



# VETE

Veterinaria /

2001 Vol. 36 nro. 144-145



FV-VMO0136/144-145.2

Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay

Año LXII Vol. 36 N° 144 - 145 Julio - Diciembre de 2001

Cerro Largo 1895 - Montevideo - Uruguay Tel-Fax (598-2) 408 6174 - 409 945 - Email: smvet@adinet.com.uy

## Contenido

FACULTAD DE VETERINARIA  
DPTO. DOC. Y BIBLIOTECA  
ENTRADO y ANOTADO

El 23 de octubre de 2002  
donación

### Trabajos Científicos

Enfermedad de almacenamiento lisosomal en terneros del norte de Uruguay  
*Rivero, R.; Kautz, S.; Gomar, M.S.; Barros, S.S.; Gimeno, E.J.* ..... 5

### Comunicaciones Cortas

Determinación de niveles séricos de Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) durante la gestación de la yegua por Radioinmunoanálisis (RIA)  
*Lanzzeri, S.; Martínez, E.B.; Gama, S.* ..... 11

Evaluación del moxidectin como dosificación estratégica del parto en ovinos  
*Castell, D.; Bonino, J.* ..... 17

Evaluación de la doramectina como dosificación estratégica del destete en ovinos  
*Castell, D.; Bonino, J.; Mari, J.J.* ..... 23

Leptospirosis aguda en canino: descripción de un caso clínico ..... 29  
*Berretta, C. D.; Martino P.*

### Homenaje

Dr. Rúben Lombardo ..... 33

### Información de Interés

Jornada Técnica de Veterinarios Higienistas en Buenos Aires ..... 37

Instrucciones para los autores ..... 39

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:**

Aldo Pérez Riera, MV

**CONSEJO EDITOR "Profesor Walter García Vidal":**

Pedro Bañales, DMV

Luis Barros, DV, MSV, PhD

Daniel Elhordoy, DV, FRCVS

Jacqueline Maisonnave, DMV, PhD

María A. Solari, DV

**Asesor Bibliotecológico:**

Elba Domínguez

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

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

## CONSEJO DIRECTIVO (1999 - 2001)

**Presidente:** Dr. Aldo Pérez Riera

**Presidente Suplente:** Dr. Alberto Sanner

**Titulares:** Dr. Oscar Ferreira  
Dr. Jorge Slavica  
Dr. Eduardo Galagorri  
Dra. Analía Cobo  
Dr. Alvaro Fernández  
Dr. Ariel Saez

**Comisión Fiscal:** Dr. Ignacio Pereira  
Dra. Alicia Baldovino  
Dr. José M. Borrazas

## CENTRO DE VETERINARIOS DE LA SMVU

### ARTIGAS

Ramón Rodríguez  
Lavalleja 234

### DURAZNO

Ana Acuña  
Artigas 375

### MALDONADO

Juan C. Dibarbouré  
Veterinaria Maldonado  
Velázquez esq. Mitre

### RIO NEGRO

Carlos De Mateo  
Young, 19 de Abril 1920

### SAN JOSE

Joaquín Rossi  
Colón 523

### CANELONES

Ramiro Díaz  
Batlle 304

### FLORES

Héctor García Pintos  
Trinidad, Granja Roland

### PASO DE LOS TOROS

Carlos Casadei  
Leandro Gómez 514

### RIVERA

Rafael Piazze  
Luis A. de Herrera 536

### SORIANO

Edgardo Bellini  
Mercedes, Sánchez 811

### CERRO LARGO

Alberto Sanner  
Melo, Esteban Vieira 658

### FLORIDA

Luis Alborno  
Luis A. de Herrera 481

### PAYSANDU

Carlos Pepe  
Uruguay 1189

### ROCHA

Omar Pereyra  
Zorrilla de San Martín 157

### TACUAREMBO

Pedro Dutra  
Lab. Vet. "El Campo"

### COLONIA

Hugo Betancour  
José Artigas s/n  
Colonia Miguelete

### LAVALLEJA

Amalia Villalba  
Minas, Rodó 424

### PANDO

Alberto Varela  
Wilson Ferreira 1017

### SALTO

Francisco Hermann  
Washington Beltrán 69

### TREINTA Y TRES

Mónica Burgos  
Basilio Araújo 1038 A

### RIO BRANCO

Pedro Fleitas  
Virrey Aredondo

## DELEGATURAS DE LA SMVU

### CONAHS

Aníbal Ibarburu  
Oscar Ferreira  
Agustín Landeira

### FUNDACION "MARCO PODESTA"

Alvaro Olivera

### AUDU

Ana Terzhagui  
Eduardo Galagorry

### COMISION ASESORRA

#### C.J.P.P.U.

Walter Faliveni  
Julia Saizar  
Alicia Baldovino

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

Mariano Carballo  
Jesús Falcón

## 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 Fontaiña  
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 Sienna

Ana de León

### CULTURAY

### 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

## Enfermedad de almacenamiento lisosomal en terneros del norte de Uruguay

Rivero, R<sup>1</sup>.; Kautz S<sup>1</sup>.; Gomar, MS<sup>2</sup>.; Barros, S.S<sup>3</sup>. y Gimeno; E.J.<sup>2</sup>

### RESUMEN

El presente trabajo describe las lesiones celulares y ultraestructurales de una enfermedad neurológica observada en terneros en el Departamento de Paysandú. Los animales formaban parte de un rodeo de cruzamientos experimentales en el que se encontraban las razas Hereford, Aberdeen Angus, Salers, Zebú y Red Poll. Se observó un aumento en la tasa de mortalidad entre los terneros recién nacidos. Un ternero enfermo fue sacrificado y necropsiado. Se analizaron como control muestras de dos terneros normales. El estudio histológico permitió observar vacuolización de numerosas neuronas en todos los tejidos analizados. El estudio ultraestructural permitió observar vacuolas asociadas a membranas y ocupadas por un material finamente granular. Cortes representativos de bulbo raquídeo, cerebelo y médula espinal fueron analizados con métodos lectinohistoquímicos. El material almacenado reaccionó con las siguientes lectinas: Concanavalia ensiformis (Con-A), *Triticum vulgare* (WGA), y *Triticum vulgare succinilada* (sWGA). El patrón lectinohistoquímico observado es coincidente con una  $\alpha$ -manosidosis. La enfermedad, desconocida hasta el momento en Uruguay, debería ser caracterizada epidemiológicamente.

**Palabras Clave:** Bovinos, enfermedad de almacenamiento lisosomal, lectinohistoquímica, microscopía electrónica,  $\alpha$ -manosidosis.

### SUMMARY

This paper describes the cellular and ultrastructural lesions found on a neurological illness observed in calves in the Department of Paysandú. The animals were part of a cross experimental herd, composed by several breeds of Hereford, Aberdeen Angus, Salers, Zebu and Red Poll calves. One calf was euthanatized and necropsied. Samples of two normal calves were included as controls. Histologically, there were varying degrees of vacuolization in the cytoplasm of numerous neurons in all the studied organs. The ultrastructural study showed membrane-bound vacuoles filled with finely granulated material. Representative sections of medulla, cerebellum and spinal cord were submitted to *lectinohistochemical procedures*. **The stored material reacted to the following lectins:** *Concanavalia ensiformis* (Con-A), *Triticum vulgare* (WGA), and *Succinylated-Triticum vulgare* (sWGA). The pattern of staining coincides with the data reported for  $\alpha$ -mannosidosis. The disorder, unrecognized until now in Uruguay, should be better characterized epidemiologically.

**Keywords:** Bovines, lysosomal storage disease, lectinohistochemistry, electron microscopy,  $\alpha$ -mannosidosis.

### INTRODUCCIÓN

Numerosas enfermedades de almacenamiento lisosomal han sido caracterizadas en los animales domésticos, así como también en la especie humana y en animales de laboratorio. Algunas de ellas tienen importancia en medicina veterinaria, y otras revisten interés como modelos de enfermedades humanas (5,12,22,28). La mayoría de estas entidades nosológicas tiene base genética, aunque se han reconocido varias originadas por la ingestión de vegetales (8,9,10,18,25).

Dentro de estas enfermedades, las manosidosis constituyen el grupo más común y de mayor importancia económica en los animales domésticos. La  $\alpha$ -mano-

sidosis hereditaria ha sido descrita principalmente en bovinos Aberdeen Angus, y puede llegar a presentarse en cualquier lugar en donde se críe esa raza (21). También se la identificó en las razas Murray Grey y Galloway (11,16).

En Nueva Zelanda más del 10% de los bovinos Angus tenían ese defecto en heterosigosis antes de la implementación de un programa de control (19). La  $\beta$ -manosidosis, que se presenta en cabras (23) y en bovinos Salers (20), origina una enfermedad neonatal con lesiones similares a la  $\alpha$ -manosidosis pero el cuadro tienen mayor severidad clínica.

La lectinohistoquímica en cortes de tejidos incluidos en parafina puede ser empleada para identificar azúcares específicos y por lo tanto ayuda en el diagnóstico de enfermedades con almacenamiento de glicoproteínas y glicolípidos (1,2,3,4,27). Las lectinas son proteínas, generalmente de origen vegetal con afinidad por distintos carbohidratos (13,14), y constituyen una valiosa herramienta para estudiar la distribución de residuos de monosacáridos (glucoconjugados) "in situ" (6,24).

El presente trabajo, que describe una enfermedad de almacenamiento lisosomal identificada en el norte del Uruguay, tiene los siguientes objetivos: 1) caracteri-

Recibido: 11/12/00 Aprobado: 19/03/01

<sup>1</sup>Dirección de Laboratorios Veterinarios "Miguel Rubino", Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, C.C. 57037, CP. 60.000, Paysandú, URUGUAY,

<sup>2</sup>Instituto de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, C.C. 296, 1900 La Plata, ARGENTINA, <sup>3</sup>Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, UFPEL, CX. 354, CEP. 96010-900, Pelotas, BRASIL.

zar las lesiones de los animales afectados a nivel celular y ultraestructural, 2) determinar la presencia y distribución de receptores para diversas lectinas los tejidos afectados y 3) aportar datos que permitan determinar el origen del problema observado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Durante la primavera de 1998 se presentó en el Departamento de Paysandú una enfermedad neurológica caracterizada por postración, hiperestesia y tremores musculares en cabeza y cuello. El problema apareció en un rodeo experimental de cruzamientos integrado por animales de las razas Hereford, Aberdeen Angus, Sallers, Zebu y Red Poll. En el rodeo se presentó un aumento de la mortalidad neonatal con predominio de signos clínicos nerviosos.

Se sacrificó un ternero de madre cruce Aberdeen Angus y se realizó la necropsia completa. Fragmentos de distintas porciones del sistema nervioso central y bazo fueron fijados en formalina e incluidos en parafina. Los mismos tejidos fueron tomados de dos terneros normales y se los empleó como controles. Se efectuaron cortes de 5 µm de espesor que fueron coloreados con hematoxilina y eosina (HE).

Fragmentos de la corteza cerebral, colículo rostral, puente y cerebelo fijados en formalina, fueron colocados en solu-

ción glutaraldehído 2% y paraformaldehído 2% en buffer de cacodilato de sodio 0,1M a pH 7,4. Posteriormente fueron fijados en tetróxido de osmio e incluidos en Epon. Cortes semifinos fueron coloreados con azul de metileno, cortes ultrafinos fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo y fueron examinados en un microscopio electrónico de transmisión.

En el estudio lectinohistoquímico se utilizaron nueve lectinas marcadas con biotina<sup>#</sup> para la detección de diferentes residuos específicos (Cuadro 1)(24). Los cortes fueron procesados de la siguiente manera: desparafinados, lavados en etanol, incubados con peróxido de hidrógeno al 0,3 %, sumergidos en metanol absoluto durante 30 minutos a temperatura ambiente, hidratados y lavados en PBS pH 7.4. Con posterioridad se incubaron con las lectinas durante toda la noche en cámara húmeda a 4° C. Los cortes fueron lavados nuevamente en PBS e incubados con el complejo avidina - biotina (ABC)<sup>#</sup>. Por último, se revelaron con una solución de 3-3' diaminobenzidina (DAB) al 0,02 % y peróxido de hidrógeno al 0,05 % en buffer Tris-HCl 0,05 M pH 7,6 durante 5-10 minutos a temperatura ambiente. Como coloración de fondo se utilizó hematoxilina de Meyer.

Los controles de la lectinohistoquímica se realizaron omitiendo la lectina o bloqueándola mediante incubación previa

con el azúcar específico antes de su aplicación sobre los cortes (24).

## RESULTADOS

No se observaron lesiones macroscópicas, a excepción de úlceras de decúbito. Los cortes histológicos mostraron vacuolaciones de grado variable en el pericarion de numerosas neuronas a distintos niveles del sistema nervioso central (Foto 1 y 3). Las células macrofágicas del bazo también mostraron vacuolas citoplásmicas.

El material almacenado en las neuronas reaccionó fuertemente con Con-A y sWGA, y en forma débil con WGA (Foto 2). La lectinohistoquímica permitió demostrar material acumulado en numerosas células que aparecían normales con HE. Los cortes equivalentes obtenidos de animales controles resultaron negativos, al igual que los cortes control de la lectinohistoquímica. Los resultados se presentan en el cuadro 2.

En la ultraestructura, las neuronas, en las diferentes localizaciones mostraban numerosas vacuolas en el pericarion particularmente evidente en las grandes neuronas del colículo rostral (Foto 4).

## DISCUSIÓN

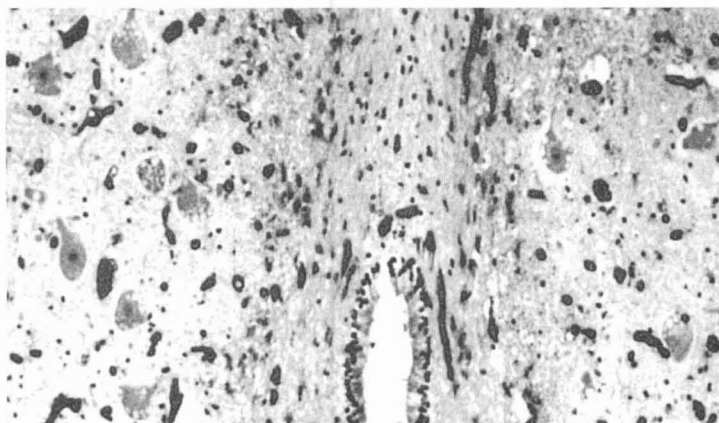
Las características clínicas, histopatológicas y ultraestructurales de la presente enfermedad coincidieron con las descripciones de la bibliografía referidas a en-

**Cuadro 1.** Lectinas empleadas, abreviaturas, concentraciones de trabajo y reactividad específica de cada una.

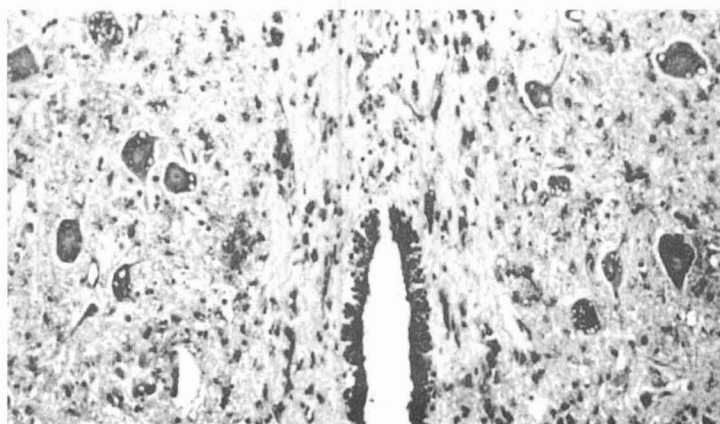
Lectina	Abreviatura	Concentraciónmg/ml	Carbohydrate specificity <sup>*,†</sup>
<i>Concanavalia ensiformis</i>	Con A	30	α-D-Man; α-D-Glc
<i>Glycine max</i>	SBA	30	α-D-GalNAc; β-D- GalNAc; α y β-Gal
<i>Dolichos biflorus</i>	DBA	30	α-D-GalNAc
<i>Ulex europaeus-I</i>	UEA-1	30	α-L-Fuc
<i>Triticum vulgare</i>	WGA	30	β-D-GlcNac >> NeuNac
<i>WGA-succinilada</i>	sWGA	30	(β-(1-4)-D- GlcNac) <sup>2</sup>
<i>Arachis hypogaea</i>	PNA	10	β-D- Gal(1-3) GalNAc
<i>Ricinus communis -I</i>	RCA-I	30	β-D- Gal > α-D-Gal
<i>Bandeirea simplicifolia</i>	BS-I	30	α-D-Gal

\*Goldstein y Hayes (13). †Fuc = Fucosa; Gal = Galactosa; GalNAc = N-acetil-galactosamina; Glc = Glucosa; GlcNac = N-acetil-glucosamina; Man = Manosa; NeuNac = ácido N-acetil-neuraminico (ácido siálico).

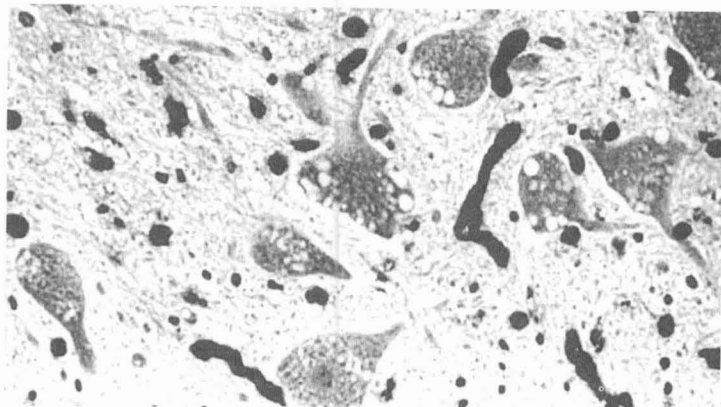
<sup>#</sup>Vector Laboratories Inc., Burlingame, Ca, USA



**Foto 1.** Médula espinal. No se observa marcación citoplásmica. Corte incubado con *Bandeirea simplicifolia* (BS-I) y contrastada con hematoxilina de Mayer, 200 X.



