



Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay

Año LXII Vol. 37 N° 147-148 Abril - Setiembre de 2002

Cerro Largo 1895 - Montevideo - Uruguay Tel-Fax (598-2) 408 6174 - 409 9458 - Email: smvet@adinet.com.uy



## Contenido

### Editorial

### Artículo Original

Estudio de la estructura genética de la raza Holando uruguayo mediante marcadores genéticos. Comparación intra-racial.

Kelly, E.L.; Mortari, N.; De Andrés, D., Postiglioni, A. .... 7

### Artículo Original

Caracterización de un herpesvirus, aislado de un ternero, con signos nerviosos y sin respuesta inmune humoral específica

Alonzo, P.; Benavides, U.; Isnardi, F.; Puentes, R.; Carol, H.; Clavijo, A.;

del Campo, R.; Bonnevaux, J.; Weiblen, R.; Fondevila, N.; Romera, S.A.; Sadir, A.M.;

Maisonnave, J.<sup>1</sup> ..... 15

### Comunicación Corta

Divisiones del ciego y colon ascendente del conejo (*Oryctolagus cuniculus*)

Möller, R.; Pérez, W.; Martin, E. .... 23

### Diagnóstico

Presencia de nuevos géneros y especies de estrongilidos en los equinos en Uruguay

Falcón, J. D. .... 27

### Conferencia

La Rabia

Rossi, D. .... 31

Esta edición consta de 1600 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 Fac. de Veterinaria. Se realiza el canje internacional por otras publicaciones científicas.



# VETERINARIA

ISSN 0376 - 4362 - Indizada en: Vet-CD/BEASTCD



## REDACTOR RESPONSABLE:

Analía Cobo, DMV

## CONSEJO EDITOR "Profesor Walter García Vidal":

Pedro Bañales, DMV

Luis Barros, DV, MSV, PhD

Daniel Elhordoy, DV, FRCVS

Gonzalo Leaniz, DMV

Jacqueline Maisonnave, DMV, PhD

María A. Solari, DV

## Asesor Bibliotecológico:

Elba Domínguez

## ARBITROS de los TRABAJOS CIENTÍFICOS (1997 - 2001)

Berthelot, X.	(DMV)	FRANCIA	Martin, E.	(DMV)	URUGUAY
Camarotte, D.	(DMV)	URUGUAY	Pérez Clariget, R.	(DMV)	URUGUAY
Cardelino, R.	(Ing. Agr.)	URUGUAY	Pimentel, C.	(DMV)	BRASIL
Cardozo, E.	(DMV)	URUGUAY	Riet Correa, F.	(DMV)	BRASIL
Cardozo, H.	(DMV)	URUGUAY	Rodríguez, H.	(DMV)	SUECIA
Castells, D.	(DMV)	URUGUAY	Theis, J.H.	(DVM)	USA
Cattaneo, G.	(DMV)	CHILE	Traldi, A.	(DMV)	BRASIL
Eddi, C.	(DMV)	ARGENTINA	Trejo González, A.	(DC)	MÉXICO
Feinstein, R.	(DMV)	SUECIA	Trica, G.	(DMV)	URUGUAY
Flores, E.	(DMV)	CHILE	Tortora, J.	(DMV)	MÉXICO
Lazaneo, E.	(DMV)	URUGUAY	Uriarte, G.	(DMV)	URUGUAY
Leites, O.	(DMV)	URUGUAY	Weiblen, R.	(DMV)	BRASIL

## CONSEJO DIRECTIVO (2000 - 2004)

**Presidente:** Dra. Analía Cobo Leturia

**Presidente Suplente:** Dr. Humberto Tommasino

**Titulares:** Dr. José Gallero Quadros

Dr. Roberto Acuña

Dr. Carlos Morón

Dr. Eduardo Galagorri

**Comisión Fiscal:** Dr. Oscar Ferreira

Dr. Daniel Alza

Dr. Omar Landeira

## CENTRO DE VETERINARIOS DE LA SMVU

### ARTIGAS

Ramón Rodríguez  
Lavalleja 234

### CANELONES

Ramiro Díaz  
Batlle 304

### CERRO LARGO

Alberto Sanner  
Melo, Esteban Vieira 658

### COLONIA

Hugo Betancour  
José Artigas s/n  
Colonia Miguelete

### DURAZNO

Ana Acuña  
Artigas 375

### FLORES

Héctor García Pintos  
Trinidad, Granja Roland

### FLORIDA

Luis Alborno  
Luis A. de Herrera 481

### LAVALLEJA

Amalia Villalba  
Minas, Rodó 424

### MALDONADO

Juan C. Dibarbour  
Veterinaria Maldonado  
Velázquez esq. Mitre

### PASO DE LOS TOROS

Carlos Casadei  
Leandro Gómez 514

### PAYSANDU

Carlos Pepe  
Uruguay 1189

### PANDO

Alberto Varela  
Wilson Ferreira 1017

### RIO BRANCO

Pedro Fleitas  
Virrey Aredondo

### RIO NEGRO

Carlos De Mateo  
Young, 19 de Abril 1920

### RIVERA

Rafael Piazze  
Luis A. de Herrera 536

### ROCHA

Omar Pereyra  
Zorrilla de San Martín 157

### SALTO

Francisco Hermann  
Washington Beltrán 69

### SAN JOSE

Joaquín Rossi  
Colón 523

### SORIANO

Edgardo Bellini  
Mercedes, Sánchez 811

### TACUAREMBO

Pedro Dutra  
Lab. Vet. "El Campo"

### TREINTA Y TRES

Mónica Burgos  
Basilio Araújo 1038 A

## DELEGATURAS DE LA SMVU

### CONAHS

Anibal Ibarburu  
Oscar Ferreira  
Agustín Landeira

### AUDU

Ana Terzhagui  
Eduardo Galagorry

### C.H.L.C.H.

Mariano Carballo  
Jesús Falcón

### FUNDACION "MARCO PODESTA"

Alvaro Olivera

### COMISION ASESORRA C.J.P.P.U.

Walter Faliveni  
Julia Saizar  
Alicia Baldovino

## ASOCIACIONES ESPECIALIZADAS QUE INTEGRAN LA SMVU

Comisión de Reproducción e Inseminación Artificial (CRIA)

Sociedad de Buiatría del Uruguay

Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en  
Pequeños Animales (SUVEPA)

Soc. Uruguaya de Vet. Especialistas en  
Animales Silvestres (SUVEAS)

Soc Veterinaria Especialistas en Cerdos (SVEC)

Asoc. Uruguaya de Veterinarios Laboratoristas (AUVELA)

Asoc. Vet. Esp. Protección Alimentos (ANEPA)

## INTEGRACIÓN de COMISIONES

### SEDE SOCIAL

Rafael Varela  
Jorge Butthyany  
Juan José Mari  
Alicia Baldovino  
**MERCOSUR**  
Hugo Fontaña  
Julio García Lagos  
Ignacio Pereira  
Eugenio Perdomo  
Angela Rista  
Luis Barros  
Jorge Baraibar  
Orgelio Cabrera  
**FESTEJOS**  
Elbio Sosa  
Rafael Varela  
Analía Cobo  
Magela Damiani  
María Raimondi

### FINANZAS

Oscar Ferreira  
Rafael Varela  
Ariel Saez  
**BOLETÍN Y R.R.P.P.**  
Luis Delucchi  
Daniel Alza  
M. Guadalupe  
Daniel Rossi  
Fernando Echezarreta  
Alvaro Fernández  
Viviana Cuñarro  
**REVISTA**  
María Solari  
Jacqueline Maisonnave  
Daniel Elhordoy  
Luis Barros  
Pedro Bañales

### CURSOS Y

**CAPACITACION**  
Oscar Ferreira  
Eduardo Galagorry  
Juan José Mari  
Inés Sierra  
Ana de León  
**CULTURA Y**  
**DEPORTES**  
Walter Faliveni  
Raúl Piaggio  
Raquel Pérez  
J. de Miquelerena  
**ESTATUTOS**  
Eduardo Galagorry  
Joaquín Rossi  
Gastón Casaux  
Oscar Ferreira  
Margarita de Miquelerena

### ASUNTOS

**UNIVERSITARIOS**  
Julio García Lagos  
Angela Rista  
Luis Alberte  
Gastón Cossia  
Mario Alvarez  
Carlos Pereira  
Gabriel Maruri  
**DECRETO 160/97**  
G. De Gregorio  
Luis Delucchi  
Alvaro Trinidad  
**REPRODUCCION**  
Pedro Bañales  
Guillermo de Navas  
A. Durán del Campo  
Luis Cuenca  
Gabriel Durán



Estimados colegas, hemos sido llamados a escribir el editorial de este número 147/148. Para ello hemos estado re-leyendo a muchos de los que nos precedieron y hemos podido comprobar muchas y muy interesantes cosas.

Algunos editoriales nos han recordado los 91 años de la propia asociación gremial a la cual pertenecemos, los 93 años de los estudios veterinarios en el Uruguay, la creación allá por la década del 50 de la Asociación de Colaboradoras de la Medicina Veterinaria, tan estrechamente ligada a nuestra profesión.

Hemos repasado como se creó la Academia Nacional de Veterinaria, logro bien cercano en el tiempo y producto del esfuerzo de muchos colegas.

Hemos visto como los veterinarios trabajamos incansablemente en la lucha contra la Fiebre Aftosa, por medio de aquellos colegas que participaron en cada etapa, desde «Di.L.F.A.» y desde antes hasta la fecha, trabajando por más de 40 años, siendo creativos, dándole impulso y llevando sobre los hombros esta campaña, muchas veces «luchando» en condiciones adversas.

Hemos comprobado también que en todo lo que a campañas sanitarias se refiere, se ha desempeñado un rol protagónico, dándole a nuestro país un status sanitario reconocido en el mundo, ya se trate de bovinos, de aves, de sus subproductos, en fin, en todas aquellas áreas donde hay un veterinario trabajando, abriendo así las posibilidades de nuevos mercados, certificando exportaciones, en definitiva, eliminando barreras no arancelarias.

Referente a la salud humana, hemos encontrado en nuestra Revista muchísimo trabajo al respecto y si bien parece algo tan obvio para el mundo, creemos que merece la pena que los uruguayos lo recordemos una vez más, que tengamos presente el trabajo de los veterinarios en Hidatidosis, en Toxoplasmosis, en Brucelosis, en Leptospirosis en tuberculosis, por citar solamente algunas enfermedades.

Y cómo no encontrar en nuestra revisión de Revistas anteriores, su número 100, en ese momento bajo la responsabilidad del Dr. García Vidal. Y el convenio que nuestra SMVU, representada por el entonces Presidente Dr. García Lagos, y el Decano de nuestra Facultad de Veterinaria, Dr. Marco Podestá, firmaron, haciendo posible un muy fructífero intercambio con todo el mundo académico.

También hemos recordado como se han realizado ya seis Congresos Nacionales. Todos ellos con el esfuerzo de muchos de los integrantes de nuestro gremio, que cada uno en su área de trabajo, ya sea en producción, en reproducción, en tecnología de los alimentos, en animales de compañía, de zoológicos, y en un muy largo etcétera, dieron muchas horas de su tiempo para lograr el éxito que se alcanzó en todos y en cada uno de ellos.

Y por supuesto el trabajo que durante años aquellos veterinarios del área de buiatría han realizado, esfuerzo que se ha concretado en las Jornadas de Buiatría, ya van treinta, organizadas por el Centro Veterinario de Paysandú en forma ininterrumpida, correspondiendo en siete oportunidades a Congresos o Jornadas Latinoamericanas. Lo que sin duda

avala un logro que nadie nos regaló, sino que la profesión se ganó, y nos referimos a la nominación como país sede del XXI Congreso Mundial de Buiatría del Año 2000, desafío que no solo convocó a los colegas buiatras, sino a la profesión toda y también al país.

Sin duda no nos sería suficiente un editorial para ayudarnos a refrescar nuestra memoria colectiva, repasando todos aquellos logros y espacios de trabajo y de participación por los que hemos transitado a lo largo de nuestra historia profesional y gremial. Y reconociendo que no siempre han sido recordados ni valorados con justicia, aún por nosotros mismos, pero que han hecho a la propia razón de ser de nuestra profesión e íntimamente unida a ella, a la existencia de nuestra «S.M.V.U.».

Con la certeza de que en la vida se puede actuar de dos maneras, «POR ACCION O POR OMISION»; y luego de haber repasado tantas y tan fructíferas acciones desarrolladas por nuestra profesión a lo largo de tantos años, invitamos a toda ella a emprender un camino de ACCION, participativo y de trabajo, ya sea creando espacios o impulsando criterios en los que creamos (de creer), mediante los que podamos hacer nuestro aporte para mejorar la calidad de vida de nuestra gente, de nuestras familias, de nosotros mismos...

**Dra. Adriana Rodríguez**  
Presidenta Sociedad de Buiatría del Uruguay



# Estudio de la estructura genética de la raza Holando Uruguayo mediante marcadores genéticos. Comparación intra-racial

Kelly, E.L.<sup>1</sup>; Mortari, N.<sup>2</sup>; De Andrés, D.<sup>3</sup>; Postiglioni, A.<sup>1</sup>.

## RESUMEN

El estudio de la estructura genética de la raza Holando Uruguayo (HU) se realiza en una muestra de 357 animales, correspondiendo a 138 madres, 42 padres y sus 177 crías. Se testan 8 sistemas de grupos sanguíneos (A, B, C, F, J, L, S, Z), obteniéndose un menor número de alelos del sistema B en las crías. Para evaluar la variabilidad de nuestra población se calcula el índice de heterocigosidad medio (IH). Se demuestra que ésta es mayor en las madres que en las crías. Se comparan las frecuencias genotípicas observadas en la generación filial con las frecuencias esperadas de acuerdo al cruzamiento al azar entre los padres y las madres para los sistemas A, F, J, L y Z. Los sistemas J y Z presentaron un  $X^2$  significativo, siendo sus posibles causas el efecto producido por el uso de pocos padres con gran número de crías. Se calcula la distancia genética (DG) e identidad (genética) de Nei entre la muestra de HU y la población de Holstein-Friesian (HF) de USA, por ser su principal ancestro. Esta se estima a partir de la frecuencia génica de los 7 sistemas, siendo la identidad promedio entre HU y HF de USA muy alta (0,9807). En relación a los marcadores analizados, se concluye que existiría una disminución de la variabilidad genética en la siguiente generación y una gran similitud entre las poblaciones de HF de USA y Uruguay.

**Palabras clave:** Grupos sanguíneos, diversidad bovina, Holando Uruguayo.

## SUMMARY

A total of 357 blood samples were collected from Holstein Friesian cattle in Uruguay, distributed as follows: 138 cows, 42 bulls and 177 calves. Blood groups were determined by using 39 reagents from 8 systems (A, B, C, F, J, L, S, Z). In order to evaluate the degree of genetics variability in our sample, the average Heterozygosity was calculated. On the other hand, the average Heterozygosity was higher in cows than in calves, that together with a diminished number of alleles in B locus for progeny, points out a fall in genetic variability in the next generation. The significance of differences between the obtained and expected values of genotypic frequencies found in the progeny for systems J and Z seem to be caused by a limited number of sires rather than by other factors effecting the changes in gene frequencies. Nei's measures of normalized genetic identity and standard genetic distance between two populations were calculated for populations from Uruguay and USA over 7 loci. Those measures show that the HF populations from the USA and Uruguay are the closest ones. Summing up all the results, we conclude that there is a decrease in the genetic variability of the Uruguayan HF progeny generation and a high similarity between HF populations from the USA and Uruguay.

**Keywords:** Blood groups, diversity cattle, Holstein-Friesian-Uruguay.

## INTRODUCCIÓN

El estudio de la estructura y variabilidad poblacional a través de los marcadores genéticos, nos permite evaluar los efectos producidos en las poblaciones por diferentes métodos de cría y la relación genética entre ellas. Los grupos sanguíneos, por poseer sistemas complejos con elevado grado de polimorfismo, se consideran marcadores genéticos apropiados para realizar este tipo de estudios (11, 20).

Por otro lado es de gran importancia conservar la variabilidad genética en las poblaciones de animales de producción ya que es un pre-requisito para el progreso de la selección y para su sobrevivencia, pues si todos los individuos tuvieran los mismos genes, no existiría la capacidad de adaptarse a los cambios ambientales y se produciría la extinción de esa raza o población (15, 18). Entre las causas que disminuyen la variabilidad pro-

duciendo una erosión genética tenemos: número reducido de individuos fundadores, consanguinidad y uso extensivo de la inseminación artificial. Por ejemplo la raza HF de USA cuya población excede los 10 millones, tiene un tamaño efectivo muy bajo (< 1000), como resultado del uso sistemático de la inseminación artificial permitiendo que unos pocos machos dejen descendencia (7). Esta erosión genética limita la adaptación de la población a nuevas circunstancias y afecta el futuro de la cría bovina al reducirse la base genética sobre la que se seleccionan los fenotipos deseables en el futuro ([www.ri.bbsrc.ac.uk/cdiv\\_www/inform.htm](http://www.ri.bbsrc.ac.uk/cdiv_www/inform.htm)). Recientes estudios sobre la evolución de la variabilidad genética en diferentes razas en base a los marcadores genéticos sanguíneos han demostrado los efectos producidos por la intensa selección sobre la reducción de los niveles de la misma (14; 3; 10).

Recibido: 20/06/02 Aprobado: 22/07/02

<sup>1</sup>Área Genética. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República Oriental del Uruguay. Montevideo. A. Laspaces 1550. CP 11600., e-mail: gokelly@adinet.com.uy.

<sup>2</sup>Universidad Federal de San Carlos. S.P. Brasil.

<sup>3</sup>CSIC. España.

La raza Holando del Uruguay representa el 90 % del ganado lechero de nuestro país (DICOSE, 1988). Su origen data del año 1889 con las primeras importaciones de animales de Holanda, pero recién a principios de siglo comienza la creación de la raza con el mayor ingreso de animales provenientes de USA y Argentina. En el año 1971 con la importación de semen congelado de USA y Canadá comienza la expansión de la raza (5).

El objetivo del presente trabajo es analizar la variabilidad genética del Holando Uruguayo a través de marcadores sanguíneos y su relación con otras poblaciones HF de diferentes países, especialmente con su principal ancestro el HF de USA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudia una muestra al azar de 357 bovinos Holando de pedigree, constituida por 138 madres 42 padres (90% eran semen importado de USA y Canadá) y sus 177 crías. La misma pertenece a 16 establecimientos de la cuenca lechera de Montevideo. Por lo cual se realiza un test de homogeneidad entre las muestras antes de reunir las como una población.

