la misma que la de los artículos originales.