**Foto 2.** Corte de médula espinal incubado con *Triticum vulgare* succinilada (sWGA) y contrastada con hematoxilina de Mayer. El pericarion de las neuronas presenta una marcación intensa lo que indica reacción con  $(\beta\text{-}(1\text{-}4)\text{-D-N-acetil-glucosamina})$ , 200 X.



**Foto 3.** Bulbo raquídeo. No se observa marcación citoplásmica; la vacuolización del pericarion es muy evidente. Corte incubado con *Bandeirea simplicifolia* (BS-I) y contrastada con hematoxilina de Mayer, 400 X.

fermedades de sobrecarga lisosomal (10,26,28). La reactividad del material almacenado frente a sWGA y WGA indica la presencia de  $\beta\text{-D-N-acetil-glucosamina}$  y ácido acetil-neuramínico. La afinidad por la Con-A indica que el material posee también residuos de  $\alpha\text{-D-manosa}$  y de  $\alpha\text{-D-glucosa}$  (6,14). El patrón lectinohistoquímico observado coincide con lo que ha sido descrito para las manosidosis hereditarias o adquiridas en diversas especies (3,5,10).

El mecanismo involucrado en la  $\alpha$ -manosidosis es una deficiencia de  $\alpha$ -manosidasa lisosomal, una enzima que cataboliza varios residuos de glicoproteínas. Esa carencia está determinada genéticamente, siendo autosomal recesiva. A consecuencia de ese defecto se acumulan en los lisosomas diversos oligosacáridos con alto contenido de manosa (7,19,21).

Con respecto a la  $\beta$ -manosidosis, la deficiencia congénita de  $\beta$ -manosidasa resulta en el acumulo de disacáridos y trisacáridos con residuos terminales de  $\beta$ -manosa unidos a N-acetil-glucosamina (20,23).

Como ya fue mencionado, la  $\alpha$ -manosidosis hereditaria ha sido descrita en bovinos Aberdeen Angus, y puede llegar a presentarse en cualquier lugar en donde se críe esa raza (21); por técnicas de genética molecular se ha comprobado una alta incidencia de ese defecto en heterocigosis (22). En consecuencia, es probable que se trate de una  $\alpha$ -manosidosis, la forma de más frecuente presentación en bovinos. Debemos remarcar la existencia de animales Salers en el rodeo de cruzamientos y, como ya fue mencionado, la  $\beta$ -manosidosis ha sido identificada en esa raza (20). No obstante, nuestros resultados coinciden con el patrón lectinohistoquímico observado por Alroy y col. en la  $\alpha$ -manosidosis de diversas especies, incluyendo al bovino (1).

La  $\alpha$ -manosidosis ha sido considerada una enfermedad de importancia económica en bovinos, a tal punto que en Nueva Zelanda y en Australia se desarrollaron programas de control basados en la identificación de animales Angus y Murray Grey heterocigotas mediante la detección de  $\alpha$ -manosidasa plasmática (15,19). Con respecto a la  $\beta$ -manosidosis, su control ha sido implementa-

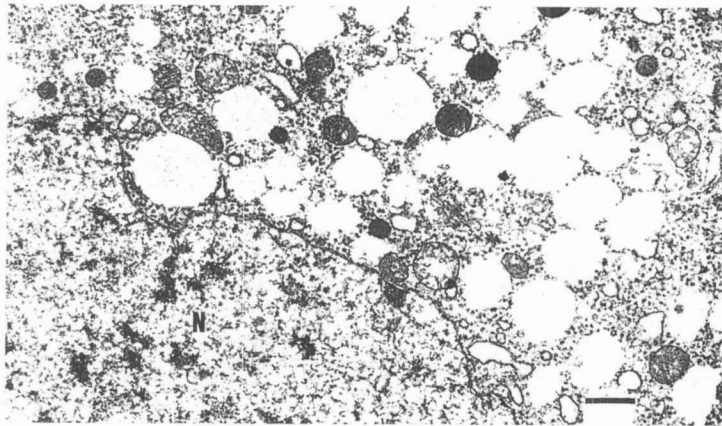


Foto 4. Neurona del colículo rostral con numerosas vacuolas en el pericarion. Núcleo (N). Barra = 1 µm

Cuadro 2. Intensidad de marcación del material intralisosomal con cada lectina en terneros afectados y en terneros normales\*

	LECTINA								
	sWGA	WGA	UEA-I	PNA	RCA-I	SBA	DBA	Con A	BS-I
Neuronas	3 (0) <sup>†</sup>	3 (1)	0-2 (0)	0 (0)	0-1 (0)	0-2 (0)	0-1 (0)	3 (1)	0 (0)

\*Los resultados de los cortes de terneros normales, empleados como control, se consiguen entre paréntesis.†Los números indican la intensidad de coloración en una escala subjetiva, 0: negativa, 1: débil, 2: marcada, 3: muy intensa.

### Referencias Bibliográficas

- Alroy, J.; Orgad, U.; Ucci, A.A.; Pereira, M.E.A. (1984). Identification of glycoprotein storage diseases by lectins: a new diagnostic method. *J. Histochem. Cytochem.* 32:1280-1284.
- Alroy, J.; Ucci, A.A.; Warren, C.D. (1985a). Human and canine fucosidosis: a comparative lectin histochemistry study. *Acta Neuropathol. (Berlin)* 67:265-271.
- Alroy, J.; Orgad, U.; Ucci, A.A.; Gavrís, V.E. (1985b). Swainsonine toxicosis mimics lectin histochemistry of mannosidosis. *Vet. Pathol.* 22:311-315.
- Alroy, J.; Ucci, A.A.; Goyal, V.G.; Woods, W. (1986). Lectin histochemistry of glycolipids storage diseases on frozen and paraffin-embedded tissue sections. *J Histochem Cytochem* 34:501-505.
- Castagnaro, M. (1990). Lectin histochemistry of the central nervous system in a case of feline  $\alpha$ -mannosidosis. *Res. Vet. Sc.* 49:37-377.
- Damjanov, I. (1987). Lectin cytochemistry and histochemistry. *Lab. Invest.* 57:5-20.
- Daniel, P.F.; Warren, C.D.; James, L.F.; Jolly, R.D. (1989). A comparison of swainsonine-induced and genetic  $\alpha$ -mannosidosis in Aberdeen Angus cattle. *In: Swainsonine and Related Glycosidase Inhibitors*, ed. James LF, Elbein AD, Molyneux RJ, and Warren WG. Iowa State University Press, Ames, IA, pp. 331-343.
- de Balogh, K.K.; Dimande, A.P.; van der Lugt, J.J.; Molyneux, R.J.; Naude, T.W.; Welman, W.G. (1999). A lysosomal storage disease induced by *Ipomoea carnea* in goats in Mozambique. *J. Vet. Diagn. Invest.* 11:266-273.
- Dorling, P.R.; Huxtable, C.R.; Vogel, P. (1978). Lysosomal storage in *Swainsona* spp. toxicosis: an induced mannosidosis. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 4:285-291.
- Driemeier, D.; Colodel, E.M.; Gimeno, E.J.; Barros, S.S. (2000). Lysosomal storage disease caused by *Sida carpinifolia* poisoning in goats. *Vet. Pathol.* 37:153-159.
- Embury, D.H.; Jarrett, I.V. (1985). Mannosidosis in Galloway calves. *Vet. Pathol.* 22: 548-551.

do en Australia, Nueva Zelanda y América del Norte (17).

La identificación de esta afección en vacunos del Uruguay implica la existencia del defecto genético y la posibilidad concreta que ese fenotipo se manifieste ocasionalmente. Este trabajo debería alertar a colegas y autoridades para la identificación de nuevos casos y, eventualmente, iniciar estudios que permitan establecer su importancia para la ganadería nacional.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a la Sra. Rosa Villegas de Guidi y a la Srta. Laura Paoli por su colaboración técnica. María Soledad Gomar es Becaria de la Universidad Nacional de La Plata, Severo Sales de Barros es Becario de la "Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS)", Brasil, Eduardo Juan Gimeno es Miembro de la Carrera del Investigador del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.



12. **Glew, R.H.; Basu, A.; Prence, E.M.; Remaley, A.T.** (1985). Lysosomal storage diseases. *Lab. Invest.* 53:250-269.
13. **Goldstein, I.J.; Hayes, C.E.** (1978). The lectins: carbohydrate binding proteins of plants and animals. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 35:127-340.
14. **Goldstein, I.J.; Hayes, R.C.; Monsigny, M.; Osawa, T.; Sharon, N.** (1980). What should be called a lectin?. *Nature* 285:66.
15. **Healy, P.J.; Babidge, P.J.; Embury, D.H.; Harrison, M.A.; Judson, G.J.; Mason, R.W.; Person, D.S.; Sinclair, A.J.** (1983). Control of  $\alpha$ -mannosidosis in Angus cattle. *Austr. Vet. J.* 60:135-137.
16. **Healy, P.J.; Cole, A.E.** (1976). Heterozygotes for mannosidosis in Angus and Murray Gray cattle. *Austr. Vet. J.* 52:385-386.
17. **Healy, P.J.; Kidd, G.N.; Reuter, R.E.; Bunce, C.; Hosie, I.; Stapleton, T.** (1991).  $\beta$ -mannosidosis in a Salers calves in Australia. *Austr. Vet. J.* 69:145.
18. **James, L.F.; van Kempen, K.R.; Harley, W.J.** (1970). Comparative pathology of *Astragalus* (locoweed) and *Swainsona* poisoning in sheep. *Vet. Pathol.* 7:116-125.
19. **Jolly, R.D.** (1978). Mannosidosis and its control in Angus and Murray Grey cattle. *New Zeal. Vet. J.* 26:194-198.
20. **Jolly, R.D.; Thompson, K.G.; Bayliss, S.L.; Vidler, B.R.; Orr, M.B.; Healy, P.J.** (1990).  $\beta$ -mannosidosis in a Salers calf: a new storage disease of cattle. *New Zeal. Vet. J.* 38:102-105.
21. **Jolly, R.D.** (1993). Lysosomal storage diseases in livestock. *Vet. Clin. North Amer. Food Anim. Pract.* 9:41-53.
22. **Jolly, R.D.; Walkley, S.U.** (1997). Lysosomal storage diseases of animals: an essay in comparative pathology. *Vet. Pathol.* 34:527-548.
23. **Jones, M.Z.; Dawson, G.** (1981). Caprine  $\beta$ -mannosidosis. *J. Biol. Chem.* 266:5185-5188.
24. **Leathem, A.J.C.** (1986). Lectin Histochemistry. *In: Immunocytochemistry. Modern Methods and Applications*, ed. Polak JM, Van Nordem. S. 2nd Ed. Wright and Sons, Bristol, pp. 167-187.
25. **Molyneux, R.J.; James, L.F.** (1982). Loco intoxication: indolizidine alkaloid of spotted locoweed (*Astragalus lentiginosus*). *Science* 216:190-191.
26. **Monús, Z.; Konyár, E.; Szabo, L.** (1977). Histomorphological and histochemical investigations in mannosidosis. A light and electron microscopic study. *Virchow Arch. B Cell. Pathol.* 26:159-164.
27. **Murnane, R.D.; Ahern-Rindell, A.J.; Prieur, D.J.** (1989). Lectin histochemistry of an ovine lysosomal storage disease with deficiencies of  $\beta$ -galactosidase and  $\alpha$ -neuraminidase. *Am. J. Pathol.* 135:623-630.
28. **Summer, B.A.; Cummings, J.F.; Lahunta, A.** (1995). Degenerative Diseases of the Nervous System: Lysosomal Storage Diseases. *In: Veterinary Neuropathology*, Ed. Mosby, St Louis, MO, pp. 214-236.



## Determinación de niveles séricos de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) durante la gestación de la yegua por Radioinmunoanálisis (RIA)

Lanzeri, S<sup>1</sup>.; Martínez, E.B<sup>1</sup>.; Gama, S<sup>1</sup>.

### RESUMEN

El objetivo del trabajo es realizar la cuantificación de los niveles de gonadotropina coriónica equina (eCG) a lo largo de la preñez de la yegua utilizando la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) con anticuerpos altamente específicos. Se eligen 5 yeguas Pura Sangre de Carrera, de tres años de edad, con preñez confirmada por ecografía. Se extraen muestras de sangre semanalmente desde el día 0 al 120 del celo y una vez por mes hasta el fin de la gestación. Para determinar los niveles basales se extraen muestras a hembras vacías y machos. Para el RIA de eCG se emplea un anticuerpo policlonal de conejo altamente específico, eCG marcada con <sup>125</sup>I por el método de cloramina-T limitante con 60±17% de rendimiento. Se obtienen curvas con dosis mínimas detectables de 8.4±2.5 ng/mL, curvas dosis-respuesta con pendientes de 0.9± 0.3 y 100±32ng/mL de dosis 50%. Los niveles basales en machos y hembras vacías fueron 148±88 ng/mL. En hembras preñadas los niveles aumentaron a partir de los 35 días alcanzando un máximo a los 50 días para retornar a niveles basales a partir de los 150 días. En conclusión se cuenta con un procedimiento altamente sensible y específico para la determinación de los niveles séricos de eCG en la preñez equina.

**Palabras Clave:** eCG, Gonadotropina coriónica, gestación, radioinmunoanálisis, preñez equina.

### SUMMARY

The objective is to quantitate levels of equine chorionic gonadotropin (eCG) along the pregnancy of mare employing a radioimmunoassay technique (RIA) developed with highly specific antibodies. Five race mares were chosen, three years old with pregnancies confirmed by echography. Blood samples were collected from venipuncture of the neck vein at weekly intervals between 0 (estrous) and 120 days and monthly afterwards until parturition. Blood samples from empty mares as well as males were collected following the same procedure. A polyclonal antibody raised in rabbits highly specific for eCG was used for the radioimmunoassay. eCG labelled with <sup>125</sup>I was produced by limiting chloramine-T method with 60±17% yield. Calibration curves with minimum detectable doses of 8.4±2.5 ng/mL, slopes of 0.9± 0.3 and dose equivalent to 50% binding (ED<sub>50%</sub>) of 100±32ng/mL. Serum levels of eCG in male as well as empty mare were 148±88 ng/mL. Pregnant mares eCG blood levels increased from the day 35 reaching a maximum at 50 days and reaching ground levels at approximately 150 days.

In conclusion a highly sensitive and specific procedure is described for the determination of serum levels of eCG along the mare's pregnancy.

**Keywords:** eCG, chorionic gonadotropin, equine pregnancy, radioimmunoassay.

### INTRODUCCIÓN

La gonadotropina coriónica equina (eCG equine chorionic gonadotropin) o gonadotropina del suero de yegua preñada (PMSG, pregnant mare serum gonadotropin) es una hormona de peso molecular 68000 de naturaleza glicoproteína producida por células trofoblásticas especializadas que invaden el endometrio materno para dar origen a las copas endometriales (1) (11)

Niveles de eCG en suero comienzan a ser detectados entre los 32 y 40 días del comienzo de la gestación de la yegua (13) cuando están en proceso de formación las copas endometriales (2) (8).

Hacia los 80 días la concentración de eCG alcanza su pico máximo, asociado ésto con cambios regresivos en dichas copas seguido de un retorno a niveles basales alrededor de los días 140 a 200 en los cuales esas estructuras comienzan un proceso degenerativo lo que estaría determinado por una respuesta inmunológica materna (1) no existiendo mecanismos hormonales de retroregulación (9). La evolución del desarrollo de esa estructura endometrial especializada coincide entonces con los niveles de eCG detectados en sangre (4). La función de la eCG, como plantean algunos autores, es estimular el desarrollo folicular pro-

duciendo múltiples ovulaciones con formación de cuerpos lúteos que mantienen la gestación. Otros afirman que la eCG no es reconocida por los receptores de la FSH de la yegua, por lo tanto su acción sería solamente como hormona luteotrófica (15). Existen múltiples factores que determinan los niveles hormonales producidos por cada animal. Entre ellos destacamos la influencia del genotipo materno así como de la etapa de gestación. Varios autores sostienen que también hay una influencia de la raza de la yegua (3) así como de la cantidad de veces que haya gestado previamente (13).

Recibido: 2/10/00 Aprobado: 07/05/01

<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Nucleares. Facultad de Ciencias, Mataojo 2055 (598 2 525 08 00). e-mail: stellal@cin1.cin.edu.uy

Algunos investigadores observaron que si la yegua concebía en el primer celo post parto los niveles eran superiores a las que concebían en celos posteriores.

El genotipo fetal incide sobre la secreción de eCG. También se demostró una mayor producción en los niveles hormonales de yeguas que cursan preñeces múltiples.

La eCG, obtenida a través de un proceso de extracción y purificación, a partir de suero de yeguas preñadas, es utilizada en programas de superovulación en las diferentes especies domésticas (12), como bovinos y ovinos (14) e inducción de celo en ovinos (7) y demás especies, debido a su capacidad de exhibir respuesta LH y FSH (9). Presenta la ventaja de su bajo costo de obtención, purificación y la de su vida media larga, la cual nos permite lograr el efecto deseado con una única dosis, facilitando así el manejo de su administración.

Teniendo en cuenta la múltiples aplicaciones de la eCG, en la optimización del manejo reproductivo de diferentes especies y considerando las variaciones individuales, genéticamente determinadas que presenta en forma individual cada yegua productora de eCG, destacamos la importancia de poder contar con una herramienta útil al momento de seleccionar hembras donantes con un nivel mayor de hormona circulante, lo que determinaría un mayor rendimiento en la etapa de extracción.

El objetivo del presente trabajo es poner a punto una técnica mediante la cual se pueda cuantificar valores de eCG en suero de yeguas preñadas por radioinmunoanálisis (RIA). En nuestro país no hay antecedentes de la valoración de la eCG por esta técnica. Se han empleado procedimientos de neutralización del antígeno por administración en ratas del anticuerpo específico (16). El RIA es una metodología que ha aportado muchos datos al momento de cuantificar tanto sustancias fisiológicas como medicamentos, en diferentes fluidos biológicos. (5),(6),(17).