A cada animal se le extrajo una muestra de sangre con anticoagulante y fue analizada según la técnica serológica de hemólisis descrita por Stormont y col. para determinar 8 sistemas de grupos sanguíneos (21,22). La tipificación se realizó incubando a 25°C una mezcla de 50 µl de reactivo de grupos sanguíneos, 25 µl de una suspensión de glóbulos rojos lavados al 3% en solución fisiológica de cada individuo a tipificar y 25 µl de complemento de conejo fresco. La lectura de la reacción se registra a los 90 minutos y a las 3 hs. a partir del inicio de la incubación. Los 37 reactivos de grupos sanguíneos fueron aislados mediante inmunizaciones (12), siendo la batería la siguiente: sistema A (A2); B (B1,G2, II, I2, O1, Q1, Y2, P1, A', B', D', E', 2G, I1, J', O2, Q', Y', G'); C (C1, C2, W, R1, X1, L'); F (F1, V2); J (J); L (L); S (S, H', U1, U', U''); Z (Z1). La estandarización de los reactivos fue realizada a través del test de comparación internacional organizado por la International Society for Animal Genetics (ISAG), lo cual permitió realizar los estudios comparativos con otras poblaciones de HF.

A partir de la lectura del test se determinaron los grupos sanguíneos para cada animal o sea su hemotipo o genotipo sanguíneo.

La caracterización racial se realizó mediante la estimación de las frecuencias génicas de la población a partir de los genotipos sanguíneos determinados. Dichas frecuencias se calcularon por separado para madres, padres y crías con el fin de evitar la superposición de generaciones, ilustrar las diferencias entre machos y hembras y conocer la evolución de la variabilidad de la raza Holando uruguayo. La determinación de los fenogrupos (alelos) de los sistemas complejos B y S en los productos se realizaron por análisis de segregación de factores en familias de toros. La frecuencia génica de estos sistemas se calcularon por el método de aloación (17). Para el sistema C no se le calcularon las frecuencias génicas debido a que en muchos casos no se pudo determinar los fenogrupos. El cálculo de las frecuencias génicas del sistema codominante F se hizo por recuento de genes y la de los sistemas con dominancia completa (A, J, L, Z) con 2 alelos mediante la raíz cuadrada de la frecuencia relativa del genotipo homocigota recesivo. El sistema A se lo incluyó dentro de este grupo de sistemas por ser testado para un solo factor sanguíneo. Para el sistema F se realizó el test de equilibrio génico Hardy-Weinberg con el método de  $X^2$ . Además, se evaluó por éste método si las frecuencias genotípicas observadas en la generación filial se desviaban significativamente de las esperadas por el cruzamiento de las generaciones parentales.

La variabilidad genética se estima mediante el coeficiente de consanguinidad y el índice de heterocigosidad medio esperado (1). El coeficiente de consanguinidad (f) (13) se calcula como:

$$f = \frac{H_{\text{esp}} - H_{\text{obs}}}{H_{\text{esp}}}$$

Donde:

H representa la frecuencia relativa de los heterocigotas esperados y observados respectivamente.

La comparación del HU con las poblaciones de HF de USA y la de España se realizó en base a los resultados descritos

en la bibliografía (9; 23). Para ello se estima la DG estándar y la identidad genética (IG) normalizada (16) mediante el programa informático descrito por Dowling y Moore (6). La DG e IG se estima a partir de las frecuencias génicas y calcula la probabilidad de que dos alelos tomados de cada población sean idénticos, si tienen alelos iguales su valor es 1 y ninguno es 0 (2). Para un locus se calcula como:

$$IG = \frac{\sum a_i b_i}{\sqrt{\sum a_i^2 \cdot \sum b_i^2}}$$

Siendo:

ai la frecuencia de los alelos en la población A y bi los de la población B.

La DG estima el número de sustituciones alélicas por locus y se calcula como:

$$DG = -\log_2 n$$

También se calculó el índice de heterocigosidad medio esperado que mide la variabilidad de una población como:

$$IH = 1 - \sum p^2$$

Siendo p la frecuencia de los diferentes alelos de un locus.

Como el sistema B de grupos sanguíneos fue analizado con diferentes números de reactivos en las poblaciones de Uruguay y de USA, para realizar la comparación de las frecuencias génicas fue necesario igualar los fenogrupos, agrupándose aquellos fenogrupos semejantes y sus frecuencias génicas en la población de USA.

## RESULTADOS

En el Cuadro 1 se detallan los sistemas de grupos sanguíneos del HU con sus alelos y sus respectivas frecuencias génicas. Se determinaron 39 fenogrupos diferentes en el sistema B encontrándose 4 fenogrupos propios de nuestra población. El test de homogeneidad entre las muestras de los 16 establecimientos, fue no significativo, reuniéndose por lo tanto como una sola población.

El test de equilibrio génico para el sistema F demostró ser levemente significativo ( $X^2 = 3.94$ ;  $P < 0.05$ ) para las madres, con un coeficiente de Consanguinidad de  $f = 0.1797$  (Cuadro 2).

En la transmisión de los alelos de la generación parental a la filial se observó una

**Cuadro 1.** Frecuencia alélicas de los grupos sanguíneos de la raza Holando del Uruguay.

SISTEMAS ALELOS		FRECUENCIAS		
		Padres	Madres	Crias
A	A <sub>2</sub>	.225	.335	.226
	a	.775	.665	.774
B	b	.0169	.0105	.0186
	BG <sub>2</sub> I <sub>1</sub> O1A'	.0122	.0	.0
	<b>BG<sub>2</sub>KO'G»</b>	.0	.0036	.0
	BG <sub>2</sub> K(Y <sub>2</sub> )E' <sub>2</sub> O'	.0122	.0109	.0056
	BG <sub>2</sub> KA'O'	.0	.0036	.0
	BG <sub>2</sub> KA'I'O'G»	.0	.0036	.0056
	BG <sub>2</sub> KY <sub>2</sub> A'I'O'G»	.0122	.0	.0028
	BI <sub>1</sub>	.0	<b>.0078</b>	.0
	BO <sub>1</sub>	.0122	<b>.0380</b>	.0199
	BO <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	.0	.0266	.0166
	BO <sub>1</sub> B'	.0122	.0151	.0113
	BO <sub>1</sub> D'(Y <sub>2</sub> )	.0122	.0109	.0028
	BO <sub>1</sub> G»	.0	.0036	.0030
	BY <sub>2</sub> A'G'Q'G»	.0	.0257	.0085
	G <sub>2</sub> I <sub>1</sub>	.0123	<b>.0493</b>	<b>.0226</b>
	G2O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub>	.0	.0	.0028
	G <sub>2</sub> Y <sub>2</sub> D'	.0	.0036	.0028
	G <sub>2</sub> Y <sub>2</sub> E' <sub>2</sub> Q'	<b>.2446</b>	<b>.2073</b>	<b>.2386</b>
	I <sub>1</sub>	.0	.0049	.0028
	I <sub>2</sub>	<b>.0366</b>	<b>.0726</b>	<b>.0706</b>
	I <sub>2</sub> D'G'	.0	.0	.0028
	O <sub>1</sub> Y <sub>2</sub> G'G»	.0244	.0073	.0169
	O <sub>1</sub> A'	<b>.0244</b>	<b>.0620</b>	<b>.0452</b>
	<b>O<sub>1</sub>A'P'Q'</b>	.0	.0036	.0028
	P	.0	.0036	.0056
	Q	.0	.0036	.0
	Y <sub>2</sub> A'	<b>.0854</b>	<b>.0923</b>	<b>.0814</b>
	<b>Y<sub>2</sub>A'D'G'P'Q'</b>	.0	.0036	.0028
	Y2A'Y'	.0	.0036	.0113
	A'	.0122	.0115	.0098
	D'G'O'	<b>.1601</b>	<b>.0292</b>	<b>.0791</b>
	<b>D'G'O'G»</b>	.0	.0073	.0028
	G'G»	<b>.0366</b>	.0074	<b>.0313</b>
	G'O'G»	.0	.0073	.0
	J'O'	<b>.0610</b>	<b>.1273</b>	<b>.0932</b>
	I'	.0	.0036	.0
	Q'	<b>.0953</b>	<b>.0992</b>	<b>.1008</b>
	G'	.0443	.0	.0057
	G'	<b>.0732</b>	.0259	<b>.0731</b>

Cuadro 1. continuación

F	F		.75	.88	.82
		V	.25	.12	.18
J		j	.71	.69	.87
		Jcs	.29	.31	.13
L		l	.74	.79	.73
		L	.26	.21	.27
S		s	.543	.461	.323
		SH'	.087	.077	.091
		UH'	.024	.032	.033
		U'	.024	.024	.026
		H'	.322	.406	.335
Z		z	.83	.67	.80
		Z	.17	.33	.20

Los factores entre paréntesis indican su posible existencia dentro de ese fenogrupos. La comprobación de su transmisión no fue posible por estar presentes en ambos alelos.

Negrita: fenogrupos propios de la población Holando uruguayo.

Cursiva y negrita: frecuencia génica de los fenogrupos más frecuentes compartidos en las generaciones.

Cuadro 2. Estimación del Coeficiente de Consanguinidad  $f$  del sistema F de grupos sanguíneos. El  $X^2$  mide la significancia de las desviaciones esperadas según la ley de Hardy-Weinberg.

Generación	Homocigosidad		$f$	$X^2$
	Obs.	Esp.		
Progenie	.72	.70	.0504	.324
Madres	.83	.79	.1797	3.94*
Padres	.60	.63	-.0667	.089

\*P < 0.05.

desviación significativa de los genotipos homocigotas observados en las crías para los sistemas J y Z (Cuadro 3).

La heterocigosidad calculada para los sistemas: A, B, F, J, L, S, Z se puede ver en el cuadro 4, observándose una heterocigosidad en orden decreciente de: madres, padres, HF USA y crías.

Los Cuadros 4 y 5 muestran la I y DG para las poblaciones de HF de los diferentes países, agrupadas según el número de sistemas comparados. Se observa en el cuadro 4 una gran identidad entre

las poblaciones HF de USA y HU, siendo su promedio 0,9807. En el Cuadro 5 se ve que la identidad entre el HU (madres) y el HF de USA es mayor que con la de España.

#### DISCUSIÓN

El HU presentó características similares a las demás poblaciones de HF presentando una distribución similar de las frecuencias génicas en los alelos más frecuentes. También se observaron características exclusivas de nuestra población,

como la presencia de 4 fenogrupos del sistema B. Uno de ellos (BG2KO'G") se encuentra descrito en otras razas, en cambio los demás (D'G'O'G", O1A'I'Q' y Y2A'D'G'I'Q') no están descritos en el listado de veinte razas emitidos por los laboratorios miembros de la Sociedad Internacional de Genética Animal de Ohio y Texas (Listado de fenogrupos 1984 y 1985 respectivamente). Estos tres últimos fenogrupos podrían haber sido generados por recombinación génica o mutación intragénica.



**Cuadro 3.** Comparación de las frecuencias genóticas observadas en la generación filial con las frecuencias esperadas de acuerdo al cruzamiento al azar entre los padres y las madres.

Locus	Genotipo	Fr. obs.	Fr. Esp.	X <sup>2</sup>
A	a/a	.59	.51	3.51
F	V/V	.04	.03	1.18
J	j/j	.75	.49	48.95*
L	l/l	.54	.58	1.30
Z	z/z	.64	.56	4.74*



Los resultados obtenidos indican una tendencia a conservar cierta variabilidad genética, teniendo en cuenta el tamaño de la muestra y la cantidad de fenogrupos detectados en el sistema B (39 en 138 individuos). Considérese a modo de ejemplo que Bouw (4) detectó 42 alelos en una muestra de 1200 individuos de HF de Holanda y que Hines (9) observó 82 en una muestra de 8630 HF de USA de los cuales 22 estaban presentes en un solo animal y que por lo tanto es poco probable que estén presentes en nuestra muestra.

Consideraremos ahora los 10 fenogrupos más comunes en el sistema B pues es un dato que nos permite caracterizar la población y conocer los cambios que presenta una raza (23). En el caso del HU totalizan en promedio el 83%, existiendo un alelo con una alta frecuencia (G2Y2E'2Q': 23%), siendo también el más frecuente en las otras poblaciones de HF. El sistema B por lo tanto presenta un gran número de alelos, de los cua-

les sólo unos pocos presentan frecuencias altas (cuadro 1). Por otro lado si observamos las diferentes generaciones tenemos que los 10 alelos B más comunes en los productos suman el 84 % a diferencia de las madres que totalizan el 80 %, por lo tanto existe una mayor variabilidad genética en las madres que en las crías, ya que en éstas últimas aumentan las frecuencias de los alelos más comunes, pero disminuyen el número de alelos de dicho sistema (34 en las madres y 32 en las crías: Cuadro 1). Al comparar estos fenogrupos vemos que las crías comparten 9 de los 10 alelos más frecuentes con los padres y 8 con las madres. Por lo tanto las crías se parecen más a los padres que a las madres, lo cual se confirma al presentar las crías una mayor identidad genética (0.9968) y la menor distancia de Nei (0.0032) con los padres (Cuadro 4).

Como conclusión podemos decir que la variación de las frecuencias génicas y la disminución de los alelos de una genera-

ción a otra puede ser debido al uso de pocos padres que dejan un gran número de crías, lo cual es típico de la situación general como vimos anteriormente con el HF de USA (7). Como consecuencia se producen cambios en las frecuencias génicas de las poblaciones con la pérdida de polimorfismo. De acuerdo a estos resultados existiría una tendencia en el HU hacia la disminución de la variabilidad genética en la siguiente generación, ya que las crías no solamente presentan un número menor de alelos en el sistema B, sino que también hay una disminución del coeficiente de heterocigosidad (Cuadro 4). Estos resultados también se han observado en estudios realizados en razas Nórdicas (10). En ellas se evaluó los cambios de la variación genética en 13 razas mediante la comparación de datos publicados en marcadores genéticos sanguíneos desde 1956 a 1975, donde hubieron pérdida de alelos que tenían baja frecuencia. También según dichos estudios se esperaría una pérdida del 1 al 11%

**Cuadro 4.** Identidad y distancia genética (I/D)\* para 7 sistemas de grupos sanguíneos (A, B, F, J, L, S, Z) entre las generaciones de HU y USA (9). En diagonal y negrita se encuentran los valores del Índice de Heterocigosidad promedio esperado y su error estándar.

Población	Padres	Madres	Productos	USA
Padres	<b>.4739±.0788</b>	.9850	.9968	.9752
Madres	.0151	<b>.4837±.0849</b>	.9793	.9896
Productos	.0032	.0209	<b>.4454±.0872</b>	.9773
USA	.0251	.0105	.0229	<b>.4699±.090</b>

\* Se expresa la identidad en el triángulo superior del cuadro y en el inferior la distancia.



de su heterocigosidad durante un período de 20 a 40 años, de acuerdo al número efectivo actual de las razas nórdicas que va de 30 a 257. En el HF se vería agravada la situación por la disminución del N° efectivo de 1000 a 100 individuos de 1996 (7) a 1999 (19) para una población de 10 millones de individuos para Norteamérica y Oeste Europeo.

El equilibrio génico examinado en el sistema F mostró en las madres un aumento del coeficiente de consanguinidad ( $f=3.94$ ;  $P<0.05$ ), al compararlo con las crías y los padres. El valor de  $f$  positivo indica un déficit de heterocigotas, lo cual puede ser causa de apareamientos endogámicos. Sin embargo considerando que se estimó a través de un locus simple y el alto coeficiente de heterocigosidad de las madres la consanguinidad no sería tan alto como lo indica el valor de  $f$  (Cuadros 1 y 4).

Las frecuencias genotípicas observadas en las crías al ser comparadas con las esperadas (cuadro 3), nos muestra diferencias significativas en los sistemas J y Z, adjudicando estas diferencias a un aumento de los homocigotas recesivos observados ( $j/j$ ,  $z/z$ ). Para estos siste-

mas, se analizó el porcentaje de hijos que dejan los padres homocigotas recesivos (sistema J, 20 de los 40 padres totales, es decir el 50%; el sistema Z 27 de los 40 totales, esto es , el 67,%) que resultó ser, respectivamente el 54,4% y el 65% de los hijos de la población. La pequeña desviación en la contribución a la generación siguiente, y su corrección no explica el excesivo aumento de crías  $j/j$ . Considerando los padres cuyo genotipo se ha podido determinar para éste sistema, vemos que la mayoría son heterocigotas por lo cual la frecuencia de recesivos sería superior a lo estimado. Una posible causa de este resultado podría ser que esté actuando la selección a favor de los recesivos en este sistema ya que según Hafez (8) el antígeno J del suero estaría asociado con un aumento de la mortalidad y fallas en la fertilización por causas de incompatibilidad inmunológica.

La IG entre la población de USA y HU tiene un alto valor promedio de 0,9807 (0.9896 a 0.9751: Cuadro 4) lo que indica que entre ambas poblaciones existe un alto grado de semejanza genética que correspondería a poblaciones sin aisla-

miento reproductivo (2). La población de España ocupa un lugar más alejado (Cuadro 5), reflejando probablemente la mayor influencia en ella de las Frisones Europeas. Por lo tanto se observa una gran similitud entre las poblaciones HF comparadas, lo que nos indica una gran uniformidad genética dentro de la raza. Con respecto a este tema debemos considerar los efectos producidos por la introgresión de genes HF en otras poblaciones como en el ganado negro y blanco europeo, en el cual si bien han mejorado la producción lechera también han tenido un efecto desfavorable sobre la fertilidad (14).

Si consideramos que nuestra raza Holando se ha formado a partir de cruzamientos absorbentes con la población H.F de USA y que en momento actual existe una gran identidad entre ambas (cercana a 1) se debería hacer una estrategia para conservar los genes nativos del HU producto de su adaptación al medio y evitar la erosión genética observada en nuestra raza en el presente trabajo como consecuencia de una pérdida de la variabilidad genética de una generación a otra.

**Cuadro 5.** Identidad y distancia genética para 5 sistemas (A, F, J, L, Z), entre Uruguay, USA (9) y España (23). En diagonal IH y su error estándar.

Población	Uruguay	USA	España
Uruguay	.3719±.0457	.9972	.9783
USA	.0028	.3421±.0377	.9878
España	.0219	.0122	.3471±.0535

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos del análisis de una muestra de HU mediante grupos sanguíneos, nos permite concluir que:

- 1) Presentan características de la raza HF (frecuencias génicas similares) y exclusivas de nuestra población, debido a la presencia de 4 fenogrupos del sistema B.
- 2) Existiría una tendencia en el HU hacia la disminución de la variabilidad genética en la siguiente generación, ya que las crías presentan un número me-

nor de alelos en el sistema B y una disminución del coeficiente de heterocigosidad.