Consiste en la competencia entre una molécula marcada (trazador) y otra no marcada (analito) por los limitados sitios de unión de un reactivo específico (el anticuerpo). Una vez alcanzado el

equilibrio el porcentaje del trazador unido al anticuerpo específico es inversamente proporcional a la cantidad de analito presente. Este procedimiento, debe cumplir los requisitos de exactitud, precisión, sensibilidad y reproducibilidad para que tenga validez el resultado que obtengamos de él. Como el orden de sensibilidad con que trabajamos es de picogramos es necesario extremar controles de calidad internos y externos para obtener resultados confiables.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de suero analizadas se obtuvieron de una población de 5 yeguas Pura Sangre de Carrera (PSC), de tres años de edad provenientes de un haras del departamento de Canelones. Se extrajeron muestras de sangre por punción yugular a intervalos post servicio, semanales entre 0 y 120 días y mensuales desde ese tiempo hasta el final de la gestación. Además se realizaron extracciones en hembras no servidas así como machos para control negativo de gestación y control de reacción cruzada con gonadotropinas hipofisarias respectivamente. Las gestaciones fueron diagnosticadas por ecografía.

Para el desarrollo del RIA se realizaron marcaciones de eCG<sup>2</sup> con <sup>125</sup>I de alta concentración de actividad, libre de portador y de agentes reductores mediante la técnica de cloramina-T limitante. Se dispensaron 5 µg de eCG en un vial de fondo cónico de polietileno de 1.5mL de capacidad con 10 µL de solución reguladora de fosfatos 0.5M pH 7.4.

Se midieron en un calibrador de dosis<sup>3</sup> 500 µCi de <sup>125</sup>I en 1 a 5 µL de volumen. Se adicionó un volumen de 10 µL de cloramina-T diluida en el momento, a partir de una solución madre de 30 mg/mL, recientemente preparada. Se dejó reaccionar durante 1 minuto con agitación continua evitando la formación de espuma.

El rendimiento de marcación se evaluó mediante una prueba rápida e inespecífica de precipitación de una pequeña alícuota de la proteína marcada diluida en 100 µL de albúmina 5% con 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 20%. El precipitado se separó por centrifugación a 3000 rpm durante 3 a 5 minutos y se midió en un contador gamma de pozo.

Finalizada la marcación se procedió a la purificación de la proteína marcada mediante filtración por columna de Sephadex G-25 equilibrado con un buffer con proteínas. Las fracciones correspondientes a la eCG marcada fueron colectadas y fraccionadas en la dilución de trabajo. Las mismas se conservaron durante 5 a 7 semanas a -20°C.

Para el análisis se emplearon anticuerpos policlonales de conejo anti-eCG específicos. Se prepararon estándares de diferentes concentraciones de eCG<sup>2</sup> (9.8-19.6- 39.2- 78.9- 156.8- 312.5- 625-1250- 2500 ng/mL) en una matriz de suero equino macho, libre de la hormona, para ser utilizada como curva de calibración. Como segundo anticuerpo se usó una inmunoglobulina de oveja anti-IgG de conejo (desarrollado por los autores) con una pequeña concentración de suero normal de conejo.

Se desarrolló el siguiente procedimiento de RIA:

En tubos de poliestireno de 12x75 mm transparentes previamente numerados y por duplicado se dispensaron 50µL de estándares o muestra, luego se adicionaron 100µL de primer anticuerpo de conejo anti-eCG diluido 1/5000. Se homogeneizó el contenido y se incubaron los tubos durante 2 horas a temperatura ambiente. Luego de ese período se agregaron 100 µL de eCG-<sup>125</sup>I y se dejó incubando por 18 horas a temperatura ambiente.

La separación de la fracción unida al anticuerpo se realizó con agregado de 100µL de una mezcla de anticuerpo anti-IgG de conejo, diluido al 1/5 con 0.3% de suero normal de conejo.

Se realizó una nueva incubación de 2 horas a temperatura ambiente seguida de la incorporación de 500µL de polietilenglicol al 8%. Se incuban los tubos 30 minutos a 4°C y se centrifuga durante 30 minutos a 4°C a 3000rpm.

Se aspira el sobrenadante y se dejan los tubos invertidos por 10 minutos. Se mide el precipitado en un contador<sup>4</sup> durante 1 minuto.

<sup>1</sup>SIGMAR

<sup>2</sup> CalbiochemR

<sup>3</sup> (PICKER, USA)

<sup>4</sup>SIGMAR

## RESULTADOS

Se efectuaron nueve marcaciones de eCG<sup>3</sup> con <sup>125</sup>I<sup>5</sup> con rendimientos de 60±17%, actividades específicas de 137±87 MBq/nmol y una incorporación de <sup>125</sup>I de 1.0±0.3 átomos de yodo por molécula de eCG.

La Gráfica 1 muestra una curva de calibración normal del radioinmunoanálisis en donde en ordenadas se representa la respuesta de % de actividad unida al anticuerpo sobre el total de actividad del cada tubo y en abscisas se representa la potencia declarada de eCG en el calibrador expresada en ng/mL. En el mismo gráfico se representa una curva de varias diluciones de una muestra de eCG de una yegua preñada preparada en buffer con BSA al 1% y otra preparada en suero equino libre de eCG (macho) a fin de estimar las condiciones de matriz en las que el estándar presenta mayor paralelismo con las muestras a analizar. Se obtuvieron curvas con dosis mínimas detectables (DMD) de 8.4±2.5 ng/mL, rangos analíticos de 40-240ng/mL con incertidumbres inferiores al 10%, pendiente de la curva dosis-respuesta de valor 0.9 ± 0.3 en el intervalo de 9 a 2500 ng/mL, dosis 50% (D<sub>50%</sub>) de 100±32ng/mL. (10)

La Gráfica 2 muestra los CV% de la curva dosis-respuesta en donde, en ordenadas se representa la incertidumbre porcentual propia del análisis y en abscisas el logaritmo natural de la concentración de eCG en todo el intervalo de validez del análisis.

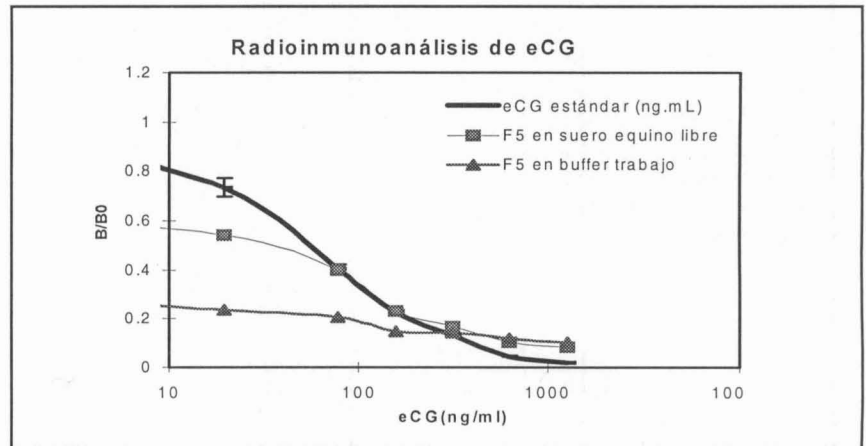
La Gráfica 3 muestra las curvas de preñez normal típicas de eCG en ng/ml en función del tiempo post servicio, en días, para la población seleccionada, mostrando un máximo del orden de 40000ng/mL a los 80 días en una de las curvas.

En forma simultánea, la valoración de una yegua no gestada dio un nivel promedio basal de 148±88ng/ml. Se alcanzaron niveles de 25800±15000ng/ml en el valor máximo de respuesta a los 68±17 días con un inicio de la descarga de eCG a los 52±17 días y retornando a niveles basales en el entorno de los 181±31 días.

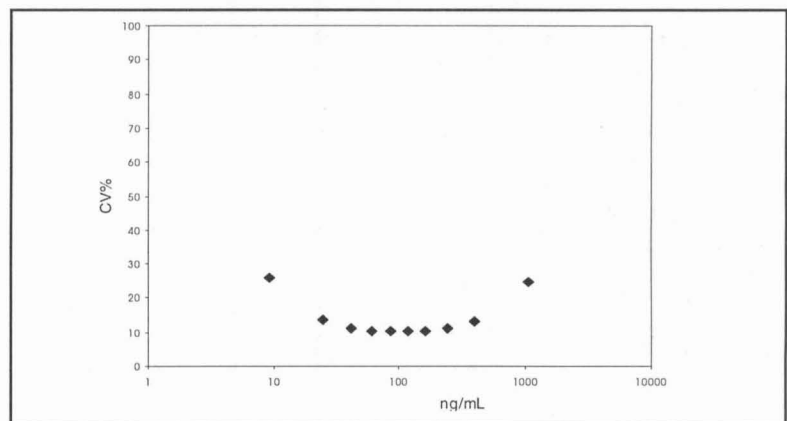
La Gráfica 4 muestra la variabilidad de eCG en diferentes períodos de tiempo

<sup>5</sup> CIS, Francia

<sup>6</sup> COMPAC 120 (PICKER, USA).



**Gráfica 1.** Representa una curva estándar del radioinmunoanálisis de eCG con un estándar de Sigma de referencia preparado en una matriz de suero equino macho y niveles de concentración acordes con los de las muestras a analizar. Además se representa en el mismo plano una dilución de suero de yegua preñada desde 1/2 hasta 1/100 a fin de verificar las mejores condiciones de paralelismo entre el estándar y las muestras problema. Las diluciones se efectuaron en suero equino macho y en buffer fosfato salino con seroalbúmina bovina.

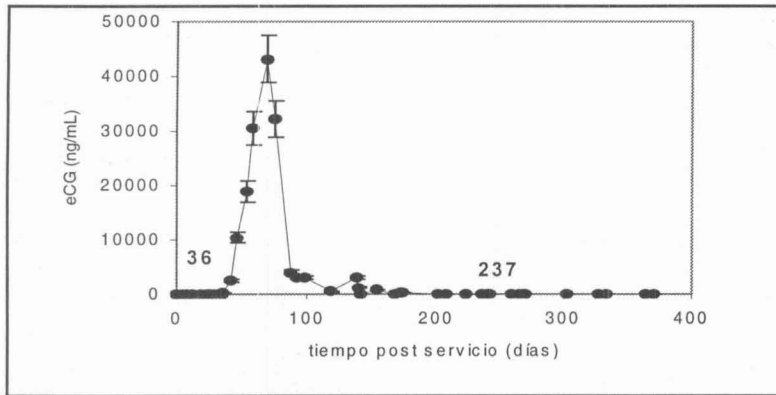


**Gráfica 2.** Muestra los CV% promedios donde en ordenadas se representa la incertidumbre porcentual propia del análisis y en abscisas el logaritmo natural de la concentración de eCG en todo el intervalo de validez del análisis.

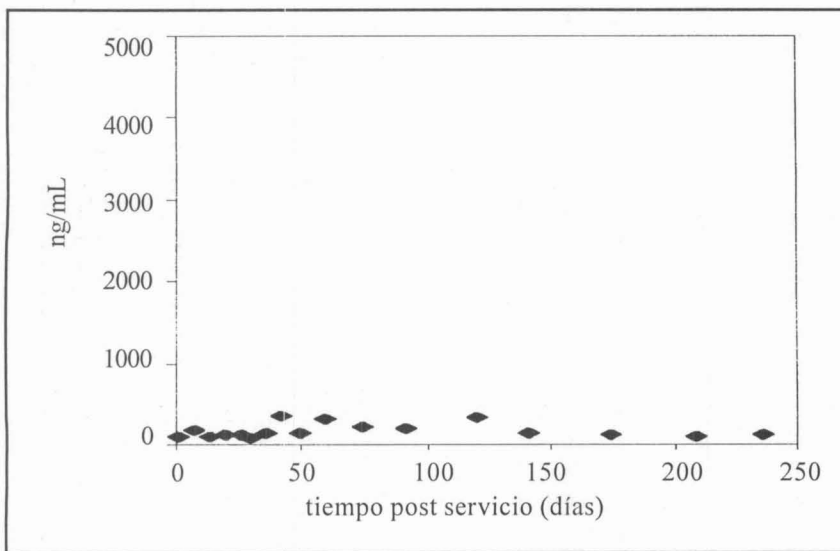
de una yegua sin preñez, con valores promedios basales de 148±88ng/ml. La gráfica representa los niveles de eCG en ng/mL en función del tiempo en días. Considerando una respuesta del orden de 20000 ng/mL el porcentaje expresado en la gráfica representa aproximadamente un 0.5% de una respuesta positiva típica ( $p < 0.00005$ ).

La Gráfica 5 muestra una curva de niveles hormonales en una yegua con comportamiento diferente del resto de la población. Luego de varios servicios efec-

tuados a los 2, 16 y 21 días del celo, con gestación confirmada por ecografía, esto no se correspondió con niveles típicos o característicos de eCG en la preñez. A partir de 80 días se observa una caída de los niveles de eCG probablemente debido a una muerte embrionaria. Luego de una segunda serie de servicios a los 296, 298 y 301 días con referencia al primer celo, se confirma por ecografía, la ausencia de gestación, acompañada por valores bajos de eCG. Se llevan a cabo nuevos servicios que terminan a los 329 días



**Gráfica 3.** Muestra la curva típica de eCG en ng/ml en función del tiempo post servicio en días para la población seleccionada. El nivel promedio basal es de  $148 \pm 88$  ng/ml. Se alcanzan niveles de  $25800 \pm 15000$  ng/ml en el valor máximo de respuesta a los  $68 \pm 17$  días. Se inicia la descarga de PMSG a los  $52 \pm 17$  días y retorna a niveles basales en el entorno de los  $181 \pm 31$  días. Los tiempos intercalados en el gráfico son solo marcadores del punto correspondiente y no corresponden con los promedios de la curva típica.



**Gráfica 3.** Muestra la variabilidad de eCG en diferentes períodos de una yegua sin preñez, con valores promedios basales de  $148 \pm 88$  ng/ml. La gráfica representa los niveles de eCG en ng/ml en función del tiempo en días. Considerando una respuesta del orden de  $20000$  ng/ml el porcentaje expresado en la gráfica representa aproximadamente un 0.5 % de una respuesta positiva típica ( $p < 0.00005$ ).

con un diagnóstico de gestación positivo por ecografía, observándose la elevación correspondiente en la curva de eCG a los 377 y 382 días.

## DISCUSIÓN

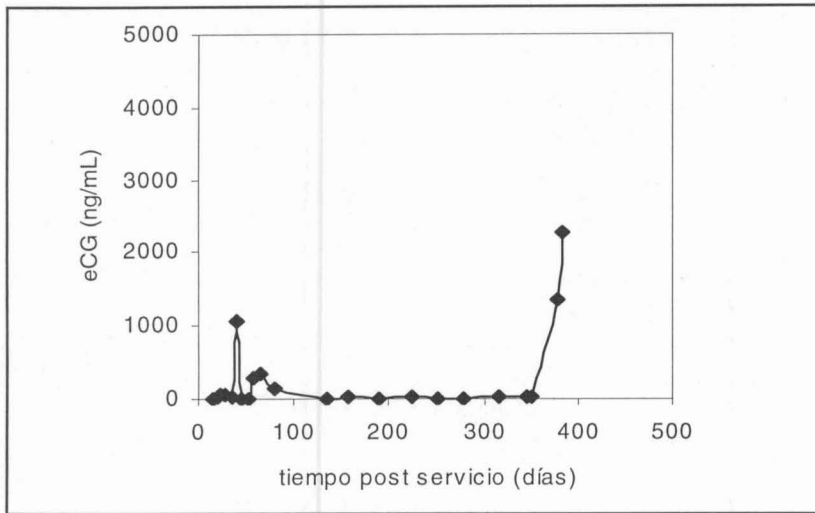
Se optimizó la técnica de radioinmunoanálisis para las condiciones de la población a analizar. Se logró un procedimiento sensible y específico de detección de eCG en suero de yeguas preñadas. Los niveles de eCG basales se encuentran en la región de detección mínima del análisis y al presentar las curvas de preñez niveles 20 a 100 veces superiores a los niveles basales la sensibilidad así como la especificidad clínica resultaron altamente significativas.

La dosis mínima detectable (DMD) fue estimada en la misma matriz equina, la curva de calibración se extiende hasta niveles de  $2500$  ng/ml, el calibrador es preparado en una matriz que le confiere identidad con el analito endógeno. La probabilidad de reacción cruzada con hormonas hipofisarias es despreciable dado que los niveles hormonales de eCG en la preñez son significativamente más elevados que los niveles circulantes en sueros de yeguas no preñadas.

Con respecto al diseño del trabajo, las variaciones entre especímenes son propias del escaso número de datos ( $n=4$ ) aunque desde el punto de vista de la respuesta al estímulo dichas variaciones son significativas.

Desde el punto de vista de la población seleccionada, el estado sanitario de los especímenes es excelente en lo referente a nutrición así como a atención médica recibida, dado que son animales de raza PSC. Las curvas normales de niveles de eCG a lo largo de la gestación son significativamente distintas en comparación con los niveles de eCG en yeguas vacías siendo hasta 200 veces superior a los niveles basales en el máximo de respuesta.

Analizando las curvas obtenidas en la población total y considerando la incidencia de problemas reproductivos en estos animales, se considera un importante logro la detección de una reabsorción en el grupo seleccionado. Observando las variaciones entre las muestras testigo y la observada en la yegua que mostró la reabsorción, las diferencias son al-



**Figura 5.** Muestra una curva de gestación con varios servicios efectuados: a los 2, 16 y 21 días se realiza la primera serie con gestación confirmada por ecografía. Posteriormente se presenta una nueva actividad ovárica. Se hace una segunda serie de servicios a los 296, 298 y 301 días con referencia al primero, se confirma, por ecografía, la ausencia de gestación. Se llevan a cabo nuevos servicios que terminan a los 329 días. De este último resultó un diagnóstico de gestación positivo por ecografía y se observa la elevación correspondiente en la curva de eCG. La gráfica representa en ordenadas los niveles de eCG en ng/mL encontrados en función del tiempo transcurrido en días.

tamente significativas entre sí y respecto a las basales.

La curva anormal descrita en la Fig. 5 no tuvo, en el intervalo de 400 días en los que se extrajeron muestras de sangre, niveles característicos de una preñez normal. Se hizo un primer servicio confirmando la gestación por ecografía que luego no fue acompañado por un aumento de la eCG en el tiempo correspondiente. Posteriormente se hicieron otros servicios en los cuales hay aumentos relativos y escasos de eCG que coinciden con el final del período de recolección de muestras. Los valores de eCG en esta etapa (del orden de 2000 ng/mL) sugieren que hay una gestación de no más de 40-50 días en curso.

## CONCLUSIONES

La dosificación por radioinmunoanálisis de la eCG permite detectar niveles de

concentración más bajos y por lo tanto determinar con mayor sensibilidad el inicio de la producción de la hormona por las copas endometriales durante la gestación.

Dicho tiempo de inicio es, por esta metodología, de  $52 \pm 17$  días lo cual si bien esta de acuerdo con la literatura, la dispersión de la media incorpora un dato clínico de valor para el diagnóstico.

El RIA es reproducible, altamente específico y sensible. Las mejores respuestas se producen en el intervalo de dosificación entre 10 y 1200 ng/mL basado en el patrón de calibración seleccionado.

La concentración de eCG medida en diluciones de sueros de yegua preñada, permitió descubrir un efecto de dilución que obliga a seleccionar suero equino libre (macho) como matriz para preparar el estándar de calibración así como las

diluciones de muestras excesivamente elevadas.

Se efectuaron extracciones semanales en los tiempos en que se requería conocer con precisión el momento de inicio de la producción de eCG. Posteriormente se efectuaron extracciones mensuales. Se hizo un muestreo que no perjudicó en nada a los animales. Desde el punto de vista de la investigación de los problemas reproductivos de la yegua, el seguimiento de niveles séricos de eCG tiene importancia en la detección de reabsorción como fenómeno inmunológico con una frecuencia no despreciable. En esta patología el comportamiento social del animal no siempre constituye una evidencia de la pérdida embrionaria siendo, en cambio, evidentes las caídas bruscas de niveles circulantes de eCG ( $p < 0.001$ ).

En suma, se detectó precozmente una curva patológica en la población de yeguas preñadas por RIA de eCG sin comportamiento de celo, comprobándose luego de posteriores servicios, acompañados por ecografías positivas y niveles de eCG elevados que había una gestación en curso. La metodología aplicada es simple y de escasa agresividad para el animal teniendo precaución de cumplir los cuidados sanitarios requeridos.

Probablemente con una casuística mayor se pueda optimizar el umbral a partir del cual la secreción de eCG es significativa. Además la tendencia ascendente en determinaciones sucesivas ayuda en la estimación de ese umbral permitiendo que la reabsorción sea detectada con precisión aun más precozmente.

## Agradecimientos

Dr. Alberto Carbo, (Haras "Los Apamates") por su aporte profesional. IQ. Ana Robles, (Centro de Investigaciones Nucleares) por su constante dedicación en las actividades de laboratorio con la cual pudimos saltar muchas dificultades.

Al Sr. Rocha (Haras "Los Apamates") por su buena voluntad permanentemente en las actividades con los animales.

## Referencias bibliográficas

1. **Allen, W.R., y Moor, R.M.** (1972) The origin of the equine endometrial cups: In: Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *J.Reprod. Fertil.*(29):313-316.
2. **Benitez Ortiz, W.**(1992) Diagnostic de gestation et etude de la mortalite embryonnaire chez les ruminants par dosage de la pregnancy associated glycoprotein (PAG): In Tesis Ph.D. *Prod. Anim. Trop. Antwerpen, Belgique, Institut de Médecine Tropicale Prince Leopold, Departement de Production et Santé Animales; Liege, Belgique, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liege Service de Physiologie de la Reproduction.*
3. **Bodgan, I.**(1988), Determination of blood PMSG concentration in mare of different breeds in Romania. *Mon. hefte. Vet. Med.*(43):165-166.
4. **Brendemuehl, et al.**(1996). Effect Of grazing endophyte-infected tall fescue on eCG and progestagen concentration from gestation day 21 to 300 in the mare. *Theriogenology* (46):85-96.
5. **Ekins, R.P.; Newman, G.B. and O'Riordan, J.L.**(1968) Theoretical aspects of "saturation" and radioimmunoassay. *In: Radioisotopes in medicine: In vitro studies.* Oak Ridge, Tenn., U.S. Atomic Energy Commission, pp 59-100.
6. ———(1974) Automation of radioimmunoassay and other saturation assay procedures. In *Proceeding, Radioimmunoassay and Related Procedures in Medicine.* Viena, International Atomic Energy Agency, pp.91-109.
7. **Evans, G. and Robinson, T.J.** (1980) The control of fertility in sheep: endocrine and ovarian responses to progestagen-PMSG treatment in the breeding season and anestrus. *J. Agric. Sci. (Print)* 94:69-88.
8. **Goudet, G.; Leclercq, L.; Bezard, J.; Duchamp, G.; Guillaume, D.** (1998) E.Chorionic Gonadotropin secretion is associated with an inhibition of follicular growth and improvement in oocyte competence for in vitro maturation in the mare. *Biol. Reprod.* pp.760-768.
9. **Hoppen, H.O.** (1994) The equine placenta and chorionic gonadotropin an overview. *Exp. Clin. Endocrinol.* 102:235-243.
10. **Lothar, S.** (1978) Tabla 1.25-Límites de significación de la distribución de Student. *In: Estadística Aplicada.* Barcelona, Labor. p 121.
11. **Murphy, B.D.; Martinuk, S.D.** (1991) Equine Chorionic Gonadotropin. *Endocr. Rev.* 12(1): 27-44.
12. **Naqvi, SM.; Gulani, R.** (1998) The effect of gonadotrophin releasing hormone and follicle stimulating hormone in conjunction with pregnant mare serum gonadotrophin of the superovulatory reponse in crossbred sheep in India. *Trop. Anim. Heath Prod.* 369-376.
13. **Nett, T. and Gielen, J.** (1975). The development of a monoclonal antibody against PMSG for veterinary application. *Livest. Prod. Sci* (42):223.228.
14. **Rubianes, E.; Ungerfeld, R.** (1995) Superovulatory response in anestrus ewes is affected by the presence of a large follicle. *Theriogenology* (43): 465-472.
15. **Stewart, F. and Allen, W.** (1979). The binding of FSH, LH and PMSG to equine gonadal tissues. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 27:431-440.
16. **Ungerfeld, R.; Viñoles, C.; Rubianes, E.** (1993) Obtención y valoración del suero anti PMSG. *Veterinaria*, 119: 18-22.
17. **Yalow, R.S. and Berson, S.A.**(1968) General principles Of radioimmunoassay. *In: Radioisotopes in medicine, in vitro studies.* Oak Ridge, Tenn., U.S. Atomic Energy Commission, pp 7-41.



## Evaluación del moxidectin como dosificación estratégica del preparto en ovinos

Castells, D.<sup>1</sup>; Bonino, J.<sup>2</sup>

### RESUMEN

Se realizó un estudio con el objetivo de evaluar la acción del Moxidectin (MXD), frente a nematodos gastrointestinales (NG), como dosificación estratégica del preparto y en ovejas que paren sobre pasturas sucias (alta contaminación/infestación de NG). Para ello se realizó un diseño factorial que combinó tratamiento antihelmíntico (MXD iny; MXD oral y IVM+LVM oral) y estado reproductivo (parida c/cordero vivo PCV; parida c/cordero muerto PCM y no gestante-fallada F). Se utilizaron 138 ovejas 15 de las cuales estaban falladas (F) y 123 gestando un cordero. De este grupo luego del parto 101 quedaron integrando el grupo PCV y 22 PCM. Las ovejas fueron sincronizadas mediante pesarios intravaginales de medroxi-progesterona, que se colocaron el 23.03.99 y se retiraron el 08.04.99. La encarnera se realizó entre el 9 y el 14 de abril con un 10% de carneros en monta natural. El 26.05.99, se realizó ecografía con el objetivo de asignar en forma balanceada las falladas y las preñadas, también los grupos se balancearon por los antecedentes de HPG y el peso vivo. La parición se desarrolló entre el 4 y el 14 de setiembre. Los 3 grupos de tratamiento preparto fueron: A) MXD inyectable a 200 mcg kg<sup>-1</sup> B) MXD oral a 200 mcg kg<sup>-1</sup> y C) IVM+LVM oral, a 200 mcg kg<sup>-1</sup> y 7,5 mg kg<sup>-1</sup> respectivamente (en tratamientos separados en el tiempo). La pastura fue contaminada mediante el pastoreo de corderos parasitados entre el 20.06.99 y el 20.08.99 y luego dicho potrero fue subdividido en tres a los efectos de manejar los grupos por separado. La dosificación del preparto se realizó el 17.08.99 y 6 días después ingresaron al potrero de parición. Se registró la evolución de la parasitosis a las ovejas y a los corderos mediante el recuento de huevos por gramo (HPG) y un pool por grupo experimental se utilizó para identificar los géneros de nematodos actuantes. El análisis de la evolución del HPG de las ovejas (PCV), muestra claramente que hacia la 7ª semana posparto se produjo el alza de lactación. Este no se produjo en las ovejas del grupo MXD iny, que se mantuvo con recuentos bajos de HPG hasta 13 semanas posparto. Los grupos MXD iny, MXD oral y IVM+LVM mantuvieron diferencias significativas ( $p = 0 < a < 0.05$ ) hasta el 08.12.99. Las ovejas del grupo PCM y F no presentaron un alza de lactación muy marcado. Por otro lado los HPG de los corderos tuvieron una alta correlación con los de sus madres (coeficiente de correlación 0,92). A los 3 meses de vida la media geométrica de los corderos del grupo MXD Iny. fue de 6 HPG, los del MXD oral 81 hpg y los del grupo IVM+LVM 677 HPG. Los cultivos de larvas mostraron a *Haemonchus* spp como el género mas prevalente.

**Palabras Clave:** Moxidectin, alza de lactación, nematodos, dosificación estratégica, preparto, ovinos.

### SUMMARY

A study has been made with the objective of evaluating the action of Moxidectin (MXD) in gastrointestinal nematodes, as a prelambling strategic drench of ewes lambing on contaminated pastures. The study design was a factorial that combined the anthelmintic treatment (MXD injectable; MXD oral and a combination of LVM + IVM) and the reproductive status (lambing and rearing one lamb, lambing and not rearing the lamb and no-pregnancy). We used 138 sheep, 15 from these were not pregnant and 123 were pregnant with one lamb. The ewes were synchronized by intravaginal pessaries containing medroxyprogesterone. It was inserted on 23.3.99 and retired on 8.4.99. The mating was between 9-14 April with a 10% of rams. On 26.5.99 ewes were scanned using real time ultra sound. To form the experimental groups we used the reproductive status, the eggs per gram count (epg) and the live weight. The lambing was between 4-14 September. The 3 groups were: A) MXD injectable at 200 mcg/kg B) MXD oral at 200 mcg/kg and C) IVM+LVM oral, at 200 mcg/kg and 7,5 mg/kg (in treatments separated in time). The pasture was contaminated by grazing of parasited wethers between 20.6.99 – 20.8.99, and then this paddock was subdivided into three, so as they graze separately. The prelambling drenching was on 17.8.99 and after 6 days they were taken to the corresponding paddocks. We tested the evolution of the parasitism through the epg and we made larval cultures to identify the nematods generous. The spring rise appeared the 7<sup>th</sup> week post lambing, only in lactating sheep, except on the MXD inj group. They had 477 arithmetic mean 13 weeks post lambing.. The epg counting of the lambs had a high correlation with their mothers'. (0.92) At the age of 3 month the geometric mean of MXD inj. group was 6 epg, MXD oral 81 epg and IVM+LVM 677 epg. The larval cultures showed that *Haemonchus* spp was the most prevalent generous.

**Keywords:** Moxidectin, Spring rise, Nematods, Strategic drench, Prelambing, Sheep.



§ Trabajo presentado en el XXI Congreso Mundial de Buiatría

Recibido: 27/03/01 Aprobado: 30/04/01

<sup>1</sup> S.U.L. Dpto. Producción ovina Rbla. Baltasar Brum 3764 Montevideo 11800. Uruguay E-Mail: [castells@adinet.com.uy](mailto:castells@adinet.com.uy) <sup>2</sup> S.U.L. y Fac. de Veterinaria

## INTRODUCCIÓN

Uruguay posee 18,5 millones de hectáreas, de las cuales el 88% pueden considerarse productivas y aptas para la producción agropecuaria. Todo el territorio está incluido en clima templado, con un promedio de 85 días de lluvia y 1100 mm. de precipitación anual (1). El 86% de las pasturas son nativas y los sistemas de producción son fundamentalmente mixtos (bovinos y ovinos) y en pastoreo continuo.

Estudios realizados sobre la distribución relativa de géneros de nematodos en ovinos, muestran que el 81% son *Haemonchus* spp y *Trichostrongylus* spp. (2).

Por otro lado ha sido demostrado para el Uruguay, que las ovejas lactantes presentan hacia la séptima semana posparto un aumento en la eliminación de huevos (spring rise), que a su vez determina en una fuente importante de contaminación para el cordero. (3).

Entre otras cosas esto determina que una de las dosificaciones estratégicas utilizadas sea la del parto (4), aunque no siempre esta dosificación asegure la eliminación del alza de lactación (3 y 5).

Moxidectin es un macrólido semisintético, derivado del nemadectin, producto de la fermentación natural del *Streptomyces cyaneogriseus* spp noncyanogenus (6), con comprobada eficacia (7) y persistencia (8) sobre nematodos del ovino.

El objetivo del presente estudio, fue evaluar al Moxidectin como dosificación estratégica del parto, en ovejas que en pastoreo continuo, paren en pasturas contaminadas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Area experimental :** el trabajo se desarrolló entre los meses de marzo y diciembre de 1999 en el "Centro de Investigación y Experimentación Dr. Alejandro Gallinal (CIEDAG)" del Secretariado Uruguayo de la Lana (SUL). Para la parición de las ovejas, se destinó un potrero de 48 hectáreas, de campo nativo y con aguada natural, que fue subdividido previo a la parición (en agosto), a los efectos del ensayo en 3 parcelas de 16 hectáreas c/u.

**Animales :** se comenzó con un grupo de 154 ovejas Corriedale adultas, con antecedentes de haber criado al menos un cordero en su vida. Luego de la encarnada se seleccionó para el ensayo un total de 123 ovejas, de las cuales 15 eran no gestantes (falladas - F) y 108 presentaban gestación única. Luego de la parición y debido a la mortalidad neonatal este grupo se subdividió en 93 ovejas que gestaron, parieron y criaron un cordero (paridas cordero vivo - PCV) y 15 que gestaron, parieron y no criaron ningún cordero (paridas cordero muerto - PCM).

**Preparación de los grupos experimentales :** a los efectos de lograr una parición concentrada, de manera que el mayor número de ovejas pariera en el menor tiempo posible y los corderos tengan similar edad, las ovejas fueron sincronizadas. Esto, se realizó mediante pesarios intravaginales de medroxiprogesterona, que se colocaron el 23.03.99 y se retiraron el 08.04.99. La encarnada se realizó entre el 9 y el 14 de abril mediante monta natural con un 10% de carneros. El 26.05.99 se realizó el diagnóstico de gestación mediante ultrasonografía, con el objetivo de poder asignar luego en forma balanceada a las ovejas falladas y a las preñadas (gestantes) en los distintos tratamientos.

**Preparación del potrero de parición :** este fue contaminado (pastura sucia), mediante el pastoreo entre el 20.06.99 y el 20.08.99, de 154 corderos parasitados con una media aritmética de 820 HPG. Luego de retirado el pastoreo el potrero fue subdividido en tres parcelas.

**Grupos experimentales :** el diseño experimental correspondió a un factorial, que combinó tratamiento antihelmíntico (Moxidectin inyectable **MXD iny.** ; Moxidectin oral **MXD oral** y la combinación de Ivermectina mas Levamisol **IVM+LVM**) y estado reproductivo ( paridas cordero vivo **PCV** ; paridas cordero muerto **PCM** y falladas **F**). De acuerdo al resultado de la ultrasonografía los grupos fueron bloqueados en falladas y gestantes. Luego se armaron los grupos balanceados de acuerdo a los valores de hpg y peso vivo del día 17.05.99 y finalmente se adjudicaron al azar a los trata-

mientos **MXD iny.**, **MXD oral** y **IVM+LVM**. Los corderos no recibieron dosificación en el transcurso del ensayo.

**Tratamientos :** los 3 grupos recibieron una única dosificación el 17 de agosto (estratégica del parto), 18 días antes del comienzo de la parición (04.09.99). El grupo **MXD iny.** fue tratado con Moxidectin inyectable a la dosis de 0.2 mg kg<sup>-1</sup>; el **MXD oral** fue tratado con Moxidectin oral a la dosis de 0.2 mg kg<sup>-1</sup> y el grupo **IVM+LVM** fue tratado con 7.5 mg kg<sup>-1</sup> de Levamisol oral y luego con 0.2 mg kg<sup>-1</sup> de Ivermectina oral.

**Análisis estadístico :** los resultados de los recuentos de huevos por gramo, de las ovejas y de los corderos, fueron testados en primera instancia por el test de Bartlett, debido a que los grupos no fueron homosedásticos (diferencia entre las varianzas), se recurrió a analizar los datos mediante una prueba no paramétrica, test de Kruskal-Wallis. La correlación de los HPG de ovejas y corderos fue analizada en forma simple  $P_{x-y} = Cov(x,y)/\sigma_x * \sigma_y$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

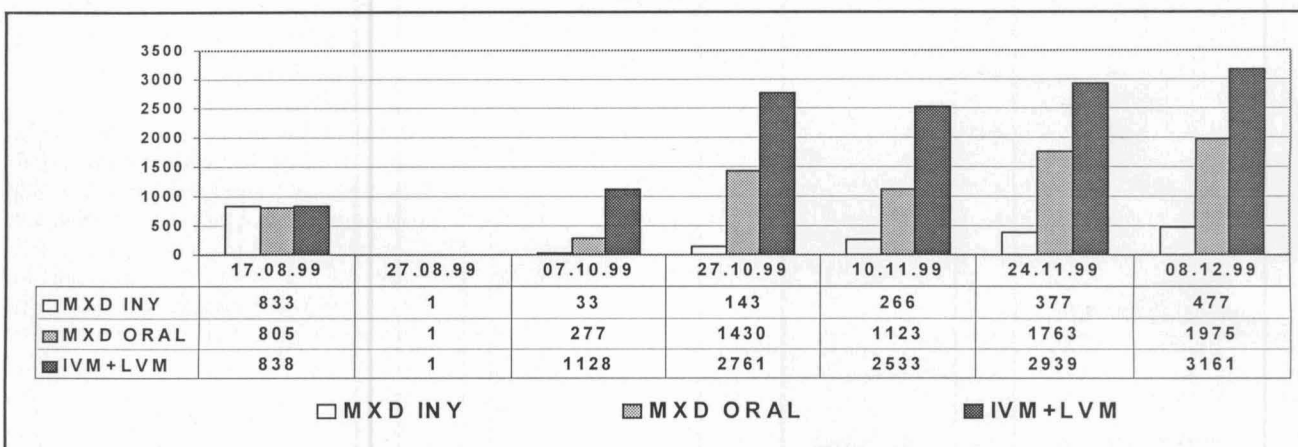
Debido a la alta prevalencia de resistencia antihelmíntica en Uruguay (9), previo a la determinación de que droga utilizar como testigo a ser comparado con el Moxidectin, se realizó un chequeo de resistencia antihelmíntica. Los resultados se muestran en el Cuadro I y de ella se desprende, que salvo para el caso del Moxidectin, el resto de las drogas tiene comprometida la eficacia con al menos un género de nematodo. De todas maneras, la combinación de Levamisol e Ivermectina, resultó eficaz debido a que los nematodos que dan resistencia a una u otra droga fueron diferentes (*Trichostrongylus* spp y *Haemonchus* spp respectivamente).