- 3) Existiría cierto grado de consanguinidad debido a un coeficiente  $f$  positivo para el sistema F en las madres y un desvío significativo hacia los genotipos homocigotas en la progenie de los sistemas J y Z.
- 4) Se observa una gran similitud entre las poblaciones HF comparadas, especialmente entre HU y HF de USA, lo que nos indica una gran uniformidad genética dentro de la raza.

## Agradecimientos

En el presente trabajo colaboraron varias personas e instituciones gracias a las cuales fue posible la realización del mismo. Al PEDECIBA y el ICI que financiaron las pasantías en los Laboratorios de Inmunogenética de la Universidad Federal de San Carlos (Brasil) y en la Departamento de Genética y Zootecnia de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba (España). A la Facultad de Veterinaria, especialmente a los Br. José Payque y Luis Roses por su asistencia en el área de informática.

## Referencias Bibliográficas

1. **Ayala, F.J.** (1982). Population and Evolutionary genetics. California. Ed. Cummings Publishing Company.
2. **Ayala F.J.; Kiger J.K.** (1984). Modern genetics. Ed.2ª. California. Ed. Cummings Publishing Company.
3. **Blott, S.C.; Williams J.L.; Haley C.S.** (1998). Genetic variation within the Hereford breed of cattle. *Animal Genetics* 29: 202-211.
4. **Bouw, J.** (1960). The getical composition of the Dutch cattle breeds as determined by the frequencies of blood groups. *Z. Tierzucht. Zucht. Biol.* 74: 248-266.
5. **Caorsi, C.** (1973). Holando Uruguayo. Historia y presente de una raza. *Soc. Criadores Holando del Uruguay*.p 39.
6. **Dowling ,T.E.; Moore W.S.** (1984). A program for estimating genetic variability within and between populations. *Journal of Heredity.* 75: 416.
7. **Georges, M.; Andersson, L.** (1996). Livestock Genomics Comes of Age. *Genome Research.*6:907-921.
8. **Hafez E.S.E.** (1996). Reproducción e inseminación artificial en animales, 6a Ed. México, Nueva Editorial Interamericana, S.A.542p.
9. **Hines, H.C.; Haenlein, G.F.W.; Zikakis, J.P.; Dickey, H.C.** (1977). Blood Antigen, Serum Protein, and Milk Protein Gene sequences and Genetic Interrelationships in Holstein Cattle. *Jour. Dairy Sci.*60 (7):1143.1151.
10. **Kantanen, J.; Olsaker, I.; Adalsteinsson, S; Sandberg, K.; Eythorsdottir, E.; Pirhonen, K.; Holm L-E.** (1999). Temporal changes in genetic variation of North European cattle breeds. *Animal Genetics.*30: 16-27.
11. **Kelly, L.** (1988). Grupos sanguíneos Bovinos. *Veterinaria.* Nº 99. 17-20.
12. **Kelly, L.** (1988). Obtención de los primeros reactivos de grupos sanguíneos de Bovinos en el Uruguay. *Jornadas Científico Técnicas de Producción Animal.*1988.
13. **Kidd, K.K.; Stone, W.H.; Crimella, C.; Carezni, C.; Casati, M.; Rognoni, G.** (1980). Immunogenetic and population genetic analyses of Iberian cattle. *Anim. Blood Grps. biochem.* 11:21-38.
14. **Lidauer, M.; Mantysaari, E.** (1996). Genetic constitution of the Finnish black and white cattle population and the influence of Hosteinization on protein yield, days open and somatic cell count. *Acta Agriculturae Scandinavica.*46: 193-200.
15. **Mac Gregor, H.** (1995). DNA and all that. *Equinet.* The equine genetics and evolution research information Network.
16. **Nei, M.**(1972). Genetic distance between populations. *The Amer.Naturalist.*106:283-292.
17. **Neimann-Sorensen, A.**(1956). Blood groups and breed structure as exemplified by three Danish breeds. *Acta Agr. Scand. Acta Agr. Scand.* 6:115.
18. **Rendel,J.** (1967). Studies of Blood Groups and Protein Variants as a Means of reveling similarities and differences between animal populations. *ABA Vol.35, Nº 3:*371-383.
19. **Riquet, J.; Coppieters, W.; Cambisano, N.; Arranz, J.J.; Berzi, Davis, S.K.; Grisart, B.; Farnir, F.; Karim, L.; Mni, M.; Simon, P.; Taylor J.F.; Vanmanshoven, P.; Wagenaar, D.; Womack, J.E.; Georges M.** (1999). Fine-mapping of quantitative trait loci by identity by descent in outbred populations: Application to milk production in dairy cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*Vol.96:9252-9257.
20. **Rodero, A.; Garzón, R.; Llanes, D.; Zarazaga, I.; Vallejo, M.; Monje, E.** (1982). Genetic distances between spanish sheep breeds. *Archivos de Zootecnia,* 31: 97-108.
21. **Stormont C.** (1981). The B and C systems of cattle revisited. *Frontiers in Inmunogenetics.* Ed W.H. Hildemann. New York p 31-43.
22. **Stormont,C., Owen, R.D., Irwin, M.R.** (1951). The B and C systems of bovine blood groups. *Genetics.* 36:134.
23. **Vallejo, V.M.** (1978). Razas vacunas autóctonas en vías de extinción. Aportes al estudio genético. *Serie Universitaria 69.* Fundación Juan March.



## Caracterización de un herpesvirus, aislado de un ternero, con signos nerviosos y sin respuesta inmune humoral específica

Alonzo, P.<sup>1</sup>; Benavides, U.<sup>1</sup>; Isnardi, F.<sup>1</sup>; Puentes, R.<sup>1</sup>; Carol, H.<sup>1</sup>; Clavijo, A.<sup>1</sup>; del Campo, R.<sup>2</sup>; Bonnevaux, J.<sup>3</sup>; Weiblen, R.<sup>4</sup>; Fondevila, N.<sup>5</sup>; Romera, S.A.<sup>5</sup>; Sadir, A.M.<sup>5</sup>; Maisonnave, J.<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se caracteriza como Herpesvirus bovino (HVB)1.1, un aislamiento viral, realizado de un ternero de nueve meses de edad con signos neurológicos, corrimiento ocular y nasal unilateral. Muestras de hisopados nasal, ocular y prepucial, se inocularon en cultivos de la línea celular de riñón bovino, Madin Darby Bovine Kidney. Los inóculos de los tres primeros días post inicio de signos clínicos, produjeron efecto citopático característico de HVB. El aislamiento (Uy-1999) fue identificado como herpesvirus por inmunofluorescencia directa y caracterizado mediante enzimas de restricción, reacción en cadena de polimerasa e inmunohistoquímica. Aunque la cepa Uy-1999 es inmunogénica para otros bovinos, el animal del cual se aisló el HVB, nunca produjo anticuerpos específicos anti-HVB, pero sí contra otros patógenos, como el virus de diarrea viral bovina. Los resultados obtenidos hasta el momento, sugieren que la falta de respuesta inmune humoral no es debida a una variación antigénica del aislamiento. Los métodos diagnósticos en que se basan las campañas de control, deberían ser re-evaluados, si la existencia de bovinos latentemente infectados con HVB-1, y sin anticuerpos específicos detectables, no es un hecho aislado.

**Palabras clave:** herpesvirus bovino, aislamiento, caracterización

### SUMMARY

An herpesvirus, isolated from a nine month old calf, with neurological clinical signs, unilateral ocular and nasal discharge, was characterized as Bovine Herpes Virus-1.1 (BHV-1.1). Nasal, ocular and prepucial swabs, were collected and supernatants were inoculated in Madin Darby Bovine Kidney cells. Only the nasal and ocular inoculates from the first three days after clinical signs appeared, produced herpesvirus characteristic cytopathic effect. The isolate (Uy-1999) was identified as herpesvirus by direct immunofluorescence, characterized by restriction enzyme genomic profile, polymerase chain reaction and immunohistochemistry. Even though the isolate Uy-1999 is immunogenic for other bovines, the animal from which the isolation was made, never produced BHV specific antibodies, while it did to other pathogens as bovine viral diarrhoea virus. The results obtained up to now, suggest that the lack of humoral immune response, is not due to an antigenic variation of the isolate. If the existence of BHV-1 latently infected bovines, is not an isolated issue, the tests used in the control campaigns should be reviewed.

**Keywords:** bovine herpesvirus, field isolate, characterization

### INTRODUCCIÓN

El Herpesvirus bovino tipo-1 (HVB-1), pertenece a la familia *Herpesviridae* (43, 48), subfamilia *alphaherpesvirinae*, género varicellovirus (6). Puede causar Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Vulvovaginitis Pustular Infecciosa (IPV), Balanopostitis Pustular Infecciosa (IPB), conjuntivitis, abortos, infección generalizada en el neonato y meningoencefalitis (20, 43, 48). Es una enfermedad contagiosa de distribución mundial (43).

El análisis de HVB-1, basado en el patrón de digestión por enzimas de restricción, permite identificar 3 subtipos (HVB1.1; HVB1.2a; HVB1.2b). La enzima *HindIII*, corta el ADN y da patro-

nes de bandas que diferencian los subtipos de HVB-1 (12, 25, 28). Los anticuerpos monoclonales pueden ser utilizados también, para reconocer subtipos de HVB-1 (26).

Los subtipos HVB-1.1 y HVB-1.2a se asocian a la forma respiratoria de la enfermedad (IBR) y clínicamente pueden cursar con síntomas respiratorios, conjuntivitis, signos clínicos nerviosos, infertilidad y abortos (46). El subtipo HVB-1.1 puede causar abortos 30 a 60 días post signos respiratorios (10, 11). Si bien es una enfermedad en la cual, no se ha observado una alta mortalidad, 3% en ganado lechero, su importancia radica en las pérdidas económicas debidas a

abortos, pérdidas de neonatos, pérdida del estado general, y caída de la producción lechera, dando lugar en algunos casos a complicaciones por infecciones bacterianas secundarias (27). El HVB-1.2b, esta asociado a enfermedad genital (IPV/IPB) y no causa abortos (11, 45).

Otro HVB que se disemina rápidamente al SNC y que fue clasificada como tipo 5, ocasiona meningoencefalitis severa, fue aislada en Australia, Argentina, Brazil y USA (14).

El genoma de HVB-1 esta compuesto por 136 kilobases (Kb) y posee al menos 10 genes con potencial para codificar glicoproteínas. Por su localización en la superficie del virión, estas glicoproteínas

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria, Dpto.de Ciencias Microbiológicas, Area Inmunología, Lasplacas 1550, Montevideo, C.P. 11600, Uruguay. Tel: (598) (2) 6281303, Fax: (598) (2) 6280130, E-mail: jacmaiso@adinet.com.uy

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Biológicas "Clemente Estable", 3Transgenes, 4Universidad Federal de Santa María, R.S. Brasil, 5INTA Castelar, Argentina.

son importantes blancos del sistema inmune del hospedador y tienen un rol fundamental en la patogenicidad, por mediar la entrada, fusión y dispersión del virus célula-célula. Las más estudiadas por la importancia en estos eventos son gB, gC y gD, pero actualmente otras glicoproteínas, enzimas y proteínas reguladoras, son incluidas en el repertorio del HVB (3, 41).

Luego de la infección primaria el HVB se hace latente en ganglios nerviosos de la puerta de entrada, (19, 30, 33) y puede ser re-activado y re-excretado cuando el portador se encuentra bajo condiciones de estrés o mediante inmunodepresión con corticoides (34, 47). La latencia se define como una infección persistente en el organismo, donde el genoma viral está presente en ausencia de virus infeccioso (20). El HVB-1 reactivado es usualmente excretado por la vía de infección primaria, dado que ésta determina el lugar de latencia. Pero hay veces en que la infección primaria intra nasal va seguida de una infección generalizada, en cuyo caso se puede instalar latencia en otros ganglios nerviosos y el virus puede ser re-excretado por semen (45). Cuando hay re-activación viral, la inmunidad humoral específica, ejerce control de la viremia, evitando la re-excreción y diseminación del virus (20). Los anticuerpos (Acs) normalmente son detectables 7 a 10 días post-infección. Los isotipos de inmunoglobulinas M (IgM) y G (IgG), llegan a su título máximo a los 14 y 35 días post-infección respectivamente (17). Sin embargo la infección con HVB-1 vía genital, puede inducir respuesta inmune humoral débil, o puede no inducir respuesta inmune detectable (45). La diseminación del HVB-1 a la mayoría de los animales de un rodeo es el resultado de una infección respiratoria, la diseminación es limitada en casos de infección genital. Durante la infección primaria aguda el virus se excreta en secreciones nasales durante un período de 4 a 17 días, los títulos más altos son 4 a 6 días post infección. Animales que excretan el virus por la mucosa nasal lo transmiten por contacto directo y por gotitas en aerosol a una distancia corta (8 metros). Animales que excretan HVB-1.2b (virus de vulvo vaginitis pustular infecciosa y balanopostitis) por vagina

o prepucio, lo transmiten menos eficientemente, y un menor número de animales se infecta. La dosis infectante necesaria para infectar un animal ha sido poco documentada y dependerá de la virulencia de la cepa (46).

El HVB ha sido detectado en Uruguay, clínica y epidemiológicamente desde 1970. Fue aislado por primera vez en 1981, de un animal seropositivo, inmunodeprimido con corticoides (16). En 1987, se describió un caso de granuloma nasal bovino en ganado Jersey, con alta morbilidad, oportunidad en que se logró el aislamiento de HVB-1 de hisopados nasales (31). Se ha descrito que en el 70% de los tumores de ojo se aísla HVB-1 (42). En Uruguay existe un 75-100% de establecimientos con presencia de anticuerpos a HVB y la prevalencia a nivel nacional es de 45% en ganado de carne y 48% en ganado de leche (38).

Con respecto al control de la enfermedad, se han descrito varios métodos, según la prevalencia de infección. En lugares de muy baja prevalencia se puede emprender la erradicación, eliminando los animales seropositivos. Donde la prevalencia es alta, esta medida es poco viable y la vacunación es la indicada para estimular la inmunidad específica e impedir la re-excreción viral. La vacunación no impide la infección pero si la sintomatología (20). En un rodeo con un alto porcentaje de animales seropositivos, las hembras adultas multiparas muy probablemente ya hayan sido infectadas y su sistema inmune evitará que aborte una segunda vez a causa de HVB-1. Por lo tanto, teniendo en cuenta el costo-beneficio de vacunar para evitar síntomas, abortos por ejemplo, sería conveniente vacunar únicamente las vaquillonas antes del primer entore (Dr. E. Dubovi, comunicación personal).

Las vacunas utilizadas en Uruguay son mayormente fabricadas con cepas de HVB de referencia. Si los aislamientos realizados en el país son caracterizados, habría posibilidad de incluir en las vacunas cepas nacionales. Así como tener un stock de cepas actuantes en el país y la región.

La inmunotolerancia no se ha descrito para el HVB, pero sí para otros virus como el de Diarrea Viral Bovina (BVDV). Embriones bovinos infectados con virus

no citopático de BVDV in útero, antes que su sistema inmune este desarrollado, reconocen como propio al virus, y no producen anticuerpos específicos, y quedan persistentemente infectados (PI). Estos terneros son la fuente de infección en un rodeo y por lo general tienen menor desarrollo corporal y pelo hirsuto (2, 9).

El propósito del presente trabajo es identificar y caracterizar una cepa de HVB aislada a partir de un ternero de 9 meses de edad, con sintomatología nerviosa y menor desarrollo corporal que los bovinos de la misma categoría. Este ternero se recuperó rápidamente a pesar de que nunca produjo anticuerpos anti-HVB y pasó a ser un toro adulto saludable y con aptitudes reproductivas normales.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### 1. Aislamiento viral

Se obtienen hisopados oculares, nasales y prepuciales durante 7 días post inicio de signos clínicos (21 muestras), de un ternero Limousin con nueve meses de edad, menor desarrollo corporal que los bovinos de su misma categoría, pelo hirsuto, corrimiento ocular y nasal seroso unilateral, y ataxia. Los hisopados, se inocularon en cultivos de células de riñón bovino, línea celular Madin Darby Bovine Kidney (MDBK), mantenidos en medio Eagle modificado (MEM), 50 g/mL de gentamicina y 10% de suero fetal bovino (GIBCO) irradiado. A los 4 días post-inoculación, el cultivo que no muestra efecto citopático (CPE), se congela, descongela y centrifuga a 400g por 15 minutos, para luego inocular el sobrenadante en una monocapa de células virgen. Este procedimiento se repite 3 veces (3 pases ciegos), para dar como negativa una muestra (7).

### 2. Identificación y caracterización viral

**a. Identificación viral con anticuerpos específicos.** Las células con CPE característico de herpesvirus, fueron fijadas con acetona e incubadas 1 hora a 37°C con anticuerpo policlonal anti-HVB conjugado con isotiocianato de fluoresceína FITC (VMRD, USA), y observadas al microscopio de luz ultravioleta (UV) (7, 24).



Para cuantificación mediante citofluorometría (40), las células infectadas que muestran CPE y los controles negativos se resuspendieron por tratamiento con tripsina y se incubaron con el mismo conjugado policlonal FICT por 2 hs. a 4°C en PBS 0.1% azida, lavadas por centrifugación dos veces y analizadas mediante un citómetro de flujo (FAC Scan, Becton Dickinson). Se definieron regiones en cuadrantes, los límites fueron fijados en 197 para el valor de luz dispersada a 180 grados (Forward Scattered Heigth=FSC-H) y 189 para el valor de intensidad de FICT (FL-1). Los eventos en la región superior derecha fueron considerados positivos y se registraron los porcentajes de células positivas en 10.000 eventos (40). Para ambas técnicas, se utilizan, como control positivo células infectadas con HVB-1 de referencia cepa Los Angeles (LA), y como control negativo células sin inocular.

**b. Inmunohistoquímica.** Células infectadas con el aislamiento (Uy-1999), se incuban 1 hora a 37°C con anticuerpos monoclonales (Mab) anti-HVB-1.1 (Mab60), y anti-HVB-5 (Mab2915). Luego de tres lavados se agrega conjugado a peroxidasa anti-inmunoglobulina de ratón, se incuba 1 hora a 37°C, se lava y se revela con sustrato Di-amino bencidina (DAB) (26).

**c. Estudios moleculares.** La técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) Multiplex (1), se utilizó para diferenciar ADN de HVB-1 y HVB-5 en una sola reacción. La extracción de ADN se realizó mezclando, 250 µL de sobrenadante de células infectadas con: Uy-1999, HVB-1.1 (LA), y HVB-5 (663), con igual volumen de solución tampón de extracción (Tris 10mM, disodium EDTA 1mM, 0,5% SDS, Proteinasa K 1,6U/mL, pH 8). La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos y se adicionó 500 µL de (25 fenol): 24 Cloroformo: 1 alcohol isoamílico). Luego de centrifugar a 16.000g por 2 minutos, el sobrenadante se somete a otra extracción con cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) y centrifuga nuevamente. La precipitación del ADN se realiza con 1 mL de etanol absoluto, y 100 µL de NaCl 3M pH 5,2, centrifugando a 16.000g por 30 minutos. El pellet se lava con 1 mL de etanol 70%, se seca y resus-

pende en 10µL de agua bi-distilada, almacenándose a -20°C hasta su uso. En cada extracción, se utilizan como controles positivos cepas de referencia de HVB-1.1 y HVB-5 y sobrenadante de células sin inocular como control negativo.