La combinación de Levamisol e Ivermectina y el Moxidectin fueron eficaces tal cual se puede ver en el muestreo del 27.08.99, realizado 10 días después de la dosificación estratégica del parto (gráfica 1).

En la gráfica 1 se observa la evolución de la media aritmética de los HPG del grupo de ovejas que criaron un cordero

**Cuadro 1.** Evaluación del estado de resistencia antihelmíntica de las 5 drogas chequeadas a través de la reducción en el conteo de huevos (R.C.H.).

	Fenbendazol	Levamisol	Ivermectina	Moxidectin	Closantel
R.C.H.	15	95	72	99.7	66
Nematodo	Haemonchus	Trichostrongylus	Haemonchus		Haemonchus
Resistente	Trichostrongylus				



**Gráfica 1.** Evolución de la media aritmética de los recuentos de HPG para los 3 tratamientos en el grupo PCV.

(PCV). La evolución de los HPG del grupo MXD iny. es sensiblemente baja y se mantiene con valores de bajo riesgo parasitario hasta 3,5 meses luego de la dosificación. También se puede observar como dicho grupo no desarrolló el alza de lactación (Gráficas 1 y 2).

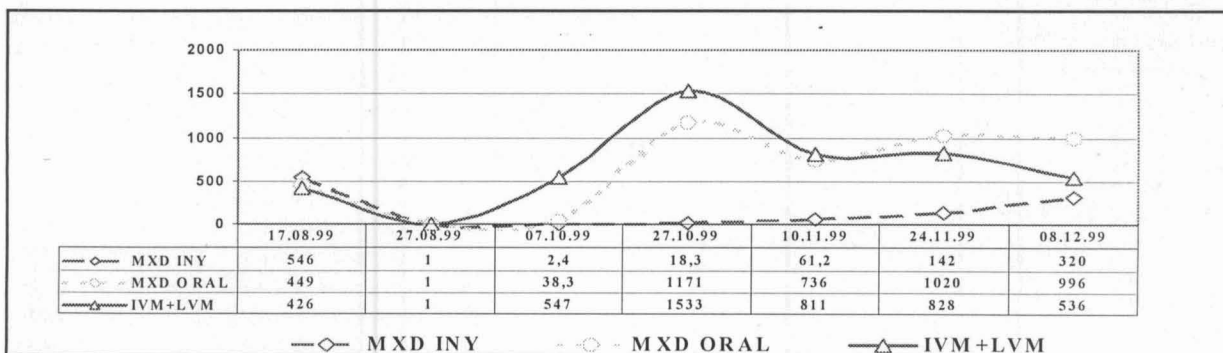
Para el grupo MXD oral, si bien los valores de la media aritmética fueron siempre inferiores al grupo IVM+LVM (Gráfica 1), no fueron lo suficientemente bajos para eliminar el alza de lactación, que se expresó tanto para MXD oral como

para IVM+LVM hacia la 7ª semana (Gráfica 2). Pero si lo suficientemente bajos como para determinar que los corderos de ese grupo se mantuvieran con valores bajos hasta prácticamente los 3 meses de edad (Gráfica 8).

Por otro lado las Gráficas 3, 4 y 5 muestran la evolución de los HPG, comparando dentro del mismo tratamiento antihelmíntico la diferente evolución entre las ovejas que gestan paren y crían un cordero (PCV) con respecto a las que no crían ninguno (PCM y F).

Se nota claramente (sobre todo en el grupo IVM+LVM), la influencia de estado reproductivo sobre el alza de lactación. Al igual que lo descrito por Nari *et al.*, (3), las ovejas que no crían cordero presentan un alza de lactación de menor intensidad y amplitud.

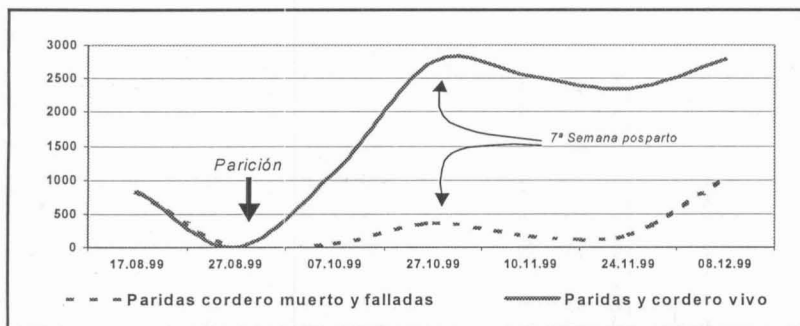
Los bajos valores de HPG registrados con el MXD iny hasta 3 meses luego del parto, solo pueden explicarse, por una mayor acción sobre larvas hipobioticas y/o por una elevada persistencia como la descrita por Abbot *et al.*, (8),



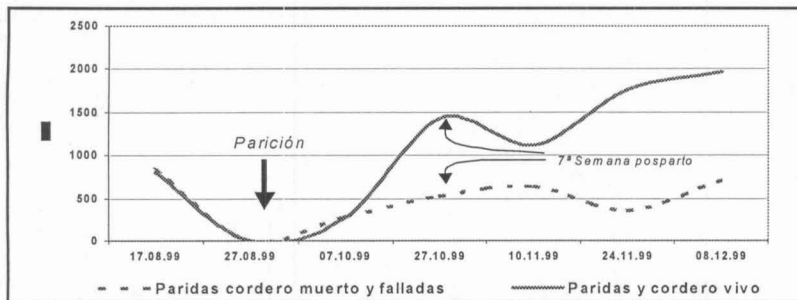
**Gráfica 2.** Evolución de la media geométrica de los recuentos de HPG para los 3 tratamientos en el grupo PCV.

**Cuadro 2.** Nivel de significación entre grupos y según fecha de muestreo de acuerdo al test no paramétrico de Kruskal-Wallis

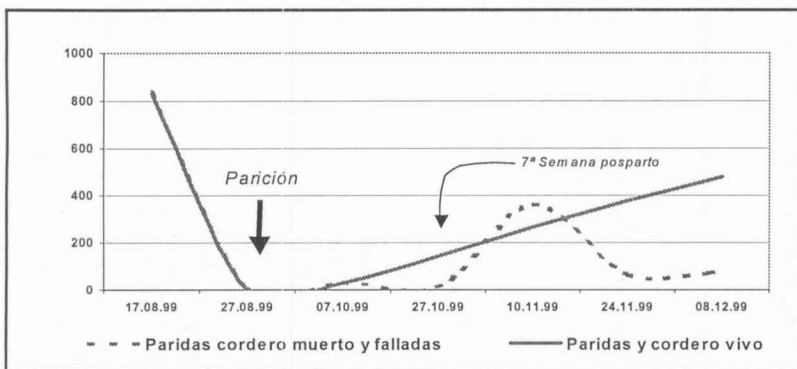
Fecha muestreo	07.10.99	27.10.99	10.11.99	24.11.99	08.12.99
Probabilidad	7.30623E-11	1.98895E-9	1.51601E-6	2.25651E-5	3.932125E-3



**Gráfica 3.** Evolución de los recuentos de HPG del grupo IVM + LVM para los subgrupos PCV + F.



**Gráfica 4.** Evolución del HPG del grupo MXD oral en los subgrupos PCV y PCM + F.



**Gráfica 5.** Evolución de los HPG del grupo MXD iny para PCV y PCM + F.

Kemphthorne *et al.*, (10) y Rendell y Callinan (11).

En la gráfica 6 se observa el resultado de los cultivos de larvas, realizado mediante un pool de muestras por cada tratamiento (MXD iny; MXD oral y IVM+LVM). En el se observa una predominancia alta de *Haemonchus* spp, que al igual que lo publicado por otros autores (Nari *et al.*, 1977b), es el principal responsable del alza de lactación.

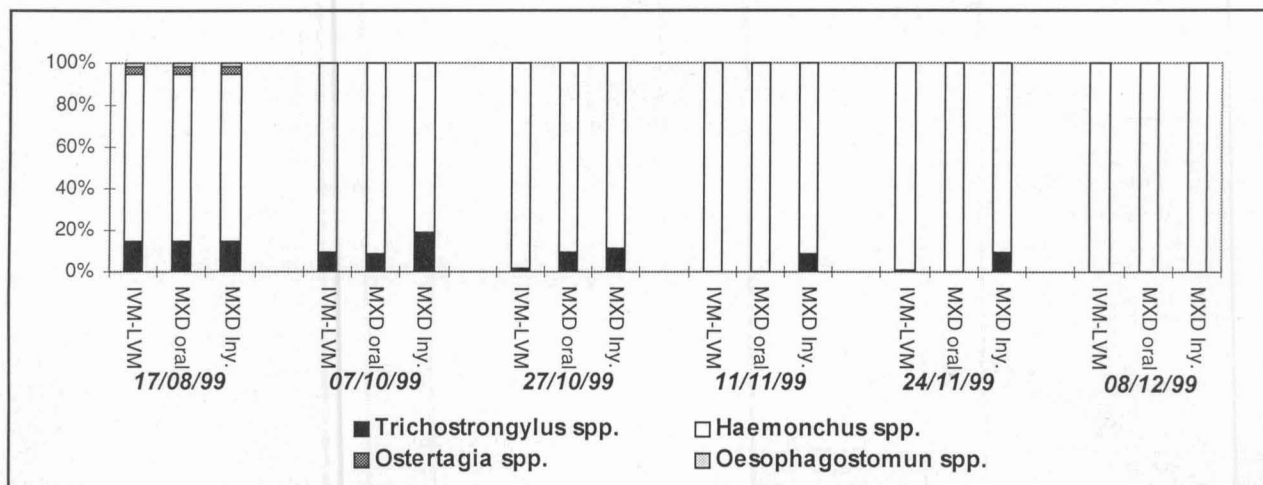
Los altos valores de HPG en el grupo IVM+LVM, a partir de la 7ª semana posparto (Gráfica 1) y la presencia de *Haemonchus* spp como principal nematodo (Gráfica 6), llevaron a la necesidad de dosificar 5 animales de forma de evitar muertes. Para reducir la interferencia que esta dosificación tiene en el diseño experimental, los valores de estos animales se dejaron constantes hasta el final del ensayo obviando los valores de HPG posdosificación.

Por último, existió una alta correlación entre los valores de HPG de las madres y los de los corderos. Tal como se observa en la Gráfica 7, los valores de HPG de los corderos hijos del grupo de ovejas tratados con Moxidetin inyectable presentaron los valores mas bajos. Un análisis de correlación simple mostró un coeficiente de correlación de 0.92. Esto no hace mas que corroborar lo descrito por Nari *et al.* (1977b), de que la principal fuente de infección para el cordero es la propia madre, ya que a pesar de parir en pasturas contaminadas los corderos del grupo MXD iny y MXD oral mantuvieron valores bajos de HPG hasta los 3 meses de vida.

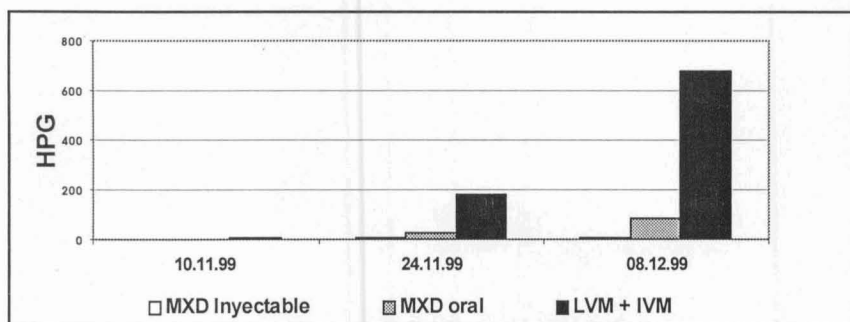
## CONCLUSIONES

El Moxidectin inyectable utilizado como dosificación estratégica del preparto, eliminó el alza de lactación, mantuvo a las ovejas con recuentos bajos hasta 3 meses posteriores al parto y determinó un bajo desafío para los corderos.

El Moxidectin oral presentó un comportamiento similar al inyectable aunque con valores mas altos que determinaron en alguna medida un alza de lactación, pero con la suficiente baja intensidad como para no determinar riesgo parasitario en los corderos.



Gráfica 6. Prevalencia de los géneros de NG por grupo y fecha de muestreo. El resultado es expresado en porcentaje sobre 100 LIII. (El 7/10, 27/100 y 11/11 para MXD iny LIII no llegaron a 100).



Gráfica 7. Evolución de los recuentos de HPG de los corderos (media aritmética).

El alza de lactación se presentó mas relacionado al estado reproductivo que al tratamiento antihelmintico.

El nematodo mas prevalente y que en definitiva determinó el alza de lactación fue *Haemonchus contortus*.

Los niveles de recuento de huevos de nematodos de los corderos se correlacionaron fuertemente con los de las madres, ratificando que la principal fuente de contaminación de los corderos son la propia madre mas que el nivel de contaminación previo del potrero.

### Agradecimientos

Al Dr. José Piaggio por el asesoramiento en los análisis estadísticos. Al Dr. Mariano Carballo por la supervisión en el diseño y tareas de campo.

### Referencias bibliográficas

1. Cardellino R.; Salgado C. y Azzarini M. 1994. La producción ovina y lanera en el Uruguay. Producción Ovina 7.
2. Nari A. Cardozo H. Berdie J. Canabaz F y Bawden R. 1977a. Dinámica de población para nematodos gastrointestinales para ovinos en el Uruguay. Veterinaria 14 (66).
3. Nari A. Cardozo H y Berdie J. 1977b. Alza de lactación (spring rise) para nematodos gastrointestinales en ovinos. Veterinaria 12 (65).
4. Nari A y Cardozo H. 1987. Enfermedades causadas por parásitos internos Nematodos gastrointestinales. In: Bonino, Duran del Campo y Mari. Enfermedades de los lanares Tomo 1 Ed. Hemisferio Sur.
5. Darvill F.; Arundel J. and Brown P. 1978. The effect of anthelmintic treatment of maiden ewes in the periparturient period on pasture contamination and production of prime lambs. Australian Veterinary Journal 54.
6. Chick B.; Cobb R. and Kieran P. 1994. Sustained anthelmintic activity of a moxidectin injectable formulation against three common pathogenic nematodes in sheep. Australian Veterinary Association Conference. Canberra March 1994.
7. Oosthuizen W. Erasmus J. Boelema E. And Grove J. 1993. Efficacy of moxidectin against internal parasites of sheep. Journal of the South African Veterinary Association 64 No. 1.

- 
8. **Abbot K.; Cobb R. and Holm Glass M.** 1995. Duration of the persistent activity of moxidectin against *Haemonchus contortus* in sheep. Australian Veterinary Journal 72 No.11.
9. **Nari A. Salles J. Gil A. Waller P. And Hansen J.** 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern latin America : Uruguay. Veterinary Parasitology 62.
- 10). **Kemphorne R.; Familton A. And McAnulty.** 1997. The effect of albendazole controlled release calpsules and moxidectin injection treatment on faecal egg count and body weight of 18 month old ewes in the autumn.
11. **Rendell D. and Callinan L.** 1996. The duration of anthelmintic effects of moxidectin and ivermectin in grazing sheep. Australian Veterinary Journal 73.



## Evaluación de la doramectina como dosificación estratégica del destete de ovinos

Castells, D.<sup>1</sup>; Bonino, J.<sup>2</sup>; Mari, J.J.<sup>3</sup>

### RESUMEN

Se realizó un estudio con el objetivo de evaluar la acción de la Doramectina (DRM), frente a nematodos gastrointestinales (NG), como dosificación estratégica en corderos destetados sobre pasturas seguras (baja contaminación/infestación de NG) o sucias (alta contaminación/infestación de NG). El diseño experimental fue un factorial que combinó contaminación de la pastura (segura o sucia), tratamiento antihelmíntico (Doramectina DRM o Ivermectina IVM) y frecuencia de este (solo al destete o al destete y a los 45 días). Los grupos fueron balanceados por recuento de huevos por gramo (HPG) y el peso vivo (PV) al momento del destete y luego distribuidos al azar en 8 grupos. De esta manera 120 corderos fueron distribuidos en: 1) DRM segura "0"; 2) DRM segura "0-45"; 3) DRM sucia "0"; 4) DRM sucia "0-45"; 5) IVM segura "0"; 6) IVM segura "0-45"; 7) IVM sucia "0" y 8) IVM sucia "0-45". El grupo DRM fue tratado con Doramectina a 0.2 mg kg<sup>-1</sup> inyectable y el IVM con Ivermectina a 0.2 mg kg<sup>-1</sup> oral. Los grupos "0" solo recibieron la dosificación al destete y los grupos "0-45" recibieron otra dosificación a los 45 días del destete. La preparación de la pastura segura se realizó mediante el pastoreo durante los 3 meses previos al destete de vacas adultas y la pastura sucia mediante el pastoreo por el mismo lapso de tiempo de ovejas con cordero al pie. Se registró la evolución de la parasitosis por NG mediante el recuento de HPG cada 14 días y un pool de materia fecal se utilizó para identificar los géneros actuantes mediante cultivo de larvas. Asimismo se registró la evolución del PV y la disponibilidad de la pastura. Se registraron diferencias estadísticamente significativas ( $p = \delta < 0.05$ ), en los recuentos de HPG entre los grupos DRM e IVM, durante prácticamente todo el ensayo. Con respecto al PV se registraron diferencias estadísticamente significativas, fundamentalmente entre grupos que pastoreaban por separado (segura y sucia). Se concluyó por lo tanto, que los niveles de HPG fueron afectados principalmente por el tratamiento antihelmíntico y el PV por la pastura.