El ADN y los primers (TK1, TK2, GD1, GD2) se incubaron a 99°C (comienzo caliente) por 10 minutos y luego a 88°C cuando los demás reactivos se adicionaron: (buffer Taq polimerasa, glicerol, Cl2Mg, dNTP, Taq polimerasa). Se realizaron 35 ciclos de 1 minuto a 95°C (desnaturalización), 1 minuto a 61°C (hibridación) y 1 minuto a 72°C (síntesis), finalmente 5 minutos a 72°C. El producto amplificado se analizó por electroforesis en gel de agarosa horizontal 1,8 % (100V, 30 minutos) en solución tampón con bromuro de etidio y visualizado en un transiluminador de UV.

Para la caracterización genómica del virus, se realizó análisis del ADN viral con enzimas de restricción (HindIII) (25, 28). Cuando células infectadas con Uy-1999 y cepas de referencia HVB1.1 y HVB-5 mostraban 50% de CPE, se lisaron con 0,2 mL de Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) al 10%. El ADN celular fue precipitado con 0,5 mL de NaCl 5M, y el pellet se descartó luego de la centrifugación. El ADN viral presente en el sobrenadante, fue incubado con proteinasa K 20µg/mL, durante 2 horas a 37°C. Las proteínas fueron removidas mediante extracción con fenol:cloroformo y eter etílico saturado en agua, y el ADN precipitado con isopropanol durante 1 hora a -70°C. El pellet de ADN viral fue resuspendido en 50µL de Tris-HCl 10mM, pH 8, EDTA 1mM (TE), y el corte con HindIII se realiza, de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Biolabs). Los fragmentos obtenidos, se separan por electroforesis en geles de agarosa 0,7%, en solución tampón Tris-Acetato-EDTA (TAE), a voltaje (30V) constante durante 5 horas. Se tiñen con bromuro de etidio y las bandas se visualizan con un transiluminador de UV (25, 28).

#### **d. Identificación de la glicoproteína C (gC) en la cepa Uy-1999.**

Las proteínas virales se separan en geles de poliacrilamida al 12% (SDS-PAGE), y se transfieren a una membrana inmunolon P (Millipore). El bloqueo se reali-

za con una solución 5% leche e soja en PBS-tween 20, y se lava 3 veces con PBS-Tween 0,05% agitando. Se incubó durante 1 hora a 37°C con anticuerpo monoclonal anti-gC (Dr. L. Babiuk, VIDO, Saskatoon, Canada), se lava 3 veces, y se incubó en agitación durante 1 hora a 37°C con conjugado a peroxidasa anti-ratón. Luego de 3 lavados se revela con el kit Renaissance, según indicaciones del fabricante (NEN Life Science). (3, 18).

### **3. Respuesta Inmune Humoral**

**a. Serología.** Se obtienen muestras de suero del ternero Limousin, durante los primeros 7 días post inicio de signos clínicos, cada 15 días durante 5 meses y cada 6 meses hasta la actualidad. Las muestras se estudian para detectar anticuerpos (Acs) específicos anti-HVB, mediante ELISA (HIPRA-España). La presencia de anticuerpos neutralizantes se determina, mediante la técnica de seroneutralización *in vitro* (SN), en placas de 96 hoyos. Las muestras de suero se incuban 1 hora a 37°C con 100 unidades infectantes de la cepa LA título 10<sup>6.7</sup> dosis infectante de cultivo de tejido 50% (DICT<sub>50</sub>)/50 µL. Luego se agregan 20.000 células/hoyo y se incuban 72 horas a 37°C y 5% CO<sub>2</sub>. El título se expresa como el logaritmo de la inversa de la última dilución que protege el desafío de 100 DICT<sub>50</sub> (29).

La presencia de anticuerpos anti-virus de Diarrea Viral Bovina (BVDV) se determina mediante SN, utilizando para desafío 100 UI de la cepa de referencia Singer (título 10<sup>5.5</sup> DICT<sub>50</sub>/50 µL) (32) y ELISA (HIPRA-España). Anticuerpos anti-virus de Leucosis Bovina (BLV) fueron evaluados mediante inmunodifusión en gel de agar (AGID).

La técnica de microaislamiento viral (39) se utiliza para detectar virus de BVDV en las muestras de suero antedichas.

Se realiza un muestreo serológico estratificado por categorías, del 10% del rodeo al cual pertenecía el ternero Limousin (n=130). Muestreándose 28 ternero/as 9 a 12 meses de edad, 15 bovinos entre 1 y 1 año y medio, 32 de 1 año y medio a 3 años y 55 bovinos adultos. Los sueros se procesan para la detección de anticuerpos neutralizantes de HVB, por la técnica de SN *in vitro* (29).

**b. Estudios de inmunogenicidad de la cepa Uy-1999.** Se formula una vacuna inactivada utilizando Uy-1999 (35, 36) con adyuvante formulado por INTA (Arlacel C, Markol 52 y Tween 80) (37). Se inmunizaron por vía intramuscular dos bovinos Holstein de 10 meses de edad (seronegativos para HVB-1 por SN y ELISA). Muestras de suero para detectar anticuerpos anti-HVB fueron obtenidas 17 y 25 días post vacunación (dpv). Los anticuerpos totales se cuantifican mediante el test de ELISA, y se expresan como el logaritmo de la inversa de la máxima dilución del suero, cuya densidad óptica (DO) es igual o mayor al 40% de la DO del control positivo (35). Los anticuerpos neutralizantes se titulan por SN (29).

## RESULTADOS

Se logró el aislamiento de un HVB a partir de hisopados nasales y oculares obtenidos en los tres primeros días post inicio de signos clínicos (Cuadro 1). Los cultivos de células MDBK inoculados con estas muestras, presentaron CPE característico de HVB (células redondeadas en racimos).

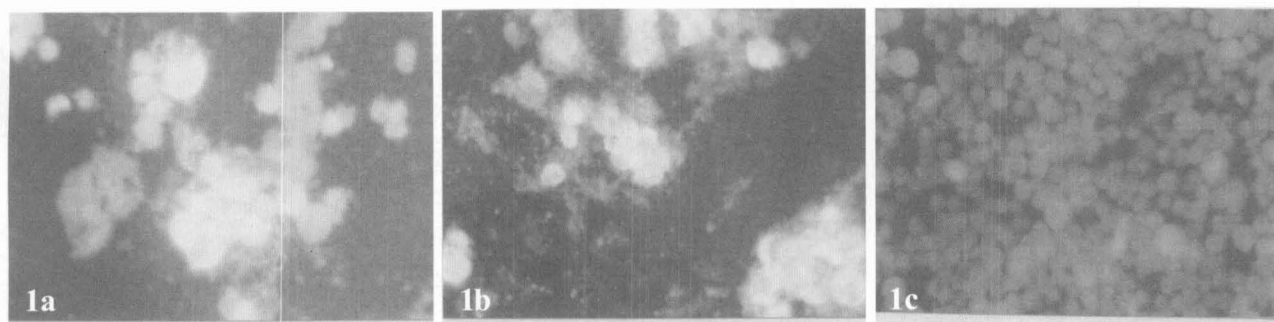
El virus fue identificado como HVB, observándose fluorescencia específica intracitoplasmática de las células inoculadas con el aislamiento Uy-1999 (Fig. 1). Los estudios de citofluorometría confirman este resultado, dado que células inoculadas con Uy-1999 y con cepa de referencia HVB-1 (LA), presentaron 26% y 29% de eventos positivos respectivamente,

mientras que células no inoculadas presentaron menos de 2,5%.

La técnica de PCR Multiplex amplifica un segmento de 183 pares de bases (pb) del ADN Uy-1999, al igual que en la cepa de referencia HVB-1.1 (LA) (Fig. 2).

Luego del corte con la enzima HindIII, el ADN Uy-1999 presenta el siguiente patrón de bandas: 6 bandas entre 23.1 y 9.4 kb, 3 bandas entre 9.4 y 6.5 kb y 2 bandas alrededor de 4.4 kb, que corresponde al patrón de HVB-1.1.

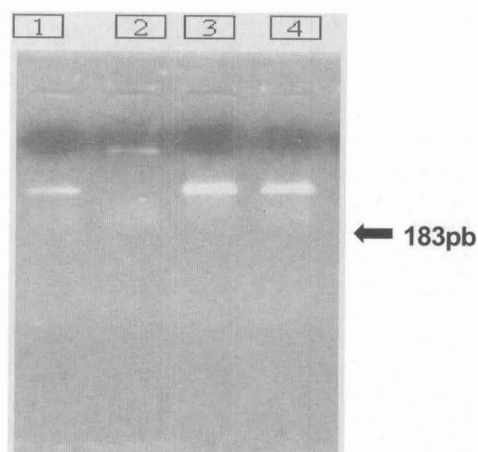
Células MDBK infectadas con Uy-1999, e incubadas con el monoclonal Mab60 anti-HVB-1.1, dan coloración positiva, comparado con la no coloración al utilizar Mab2915, específico de HVB-5 (fig. 3).



**Figura 1.** Identificación de HVB por Inmunofluorescencia directa: Células MDBK inoculadas con: aislamiento Uy-1999 (1<sub>a</sub>), cepa de referencia HVB-1 LA (control positivo) (1<sub>b</sub>), células MDBK no inoculadas (control negativo) (1<sub>c</sub>).

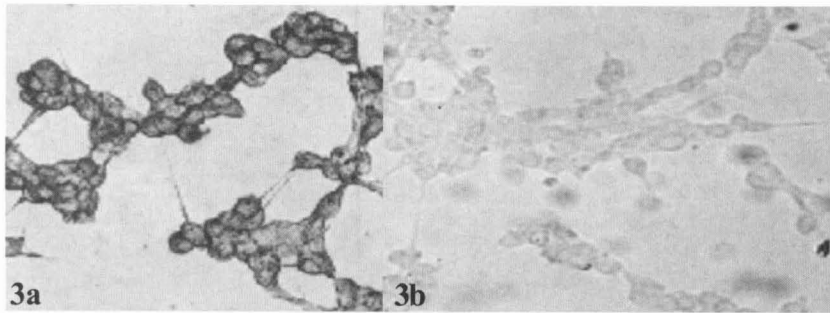
**Cuadro 1.** Resultados de aislamiento en cultivos celulares de la línea celular MDBK

Días (post inicio de síntomas)	Hisopos		
	Nasales	Oculares	Prepuciales
1	+	+	-
2	+	+	-
3	+	+	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-



**Figura 2.** PCR Multiplex: Carril 1: control positivo = HVB-1 de referencia (LA), Carril 2: control negativo = HVB-5 de referencia (663), Carril 3 y 4: aislamiento Uy-1999.





**Figura 3.** Inmunohistoquímica en células MDBK infectadas con aislamiento Uy-1999: 3<sub>a</sub> = Anticuerpo monoclonal (Mab) anti-BHV-1.1 (Mab 60), 3<sub>b</sub> = Mab anti-BHV-5 (Mab2915), 400X.

El Western blot muestra la presencia de la glicoproteína C de envoltura, en el aislamiento Uy-1999 (Fig. 4).

Nunca se detectaron anticuerpos anti-HVB en el ternero del cual se aisló la cepa Uy-1999, ni por la técnica de seroneutralización ni por ELISA.

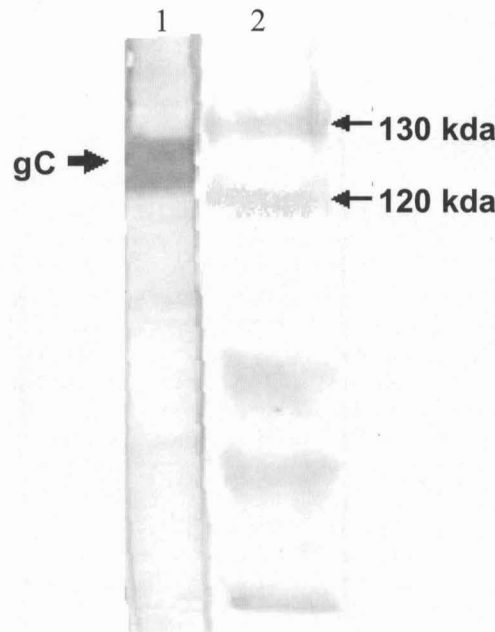
La prevalencia de anticuerpos anti-HVB, en el rodeo al que pertenece el animal del cual se aisló HVB, es de 8.5%. El cuadro 2 muestra la prevalencia de anticuerpos anti-HVB por categoría.

Las muestras resultaron negativas a BLV, sin embargo se pudo verificar la seroconversión específica a BVDV, 7 meses post inicio de signos clínicos. No se aisló BVDV en las muestras de suero post comienzo de signos clínicos.

La cepa Uy-1999 mostró ser inmunogénica, al detectarse anticuerpos totales y neutralizantes específicos anti-HVB, en los bovinos inmunizados con la vacuna inactivada. Los títulos de anticuerpos totales obtenidos a los 17 dpv fueron de 3,40, y a los 25 dpv en uno de los bovinos aumentó a 4,01, permaneciendo constante en el otro bovino vacunado (Gráfica 1). Los títulos de anticuerpos neutralizantes obtenidos a los 17 dpv fueron de 1 y 1,3, y a los 25 dpv aumentaron a 1,9 y 2,2 respectivamente (Gráfica 2).

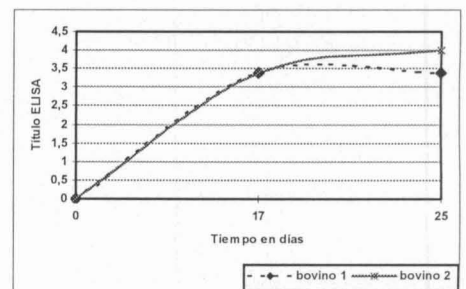
## DISCUSIÓN

Previo a la caracterización se pensó que el aislamiento era un HVB-5, dado que la meningoencefalitis por infección con herpesvirus, usualmente esta asociada a este tipo viral (8, 12, 15). Sin embargo se confirmó que el aislamiento corresponde al tipo HVB-1.1, que también puede provocar alteraciones nerviosas (4, 13, 23). Las características de menor peso corporal que los bovinos de su edad y pelo

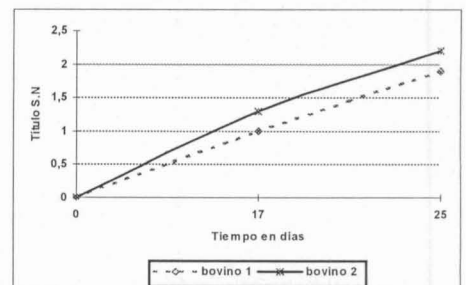


**Figura 4.** Detección de glicoproteína C por Western blot. Carril 1: Uy-1999, Carril 2: Marcador de peso molecular.

**Gráfica 1.** Evolución del título de anticuerpos totales (medido por ELISA) en bovinos vacunados con la cepa Uy-1999.



**Gráfica 2.** Evolución del título de anticuerpos seroneutralizantes en bovinos vacunados con la cepa Uy-1999.



hirsuto, del ternero Limousin, nos llevó a pensar que podría tratarse de un bovino persistentemente infectado (PI) con BVDV. La ausencia de virus en las muestras de suero post inicio de signos clínicos, y la aparición de anticuerpos específicos anti-BVDV siete meses más tarde, descartan esta hipótesis.

La presencia del HVB en el establecimiento se confirma al encontrar animales seropositivos. La prevalencia serológica encontrada en el rodeo al que pertenecía el ternero del cual se aisló HVB, es menor a la reportada en el país (38), y el hecho de que solo un animal mostró signos clínicos en el rodeo, podrían sugerir que la cepa viral Uy-1999 es de baja virulencia. Se podría plantear, en este caso, que existen diferencias antigénicas entre la cepa Uy-1999 y la de referencia. Pero los resultados obtenidos de la inmunogenicidad y la identificación de la glicoproteína C en la cepa Uy.1999, nos lleva a rechazar esta hipótesis. Sin embargo, la confirmación debe ser realizada con estudios moleculares más precisos.

La inmunogenicidad de la cepa aislada se realizó en bovinos de distinta raza, debido a que no existe literatura que especifique diferencias entre razas en sensibilidad a la infección por HVB.

Nunca se detectó respuesta inmune humoral anti-HVB en el ternero del cual se aisló Uy-1999, lo que llevaría a pensar en un animal con dificultad en la respuesta a determinados patógenos. Sin embargo, la presencia de respuesta inmune humoral específica anti-BVDV y la recuperación post infección con HVB, descartan la hipótesis de inmunodeficiencia.

La posibilidad de una infección leve o por vía venérea, que no desencadene una respuesta inmune humoral (45) en el ternero Limousin, se descarta, por la aparición de signos clínicos, y la convivencia con bovinos del mismo sexo y edad, al momento del aislamiento. Además, como

la cepa Uy-1999 se aisló de hisopados nasal y ocular, es más factible, que la infección haya sido vía aerógena y la latencia este establecida en ganglios satélites de la puerta de entrada (19). Si la viremia fue suficiente para establecer latencia en ganglios alejados de la puerta de entrada, el virus se podría llegar a excretar por semen también (45).

Se detectó, por PCR, ADN de HVB en muestras de líquido seminal del ternero Limousin post inmunodepresión con corticoides (34). Si bien no se logró re-aislar Uy-1999, se confirma latencia viral en ganglios alejados de la puerta de entrada. Estos resultados no se presentan en la sección correspondiente por no ser un objetivo del presente trabajo.

Otra hipótesis posible, es que el animal se infectó cuando aún tenía anticuerpos calostrales, neutralizando el virus y evitando signos clínicos, pero no la infección y latencia (5, 21, 22). Los signos clínicos observados en el ternero Limousin, en esta hipótesis, corresponderían a una reactivación del virus, cuando los anticuerpos calostrales ya no existen. Por lo tanto, el animal debería haber producido anticuerpos propios anti-HVB, post signos clínicos. El no haber detectado inmunidad humoral anti-HVB, y la edad del ternero al momento del aislamiento (nueve meses de edad), descartan esta hipótesis.

En estudios futuros, será evaluada la respuesta inmune celular (RIC), mediante la técnica de linfoproliferación *in vitro*. Si no existe RIC específica anti-HVB en el bovino Limousin, se podría plantear otra hipótesis, la respuesta inmune innata, fue, en este caso, suficiente para controlar la infección viral y lograr la recuperación clínica.

La posibilidad de que el animal se infectara in útero, antes de que su sistema inmune estuviese maduro, y estableciera tolerancia a HVB, no ha sido descrito.

Sin embargo, la tolerancia inducida por infección viral temprana se da en otros virus como el de BVDV. Para confirmar o descartar esta posibilidad, son necesarios estudios de infección experimental en distintas etapas de la gestación.

Las campañas de control o erradicación de la enfermedad, se basan en pruebas que detectan anticuerpos específicos anti-HVB. Por lo tanto, la existencia de bovinos latentemente infectados con HVB, y sin anticuerpos detectables, implicaría sin duda, un riesgo epidemiológico, para la diseminación del virus y la enfermedad. Por lo tanto si se confirma la existencia de estos bovinos, habría que re-evaluar las pruebas en que se basan las campañas de control y se deberían utilizar pruebas más sensibles como la PCR (44).

## CONCLUSIONES

Se caracterizó el aislamiento Uy-1999 como un HVB1.1, y se comprobó su capacidad inmunogénica, al responder bovinos inoculados con la vacuna elaborada con la cepa aislada.

Con los resultados obtenidos hasta el momento, concluimos que la falta de respuesta inmune humoral en el bovino del cual se aisló Uy-1999, no es debida a variaciones en la cepa aislada.

La cepa aislada y caracterizada se expandió y almacenó a -80°C y nitrógeno líquido, para poder ser utilizada en la elaboración de vacunas con cepas nacionales.

## Agradecimientos

Osvaldo Zabal y Teresa Moral, Laboratorio de virología, INTA Castelar, Argentina, por consejos en técnicas de cultivo celular.

Juan Cristina y Heber Espino, Centro de Investigaciones Nucleares, por trabajos de irradiación de SFB.

## Referencias Bibliográficas

- Alegre, M.; Nanni, M.; Fondevila, N.** (2001). Development of a Multiplex Polymerase Chain Reaction for the Differentiation of Bovine Herpesvirus-1 and 5. *J. Vet. Med. B* 48, 613-621
- Baker, J.C.** (1987). Bovine viral diarrhea virus: a review. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190:1449-1458.
- Baranowski, E.; Dubuisson, J.; Pastoret, P.P.; Thiry, E.** (1993). Identification of 108k, 93K and 42k glycoproteins of bovine herpesvirus-1 by monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 133 (1-2): 97-111.
- Barenfus, M.; Delli Quadri, C.A.; McIntyre, R.W.; Schroeder, R.J.** (1963). Isolation of infectious bovine rhinotracheitis virus from calves with meningoencephalitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 143: 725-728.
- Bradshaw, B.J.F.; Edwards, S.** (1996). Antibody isotype responses to experimental infection with bovine herpesvirus 1 in calves with colostrally derived antibody. *Vet. Microbiol.* 53 (1-2): 143-151.
- Brown, F.** (1989). The classification and nomenclature of viruses. International Committee on Taxonomy of viruses in Edmonton, Canada, 1987. *Intervirology* 30: 181-186.
- Carbey, E.A.** (1971). Recommended Standard laboratory techniques for diagnosing infectious bovine rhinotracheitis, bovine virus diarrhea, and shipping fever (Parainfluenza3) Proc. 75th Annu. Meet. U.S. Animal health Assoc., pp 629-648.
- Carrillo, B.J.; Pospischil, A.; Dahme, E.** (1983). Pathology of a bovine viral necrotizing encephalitis in Argentina. *Zentralb. Vetinarmed. (B)* 30: 161-168.
- Cutlip, R.C.; McClurkin, A.W.; Coria, M.F.** (1980). Lesions in clinically healthy cattle persistently infected with the virus of bovine viral diarrhea- glomerulonephritis and encephalitis. *J. Am. Vet. Res.*, 41: 1938-1941.
- d'Offay, J.M.; Mock, R.E.; Fulton, R.W.** (1993). Isolation and characterization of encephalitic bovine herpesvirus type 1 isolates from cattle in North America. *Am. J. Vet. Res.* 54 (4): 534-539.
- Edwards, S.; White, H.; Nixon, P.** (1990). A study of the predominant genotypes of bovine herpesvirus 1, found in the U. K. *Vet. Microbiol.* 22 (2-3): 213-223.
- Engels, M.; Steck, F.; Wiler, R.** (1981). Comparison of the genomes of infectious bovine rhinotracheitis and infectious pustular vulvovaginitis virus strains by restriction endonuclease analysis. *Arch. Virol.* 67 (2):169-174.
- Engels, M.; Guiliani, C.; Wild, P.; Beck, T.M.; Loeple, E.; Wiler, R.** (1986). The genome of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) strains, exhibiting a neuropathogenic potential compared to known BHV-1 strains by restriction site mapping and cross-hybridization. *Virus Res.* 6: 57-73.
- Flores, E.F.; Silva, A.M.; Weiblen, R.** (1998). Neuropatogenicidade do Herpesvirus Bovino Tipo 5 (HVB-5). Simposio Internacional sobre Herpesvirus Bovino (tipo 1 e 5) e Virus da Diarreia Viral Bovina (BVDV). Santa Maria, RS, Brasil. 127-137.
- French, E.L.** (1962). A specific virus encephalitis in calves: isolation and characterization of the causal agent. *Aust. Vet. J.* 38: 216-221.
- Guarino, H.; Maisonnave, J.; Capano, F.; Pereira, J.** (1982). Primer aislamiento e identificación del virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)* 78: 131-134.
- Guy, J.S.; Potgieter, L.N.D.** (1985). Bovine herpesvirus-1 infection of cattle: Kinetics of antibody formation after intranasal exposure and abortion induced by the virus. *Am. J. Vet. Res.* 46 (4): 893-898.
- Herring, A.J.; Sharp, J.M.** (1984). Protein blotting: the basic method and its role in viral diagnosis. In: McNulty, M.S. & McFerran, J.B. (eds.). Recent advances in virus diagnosis. Martinus Nijhoff, The Hague, pp 115-124.
- Karhs, R.F.** (1987). Infectious Bovine Rhinotracheitis: A Review and Update. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 171: 1055-1064.
- Lemaire, M.; Pastoret, P.; Thiry, E.P.** (1994). Le controle de l'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine. *Ann. Méd. Vét.* 138: 167-180.
- Lemaire M. V.; Weynants, J.; Godfroid, F.; Chynts, G.; Meyer, J.J.; Letesson and E. Thiry.** (2000). Effects of bovine herpes virus tipo 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency. *J. Clin. Microbiol.* 38:1885-1894.
- Lemaire M.; G. Meyer; E. Baranowski; F. Schynts.; Wellemans G.; Kerkohfs P.; and Thiry. E.** (2000). Production of bovine herpesvirus type 1-seronegative latente carriers by administrations of a live-attenuated vaccine in passively immunized calves. *J. Clin. Microbiol.* 38 (11): 4233-4238.
- Ludwig, H.** (1983). Bovine herpesviruses. In: Roizman B, (ed.) The Herpesviruses. Vol. 2. New York Plenum Press, pp. 135-214.
- Lupton, H.W.; Barns, H.J.; Reed, D.E.** (1980). Evaluation of the rabbit as laboratory model for Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus infection. *Cornell Vet.* 70:77-95.0
- Mayfield, J.E.; Good, P.J.; van Oort, H.J.; Campbell, A.R.; Reed, D.E.** (1983). Cloning and cleavage site mapping of DNA from bovine herpesvirus 1 (Cooper strain). *J. Virol.* 47 (1): 259-264.
- Metzler, A.E.; Matilde, H.; Gassmann, U.; Engels, M.; Wyler, R.** (1985). European isolates of bovine herpesvirus-1: a comparison of restriction endonuclease sites, polypeptides, and reactivity with monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 85: 57-69.

27. Miller, J. 1991. Special Symposium. The multiple manifestation of IBR infection. *Vet.Med.* 84-98.
28. Misra, V.; Babiuk, L.A.; Darcel, C.L. (1983). Analysis of bovine herpes virus type 1 isolates by restriction endonuclease fingerprinting. *Arch. Virol.* 76 (4): 341-354.
29. Msolla, P.M.; Wiseman, A.; Selman, I.E. (1981)- The prevalence of serum neutralizing antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus in Scotland. *J. Hyg.* 86: 209-215.
30. Pastoret, P.P.; Thiry, E.; Brocher, B.; Derboven, G. (1982). Bovid Herpesvirus 1 Infection of Cattle: Pathogenesis, Latency, Consequences of Latency. *Ann. Rech. Vet.* 13: 221-235.
31. Rivero, R.; Haedo, F.; Feola, R.; Capano, F.; Guarino, H.; Saizar, J.; Bermúdez, J. (1987). Granuloma Nasal Bovino: descripción de un caso colectivo y discusión sobre su probable etiología. *Veterinaria (Montevideo)* 98:5-11.
32. Robison, D.S.; Gillespie, J.H.; Baker, J.A. (1960). The neutralization test as an indicator of immunity to Bovine viral diarrhea virus. *Cornell Vet.*, 50:503-509.
33. Rock, D.L. (1994). Latent infection with bovine herpesvirus type 1. *Seminars in Virology.* 5: 233-240.
34. Rock, D.L.; Lokensgard, J.; Lewis, T.; Kutish, G. (1992). Characterization of dexamethasone-induced reactivation of latent bovine herpesvirus 1. *J. Virol.*, 66 (4): 2484-2490.
35. Romera, S.; Zamorano, P.I.; Alcón, V.L.; Puntel, M.; Ferrari, P.N.; Borca, M.V.; Sadir, A.M. (1999). Estrategia de inmunización en bovinos: empleo de RN-205 para incrementar la respuesta humoral y celular contra herpesvirus bovino. I. *Therios* 28 (149) : 216-225.
36. Romera, S.; Hilgers, L.; Puntel, M.; Zamorano, P.; Alcón, V.; Dus Santos, M.; Blancovierra, J.; Borca, M.V.; Sadir A, M. (2000). Adjuvant effects of sulfolipocyclodextrin in a squalane-in water emulsión and water-in-mineral oil emulsions for BHV-1 vaccines in cattle. *Vaccine.* 19:132-141.
37. Sadir, M.A.; Zamorano, P.I.; Romera, A.; Wigdorovitz, A.; Smitsaart, E.; Marangunich, L.; Schiappacassi, C.; Borca, M.V. (1999). Improvement of the immune response to foot and mouth disease virus vaccine in calves by using Avidine as adjuvant. *Vet. Immunol. and Immunopathol.* 69: 11-22.
38. Saizar, J. (1997). Determinación de la prevalencia de la Rinotraqueítis Bovina Infecciosa en rodeos de leche y carne en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo).* 33.133-136.
39. Saliki, J.T.; Fulton, R.W.; Hull, S.R.; Dubovi, E.J. (1997). Microtiter Virus Isolation and Enzyme Immunoassays for Detection of Bovine Viral Diarrhea Virus in Cattle Serum. *J. Clinical Microbiology,* 35 (4) : 803-807.
40. Sharrow, S.; Segal, D. (1995). Immunofluorescence and cell sorting, in *Current Protocols in Immunology.* Coligan, J.; Kruisbeck, A.; Margulies, D.; Shevach, E. and Strober, W. Eds. John Wiley and Sons, New York, Unit 5.1-5.6.
41. Schwyzer, M.; and Ackerman, M. (1996). Molecular virology of ruminant herpesviruses. *Veterinary Microbiology* 53:17-29.
42. Spadrow, B.; Hoffmann, D. (1980). Bovine Ocular Squamous Cells Carcinoma. *Veterinary Bulletin* 50(6):449-459.
43. Tikoo, S.K.; Campos, M.; Babiuk, L.A. (1995). Bovine herpesvirus 1 (BHV-1): biology, pathogenesis and control. *Ad. Virus Res.* 45: 191-223.
44. van Engelenburg, F.A.C.; van Schie, F.W.; Fijsewijk, F.A.M.; van Oirschot, J.T. (1993). Excretion of Bovine Herpesvirus 1 in semen is detected much longer by PCR than by virus isolation. *J. of Clinical Microbiology.* 33(2):308-312.
45. van Oirschot, J.T. (1995). Bovine Herpesvirus 1 in semen of bulls and risk of transmission: a brief review. *The Veterinary Quaterly.* 17(1): 29-33.
46. Wentink, G.H.; Van Oirschot J.T.; Verhoeff J. (1993). Risk of infection with Bovine Herpes virus 1 (BHV1): A review. *The Veterinary Quaterly* 15(1):30-33
47. Whetstone, C.A.; Miller, J.M.; Seal, B.S.; Bello, L.J.; Lawrence, W.C. (1992). Latency and reactivation of a thymidine kinase-negative bovine herpesvirus 1 deletion mutant. *Arch. Virol.*, 107 (1-2): 27-34.
48. Wyler, R.; Engels, M.; Schwyzer, M. (1989). Infectious bovine rhinotracheitis/vulvovaginitis (BHV-1). *In:* Wittmann, G. (Ed.). *Herpesvirus Disease of Cattle, Horse and Pigs.* Developments in Veterinary Virology. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 1-72.



## Divisiones del ciego y colon ascendente del conejo (*Oryctolagus cuniculus*)

Möller, R.<sup>1</sup>; Pérez, W.<sup>1</sup>; Martín, E.<sup>1</sup>

### RESUMEN

Actualmente en el Uruguay, el conejo se está popularizando como mascota y también como animal de consumo, cosa que se evidencia en los comercios de venta de mascotas y en las carnicerías. Esto implica un mayor interés en el conocimiento de todo lo relacionado con esta especie.

La anatomía del conejo no es bien conocida y no existe un acuerdo sobre la nomenclatura para esta especie. El objetivo de este trabajo es proponer una división del ciego y colon de acuerdo con los principios establecidos en la Nomina Anatomica Veterinaria, designar cada parte con un nombre corto y simple facilitando su recuerdo; que tenga valor instructivo y descriptivo. Se estudiaron 18 conejos adultos. Algunos se disecaron en fresco y otros fijados en formol al 10 %. En el ciego, enrollado en una vuelta y media, se describe una base, un cuerpo con tres partes y el apéndice vermiforme. En el colon ascendente se describen también tres partes: un asa proximal, un asa intermedia con dos partes (mayor y menor) y un asa distal unida al mesoduodeno y mesenterio. Se concluye con una lista de nombres al estilo de la Nomenclatura Anatomica Veterinaria.

**Palabras clave:** anatomía, conejos, ciego, colon ascendente, intestino.

### SUMMARY

At present the rabbit is becoming more popular as a pet and as special dish. As can be seen at pet shops and butcheries. Therefore there is more interest in everything related to the species. The anatomy of the rabbit is not well known and there is no agreement in the nomenclature.

The objective of the present work is to propose division of the caecum and colon according to the "Nomina Anatomica Veterinaria", to name each part short and simple, easy to remember so it is instructive and descriptive.

Eighteen adult rabbits were studied. Some were dissected fresh and others fixed in 10 % formaline. The caecum is in one and a half loop; it has a base, a body with 3 parts and the vermiform appendix.

The ascendent colon also has 3 parts: a proximal loop, an intermediate loop with two parts (major and minor) and a distal loop attached to the mesoduodenum and mesentery.

A list of names in the Nomina Anatomica Veterinaria style is proposed.

**Keywords:** anatomy, rabbits, caecum, ascendent colon, intestine.

### INTRODUCCIÓN

Debido al aumento en la utilización del conejo como mascota y como animal de consumo, hay un

mayor interés en el conocimiento de todo lo relacionado con esta especie.

El Intestino grueso tienen una conformación muy diferente a la de los demás herbívoros domésticos. Además, el conejo no ha sido incluido en la Nomina Anatomica Veterinaria (NAV) (7) y por lo tanto no existe un acuerdo internacional sobre la nomenclatura anatómica para esta especie. Por este motivo, diferentes autores han usado nombres diferentes para estructuras similares. En el caso del intestino y en particular para el ciego y

colon ascendente, los autores citados en este trabajo utilizan nomenclatura diferente y confusa. El objetivo de este trabajo es proponer una división de las partes del ciego y colon ascendente del conejo con una nomenclatura clara, instructiva y con valor descriptivo, de acuerdo a los principios establecidos por la Asociación Mundial de Anatomistas Veterinarios (7).

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 18 conejos adultos, 10 hembras y 8 machos. Las razas usadas fueron: californiano: 6 hembras y 2 machos; neocelandés: 4 hembras y 2 machos; chinchilla: 2 machos y cruce de neocelandés x californiano: 2 machos. La

edad de los animales osciló entre 1 y 2 años y el peso entre 6 y 7 kilos. Fueron sacrificados por sobredosis de anestésico, tiopental sódico i/v, tras la venoclisión de una vena auricular. Diez animales se estudiaron mediante disección en fresco y los otros fueron previamente fijados con solución de formol al 10 % por vía intra-arterial. La técnica de fijación consistió en canular en sentido caudal la arteria aorta a nivel de tórax por un abordaje intercostal izquierdo e inyectar la solución de formol al 10 %.

El abordaje del abdomen se hizo por una incisión paramediana; desde el apéndice xifoides hasta el pubis, luego se procedió a realizar una incisión sobre cada arco

Recibido: 27/05/02 Aprobado: 30/09/02

<sup>1</sup>Facultad de Veterinaria. Universidad de la República Oriental del Uruguay. Montevideo. A. Laspace 1550. CP 11600., e-mail: todocan@adinet.com.uy.

costal hacia dorsal, para tener una amplia vista de los órganos abdominales. Una vez expuestos los órganos, se procedió a la observación de cada una de las partes del intestino grueso comenzando desde el ciego a nivel de la desembocadura del íleon.

Las referencias usadas para los esquemas y las fotos son:

a, apéndice vermiforme del ciego; b, base del ciego; c, parte descendente del cuerpo del ciego; c', parte ascendente del cuerpo del ciego; c'', parte transversa del cuerpo del ciego; d, duodeno; e, estómago; h, hígado; i, íleon; j, asa proximal del colon ascendente; k, asa intermedia - parte mayor del colon ascendente; l, asa intermedia - parte menor del colon ascendente; m, asa distal del colon ascendente; n, colon transverso; o, colon descendente; y, yeyuno-íleon.

## RESULTADOS

En todos los animales se observó la misma disposición del ciego y colon ascendente.