**Palabras Clave:** doramectina, nematodos, tratamiento estratégico, ovinos

### SUMMARY

A study was done with the objective to evaluate the action of Doramectin against gastrointestinal nematodes (GN), as a strategic treatment of lambs, weaner either on safe pastures (low contamination/infestation of GN), or contaminated pastures (high contamination/infestation of GN). The experimental design was a factorial including: A) pasture contamination (safe or contaminated) B) anthelmintic treatment (doramectin DRM or ivermectin IVM) and C) frequency of treatment (only at weaning "0" or at weaning and 45 days later "0-45"). Groups were balanced by faecal egg count (FEC) and weight at weaning (WW) and then randomly allocated in 8 groups. One hundred and twenty lambs were distributed as: 1.-DRM safe "0" 2.-DRM safe "0-45" 3.-DRM contaminated "0" 4.-DRM contaminated "0-45" 5.- DRM safe "0" 6.-IVM safe "0-45" 7.-IVM contaminated "0" 8.-IVM contaminated "0-45". The DRM group was treated with DRM at 0.2 mg/kg injectable and the IVM group was treated at 0.2 mg/kg oral. The "0" group were treated at weaning and "0-45" group were treated at weaning and 45 days later. Safe pasture were prepared by grazing cows for 3 months before lambs were weaned, while contaminated pastures were prepared by grazing ewes and their lambs during the same period of time. Parasitic infection was monitored by FEC every 14 days and pooled sample was used to identify the genus present by larvae identification method. Body weight differences and pasture allowance were monitored. Statistical differences ( $p = \delta < 0.05$ ) were found in FEC between DRM and IVM. Body weight differences were also statically significant ( $p = \delta < 0.05$ ), between safe and contaminated pasture. It is concluded that FEC levels were affected principally by anthelmintic treatments and body weights by pasture allowance.

**Keywords:** doramectin, nematodes, strategic treatments, sheep

### INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción del Uruguay, determinan para ovinos, la presencia de diferentes géneros de nematodos (1). Estos presentan diferente prevalencia y dinámica poblacional (2) y un impacto productivo que en categorías de cría puede

ocasionar pérdidas directas importantes (3) e incluso efectos permanentes (4).

Por esto dentro de los métodos de control disponibles, la utilización de dosificaciones estratégicas, es una de las herramientas de mayor uso, donde aparece

como ineludible la dosificación estratégica del destete (5).

La aparición de las Avermectinas y en especial la Doramectina, con comprobada persistencia (6), la presentan como una opción en el momento de elegir el tratamiento estratégico del destete.

<sup>§</sup> Trabajo Presentado en el XXI Congreso Mundial de Buiatría.-

Recibido: 23/03/01 Aprobado: 30/04/01

<sup>1</sup> Secretariado Uruguayo de la Lana SUL Departamento de Producción Ovina. Rambla Baltasar Brum 3764, Montevideo, 11800. Uruguay. E-Mail: castells@adinet.com.uy <sup>2</sup>SUL y F.V. Dpto. Rumiantes y suínos. <sup>3</sup>Ciencia S.A. Uruguay.

El objetivo del presente estudio, fue el de evaluar a la Doramectina como dosificación estratégica del destete, en corderos que pastorean sobre pasturas sucias (alta contaminación/infestación de nematodos parásitos) y seguras (baja contaminación/infestación de nematodos parásitos).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Area experimental :** se destinó a los efectos del ensayo, un potrero de campo natural de 20 há. que fue subdividido en 2 fracciones de 10 há. cada una.

**Animales :** para la preparación de la pastura sucia, se utilizaron 35 ovejas sin dosificar con cordero al pie y para la pastura segura se utilizaron 7 vacas adultas. En la evaluación de la droga se utilizaron 120 corderos de destete (3,5 meses).

**Preparación de la pastura :** a los efectos de obtener una pastura segura, una de las fracciones (10 ha), fue pastoreada con 7 vacas adultas en el período comprendido entre el 15 de setiembre y el 18 de diciembre de 1998. Durante ese mismo período, la otra fracción, fue pastoreada con 35 ovejas con corderos al pie, a los efectos de obtener una pastura sucia.

**Diseño experimental :** el ensayo fue de tipo factorial, que combinó: A) Tratamiento antihelmíntico (Doramectina DRM o Ivermectina IVM) B) Frecuencia del tratamiento (solo al destete "0" o al destete y a los 45 días "0-45") y C) Tipo de pastura (segura o sucia).

**Grupos experimentales :** con los 120 corderos se formaron 8 grupos, que fueron balanceados en primer lugar por los recuentos de huevos por gramo (HPG) al 18.01.99 y en segundo lugar por el peso vivo (PV), a la misma fecha. Luego fueron distribuidos al azar en 8 grupos experimentales:

- 1) Doramectina al destete y sobre pasturas seguras (DRM Seg. "0").
- 2) Doramectina al destete y a los 45 días y sobre pasturas seguras (DRM Seg. "0-45").
- 3) Doramectina al destete y sobre pasturas sucias (DRM Sucia "0").

4) Doramectina al destete y a los 45 días sobre pasturas sucias (DRM Sucia "0-45").

5) Ivermectina al destete y sobre pasturas seguras (IVM Seg. "0")

6) Ivermectina al destete y a los 45 días sobre pasturas seguras (IVM Seg. "0-45").

7) Ivermectina al destete y sobre pasturas sucias (IVM Sucia "0").

8) Ivermectina al destete y a los 45 días sobre pasturas sucias (IVM Sucia "0-45").

**Tratamientos:** los grupos DRM fueron tratados con Doramectina a 0.2 mg kg<sup>-1</sup> en forma inyectable intramuscular. Los grupos IVM fueron tratados con Ivermectina a 0.2 mg kg<sup>-1</sup> en forma oral). Todos los grupos recibieron la dosificación al destete (18.01.99) y los grupos 0-45 repitieron la misma dosificación a los 45 días del destete (05.03.99). Para evitar muertes de corderos se impusieron dosificaciones de *salvataje*, que para el caso de los grupos IVM "0" fueron necesarias el 05.03.99 y para el grupo DRM "0" el 31.03.99.

**Registros:** la evolución de la parasitosis se midió a través del recuento de huevos por gramo (hpg) realizado en forma semanal. Un pool de las muestras extraídas se utilizó para realizar cultivo de larvas y a partir de allí determinar los géneros de nematodos actuantes. La evolución del peso vivo también fue medida en forma semanal. A la entrada de los corderos (18.01.99) se registró la disponibilidad de pasturas y al finalizar el ensayo (27.04.99) el remanente y por otro lado en forma diaria se registró la temperatura y las precipitaciones.

**Análisis estadístico:** los pesos vivos de cada muestreo, fueron sometidos a un análisis de variancia (ANOVA) y luego las medias fueron comparadas mediante la prueba de Bonferroni. Las ganancias de peso en todo el período o hasta el 5/3, fueron comparadas mediante la prueba de Bartlett. Los resultados de los recuentos de huevos por gramo, de los corderos fueron testados en primera instancia por el test de Bartlett, debido a que los

grupos no fueron homocedásticos (diferencia entre las varianzas), se recurrió a analizar los datos mediante una prueba no paramétrica, test de Kruskal-Wallis

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

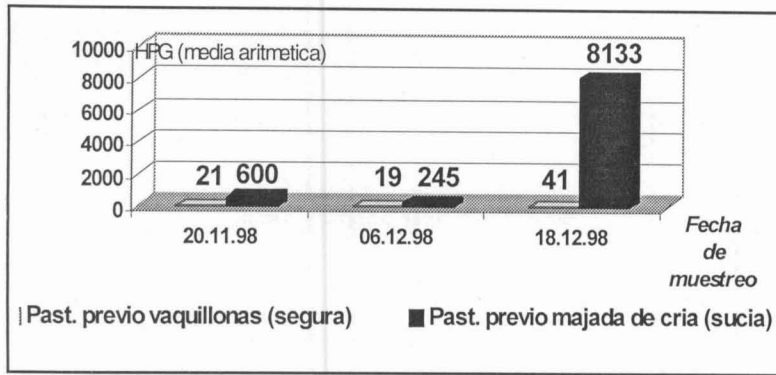
A los efectos de obtener dos niveles diferentes de contaminación/infestación (pastura segura y pastura sucia), durante la primavera (septiembre a diciembre), una de las fracciones fue pastoreada por vacas adultas y la otra por ovejas con cordero al pie. La Gráfica 1, nos muestra a través de la media aritmética de tres muestreos realizados, un nivel de infección/contaminación diferente entre las vacas y las ovejas. Esto está mostrando una contaminación mayor por parte de las ovejas (pastura sucia), sobretudo al final del período de pastoreo, hecho que coincide con el alza de lactación (spring rise) de las ovejas (parición de octubre).

A pesar de manejarse una dotación similar, para el pastoreo de ambas especies (bovinos y ovinos), al momento del ingreso de los corderos (destete), la disponibilidad fue sensiblemente diferente (Cuadro 1). Estas diferencias se mantuvieron hasta el final del ensayo y determinaron que las diferencias que pudieran haber en peso vivo entre los corderos de la pastura segura y la sucia estuvieran determinadas no solo por la carga y evolución parasitaria, sino también por la disponibilidad y la calidad de la pastura ofrecida.

La Gráfica 2 muestra la evolución de la media geométrica de los conteos de hpg para los grupos DRM segura "0" y IVM segura "0". Si bien el diseño no preveía, dosificar los grupos hasta el final de la evaluación, para el grupo IVM segura "0", el muestreo del 5/3 presentó una media geométrica de 2.461 hpg (aritmética 3.313 hpg), con algunos corderos de 15.200 hpg. Esto determinó la posibilidad de muertes, por lo que se tomó la decisión de dosificar todo el grupo. Un mes mas tarde las mismas razones determinaron la dosificación del grupo DRM segura "0".

En la Gráfica 3 se observa la evolución de la parasitosis de los grupos DRM e IVM sobre pasturas seguras pero con la

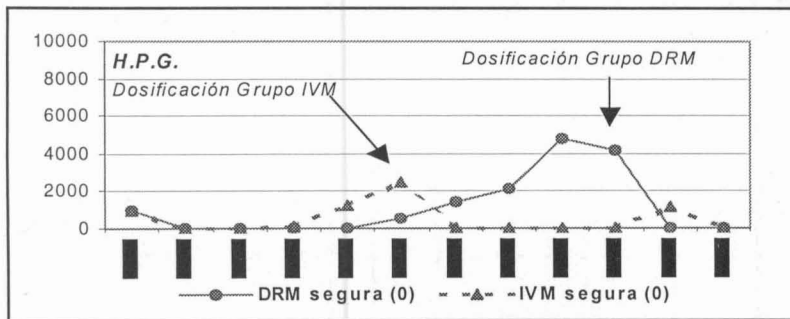




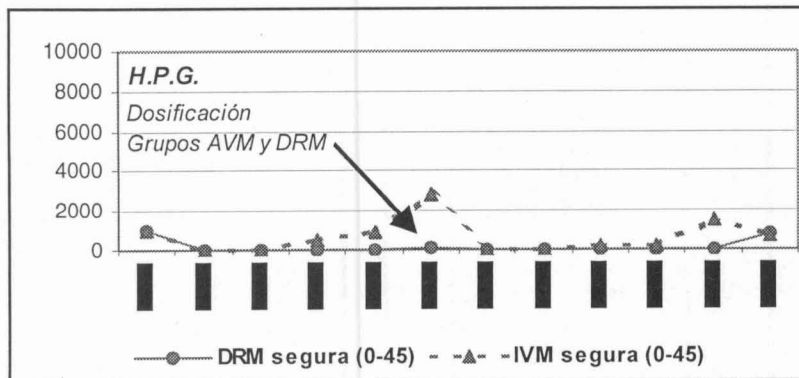
Gráfica 1. Preparación de la pastura. Niveles de HPG (media aritmética), de 3 muestreos realizados en el período de contaminación de la pastura.-

Cuadro 1. Disponibilidad de la pastura al comienzo del pastoreo de los corderos y remanente al finalizar MV = materia verde - MS = materia seca.-

	Disponibilidad (20.01.99)		Remanente (03.05.99)	
	kg MV ha <sup>-1</sup>	kg MS ha <sup>-1</sup>	kg MV ha <sup>-1</sup>	kg MS ha <sup>-1</sup>
Pastura sucia	2562	1132	2114	1141
Pastura contaminada	1694	720	1720	812



Gráfica 2. Evolución de la media geométrica de los recuentos de HPG para DRM e IVM segura «0»



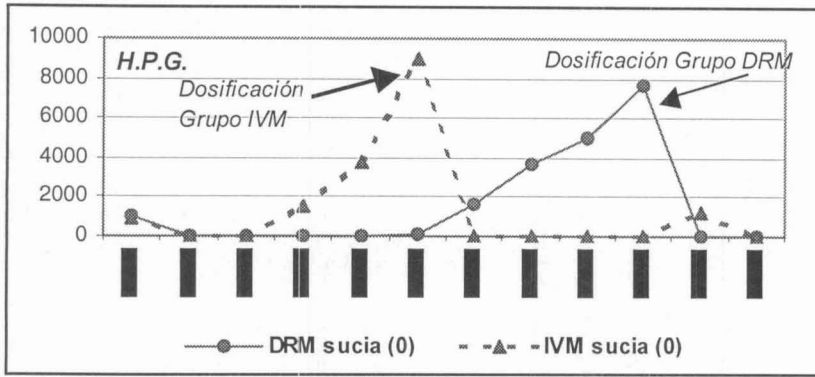
Gráfica 3. Evolución de la media geométrica de los conteos de hpg para DRM e IVM segura "0-45".

repetición de una dosificación a los 45 días de la primera (destete). La evolución no es muy diferente a la de la gráfica 2 hasta el 5/3. No obstante, la segunda dosificación al grupo DRM, determinó que los niveles de parasitosis fueron muy bajos durante 3 meses de duración del ensayo, evitando alzas importantes en los recuentos de hpg.

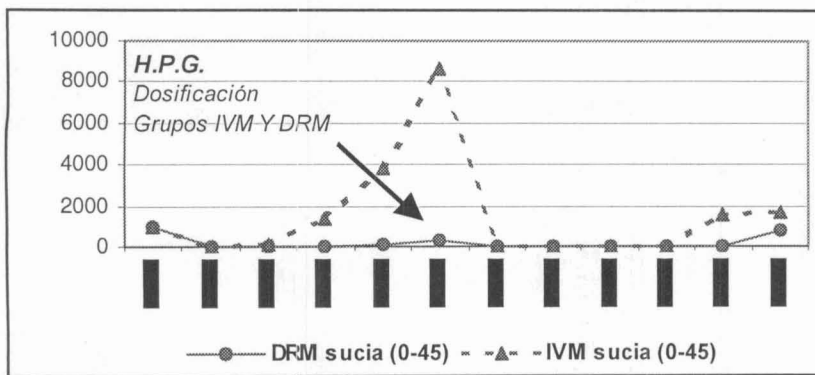
La Gráfica 4 muestra la evolución de la parasitosis de DRM e IVM "0" sobre pasturas sucias. El comportamiento de ambos grupos muestra una tendencia similar al de la Gráfica 2, pero con valores sensiblemente más altos. A tal punto esto último, que la dosificación de salvataje, al grupo IVM se realizó sobre una media geométrica de 8.986 hpg (aritmética de 12.269 hpg), lo que determinó la muerte de 2 corderos.

En la Gráfica 5 observamos la evolución de los HPG para el grupo DRM, con recuentos bajos hasta el final del ensayo. Esto coincide con el grupo DRM segura "0-45", lo que en definitiva está indicando que independientemente de la pastura, la segunda dosificación con DRM a los 45 días, permitió mantenerse con bajo riesgo parasitario durante los 3 meses posteriores al destete. Por otro lado el grupo IVM muestra un alza importante en el muestreo del 5/3, que coincide con la fecha planificada de dosificación. Esta dosificación en el grupo IVM segura "0-45", permitió continuar el ensayo con valores bajos de hpg.

De la misma manera, que los picos del HPG, fueron comparables entre los grupos DRM e IVM sobre pasturas seguras o sucias "0" (Gráficas 2 y 4), las Gráficas 5 y 3 (DRM e IVM "0-45" sobre pasturas seguras o sucias), son en todo comparables. La evolución de los HPG fue mayor en la pastura sucia que en la segura. Es en ese sentido, que el grupo IVM sucia "0" tiene diferencias estadísticamente significativas con los 4 grupos de pastura segura; con DRM segura "0"  $p=0.001$ , con DRM segura "0-45"  $p=0.002$ , con IVM segura "0"  $p=0.019$  y con IVM segura "0-45"  $p=0.002$ . No obstante esto, diferencias estadísticamente significativas se dieron cuando comparamos agrupados los tratamientos DRM e IVM independientemente del tipo de pastura (Cuadro 2). Cabe



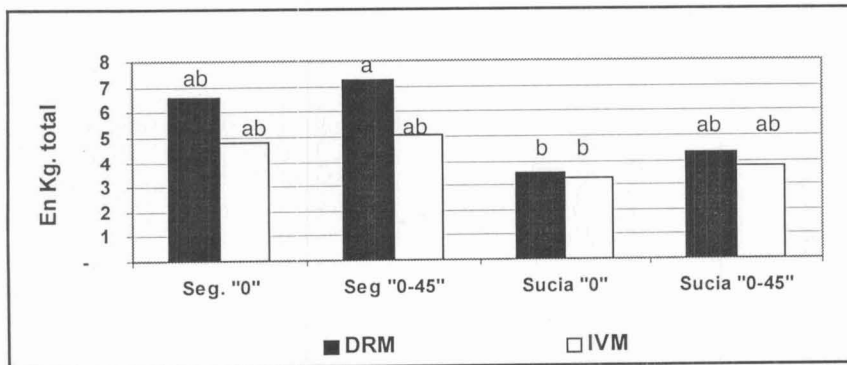
Gráfica 4. Evolución de la media geométrica de los recuentos de HPG para DRM e IVM sucias "0".



Gráfica 5. Evolución de la media geométrica de los conteos de HPG para DRM e IVM sucias "0-45".

Cuadro 2. Nivel de significación (P = probabilidad), entre todos los grupos DRM contra todos los grupos IVM, según fecha de muestreo.-

	11/2	18/2	25/2	5/3	11/3	17/3	23/3	31/3	7/4	27/4
P	.0001	.0001	.0001	.0001	.0001	.0015	.0088	.0001	.0001	.1714



Gráfica 6. Ganancia de peso en todo el período de duración del ensayo. Letras diferentes sobre la columna indica diferencias significativas ( $p = \text{ó} > a$  0.05).

mencionar que a pesar de que en el grupo IVM sucia "0-45" en el muestreo del 5/3 había 2 corderos con más de 30.000 HPG la dosificación realizada evitó muertes.

Los cultivos de larvas mostraron al género *Haemonchus* spp, como el más prevalente durante todo el transcurso del ensayo. *Trichostrongylus* spp lo fue en segundo lugar, pero cuando se dieron alzas importantes de HPG (Ej. 5/3), *Haemonchus* spp representaba más del 90% de las LIII identificadas en los cultivos.

El análisis de las diferencias de los pesos vivos merece un cuidado especial ya que las dosificaciones de salvataje realizadas, interfirieron sobre este parámetro productivo. Por otro lado el hecho de que los grupos se balancearan en primer lugar por hpg y en segundo lugar por peso vivo, determinó que los grupos al comienzo fueran similares pero no idénticos. Por esto resulta más adecuado estudiar la ganancia de peso que comparar los pesos en cada uno de los muestreos.

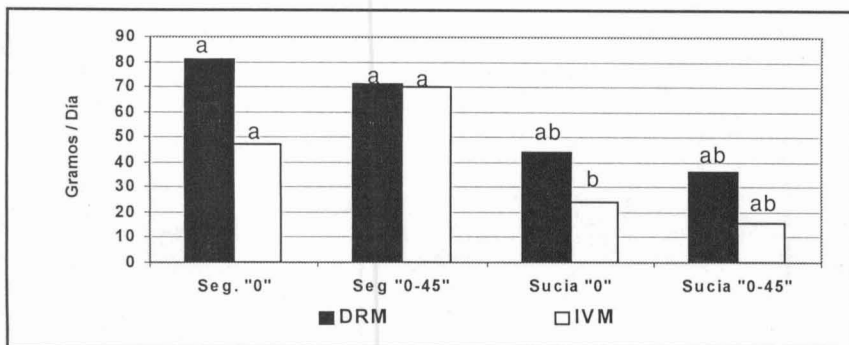
Las únicas diferencias estadísticamente significativas que aparecen cuando consideramos todo el período, son entre el grupo DRM segura "0-45" y los grupos DRM e IVM sucia "0" ( $p=0.012$  y  $p=0.006$  respectivamente), lo que de alguna manera está indicando una mayor influencia de la pastura que de la parasitosis (Gráfica 6).

Por otro lado el período que no fue influido por las dosificaciones de salvataje (18/1 al 5/3) es analizado en la Gráfica 7, donde se ve que el grupo que mantuvo diferencias estadísticamente significativas, fue el IVM sucia "0" con todos los grupos sobre pasturas seguras.

Los niveles de significación entre el grupo IVM sucia "0" y los grupos DRM segura "0", DRM segura "0-45", IVM segura "0" e IVM segura "0-45" fueron  $p=0.001$ ,  $p=0.002$ ,  $p=0.019$  y  $p=0.002$  respectivamente. Esto en definitiva está mostrando una interferencia entre tratamiento y pastura.

## CONCLUSIONES

La Doramectina aplicada como dosificación estratégica del destete, presentó un comportamiento que permitió mantener a los corderos con bajo desafío parasita-



Gráfica 7. Ganancia de peso en el período que va del 18/1 al 5/3. Letras diferentes sobre la columna indican diferencias significativas (p = ó > a 0.05).

rio por 2 meses ya sea en pasturas sucias como seguras.

La repetición de esta dosificación estratégica a los 45 días, permitió a los cordeos mantenerse con valores muy bajos de HPG hasta 3 meses.

El peso vivo fue mas afectado por la disponibilidad de la pastura que por la parasitosis.

#### Agradecimientos

al Dr. Andrés Gil por el asesoramiento estadístico.

#### Referencias bibliográficas

1. Castro, E. y Trenchi, H. (1954). Fauna parasitológica comprobada en el Uruguay Laboratorio de biología animal "M.C.Rubino" 84 pp
2. Nari, A.; Cardozo, H.; Berdie, J.; Canabez, F. y Bawden R. 1977a. Dinámica de población para nematodos gastrointestinales para ovinos en el Uruguay. Veterinaria 14 (66).
3. Castells, D.; Nari, A.; Rizzo, E.; Marmol, E. y Acosta, D.(1995). Efecto de los nematodos gastrointestinales sobre diversos parámetros productivos del ovino en la etapa de recría. Año II 1991. Producción ovina 8 17-32.
4. Castells, D., Nari, A., Rizzo, E. y Marmol, E. 1997. Efecto de los nematodos gastrointestinales en la etapa de recría sobre el desempeño productivo posterior. Producción ovina (10) - .
5. Nari A y Cardozo H. 1987. Enfermedades causadas por parásitos internos Nematodos gastrointestinales. *In:* Bonino, Durán del Campo y Mari. Enfermedades de los lanares Tomo 1 Ed. Hemisferio Sur.
6. Goudie, A.C., Evans, N.A., Gratton, K.A.F., Bishop, B.F., Gipson, S.P *et al.* (1993). Doramectin - a potent novel endectocide. Veterinary parasitology 49 95-105.



## Leptospirosis aguda en canino: descripción de un caso clínico

Berretta, C.D.<sup>1</sup> y Martino, P.<sup>2</sup>

### RESUMEN

Se describe un caso clínico de leptospirosis aguda de un canino macho de tres años de edad de raza Shih Tzu. Se presenta la sintomatología, exámenes complementarios que incluyen radiografía, ecografía, análisis de orina, hemograma, bioquímica sanguínea y serología. La misma dio títulos positivos de las serovariantes canícola, icterohaemorrhagiae y tarasovi. Se incluyen datos de necropsia y la confirmación histopatológica.

**Palabras clave:** canino, macho, leptospirosis.

### SUMMARY

A clinic case of acute leptospirosis in a three year old male canine, Shih Tzu breed, is described. Enclosed are the symptoms and complementary exams which include: radiography, ecography, urine analysis, hemogramme, biochemical blood tests and serology, which gave positive results of serovariants canine, icterohaemorrhagiae and tarasovi. Also enclosed are the necropsy data and the histopathological confirmation.

**Keywords:** male, canine, leptospirosis.

### INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es una enfermedad causada por la infección de serovariantes antigénicamente diferentes de la espiroqueta móvil *Leptospira interrogans*. La *L. icterohaemorrhagiae* y *L. canicola* son las serovariantes más comunes en perros con leptospirosis (1). Puede transmitirse en forma directa mediante contacto estrecho a través de las mucosas, la excreción es más común en la orina. La transmisión indirecta ocurre mediante exposición de un animal susceptible en un ambiente contaminado, en especial agua estancada (7).

Los microorganismos se multiplican con rapidez y producen daños en muchos órganos; se produce colonización renal en la mayoría de los infectados y pueden persistir en las células epiteliales tubulares. Puede presentarse disfunción circulatoria como de la coagulación intravascular diseminada (1).

**Sintomatología:** los signos dependen de la edad e inmunidad del huésped y de la virulencia de la serovariante infectante.

Las infecciones hiperagudas producen leptospiremia masiva, shock y muerte. Las infecciones agudas se manifiestan con fiebre, anorexia, vómito, deshidratación, polidipsia y renuencia al movimiento. El deterioro progresivo de la función renal se ve reflejado en oliguria o anuria. La ictericia es común en algunos casos. La

mayoría de las leptospirosis en los perros son crónicas o subclínicas (1) (6).

**Hallazgos de laboratorio:** las alteraciones hemáticas incluyen: leucocitosis y trombocitopenia. El N.U.S. y la creatinina aumentan en la falla renal; el daño hepático se demuestra por aumento de transaminasas y bilirrubinuria. La prueba de aglutinación microscópica es el examen serológico standard. El examen serológico utilizado fue la prueba seroespecífica MAT (test de microaglutinación), de referencia internacional (9). A menudo es necesario demostrar un incremento cuádruple en el título para la confirmación serológica; pueden necesitarse dos o tres muestras a intervalos de dos a cuatro semanas.

La orina se usa para el examen de campo oscuro (7).

**Necropsia:** los perros con muerte aguda incluyen ictericia, petequias en diferentes órganos y tumefacción difusa de pulmón, hígado y riñón.

La nefritis intersticial difusa (N.I.D.) es una lesión que se ve en animales jóvenes y es una complicación de una infección sistémica; ambos riñones están alterados, indicando que el agente es de origen hematogeno. La causa más corriente de N.I.D. está en la infección de *L. canicola*. El riñón suele estar algo agrandado de tamaño, la cápsula se desprende con facilidad. La superficie de corte de la corteza muestra un moteado rojizo grisáceo

debida a zonas de infiltración celular densas.

En la leptospirosis aguda hay cambios degenerativos graves en el epitelio de los tubulos contorneados que pueden alcanzar extensión suficiente como para causar la muerte por uremia aguda (3).

La ictericia es debida a superproducción de la bilirrubina por hemólisis y dificultad en la eliminación de la bilirrubina conjugada. La ictericia hemolítica es originada por excesiva hemólisis intravascular o intrafagocítica con una producción de bilirrubina que excede la capacidad del hígado para conjugarla y eliminarla. Esta ictericia es generalmente moderada y enmascarada por la anemia que en general casi siempre la acompaña (4).

La lesión hepatocelular se puede dar por tres mecanismos. El mismo agente puede provocar la hemólisis y la lesión hepática, es el caso de las infecciones leptospirósicas. En segundo lugar la misma anemia es responsable de la necrosis zonal del hígado. En tercer lugar la bilirrubina tiene toxicidad potencial por acumulación de pigmentos biliares en los hepatocitos. La acumulación de bilirrubina no conjugada en la célula hepática actúa como una toxina mitocondrial (4).

### HISTORIA CLÍNICA

**Reseña:** Viene a consulta un canino de raza Shih Tzu, macho de tres años. El motivo de consulta es que presenta ano-

Recibido: 03/04/00 Aprobado: 10/09/01

1: Ejercicio liberal, Caldas 1613, Montevideo, Uruguay.

2: Laboratorio de Análisis Clínicos, Facultad de Veterinaria.

rexia, decaimiento, vómitos, tiende a permanecer echado, se cansa al caminar y presenta episodios de incontinencia. El animal fue inmunizado de cachorro y revacunado anualmente (la última dosis la recibió hace nueve meses), convive con dos gatos en un apartamento y sale diariamente a la calle.

### EXAMEN CLÍNICO GENERAL

**Día uno:** La frecuencia cardíaca (F.C.): presenta hipertermia de 39,3°C, 140 ppm, sensorio deprimido, elasticidad de pliegue cutáneo normal, mucosas aparentes y ganglios linfáticos normales. Tien- de a permanecer echado, se resiste al movimiento, tiene episodios de incontinencia urinaria con dolor durante la micción, y la orina es de color oscuro. No defeca desde 48 horas.

### EXAMEN CLÍNICO PARTICULAR

En el se presenta abdomen tenso con resistencia a la palpación, dolor abdominal difuso y sensibilidad importante a nivel renal. Se solicitan exámenes complementarios: radiografía y ecografía de abdomen, examen de orina y sangre.

**Día dos:** presenta 38,7°C, continúa con anorexia, depresión del sensorio, tendencia a la inmovilidad y permanecer echado, dolor abdominal, presentando ahora las mucosas pálidas blanquecinas y facilidad para la fatiga, sin presentar disnea. La materia fecal es de color marrón anaranjado.

**Día tres:** presenta 38,3°C, muy deprimido, se fatiga con facilidad y se resiste al movimiento, mucosas muy pálidas, FC: 160 ppm.

**Día cuatro:** presenta 37,5°C, gran depresión, disnea, mucosas cianóticas, pulso débil, shock y muerte.

### EXÁMENES COMPLEMENTARIOS

Se realiza radiografía de tórax y abdomen en incidencia latero lateral y ecografía de abdomen. En la radiografía se aprecia hipertrofia prostática, vejiga distendida, riñones de tamaño normal, coprostasis a nivel de colon, cavidad gástrica algo distendida con gas. A nivel de tórax se aprecia silueta cardíaca globulosa con desplazamiento de la traquea hacia dorsal.

**Ecografía:** se observa hipertrofia prostática sin alteraciones del parénquima, con ecogenicidad algo aumentada. Contenido vesical con arenillas hiperecoicas.

**Hígado:** se observa ligera hiperecogenicidad de las paredes vasculares, y con aparente aumento de su diámetro.

**Ecocardiograma:** se observa aumento de la frecuencia cardíaca.

**Serología:** Prueba de Microaglutinación positiva +, con títulos 1/100 a:

*L. canicola*

*L. icterohaemorrhagiae*

*L. tarasovi*

**Necropsia:** presencia de ictericia generalizada a nivel del tejido celular subcutáneo, masas musculares y cavidades corporales.

**En cavidad abdominal:** hepatomegalia leve, hígado congestivo, mucosa intestinal con petequias generalizadas.

**En tórax:** pulmones congestivos, cardiomegalia, ictericia.

**Histopatología:** se realizan cortes histopatológicos de riñón, hígado y pulmón.

Pulmón: zonas con depósitos de fibrina, infiltrado leucocitario y hematopoyesis.

Análisis De Orina		
	Valores	Valores Normales
Color:	Amarillo pardo (Vogel 4)	Amarillo claro
Aspecto:	Turbio	Límpido
Densidad:	1030	1015 – 1045
PH:	6	5 – 7
Glucosa:	No	No
Cetonas:	No	No
Bilirrubina:	+	No
Urobilinogeno:	+	No
Sangre:	No	No
Hemoglobina:	No	No
Proteínas:	300 mg/dl +++	No
Sedimento: Abundantes espermatozoides y cristales de urato. Regular cantidad de piocitos y cilindros granulosos.		

Hemograma		
	Valores	Valores Normales
Eritrocitos:	1.520.000	5.200.000 – 6.570.000
Hematocrito:	10%	37 – 55%
Hemoglobina:	2,32 g/dl	12,7 – 16,3 g/dl
Leucocitos:	132000ul (corregidos)	6000 – 17000ul
Neutrófilos:	78%	60 – 77%
Eosinófilos:	1%	2 – 10%
Basófilos:	0%	0%
Monocitos:	1%	2 – 10%
Linfocitos:	20%	12 – 30%
Plaquetas	251000/mm <sup>3</sup>	180000 – 550000
Clasificación: ambiente lleno de elementos nucleados, tanto maduros como inmaduros. En la serie roja anisocitosis, poiquilocitosis, policromasia y siete glóbulos rojos nucleados por cada cien leucocitos. Anemia regenerativa por policromasia y macrocitosis. Leucocitosis con neutrofilia.		

### Bioquímica Sanguínea

	Valores	Valores Normales
Bilirrubina Total:	0,68 mg/dl	0,1 – 0,6 mg/dl
Bilirrubina Directa:	0,4 mg/dl	0,07 – 0,42 mg/dl
Bilirrubina Indirecta:	0,28 mg/dl	0,03 – 0,18 mg/dl
ALT o GPT:	662 UI/L	15 – 70 UI/L
AST o GOT:	477 UI/L	13 – 93 UI/L
GGT:	28 UI/L	1,8 – 12 UI/L
Urea:	67,4 mg/dl	10 – 23 mg/dl
Creatinina:	2,06 mg/dl	0,5 – 1,6 mg/dl

**Hígado:** focos de necrosis, desorganización trabecular, edema en sinusoides y siderosis.

**Riñón:** glomerulonefritis intersticial.

**Informe histopatológico:** éstas lesiones son compatibles con infección por leptospirosis, posiblemente *L. icterohaemorrhagiae*.

### TRATAMIENTO

El tratamiento depende de la gravedad del caso y de la presencia de disfunción renal o hepática. En este caso se infunden soluciones cristaloides en dosis elevadas para superar el estado de shock y la deshidratación; suero ringer lactato 60 ml/kg I/V, solución de dextrosa al 5%, 30 ml/kg I/V, dexametasona fosfato disódico 2 mg/kg I/V, Bencil Penicilina Procaínica= 40.000 UI (kg) 24 hrs. i/m, vitaminas del complejo B hidrosolubles, B12: 15 mcg. clorhidrato de tiamina 10 mg y riboflavina 4 mg. La penicilina es de elección porque es eficiente y no está contraindicada en la falla renal. La estreptomina y tetraciclinas se recomiendan para infecciones agudas. La dihidroestreptomina en dosis elevadas se recomienda para eliminar la etapa de portador y excretor.

### DISCUSIÓN

Los casos de anemia hemolítica por leptospirosis hiperaguda o aguda, se pueden sospechar con los resultados obtenidos por el análisis de orina: bilirrubina y cilindros gránulos que se forman por degeneración de las células tubulares renales y son indicativos de nefritis, por el hemograma y la serología.

La presencia en orina de bilirrubina o hemoglobina, el aumento del urobilinógeno en orina y heces, los signos de aumento de la actividad medular (anemia regenerativa), y la ictericia generalizada son indicios de una enfermedad sistémica.

Además, la anemia de respuesta se indica por el aumento de los leucocitos y desviación a la izquierda, aumento de reticulocitos presentes en la circulación periférica, policromatofilia y disminución de recuento del número de plaquetas (5).

El aumento de la bilirrubina y de la GPT explica la ictericia generalizada, se confirma el daño hepático por la histopatología.

Los valores de urea y creatinina confirman la gravedad del daño renal y la histopatología, la glomerulonefritis.

La serología nos permite determinar las serovariantes y los títulos de microaglutinación.

La inmunidad postvacinal con bacterinas inactivadas de *L. canicola* y *L. icterohaemorrhagiae*, no alcanzan el lapso de un año, siendo conveniente la revacunación cada seis meses. No existe inmunidad cruzada entre los diferentes serotipos, por lo tanto no hay protección contra las otras variantes como *L. tarasovi*.