El ciego, relativamente muy largo al compararlo con otros mamíferos domésticos, se encontró siempre enrollado en una vuelta y media. Esta conformación permitió dividirlo en tres partes principales. Una parte inicial, la base (*Basis ceci*) (b, Esquema 1), seguida de un cuerpo (*Corpus ceci*) (Figura 1 y 2 y Esquema 1) y una parte terminal más delgada, el apéndice vermiforme (*Appendix vermiformis ceci*) (a; Esquema 1 y Figura 1 y 2). En el cuerpo del ciego también se observaron tres partes evidentes: una parte descendente ubicada a la derecha del plano medio (*pars descendens corporis ceci*) y extendida hacia caudal (c, Esquema 1 y Figura 1), una parte ascendente

(*pars ascendens corporis ceci*) extendida de caudal a craneal ubicada a la izquierda del plano medio (c', Esquema 1 y Figura 1) y una parte transversal (*pars transversa corporis ceci*), que describía una curva de izquierda a derecha (c'', Esquema 1), de transición entre el cuerpo y el apéndice vermiforme.

El colon ascendente se encontró también con tres partes o asas fácilmente reconocibles (Esquema 2). La primera, a partir del ciego y unida a él en toda su extensión presentaba saculaciones en su parte externa. Ésta podría llamarse asa proximal (*Ansa proximalis coli*) (j; esquema), siendo su límite a la altura del borde libre del pliegue cecocólico que era lo que la sostenía. La segunda, estaba situada casi toda a la izquierda del plano mediano y dorsalmente. Esta segunda parte o asa intermedia (*Ansa intermedia coli*) describió, en todos los casos, 2 flexuras con

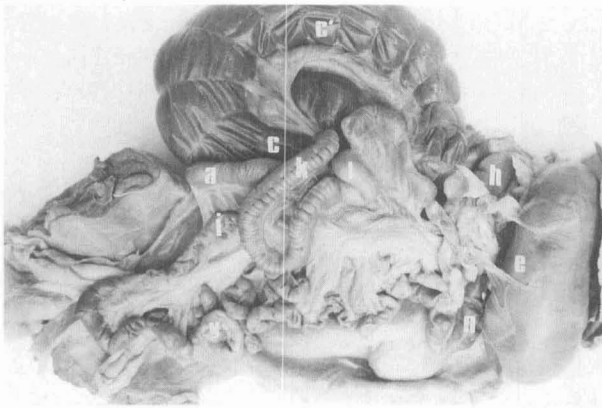


Figura 1. Vista izquierda de los órganos digestivos.

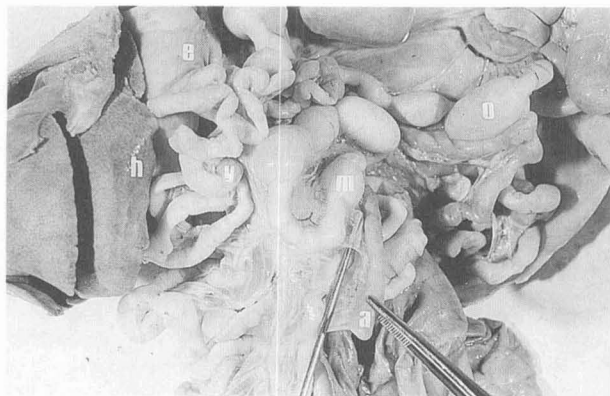
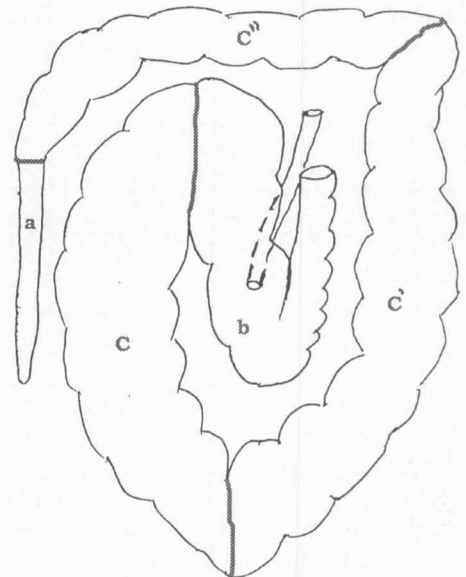
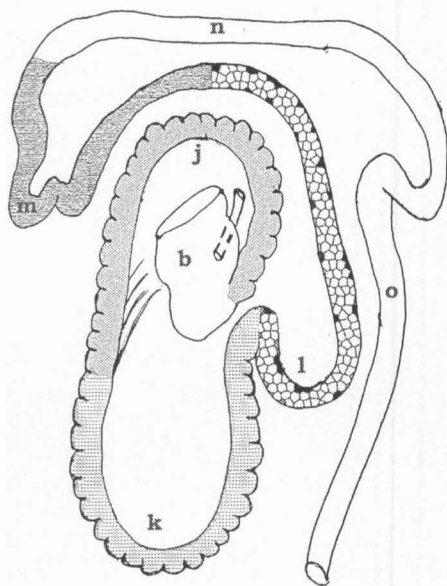


Figura 2. Vista derecha de los órganos digestivos.



Esquema 1. Ciego. Vista central.



Esquema 2. Colon ascendente. Vista ventral.

Nota: para dar mejor entendimiento de la continuidad de las partes del colon ascendente, no se han respetado las proporciones y a cada parte se le ha dado un relleno diferente.

vértice hacia caudal. La primera flexura (k, Esquema 2 y Figura 1) fue siempre la más grande, sujeta por un amplio mesocolon, con su superficie externa con saculaciones (*Haustrae*) al igual que el asa proximal. La segunda flexura del asa intermedia, tenía una superficie lisa, estaba adherida a la raíz del mesenterio en un animal y en los restantes estaba sostenida por un muy corto mesocolon (l, Esquema 2 y Figura 1). En base a las diferencias de extensión y conformación, cada uno de estos tramos del asa intermedia, es decir, las flexuras, podrían llamarse parte mayor (*Pars magna, ansae intermedialis coli*) y parte menor (*Pars parva, ansae intermedialis coli*) respectivamente (k y l en Esquema 2 y Figura 1). El último tramo del colon ascendente, el asa distal (*Ansa distalis coli*) (m; Figura 2), estaba a la derecha del plano mediano y dorsalmente a las otras dos asas cólicas. Esta asa, estaba siempre fijada a la raíz del mesenterio y al mesoduodeno y se extendía desde el asa

intermedia hasta la flexura cólica derecha del colon transverso, describiendo en un animal una doble curvatura.

## DISCUSIÓN

La descripción del ciego está basada en el trabajo de Heldsdörfer (6). Sin embargo, hemos adaptado la misma al criterio más moderno y acorde a la NAV (7) empleado por Barone (1,2,3). Según este último, la base del ciego es parte del colon ascendente, al igual que en el caballo (2), luego describe un cuerpo pero sin asignarle partes. Nosotros proponemos por lo tanto incorporar a la nomenclatura del ciego, la base y el cuerpo con tres partes: descendente, ascendente y transversa. Si bien se incorpora el término "base" (a semejanza del caballo) no consideramos aplicar el término de "ápex". Esto es debido a que no se ajusta a las características generales del ciego de las demás especies domésticas, por la presencia del apéndice vermiforme en el extremo del cuerpo.

Las descripciones encontradas en la bibliografía consultada sobre el **colon ascendente** del conejo, son poco explícitas. Bensley (4) se limita a describirle cinco ramas o tramos separados por flexuras, sin especificar la topografía y conformación de cada parte. Barone (1,2,3), en cambio, simplifica la descripción a sólo dos tramos. El primero, al que llama asa espiral, está asociado al ciego e ileon, lo que corresponde a lo que nosotros proponemos llamar asa proximal. Al segundo tramo le describe dos amplias inflexiones en S. Este segundo tramo sería comparable a las asas intermedia y distal que describimos, aunque no es posible establecer una correspondencia con las inflexiones descritas por este autor.

El trabajo publicado por Bonfert (5) ofrece una descripción del colon ascendente algo más detallada; al igual que Barone (1,2,3) lo divide en dos partes, pero a la segunda parte la subdivide en tres asas. Las dos primeras asas de Bonfert (5) corresponden a las dos partes, mayor y menor, del asa intermedia descrita por nosotros, mientras que la tercera asa concuerda con el asa distal de nuestra propuesta.

La tesis de Heldsdörfer (6) es la que ofrece la descripción más detallada y es la que mejor concuerda con nuestra descripción. Este autor propone dividir el colon ascendente en porción inicial y asas primera, segunda y tercera. La primera y segunda asa con sus vértices hacia caudal. La concordancia de la parte inicial y tercera asa con las asas proximal y distal de nuestra propuesta es total. Las asas primera y segunda corresponderían a las partes mayor y menor del asa intermedia de éste trabajo. La ventaja de nuestra propuesta, creemos que radica en que se ajusta a los principios generales de nomenclatura anatómica acordados por la Asociación Mundial de Anatomistas Veterinarios y que resulta, por lo tanto, descriptiva, fácil de recordar y adecuada para el estudio funcional de sus partes.

## CONCLUSIONES

El siguiente listado al estilo de la Nomenclatura Anatómica Veterinaria concluye esta propuesta de división y nomenclatura del ciego y colon del conejo:

### Cecum

- Basis ceci
- Corpus ceci
  - Pars descendens
  - Pars ascendens
  - Pars transversa
- Appendix vermiformis ceci

### Colon ascendens

- Ansa proximalis coli
- Ansa intermedia coli
  - Pars magna
  - Pars parva
- Ansa distalis

## Agradecimientos

Agradecemos al Área de Animales de Granja y Pilíferos de la Facultad de Veterinaria por cedernos las instalaciones y especialmente a la Dra. Beatriz Cavallero.







## Presencia de nuevos géneros y especies de estrogilidos en los equinos en Uruguay

Falcón, J.D.<sup>1</sup>

### RESUMEN

Se comunica la presencia, por primera vez, en equinos de Uruguay, de las siguientes especies de nematodos: *Triodontophorus brevicauda* (Loos, 1902), (Strongylidae – Strongylinae) y *Cylicodontophorus bicoronatus* (Loos, 1900), *Cylicocyclus brevicapsulatus* (Ihle, 1920), *Cylicocyclus elongatus* (Loos, 1900) (Strongylidae – Cyathostominae).

**Palabras clave:** *Triodontophorus*, *Cylicodontophorus*, *Cylicocyclus*.

### SUMMARY

The presence, for the first time, in equines of Uruguay of the following species of nematodes *Triodontophorus brevicauda* (Loos, 1902), (Strongylidae – Strongylinae) and *Cylicodontophorus bicoronatus* (Loos, 1900), *Cylicocyclus brevicapsulatus* (Ihle, 1920), *Cylicocyclus elongatus* (Loos, 1900) (Strongylidae–Cyathostominae) is reported.

**Keywords:** *Triodontophorus*, *Cylicodontophorus*, *Cylicocyclus*.

### INTRODUCCIÓN

En Uruguay, existe muy poca información científica nacional referente a los helmintos que parasitan a los equinos (1). Desde que la economía del país depende en un altísimo porcentaje de la exportación de productos y subproductos derivados de la explotación de ovinos y bovinos, es racionalmente a estas especies que se les asigna prioridad al tiempo de invertir esfuerzos de investigación. Sin embargo, el equino continúa siendo imprescindible en las tareas rurales. Además, varias actividades deportivas de naturaleza hípica como las carreras de caballos, el polo, los raids, la equitación, etc., tienen en el país una tradición de larga data y la obtención de equinos que puedan desarrollar su máximo potencial competitivo requiere que estos hayan estado sometidos desde su nacimiento a un programa sanitario óptimo el cual tiene como uno de sus pilares fundamentales la sanidad parasitaria. Existe además una actividad de exportación, fundamentalmente de carne equina procesada. En este rubro Uruguay exporta anualmente aproximadamente 40 millones de dólares de acuerdo a datos de INAC.

De acuerdo a las investigaciones realizadas en otros países el equino es la espe-

cie doméstica que puede albergar la mayor cantidad de géneros y especies de nematodos parásitos en su tubo digestivo (10). La gran mayoría de ellos pertenecen a la familia *Strongylidae* y dentro de esta se agrupan en dos subfamilias *Strongylinae* y *Cyathostominae* cuyas formas adultas se encuentran distribuidas a lo largo del intestino grueso. Dentro de la subfamilia *Strongylinae* se han descrito cuatro géneros que son *Strongylus*, *Triodontophorus*, *Oesophagodontus* y *Craterostomum*. Las especies del género *Strongylus* han sido llamadas principalmente por autores sajones, como los “grandes estrogilidos” mientras que las especie pertenecientes a los otros tres géneros se les conoce como los “medianos estrogilidos” (17). Dentro de la subfamilia *Cyathostominae* que agrupa a los “pequeños estrogilidos” se han descrito en el mundo 13 géneros con 51 especies (11).

Desde siempre se ha reconocido fundamentalmente la importancia patógena del género *Strongylus* debido a que sus estados larvarios realizan migraciones por diversos órganos internos, causando lesiones que pueden originar cuadros clínicos desde leves a muy graves o incluso la muerte del hospedero mientras que sus estados adultos, provistos de una gran

cápsula bucal, injurian ampliamente la mucosa intestinal y sustraen a su hospedero considerable volumen sanguíneo (17).

Menor importancia, desde el punto de vista patógeno, se le atribuido a los demás géneros de la subfamilia *Strongylinae* y a los géneros que integran la subfamilia *Cyathostominae* principalmente porque sus estados adultos tienen un menor tamaño relativo, con cápsulas bucales menos desarrolladas en el caso de los estrogilinos o de forma cilíndrica poco profunda como en el caso de los cyathostominos con lo que su acción sobre la mucosa intestinal es poco considerable. Además la fase parasitaria del ciclo biológico de estos nematodos transcurre enteramente en el tubo intestinal del equino sin lesionar por lo tanto órganos internos (17).

Sin embargo, en los últimos años se ha realizado una profusa actividad de investigación en los pequeños estrogilidos debido fundamentalmente a tres hechos: 1) el desarrollo y uso, en el último cuarto del siglo pasado, de drogas antihelmínticas de gran eficacia contra los grandes estrogilidos ha determinado que éstos hayan perdido significación (12). Por otra parte, estas drogas, han mostrado menor eficacia frente a los pe-

Recibido: 30/09/02 Aprobado: 30/09/02

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Veterinaria. Universidad de la República Oriental del Uruguay. Montevideo. A. Lasplaces 1550. CP 11600.

queños strongylidos y desde finales de la década de los setenta se vienen publicando trabajos que dan cuenta de la existencia, en diferentes partes del mundo (5, 6, 7, 8), y también en Uruguay (3) del fenómeno de resistencia de este grupo de nematodos hacia los benzimidazoles, 2) se ha reconocido en algunos trabajos la importancia de los estados larvarios de los pequeños strongylidos, cuando emergen de la mucosa de intestino grueso, ciego y colon, en la etiología de un importante síndrome que puede causar un severo cuadro de colitis o la muerte en equinos (13, 14, 19), 3) se han obtenido promisorios resultados para el control biológico de este grupo de parásitos a través del uso de determinadas especies de hongos nematófagos (2, 9).

Lo anteriormente mencionado ha hecho que la infección con cyathostominos sea hoy un problema parasitario emergente de los equinos.

En su revisión sobre la fauna parasitológica diagnosticada en Uruguay, Castro y Trenchi (4) mencionan solamente dentro de la familia Strongylidae a los géneros *Strongylus* con sus especies *S. vulgaris*, *S. equinus* y *S. edentatus*. Otra comunicación mencionada en dicha publicación se refiere a "Cylicostoma", no aclarando a que se refiere el autor con esta denominación.

Es necesario conocer cual es la situación actual a nivel nacional con respecto a este problema sobre el que se deberá seguir investigando en el futuro y creemos que el primer paso es determinar claramente cuales son los géneros y eventualmente las especies de cyathostominos presentes en el país.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó el tubo gastrointestinal completo de dos equinos, no pudiendo determinarse datos de los animales debido a que las plantas de faena adquieren los animales a vendedores que los obtienen de diferentes lugares del país.

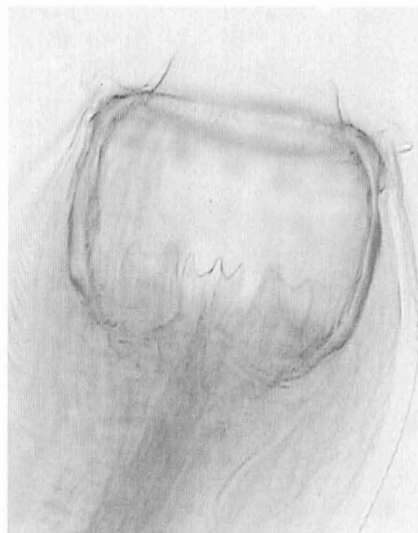
En el laboratorio se procesó el material incidiendo con enterótomo la pared del ciego y colon en toda su longitud e inspeccionando cuidadosamente tanto la superficie de la mucosa de dichos órganos como su contenido, el que fue separado en pequeñas porciones para facili-

tar la visualización de los vermes. Los helmintos adultos se separaron de la materia fecal mediante aguja parasitológica depositándolos primeramente en solución salina fisiológica para ser lavados y posteriormente se transfirieron a recipientes adecuados con solución de formol comercial al 10% para su conservación.

Previo aclarado con lactofenol se procedió a montarlos en gelatina para su posterior estudio al microscopio óptico a 400 aumentos. Se determinó la longitud en milímetros, y se estudió fundamentalmente la morfología de la cápsula bucal y de la extremidad posterior tanto de los ejemplares machos como de las hembras. Para la identificación de géneros y especies se usó la clave de Lichtenfels (10) y el trabajo monográfico ilustrado de Tolliver (18). Los nombres de las especies de acuerdo a lo recomendado por Lichtenfels *et al.* (11).

## RESULTADOS

Se determinó la presencia de las siguientes especies de nematodos: *Triodontophorus brevicauda* (Loos, 1902) (Strongylidae – Strongylinae) y *Cylicodontophorus bicoronatus* (Loos, 1900), *Cylicocyclus brevicapsulatus* (Ihle, 1920), *Cylicocyclus elongatus* (Loos, 1900) (Strongylidae – Cyathostominae)..



## DISCUSIÓN

La principal característica morfológica distintiva de los nematodos pertenecientes al género *Triodontophorus* es su cápsula bucal de forma subglobular en la que se destacan 3 grandes dientes que parecen emerger desde la entrada del esófago (10). En los ejemplares observados al microscopio óptico pudimos reconocer en su cápsula bucal las características morfológicas (Figura 1) que nos llevaron a al diagnóstico de la especie *Triodontophorus brevicauda*, fundamentalmente la forma de sus dientes, cada uno, con una suave ranura en forma de U en el medio y la extremidad anterior del nematodo similar a un pequeño plato boca arriba (Tolliver). Las medidas de longitud obtenidas en dos machos fueron de 14,6 y 15 mm. las que coinciden con las mencionadas por otros autores (15).

Dentro de la subfamilia *Cyathostominae* el género *Cylicodontophorus* se distingue morfológicamente por poseer una cápsula bucal corta y de paredes gruesas con coronas de dentículas interna y externa bien notorias. Lichtenfeld (10) describe, dentro de este género, tres especies que son: *C. bicoronatus*, *C. euproctus*, y *C. mettami*, estableciendo como característica morfológica diferencial mas importante entre ellas la relación entre largo y ancho de los elementos que for-

**Figura 1.** *Triodontophorus brevicauda*. Extremidad anterior 400 x. Se observa la cápsula bucal con los dientes característicos del género en el fondo. En la parte más apical de la extremidad se observa una estructura con apariencia de «platinillo boca arriba» que distingue a esta especie.

man las coronas radiadas interna y externa, siendo las denticulas de ambas coronas de aproximadamente el mismo tamaño en *C. bicoronatus* y notoriamente diferentes entre si en las otras dos especies. Otros investigadores (18) complementan la descripción morfológica de *C. bicoronatus* mencionando que la corona radiada interna está formada de elementos fuertes que semejan los dientes de un peine (Figura 2). Las medidas de longi-

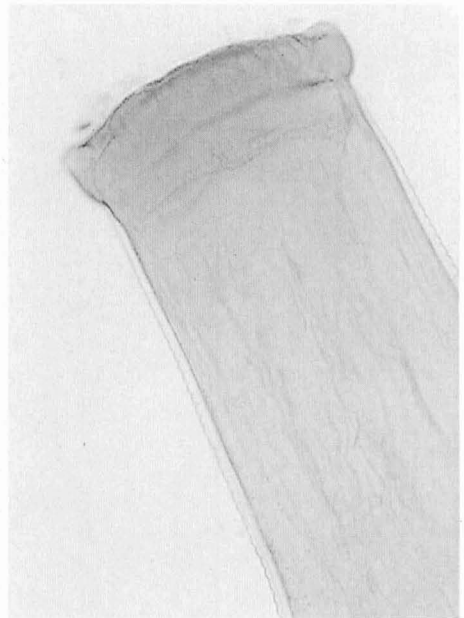
tud obtenidas en dos ejemplares hembras fueron de 13,7 y 12,5 mm. las que coinciden con las mencionadas por otros autores (15).

Los nematodos pertenecientes al género *Cylicociclus* se caracterizan fundamentalmente por ser nematodos de media a pequeña talla y provistos de una cápsula bucal que en general es rectangular en la mayoría de las especies que han sido descritas. Destacan también las papilas

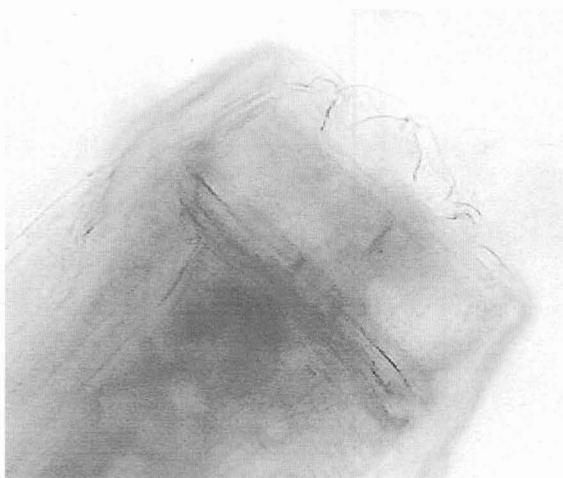
laterales que son anchas y prominentes (10). Se comprobó la presencia de dos especies: *C. brevicapsulatus* (Figura 3) que posee una cápsula bucal muy poco profunda e inaparente con elementos de la corona radiada externa anchos y bien notorios. También comprobamos la presencia de *C. elongatus* (Figura 4) especie caracterizada por su tamaño similar al de los medianos strongilidos y morfológicamente distinguibles por su cápsula



**Figura 2.** *Cylicodontophorus bicoronatus*. Extremidad anterior 400 x. Se observa la cápsula bucal muy corta y con paredes que se abren hacia fuera y los fuertes elementos de la corona interna que semejan a los «dientes de un peine»



**Figura 3.** *Cylicociclus brevicapsulatus*. Extremidad anterior 400 x. Se observa la cápsula bucal extremadamente corta e inaparente.



**Figura 4.** *Cylicociclus elongatus*. Extremidad anterior 400 x. Se observa la cápsula bucal con pocos y muy anchos elementos de la corona externa. Escala: Línea en borde superior izquierdo corresponde a 100 micras.

bucal bastante ancha con pocos y anchos elementos de la corona radiada externa y un esófago muy largo y recto (10). En el caso de *C. brevicapsulatus* obtuvimos medidas de longitud total de 8 mm. en los machos y entre 9,7 y 11,5 mm en la hembras mientras que para *C. elongatus* obtuvimos medidas de 18 mm. en dos hembras. En ambos casos estas medidas coinciden con las mencionadas por otros autores (15).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

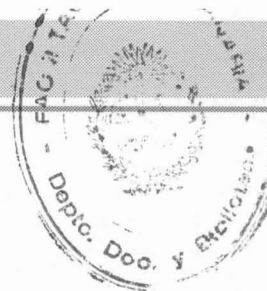
De acuerdo a los datos obtenidos en este trabajo se concluye que las especies mencionadas se encuentran integrando la fauna parasitaria en los equinos de Uruguay. Investigaciones en países limítrofes (16) comunican la presencia en ellos de una amplia gama de especies de Cyathostominae, situación ésta que seguramente

es similar en Uruguay. Es necesario continuar investigando hasta dilucidar totalmente el espectro de especies presentes en el país para en etapas posteriores encarar estudios epidemiológicos que nos conduzcan a establecer planes de control más eficaces.

## Referencias Bibliográficas

1. **Amaro J., Ormaechea D., Capurro F., Diana V., Pessano G., Sallúa S.** (1992). Presencia y prevalencia de *Fasciola hepática* y helmintos gastrointestinales en una muestra de equinos deportivos en el Uruguay. *Veterinaria*, Vol. 28 No. 116.
2. **Bird J., Herd, R.P.** (1995). In vitro assessment of two species of nematophagous fungi (*Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys flagrans*) to control the development of infective cyathostome larvae from naturally infected horses. *Vet. Parasitol.* 56: 181-187.
3. **Castells, D.; Trezza, C.; Sacco, G.; Ponce de León, L.I.** (1995). Resistencia antihelmíntica de *Cyathostomas* (pequeños estróngilos del equino) al fenbendazol. *Veterinaria*. Vol. 31, No. 127, julio-setiembre 1995.
4. **Castro, E.R. y Trenchi, H.** (1954). Fauna parasitológica comprobada en el Uruguay. *Revista de Medicina Veterinaria*. Tomo VII, Año XIX.
5. **Gawor, J.** (1995). Resistence of Cyathostominae to benzimidazole preparation in horses. *Magazyn Weterynaryjny* 4: 101-102.
6. **Genchi, C., Sacco, B. di., Traldi, G., Nogara, B., Quintavalla, F., Di Sacco, B.** (1992). First observations in Italy on the resistance of small strongyles (Cyathostominae) to benzimidazoles and the efficacy of pyrantel pamoate. *Ippologia*. 3: 2, 77-80.
7. **Herd, R.P.; Coles, G.C.** (1995). Slowing the spread of anthelmintic resistant nematodes of horses in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 136: 481-485.
8. **Ihler, C.F.** (1995). A field study on anthelmintic resistance in equine small strongyles in Norway. *Acta Veterinaria Scandinavica* 36: 135-143.
9. **Larsen, M.; Nansen, P.; Grondahl, C.; Thamsborg, S.M.; Gronvold, J.; Wolstrup, J.; Henriksen, S.A.; Monrad, J.** (1996) The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infection in foals on pasture. *Parasitology* 113: 1-6.
10. **Lichtenfels J.R.** (1975). Helminths of Domestic Equids. *Proceedings of The Helminthological Society of Washington*. Vol. 42.
11. **Lichtenfels J.R.; Kharchenko, V.A.; Kreck, R.C.; Gibbons, L.M.** (1998). An annotated checklist by genus and species of 93 species level names for 51 recognized species of small strongyles (Nematoda: Strongyloidea: Cyathostominae) of horses, asses and zebras of the world. *Vet. Parasitol.* 79: 65-79
12. **Love, S., Murphy, D., Mellor D.** (1999). Pathogenicity of cyathostome infection. *Vet. Parasitol.* 85: 113-122.
13. **Mair, T.S.** (1994). Outbreak of larval cyathostomiasis among a group of yearling and two-years-old horses. *Vet. Rec.* 135: 598-600.
14. **Mansmann, R.** (1997). Clinical aspects of equine larval cyathostomiasis. *Large Animal Practice* 18: 30-32.
15. **Quiroz Romero, H.** (1990) *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos*. 4ª. Ed. México, Limusa. 876 p.
16. **Silva, A.V.M.; Costa, H.M.A.; Santos, H.A.; Carvalho, R.O.** (1999). Cyathostominae (Nematoda) parasites of *Equus caballus* in some Brazilian states. *Vet. Parasitol.* 86: 15-21.
17. **Soulsby, E.J.L.** (1987) *Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos*. 7ª. Ed. México, Interamericana. 823 p.
18. **Tolliver S.C.** (Monografía) (2000). A Practical Method of Identification of the North American Cyathostomes (Small Strongyles) in Equids in Kentucky. University of Kentucky. College of Agriculture. Department of Veterinary Science. Lexington, Kentucky 40546.
19. **van Loon, G., Deprez, P., Muylle, E., Sustronk, B.** (1995). Larval cyathostomiasis as a cause of death in two regularly dewormed horses. *J. Vet. Med. Series A842*, 301-306.





## La rabia

Rossi, D.<sup>1</sup>

La rabia es una enfermedad muy vieja, tal vez tan vieja como la propia humanidad. Tres mil años antes de Jesucristo ya se encuentra el origen de la palabra "rabia" en la lengua sánscrita, donde "Rabhas" significa "agredir".

La palabra griega "lyssa" viene de la raíz "lud": "violento". La primera descripción de la enfermedad se remonta a muchos años antes de Jesucristo, en el Código Es-huma en Babilonia. Desde la antigüedad ya se había establecido la relación entre la rabia humana y las mordeduras de los animales rabiosos (especialmente perros).

Girolamo Fracastoro, sabio italiano nacido en Verona, describió la enfermedad (que había podido observar en numerosos pacientes) y sus modos de contaminación, y esto en 1530, es decir ¡350 años antes de que Luis Pasteur trabajara en la vacuna

Durante el siglo XIX la rabia canina o rabia de la calle es por dondequiera un verdadero flagelo, particularmente en Europa. El miedo a la rabia, debido a su modo de contaminación y a la ausencia de tratamiento eficaz, se había vuelto irracional. Las personas mordidas por un perro sospechoso de rabia se suicidaban o eran sacrificadas.

En este mundo de miedo irracional, el primer tratamiento post-exposición realizado en 1885 por Luis Pasteur dio a este gran sabio una aura internacional que no habían sido suscitado hasta entonces sus otros importantes trabajos científicos.

### LOUIS PASTEUR (1822-1895)

Fue este tal vez el investigador que más vidas haya salvado. Sus estudios orientados demostrar su creencia de la falsedad de la Teoría de la Generación espontánea, le valieron honores y enemigos. Pero al mismo tiempo y gracias a su tesón y enervado trabajo, hicieron que la ciencia médica diera su más trascendental paso: el conocimiento y dominio de los gérmenes patógenos.

Sus estudios se abocaron a las más diversas patologías animales y humanas: desde una enfermedad de los gusanos de seda, el carbunco, y por supuesto la Rabia.

El dos de junio de 1878, Pasteur en una prueba de campo que involucró a 60 carneros, demostró ante numeroso público la eficacia de la primera vacuna, cuando de la población infectada con *Ántrax* solamente permanecieron vivos y sanos los veinticinco animales que previamente se habían inoculado con aquella primitiva vacuna y diez individuos testigos que no habían tenido contacto con la enfermedad.

En 1880 Pasteur se aboca de lleno al estudio de la rabia, apoyándose en estudios de otros investigadores no tan conocidos hoy día, tales como Pierre Galtier, quien entre otras cosas se le considera el descubridor de la presencia del virus de la rabia en la saliva de los infectados.

Comienza Pasteur a trabajar en la búsqueda de la vacuna de la rabia, motivado por la profusión de casos de la enfermedad en Francia. Comienza pues, a experimentar con perros rabiosos. Había descubierto que el virus (aunque ni por asomo sospechar de que tipo de microorganismo se trataba) además de en la saliva, se encontraba en los tejidos nerviosos, y es así que comienza a experimentar con perros rabiosos y sanos, así como con conejos.

Luego de varios experimentos logra atenuar el virus y con ese material logra las primitivas vacunas, las que fueron usadas hasta entrado el siglo veinte. Luego de Pasteur, el avance de la técnica permitió purificar la vacuna de la rabia hasta llegar a la que hoy tenemos, de cultivos celulares.

El virus de la Rabia es, junto con el de la poliomielitis, el más neurotrópico de los virus.

### GÉNERO LYSSAVIRUS

En este género, diferentes serotipos habían sido caracterizados gracias al empleo de una bacteria de anticuerpos monoclo-

nales. Es así que 4 principales serotipos han sido identificados.

El serotipo 1 comprende todas las cepas de virus rábico (rabia salvaje, rabia de las calles, las cepas de rabia fijas y las cepas vacunales).

Los otros serotipos son considerados como virus emparentados con la rabia.

Observado con microscopio electrónico, el virión rábico presenta un diámetro de 75 nm y un largo que varía entre 130 nm; La envoltura viral está erizada de espículas de 9 nm de longitud.

Una sola molécula de A.R.N. está presente por virión, constituida de 11932 nucleótidos, de un peso molecular de 4,6.106 daltones. El A.R.N. del genoma es de polaridad negativa, indicando que no es infeccioso en sí mismo. Luego de la penetración en la célula, el A.R.N. genómico, debe ser transcrito en moléculas complementarias positivas, capaces de producir las proteínas virales.

Contrariamente a los virus transportados por vía sanguínea, el virus rábico es transportado por vía nerviosa, es decir que toma prestado el sistema de transporte de su célula -blanco (la neurona) para progresar de la periferia (sitio de inoculación) hacia los centros nerviosos. Este sistema de transporte hace intervenir los microtúbulos de la célula.

El neurotropismo del virus de la rabia, es evidente en la patogenia de la enfermedad. Desde la lesión local por donde se introduce en los tejidos, pasa a lo largo de los nervios hasta el SNC.

La viremia es rara, pero una diseminación hematogena puede ocurrir en condiciones experimentales, como al infectar perros por vía sanguínea. La infección da por resultado una extensa destrucción de la corteza cerebral y cerebelosa, cerebro medio, ganglios basales, protuberancia y bulbo, con degeneración y desmielinización neuronal. En la médula espinal se observan alteraciones similares, más intensas en las astas posteriores. Hay una hiperemia e infiltra-

Recibido: 08/07/02 Aprobado: 02/09/02

Conferencia dictada en el Hospital de Clínicas, UDELAR.

<sup>1</sup>Ejercicio liberal E-mail: lucanor@adinet.com.uy

ción general, infiltración mononuclear y a veces pequeñas hemorragias peri vasculares. La extensión de estas lesiones va a depender de la duración de la enfermedad. Cuando la muerte ocurre tempranamente, las lesiones son mínimas. En forma centrífuga, a partir del SNC, el virus también llega a las glándulas salivales, haciendo de la saliva la principal fuente de infección.

## DIAGNÓSTICO

Es muy importante el diagnóstico de laboratorio en el animal que ha mordido. La saliva es infecciosa antes de que aparezcan los síntomas de la rabia. Básicamente se intenta conservar al animal sospechoso vivo por lo menos por diez días, y de esa manera permitir el desarrollo de la enfermedad, y así facilitar el diagnóstico. Este se basa - tanto en animales inferiores, como en el hombre en encontrar los corpúsculos de Negri, fundamentalmente en el Asta de Ammon por frotis por impresión.

Los corpúsculos de Negri, son formaciones acidófilas de inclusión, que son patognomónicas de la rabia. Los encontramos en el citoplasma de las grandes células ganglionares, más abundantemente en el Asta de Ammon, en la capa de células piramidales de la corteza cerebral y la capa de células de Purkinje del cerebelo y los ganglios basales. Miden de 2 a 10 micras, pero este tamaño puede ser mayor o menor. Se pueden teñir con Giemsa, aunque muchos investigadores opinan que es superior la tinción con el método de Sellers (fucsina básica y azul de metileno en metanol) tiñendo los cuerpos de Negri de magenta y los gránulos internos de azul. Si bien como dije son patognomónicos de la rabia, en un 10 al 25 por ciento de los casos de infecciones en las que se ha aislado el virus, no han podido ser encontrados. Son básicamente agrupaciones de virus.

Durante años se usaron las tinciones de Giemsa o de Sellers, pero últimamente se prefiere la técnica de Inmunofluorescencia. Esta permite visualizar cuerpos menores que no pueden verse con tinciones y además para ubicar el virus en las glándulas salivales. El virus también se puede aislar por inoculación de cerebro de ratón, y la visualización de los corpúsculos de Negri en las células cerebrales del mismo.

## LOS VECTORES DE LA RABIA

El principal vector y reservorio en el mundo es el perro. Los animales salvajes pue-

den agredir directamente al hombre o de manera indirecta contaminando a los animales domésticos. Es inmensa la cantidad de vectores que pueden transmitir la rabia, y la diversidad va a depender de la zona del globo que se trate.

Está presente en todos los continentes, y según la OMS, solo en 1992 murieron en el mundo miles de muertes por rabia humana.

Por ejemplo en América del Sur, constituyen un grave peligro los murciélagos hematófagos (*Desmodus rotundus rotundus*), así como los insectívoros.

Entre el Río Grande y el estuario del Plata, los primeros se cuentan por millones, y son los responsables de cómo mínimo unas 150 muertes por rabia humana, y de 500.000 a 1:000.000 de muertes de reses por rabia bovina, con el consiguiente perjuicio económico.

En los lugares donde este problema es grave, se ha recurrido a la unión del conocimiento con el ingenio para poder combatir el flagelo.

Estudios realizados en los vampiros, demostraron que estos animales carecen de elementos en sus organismos para regular la coagulación de su sangre, es por eso que necesitan de sangre de otros mamíferos. De no conseguirla, la muerte del quiróptero es inminente. Basados en esto, es que los investigadores comenzaron a inyectar a las reses cantidades inofensivas de anticoagulantes. Los vampiros que muerden esas reses, mueren por falta de factores de la coagulación en un plazo máximo de tres días.