### CONCLUSIONES

Si bien desde el punto de vista del diagnóstico etiológico lo ideal hubiera sido hacer pruebas más específicas como sería el test de Elisa para la determinación de anticuerpos IgG, IgM de leptospira, en nuestro medio con lo que se cuenta en la práctica es con el test de Microaglutinación y la observación directa.

El test de Elisa es más seroespecífico que el M.A.T. para determinar infección (2), pues utilizando una combinación de mediciones de IgG e IgM, el Elisa nos permite distinguir entre una infección natural y la inmunidad inducida por vacunación.

Los datos obtenidos de la hematología, uroanálisis, bioquímica sanguínea, necropsia e histopatología coinciden con un cuadro inflamatorio hiperagudo debido probablemente a leptospira.

Recomendamos la vacunación y revacunación cada seis meses contra leptospira y mejorar los métodos, diagnósticos.

### Agradecimientos

A la Dra. Analía Cobo por el diagnóstico serológico; al Dr. Scarsi y al Dr. Inocente de la cátedra de Patología de la Facultad de Veterinaria por el diagnóstico histopatológico; a la Dra. Margarita Durán de Radiografía y Ecografía Veterinaria por el diagnóstico de imágenes.

## Referencias bibliográficas

1. **Greene, C.** 1997. Enfermedades Bacterianas Leptospirosis, in Ettinger, S. Tratado de Medicina Interna Veterinaria 4ta. Edición, Ed. Inter médica, Buenos Aires, Argentina, 456-457.
2. **Greene, C.** 1990. Infectious Diseases of the Dog and Cat, W. B. Sanders Company, 498-507.
3. **Jubb Kennedy.** 1969. Patología de los Animales Domésticos. 2da. Edición. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo. Uruguay. Tomo Segundo, 364-365.
4. **Jubb Kennedy .** 1969. Patología de los Animales Domésticos. 2da. Edición. Ed. Hemisferio Sur. Montevideo. Uruguay. Tomo Segundo, 299-300.
5. **Kirk, R. – Bistner, S.** 1984. Manual de Urgencias en Veterinaria. 2da. Edición. Ed. Salvat. Barcelona. España, 583-589.
6. **Merck.** 1988. El Manual Merck de Veterinaria. 3ª. Edición. Merck & Co. INC. Rahway, NJ, USA, 437-439.
7. **OPS /OMS.** 1985. Leptospirosis. Manual de Métodos para el Diagnostico de Laboratorio. Nota técnica No. 30. Cepanzo/OPSD.
8. **Prescott, J.** 1991. Treatment of Leptospirosis. Cornell Vet 81, 7-12..
9. **World Health Organization.** 1982. Guidelines for the control of Leptospirosis. Publication (No.67), 62.



## *Homenaje al Dr. Rúben Lombardo por su continua dedicación y destacada contribución a la profesión*

El 16.11.1996 falleció en Montevideo, luego de sufrir las alternativas de prolongada y dolorosa enfermedad, el Dr. Rúben Lombardo; al cumplirse cinco años de tan sentida desaparición, hemos creído impostergable trazar una imagen de quien fuera, uno de los profesionales veterinarios más destacados de las últimas décadas.

Entendemos que su actuación universitaria, docente y profesional, así como su amor a la profesión, no han sido debidamente valorados, habiendo contribuido seguramente a ello, su larga actuación - 23 años - realizada en el exterior.

Lombardo había nacido en Colonia en 1920, habiendo cursado primaria en Juan Lacaze y secundaria en Nueva Helvecia.

El hecho de ser hijo de un productor lechero le permitió desde niño adquirir los primeros conocimientos en la materia y también profesar ese cariño que es habitual en ese tipo de explotación, entre el animal y el hombre.

No puede entonces extrañar que, a efectos de aumentar y tecnificar sus conocimientos y dar vuelo a su incipiente vocación, se haya inscripto en la Facultad de Veterinaria en 1941, de donde el 2.6.1947 lograra el título de veterinario, haciendo constar las autoridades del Consejo que « su pasaje por las aulas fue brillante, habiendo obtenido una escolaridad general aproximada a muy bueno por unanimidad.»

Su paso por la Facultad no solo se destacó por su escolaridad, sino también por su actuación gremial, no estando ajeno a los problemas estudiantiles y actuando además en Claustros, organizaciones de viajes de estudio etc.

Su actividad docente se inicia antes de doctorarse; en efecto, el transcurso de sus años juveniles en aquel medio rural al lado de su padre, le fueron dando el conocimiento necesario para advertir

defectos y virtudes en los animales y ya en 1943 actúa como secretario del jurado de Holando y poco después y - durante 15 años seguidos - generalmente con el colega Ariel Arsuaga como secretario, juran en el interior del país, el Prado y trascendiendo sus conocimientos, en las exposiciones internacionales de Palermo, Porto Alegre y San Pablo.

Su gran versatilidad de conocimientos le permite jurar también Aberdeen Angus y Lincoln.

Tiene enorme facilidad para transmitir conocimientos, lo cual es reconocido por el Decano Dr. H. Heguito cuando en el Consejo Directivo expresa que «el Dr Lombardo demuestra muy estimables condiciones pedagógicas, facilidad de expresión y exposición y conocimientos profundos .

En usufructo de esa característica ingresa a la docencia, como Asistente honorario de Zootecnia General en 1948; por unanimidad de votos del Consejo es nominado Prof. Agregado de Perfeccionamiento Pecuario - 1949 a 1955 - y Prof. Titular de la misma desde 1955 a 1961.

Es así mismo Prof. libre de Zootecnia General en la Fac. de Agronomía de Montevideo.

Su actividad no conoce límites y a partir de 1950 se hace cargo del establecimiento agrícola-ganadero de su padre en Río Negro, lo que le permite profundizar sus conocimientos en materia de producción de carne y compartir tecnología y pragmatismo, elementos tan necesarios y frecuentemente tan ausentes en los docentes.

En 1948 ingresa a la Dirección de Ganadería - D. de G.- Sección Fomento Ganadero y en 1952 asciende a Jefe de Servicio encargado de Clasificación y Tipificación de carne Desde ese cargo, con amplia visión teórica y práctica de la producción, cuyo cuello de botella es el bajo porcentaje de extracción y la eleva-

da edad de faena de los novillos, estudia y proyecta cambios radicales en cuanto a crianza, tipificación de carnes y precios según dentición etc.

En colaboración con los colegas Daoiz Sanz, Anibal Surraco y Mario Lusiardo incursiona repetidas veces en congresos, jornadas y conferencias; estudia el crecimiento del feto, recomendando la necesidad de alimentar bien los vientres especialmente en los últimos meses de gestación.

Pregona por un sistema de precios base según calidad, que aliente al productor a producir mejor, logrando su objetivo mediante un Decreto que estimula el precio de los novillos según gordura, rendimiento y dentición, quedando establecida así por primera vez en el país, el sistema de tipificación de carne.

En 1949, en ocasión de realizarse el Primer Congreso sudamericano de investigadores en materia agronómica, con Surraco y Lusiardo, proponen - aprobada por el Congreso - que se implante la clasificación y tipificación de carne y se intensifiquen los estudios tendientes a resolver el problema alimenticio.

En este último rubro, desde la Sección Fomento Ganadero, Lombardo remite al Ministerio de Ganadería y Agricultura - MGA - un proyecto de subsidio a la pradera, base fundamental para el aumento del procreo, sobre la base de la entrega sin cargo, de fertilizante por ternero/a nacida, proyecto que es aprobado rigiendo - lamentablemente - muy poco tiempo.

No cabe duda alguna que Lombardo con sus intervenciones, proyectos y conferencias, dinamizó notablemente el sector productivo de la carne, modificando viejos esquemas de crianza, promoviendo precios más justos según dentición - remuneración más alta por novillos jóvenes y aportando soluciones al bajo procreo.

En la década del 50, es contratado por Conaprole para ejercer el cargo de Director de la Sección Higiene y Fomento de la Producción, labor que cumple durante varios años y que lo retrotrae a sus años juveniles de Colonia.

Lombardo es ya un hombre de consulta y excelente extensionista ; en 1951, la Facultad de Veterinaria le confía la misión de acompañar a la calificada delegación uruguaya que en misión de observación y estudio concurren durante dos meses a Nueva Zelanda y Australia, países líderes en cuanto a producción de carne, lana y leche.

A su vuelta dicta conferencias sobre el viaje y alienta a los productores lecheros a realizar mejoras en el manejo y nutrición de sus ganados.

En 1957, el Consejo de la Facultad de Veterinaria lo requiera junto a los colegas A. Arsuaga, R. Casas Olascoaga y L. Echenique, a efectos de determinar el costo de producción del litro de leche, lo que determinó un largo y meticuloso estudio que durante años se constituyó en elemento base para que la Comisión Honoraria de la Leche, estableciera el precio de la misma.

En 1958 un grupo de colegas proponen a Lombardo como candidato a Decano y el Claustro luego de extenso debate, con el voto unánime del sector estudiantil logra - por un voto de diferencia - se recomiende al Consejo su designación como tal, lo cual es confirmado por unanimidad de ese Cuerpo. que lo designa hasta Junio 1962

El 28.6.1958 Lombardo se hace cargo del Decanato, constituyéndose en uno de los mas joven profesionales que han ocupado esa jerarquía.

Lamentablemente, en 1959 la nueva Ley Orgánica de la Universidad, modifica el sistema electoral y solo dos o tres Decanos - Lombardo entre ellos - renuncian estimando que tan alto cargo debe nuevamente ser disputado según la nueva reglamentación.

A pesar de hacersele notar que el nuevo mapa político ha variado y que ya no tiene los votos necesarios - lo cual ya es de su conocimiento - se postula nuevamente y en esta circunstancia pierde la elección por un voto.

Este hermoso ejemplo de idealismo universitario y culto a la ética más estricta, no fue nunca resaltado y ha pasado desapercibido por las nuevas generaciones de colegas. De cualquier manera Lombardo continúa su labor docente en la Facultad.

En 1960 - conjuntamente con el Dr. Arturo Lezama - es designado por el Poder Ejecutivo para asistir a la reunión que el Comité permanente de Fiebre Aftosa y la OIE llevarían a cabo en París entre el 3 y 9 de Mayo .

En su nota al nuevo Decano Dr. León C. Aragunde, solicitando la licencia correspondiente, vuelve Lombardo a demostrar su don de responsabilidad cuando « se compromete a compensar con clases extraordinarias las pérdidas por la licencia solicitada».

Algunos meses mas tarde el Consejo de la Facultad lo faculta a concurrir a Estados Unidos al frente de una delegación de productores de Conaprole que durante 45 días visitan numerosos tambos y centros industriales.

En la D. de G., en 1960 ha sido promovido a Director, asesor del MGA y representante del mismo en la primera Directiva del Plan Agropecuario, así como también - en representación de la Universidad - en el primer Directorio de la Caja de Jubilaciones Profesionales.

Su actuación como docente y profesional ha trascendido y es entonces contratado en 1963 por el CPFA con sede en Río de Janeiro, que dirige el Dr. Casas Olascoaga; ocupando el cargo de Jefe de Asistencia Técnica hasta 1969.

De su actuación en CPFA el Dr. Casas Olascoaga escribió : «Ejerció las funciones de Jefe de Campo; dinámico, comunicador, con visión panorámica de los problemas sanitarios y su relación económica y productiva. Extraordinaria facilidad y destreza en las relaciones públicas, fue gran propulsor de la cooperación del BID a los programas de Salud Animal en América del Sur».

Vuelve a Uruguay y retoma su cargo en la Dirección de Ganadería y meses después es contratado como Jefe de Asistencia Técnica del Centro Panamericano de Zoonosis, con sede en Buenos Aires,

cargo que desempeña durante 11 años, hasta 1980.

Días después, el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura - IICA - lo contrata como especialista en Salud Animal para el área Sur de América, donde permanece hasta 1986, año en que se acoge a la jubilación, radicándose definitivamente en Montevideo y Piriápolis.

Lombardo no es hombre de permanecer inactivo y antes de abandonar Buenos Aires, ha aceptado presidir honorariamente el Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias en Castelar, dependiente del INTA, a cuyas reuniones concurre desde Montevideo cada mes. Semanas antes de su fallecimiento, dicha Centro obtiene el premio que la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria concede al Centro mas destacado del año. Dicho galardón debía haber sido recibido por el Dr. Lombardo, días antes de su fallecimiento.

Su actuación en el exterior ha sido imposible de seguir dado que prácticamente no ha dejado currículum actualizado, ni copias de sus numerosas conferencias pronunciadas en Sud América. Sabemos sí, que intervino activamente en reuniones interamericanas a nivel de Ministros, que promocionó y tuvo incidencia muy importante en proyectos presentados al BID para el financiamiento de la lucha en América contra Aftosa, Brucelosis, Tuberculosis, Rabia etc.

Entre sus múltiples conferencias, destacamos la ofrecida en Córdoba, patrocinada por el Consejo de Decanos de Veterinaria, sobre «Enseñanza de la Salud Pública en Veterinaria» y la ofrecida en Noviembre 1991 en el X Congreso Latinoamericano de Parasitología sobre « Programa de lucha contra las principales parasitosis zoonóticas en América Latina».

Ya en Uruguay, en Noviembre 1992, a solicitud de las autoridades de las Facultades de Agronomía y Veterinaria, elevó un detallado informe sobre « Proyecto de Desarrollo Institucional para las Facultades de Agronomía y Veterinaria », que seguramente deberá ser tenido en cuenta en momentos que la Universidad de la República se disponga a encarar

---

seriamente problema tan añejo como necesario.

Hemos pretendido reseñar una historia docente y profesional de mas de 50 años, llevados a cabo con una intensidad poco común en América .

Mas allá de su actuación profesional, rescatamos del Dr. Rúben Lombardo, su profundo amor por la profesión, su hombría de bien, su ética ejemplar, su afán indeclinable de hacer, su pragmatismo ante la realidad y su espíritu avasallador

que no admitía pérdida injustificada del tiempo y que más de una vez fuera motivo de disgusto y distanciamiento con colegas.

*Dr. Anibal Durán del Campo*



## Jornada técnica de veterinarios higienistas en Buenos Aires

El 3 de agosto de 2001 tuvo lugar en el salón de actos de SENASA en Buenos Aires, una Jornada Técnica que reunió veterinarios higienistas de Argentina, Brasil y Uruguay con el presidente de la Unión de Veterinarios Higienistas (UEVH) Dr. Manuel Abreu Dias.

El evento contó con numerosa participación de autoridades y técnicos de SENASA.

El técnico europeo disertó sobre el Libro Blanco de Seguridad en Alimentos, el que trata temas como la BSE (vaca loca), dioxinas entre otros. También informó sobre el nuevo Reglamento de Inspección de Carnes de la Unión Europea, a aprobarse para enero de 2002, el que sustituirá a la directiva 72/462/CEE y a las 16 directivas satélites.

Comentó las nuevas modificaciones introducidas el rotulado de alimentos que contienen datos de uso obligatorio, "esto es porque la trazabilidad no estará completa hasta el 2002.

El Dr. Abreu, a modo de ejemplo, destacó que dentro del nuevo rotulado para los casos de establecimientos ciclo II (dedicados al depostado de la carne), debe figurar en el envase el rótulo correspondiente a la planta donde se realizó la faena de los animales.

El presidente de UEVH desarrolló el concepto de origen nacional de los ganados: éstos tiene una importancia fundamental en el sistema de trazabilidad. "El punto más débil del sistema de trazabilidad

es a nivel de la producción del ganado". Se entra en una zona gris en el concepto de origen nacional cuando, por ejemplo, frigoríficos franceses adquieren animales en Alemania y lo faenan en territorio francés.

Expresó que el desafío que tienen los veterinarios higienistas de la Unión Europea es de que manera intervendrán en las decisiones que tome Bruselas sobre trazabilidad.

Indicó que la cantidad de veterinarios higienistas de la Unión Europea son aproximadamente 120.000; el 20% de ellos están federados a sus colegios; a su vez el 80% de los veterinarios higienistas pertenecen a los servicios oficiales.

### DEBATE

Culminada su disertación Abreu Días propició un debate entre los participantes. Durante el mismo, los técnicos argentinos dejaron en claro la importancia que tiene para su país la reapertura de exportaciones cárnicas con destino a la Unión Europea. Por su parte el técnico europeo manifestó que Europa se apoya en sus decisiones en la credibilidad que ofrecen los diferentes países.

Reconoció que dadas las notables diferencias en la cría de los animales en Europa con respecto a los países sudamericanos, no se podría aplicar el mismo sistema de trazabilidad europeo en los países de la región.

### MESA DE TRABAJO

Posteriormente al evento, se realizaron dos reuniones de trabajo donde participaron por la Asociación Argentina de Médicos Veterinarios Especialistas en Alimentos (AAMVEA), los Dres. Luis M. Forte (presidente) y Germán Suberbié; por la agrupación de Veterinarios Especialistas en Protección de Alimentos del Uruguay (AVEPA), el Dr. Hugo Martínez (delegado); por el Colegio Brasileño de Médicos Veterinarios Higienistas de Alimentos, la Dra. Nadia Días, en su carácter de presidente de dicho colegio y por la Unión Europea de Veterinarios Higienistas, el Dr. Manuel Abreu.

En el transcurso de las mismas el veterinario europeo ofreció realizar gestiones para que las tres organizaciones de veterinarios higienistas sudamericanas sean aceptadas como miembros observadores en el seno de la Unión Europea de Veterinarios Higienistas.

El Dr. Abreu informó que para ello es necesario presentar, ante la organización que él representa, una carta de intención antes del 20 de setiembre próximo.

Por su parte el Dr. Forte propuso la creación de la Federación de Veterinarios Higienistas del MERCOSUR. Cada delegado planteará la idea en sus respectivas asociaciones, llevando la resolución a la reunión que se llevará a cabo el próximo mes en Montevideo.





## 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 adjuntas 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 corresponsal (con quien comunicarse), 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 (Keywords) 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

sa 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) Paraqueratosis en suinos. Am.J.Vet.Res. 12(8):44-48.

En el caso de la cita de libros, se indicará Autores (Año) Título, n° de edición (salvo la 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: Comunicación personal. 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.