En Nicaragua, estas técnicas de luchas contra los murciélagos hematófagos hizo que la producción de leche aumentara un 8%.

En un solo rebaño de vacas que registraba unas 1500 mordeduras diarias de murciélagos, con una pérdida diaria de 90 litros de sangre por día, mediante la inoculación de anticoagulantes, se logró llegar a tan solo siete al cabo de una semana.

En nuestro país hay grandes colonias de *Desmodus rotundus*, pero afortunadamente se trata de individuos libres del mal. Es por eso, y ante la indicación de los biólogos y expertos en el tema, que no es conveniente su exterminio, ya que en caso de quedar sus cuevas y refugios vacíos, el riesgo que se corre es que los mismos sean ocupados por colonias de animales infectados con la rabia.

En América del Norte, los reservorios de la rabia, son las mofetas, los zorros, los mapaches y los murciélagos insectívoros.

Solo en 1995, fueron declarados en América del Norte 7877 casos no - humanos de rabia. En Europa, la rabia ha evolucionado mucho en el curso del último siglo. Luego de la erradicación de la rabia canina gracias a la vacunación de los perros domésticos y de la eliminación de perros callejeros, varios países de Europa del Oeste han permanecido indemnes de rabia durante períodos más o menos largos.

Al final de la última guerra mundial, la adaptación del virus rábico a los zorros ha permitido a la rabia invadir numerosos países. La caza de zorros y la utilización de veneno no disminuyeron la rabia vulpina en Europa. No ha sido hasta la utilización de vacunas antirábicas orales contenidas en los cebos que el número de casos de rabia ha sensiblemente disminuido en toda Europa. En Francia, ésta disminución ha sido particularmente remarkable.

Los casos de rabia humana originarios son escasos en Europa. Ocurren sobre todo en los países del este europeo donde la rabia canina no es importante (menos de 10 casos por año).

Excepcionalmente, las personas mordidas en regiones de rabia endémica (África, Asia) desarrollan la enfermedad en un país europeo.

El principal vector de la rabia en Asia es el perro, allí en la mayoría de los casos de rabia humana son identificados. Es generalmente admitido que el número estimado de muertos (cifra superior al número oficialmente declarado) es del orden de 40.000, de los cuales la mayoría de los casos se encuentran en India. Ciertos países han establecido programas nacionales de lucha contra la rabia que han hecho disminuir sensiblemente el número de muertos (China, Indonesia, Malasia, Tailandia).

El perro continúa siendo el principal vector de rabia en África (alrededor del 90%). Más de 4000 casos de rabia animal han sido diagnosticados (informe de la OMS) que no reflejan sino una parte de la situación de la rabia en África.

Alrededor de 100-200 personas mueren de rabia cada año. Sin embargo, en la mayoría de esos casos, el diagnóstico es únicamente clínico. Como en Asia, hay verdaderamente una subestimación del número de casos de rabia.



En nuestro país, podemos decir que la rabia está con nosotros desde antes que seamos una nación independiente. José P. Barrán habla en la su obra historia de la sensibilidad uruguaya, que ya en los albores del siglo XIX, dentro de las murallas de Montevideo, uno de los peligros que podían acechar a los pobladores al pasar por uno de los tantos terrenos baldíos que había en la plaza fuerte era, el ataque de algún perro rabioso. Agrega para graficar, que los cadáveres de perros con rabia, que las autoridades o los ciudadanos mataban, quedaban tirados en las calles, por falta de un servicio que se encargara de la limpieza de las mismas, aumentando y haciendo insostenible el olor que había en la ciudad.

La Rabia, tiene el raro privilegio de haber sido la primera enfermedad animal documentada en una publicación en Uruguay, y es gracias al trabajo del Dr. Anibal Durán del Campo, Uruguay: Producción de carne, perspectiva histórica y contribución de la profesión veterinaria a la misma (Prácticas veterinarias N°3, Diciembre 1999) que tomamos conocimiento de ello., Quien lo hizo no fue otro que Dámaso Antonio Larrañaga, en su libro "Viaje de Montevideo a Paysandú". El relato de este viaje de 1815, en el que Larrañaga concurre a reunirse con el General Artigas y algunos Diputados de la Provincia Oriental en Paysandú, se transforma en una maravillosa crónica de la realidad de la campaña y sus habitantes, así como una minuciosa descripción de la flora y la fauna de la región, de la cual el sacerdote era un profundo conocedor.

En una parte de la misma, Larrañaga, refiriéndose a una de las paradas del viaje, dice:

"Tratamos de cenar prontamente y meternos en nuestras camas tendidas en el suelo sobre cueros a fin de abrigarnos con nuestras cubijas. Nuestro mayor cuidado en medio de tantas incomodidades, era atar bien los cueros que servían de parapeto, ya no tanto para el frío cuanto por temor a los perros rabiosos que, para nuestra desgracia hay muchos en esta campaña, y acababan de matar uno en este mismo día, que vino a los ranchos. Esta plaga la experimentamos desde la guerra última de los ingleses."

Mas adelante en el relato, Larrañaga relata unos consejos que les dio a los luga-

reños de la forma de proceder en caso de mordedura por un perro rabioso:

"...procuré recomendar a estos vecinos que inmediatamente que se sintiesen mordidos tratasen de dilacerar la herida, cuidando de no dejarla cerrar auxiliándose de algún cáustico, aunque fuese con un hierro caldeado, pues esta es la única e infalible medicina contra la hidrofobia o rabia. También les hablé de algunas yerbas que recomienda últimamente el Sr. Cavanilles en sus Anales, como el "Echium Vulgare" o borraja cimarrona y otras plantas, que cubren nuestros caminos." "De todas estas plantas secas y pulverizadas se toman como dos narigadas por dos veces en diez o doce días, y sin más régimen, asegura dicho autor haber hecho curas prodigiosas. Yo he hecho la experiencia y surtió buen efecto en un pobre paisano, bien que no puedo asegurar se debiese a esto solo la cura, pues ya se había aplicado otros innumerables tratamientos."

También en su obra, "La Banda Oriental hacia 1880", el autor Felix de Azara, aborda el tema. Allí sugiere un reglamento general de la campaña, en el que toca innumerables tópicos atinentes a la desordenada extramuros, y en el último punto dice:

*"duodécimo: exterminar los perros cimarrones, lo que no se conseguirá por los medios que se practican, sino trayendo de Cataluña la fruta silvestre llamada Mataca, para echar sus polvos sobre las reses muertas, porque así perecerían todos sin remedio, y lo mismo los tigres y leones."*

Como vemos por las crónicas de la época, de las cuales estos son solamente dos de la gran cantidad de testimonios que se refieren al tema, era una gran preocupación la que se sentía con respecto al tema de la Rabia, y la forma en que se luchaba fundamentalmente era con las matanzas del principal vector: el perro.

Eran varios los tratamientos que se practicaban para curar el mal, aunque como sabemos una vez que han aparecido los síntomas nerviosos de la enfermedad, la muerte es cosa inexorable.

Todavía no se conocían los trabajos de Pasteur, en procura de la vacuna. Y se puede decir que el método radical de la matanza de perros, en forma permanente y sistemática dio en cierta forma sus resultados.

Los exterminios eran realmente asombrosos, se habla de que "se formaban ejércitos de paisanos que acorralaban a la perrada en las rinconadas de ríos y arroyos, para matarlos a lanza y bala".

Hay documentos de la época que mencionan que utilizando ese procedimiento, se habrían llegado a matar en una sola jornada 10.000 perros en Rincón de San José, y en 1852, en Rincón de Tacuarí, más de 13.000.

## LA ESPADA DE DAMOCLES

Hoy en día, en nuestro país aparentemente no hay rabia. Y digo aparentemente, porque no se efectúan de rutina los análisis de los animales muertos con sintomatología nerviosa, como se hacía antaño.

Cualquier informe de los organismos mundiales o continentales de la salud, cuando hacen un relevamiento de la situación de la rabia, país por país, se refieren a Uruguay como: "sin aparición de casos de la enfermedad".

Esto que debería ser una tranquilidad y un orgullo, se ve opacado es en realidad una pesada espada de Damocles balanceándose sobre nuestras cabezas. Lo que antes nos enorgullecía, hoy nos avergüenza.

Siempre fuimos pioneros en la lucha contra el flagelo. Contábamos un Instituto antirrábico que era orgullo en el mundo entero, donde no solo se analizaban animales y personas sospechosas de tener la enfermedad, se preparaba el conjugado necesario para los estudios de Inmunofluorescencia y se garantizaba la seguridad de las vacunas que había en plaza, sino que además de ello se planificaban las campañas tendientes a lograr la erradicación de la enfermedad, que eran ejemplo para otros países.

En el año 1967, por ejemplo, Uruguay trajo a un eminente experto en el tema, como lo era el médico peruano Dr. Ave-llo Málaga Alba, quien organizó y dirigió la campaña en dicho año. Al terminar la misma, el Dr. Málaga comentó que nunca en todos sus años de dirigir campañas en los más diversos países, había podido llevar a cabo una tan excepcional como la que hizo en Uruguay.

Toda la población montevideana se movilizó en aras de ese objetivo. Se hizo una vacunación masiva de canes con propietario, se capturó a conciencia a pe-

rros vagabundos. En años anteriores Montevideo había sufrido una gran cantidad de casos de perros rabiosos, los que habían ocasionado tres muertes en seres humanos, los que murieron respectivamente en los hospitales Vilardebó, Pedro Visca y Pereira Rossell.

Los últimos casos de rabia canina fueron detectados escapando de Montevideo hacia el este, con el consiguiente peligro de que el mal se transformara de urbana a sub urbana, con el desastre que ello significaría.

Ya en el año 1965, el Uruguay también fue pionero con la vacunación pre exposición de profesionales, con una vacuna de cerebro de ratón lactante, la que se hacía en el Instituto antirrábico, dirigido por los doctores Dilandro y Lorenzo. Veterinario uno y médico el otro.

Hoy la realidad es otra: el instituto de zoonosis está totalmente desmantelado. En el año 1995, atendiendo los clamores de determinados grupos de protección a los animales, se suspendió la captura de canes en la vía pública, y al mismo tiempo se le sacó todo -o casi todo- al Instituto de Zoonosis (antiguamente antirrábico). No hay personal, ni camionetas ni medios para realizar un diagnóstico.

La realidad regional no es para nada tranquilizadora,

Tanto en la Argentina, como en Brasil y especialmente en Paraguay los casos de rabia van en aumento. Hasta en Chile, que cuentan con la excepcional barrera que significa la Cordillera de los Andes, recientemente han tenido la muerte de una niña mordida por un gato, infectado a su vez, por un murciélago insectívoro. La comunidad científica debe reaccionar de una manera drástica y contundente. Se deben ponderar las opiniones y poner en su exacto punto quién y cómo puede opinar de este tema. Es así que no vale lo mismo la opinión de un técnico que haya dedicado su vida a estudiarlo, que el de una ama de casa que siente compasión por los perritos.

La profesión veterinaria sufrió en carne propia este tipo de desatinos, cuando en el año 1994 se impuso al Uruguay "libre de aftosa sin vacunación".

En ese momento, en un Foro sobre la enfermedad que se realizó en el seno de la Sociedad de Medicina Veterinaria del

Uruguay, se concluyó que de ninguna manera nuestro país estaba preparado para ser considerado así.

No obstante, por parte del ministerio de ganadería, agricultura y pesca (que como anécdota diré que estaba dirigido por un abogado) se dijo que eso era erróneo, y se procedió contrario a la opinión de los expertos.

Las consecuencias de ello las estamos viendo hoy, y las pagamos todos.

No debemos dejar que con la rabia ocurra lo mismo. La campaña debe estar en manos de científicos, médicos, veterinarios, expertos en epidemiología y en educación, así como de todos aquellos que se hayan especializado en el tema.

Se debe proceder de la misma manera que se hizo cuando el último brote de rabia en el país: lograr que la población se comprometa con la campaña. Es la única manera.

Los que debemos hablar, y para ello es menester contar con el total apoyo oficial, solamente pueden ser los que sabemos del asunto.

Hace poco hubo una reunión en el despacho de un diputado. Allí fui invitado, y compartí la mesa con una serie de señoras protectoras de animales, y en determinado momento, mientras yo intentaba decir lo que pensaba acerca del tema rabia, fui interrumpido por una de estas mujeres, la que con una autoridad que asustaba me espetó en la cara:

Eso es todo mentira. La rabia solo desapareció en el siglo XIX, y tan solo fueron unos cientos de casos.

A eso es a lo que me refiero: La biblia junto al calefón.

Debemos contar con una buena ley de tenencia responsable de los animales de compañía, no un mamarracho. La profesión veterinaria (Sociedad de Medicina Veterinaria, la Facultad y la Academia Nacional de Veterinaria) elaboró un anteproyecto de ley, el que actualmente está siendo analizado en el parlamento y en ello depositamos nuestras mayores expectativas de llegar a un buen puerto.

Se debe jerarquizar y apoyar el trabajo de los técnicos del instituto zoonosis, del laboratorio Rubino y de todas las dependencias de Salud Pública que trabajan en el problema.

También hay que abordar el tema del perro vagabundo, así como del callejero. Y este tema es de por sí espinoso, porque no hay duda que es el talón de Aquiles de toda campaña que se encare, ya que tiene un componente de sensibilidad muy fuerte, que generalmente hace que la gente ponga el grito en el cielo, y por lo tanto que muchos políticos -por miedo a perder popularidad- miren para el costado cuando se les exige aplicación de normativas claras.

La mayoría de las protectoras de animales se arrojan el título de ser representantes de organizaciones mundiales de protección a los animales, y en realidad es mentira. La prueba de esto está en que la Sociedad Mundial de Protección a los Animales, recomienda la captura y eutanasia del perro vagabundo.

¿Qué quiere decir esto? ¿Qué es gente que odia a los animales y quiere matarlos por algún tipo de placer sádico? Para nada, es gente que básicamente está asesorada por veterinarios, por médicos o por biólogos, que son quienes dirigen las campañas sanitarias, no una manga de sabihondos, muchas veces con objetivos no muy claros.

Pero, como ya dije, para que esto ocurra debe haber un verdadero compromiso político de las autoridades. Sin el mismo, nada, ni las reuniones ni las campañas, sirve para nada.

Se debe realizar una verdadera campaña de información a la población, y de esta manera contar con un pueblo consciente y comprometido con la campaña.

Hoy vemos con agrado, que existe una intención por parte de las autoridades de Salud Pública en hincarle el diente al asunto, y lo aplaudimos. No solo lo aplaudimos, sino que además participamos del emprendimiento con muchísimas esperanzas.

Es nuestra obligación como universitarios aportar a la sociedad en lo que sabemos. Somos los referentes del pueblo en este tema, y es nuestra obligación retribuir -más que con impuestos-, con nuestro trabajo y opinión la educación que aquel nos ha pagado.

## 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, con un original y dos copias y en diskette (3.5").

La etiqueta del diskette deberá contener el apellido del primer autor, las primeras palabras del artículo y el nombre del procesador de texto utilizado. El texto será archivado en documento Word y no deberá exceder de 20 páginas en formato carta (21,6 x 27,9 cm), 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. Los cuadros y figuras deben ir al final del manuscrito (cada una en hoja aparte). Las figuras deben estar fuera del manuscrito hechas en Excell o Power Point. Las fotografías o impresiones serán en blanco y negro, 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, revisión) y 2. Trabajo de divulgación (práctica veterinaria, diagnóstico, tecnológico, conferencia). Los autores tendrán derecho a 3 revistas.

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 aporta y amplía el conocimiento o la comprensión de un problema determinado y 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 miembros de un Comité de Arbitros de la revista Veterinaria.

#### 2. Trabajos de divulgación

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, diagnósticos, tecnológicos, conferencias, educación, u otro según corresponda. También podrán ser publicadas Cartas al Editor de intercambio profesional.

#### Normas de redacción para Artículos Originales

Contendrán los siguientes elementos:

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

Nombre de Autores: apellido, inicial del nombre <sup>1</sup> ; otro/s nombres

ejemplo: Vidal, L.<sup>1</sup>; Gómez, J.<sup>2</sup>

dirección:(en pie de página): ejemplo: <sup>1</sup> Departamento de Bovinos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Suipacha 698, Buenos Aires, Argentina, tel.: (497)3002511, e-mail: vidal@facvet.com; <sup>2</sup> 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, será una versión en miniatura del artículo, conteniendo: objetivos, materiales y métodos, 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.

El resumen con texto en inglés se denominará: Summary.

Palabras clave

El autor propondrá las palabras clave que representen al contenido del texto para una clasificación y búsqueda bibliográfica. Se permitirán hasta 5 (cinco) palabras.

Las mismas palabras en idioma inglés (Key words) serán agregadas para complementar el Summary.

#### 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.



Describir claramente la marca, modelo y origen (ciudad y país del fabricante) de los equipos utilizados. Los reactivos, drogas o medicamentos deben describirse por su nombre genérico o químico o por marcas comerciales patentadas (que se señalarán al pie de página).

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 hacer un "pantallazo general" de los resultados experimentales y luego pueden describirse en cuadros (tablas) o figuras (gráficos, dibujos, fotografías) los datos de los experimentos. No deben presentarse datos repetitivos o demasiado extensos y detallistas.

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. Formule las conclusiones en forma clara. Deben aplicarse las referencias bibliográficas al experimento y no abundar en detalles no estudiados.

Deben exponerse la significación de los resultados y evitar las repeticiones.

Escrito en tiempo pasado en tercera persona del singular o plural según corresponda.

## CONCLUSIONES

Se deben dar interpretaciones que sean justificadas por los datos.

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

ya y hacer referencia a materiales o equipos y al apoyo financiero.

## Referencias Bibliográficas

En el texto: Al final de cada cita bibliográfica se colocará: el número correspondiente al autor con punto. Si existieran varias citas en el mismo párrafo se citará de la siguiente manera (ej.): (8, 10, 12-14, 22). Si es necesario mencionar un autor en el texto, se escribirá el apellido del 1er. autor entre paréntesis; si los autores fueran dos se colocarán los apellidos de ambos y entre medio el símbolo &. En todos los casos deberá citarse además el número correspondiente a la referencia bibliográfica.

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, numerando las obras citadas y consultadas en el texto. 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. ó también: 12(8):44-48. Ejemplo: González, R.; López, A. (1989) Parakeratosis 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 1ra.), 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.

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: Comunicaciones personales. No citar en las referencias bibliográficas.

## 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 autodefinen. Las referencias o símbolos de los cuadros se presentarán al pie del mismo en letra cursiva de tamaño 10 puntos. Ejemplo: Cuadro I. Variación de la temperatura en función del tiempo., Ejemplo de pie de cuadro: T = temperatura, t = tiempo (en minutos). Si el cuadro no es original, citar la fuente (Autor y año) en pie de página.

## Figuras 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.