

# ANALECTA VETERINARIA



Publicación de la  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
*Volumen 30 n° 2 año 2010*



## Autoridades

### Decano

Méd.Vet. Eduardo Rafael Pons

### Vicedecano

Méd.Vet. Daniel Osvaldo Arias

### Secretario de Asuntos Estudiantiles

Méd.Vet. Fernando Pedro Marino

### Secretaria de Ciencia y Técnica

Dr. Adriana Massone

### Secretario de Extensión

Méd.Vet. Guillermo Broglia

### Secretario de Posgrado

Dr. Eduardo Carlos Mórtola

### Prosecretario Académico de

#### Gestión Curricular

Méd.Vet. César Augusto Savignone

### Prosecretario Académico de

#### Gestión en Enseñanza

Dr. Alejandro Palacios

### Prosecretario de Bienestar Estudiantil

Méd.Vet. Hernán Javier Figueredo

### Prosecretaria de Bienestar Estudiantil

Méd.Vet. María Eugenia Mangialavori

## ANALECTA VETERINARIA

### Director

Dr. Nestor Oscar Stanchi

### Editor Responsable

Dr. Eduardo Marotta

### Secretaría de Redacción

Dra. Yanina Corrada

Méd. Vet. Daniel O. Arias

### Comité Editorial

#### (Facultad de Ciencias Veterinarias)

Dra. Liliana Lagrecca

Dr. Eduardo Gimeno

Bact. Carlos Gómez

Dr. Florestán Maliandi

Dra. Pilar Peral García

Méd.Vet. Enrique Pennimpede

Dr. Carlos Perfumo



*Foto de tapa: Facultad de Veterinaria (Consejo Académico) Medios del siglo XX.*

La revista ANALECTA VETERINARIA es una publicación semestral de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos científicos en el campo de las Ciencias Veterinarias, generados en esta Unidad Académica y en otras instituciones. Asimismo, reflejará las actividades académicas de postgrado y de extensión que se desarrollan en esta Casa de Estudio.

The Journal ANALECTA VETERINARIA is a biannual publication of the College of Veterinary Sciences of the National University of La Plata, Argentina. It is dedicated to the diffusion of scientific reports in the field of the Veterinary Sciences, generated in this and in other institutions. Also, it will reflect the academic activities of graduate school and of extension that they are developed in this College.

#### ANALECTA

**Pronunciación:** «a-n&l-'ek-t&

**Etimología:** Latin Moderno *analecta*, del Griego *analekta*, plural neutro de *analektos*, verbo de *analegein* recolectar, de *ana-* + *legein* reunir: selección miscelánea de pasajes escritos, cartas.

ISSN 0365514-8 Versión Impresa

ISSN 1514-2590 Versión Electrónica

<http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html>

ISSN 1666295-4 Versión CD-ROM

Registro Propiedad Intelectual 77383

**Dirección postal:** CC 296 (B1900AVW)

La Plata, Buenos Aires, ARGENTINA

Las opiniones expresadas por los autores que contribuyen a esta revista no reflejan necesariamente las opiniones de este medio, ni de las entidades que la auspician o de las instituciones a que pertenecen los autores.

Queda prohibida la reproducción total o parcial por cualquier metodología del material impreso en esta revista sin el consentimiento expreso del Editor. Está autorizada la reproducción con fines académicos o docentes mencionando la fuente. El uso de nombres comerciales está destinado únicamente para la identificación y no implica el respaldo directo o indirecto de los Ministerios de la Nación Argentina ni de los países respectivos de donde provengan los trabajos. Tampoco se garantizan ni respaldan los productos promocionados en los avisos de publicidad.

### **Acceso Electrónico a ANALECTA VETERINARIA**

Si tiene acceso a INTERNET, puede recuperar la revista electrónicamente y en forma gratuita accediendo a la página en la Web

[www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html](http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html)

Los números de la revista a partir del Volumen 18 están disponibles en formato de archivo: pdf (Portable Document File-Adobe Acrobat Reader®) y pueden imprimirse en cualquier impresora que permita diferenciar escala de grises o colores. Se recomienda que la misma posea un resolución mínima de 600 x 600 dpi.

Para más información sobre cómo recibir ANALECTA VETERINARIA electrónicamente, enviar un e-mail a la dirección: [analecta@fcv.unlp.edu.ar](mailto:analecta@fcv.unlp.edu.ar)

### **Revisión de estilo:**

Per. Eleonora Rolleri

#### **Diseño**

Prof.Dr. Nestor Oscar Stanchi

#### **Diseño de Tapa**

Andrea López Osornio (DCV)

ANALECTA VETERINARIA está indizada en el Índice Latinoamericano de Revistas Científicas LATINDEX

([www.latindex.unam.mx](http://www.latindex.unam.mx)),

Ulrich's International Periodicals Directory

([www.ulrichsweb.com](http://www.ulrichsweb.com))

Zoological Records

([www.biosis.org.uk/products\\_services/zrss.html](http://www.biosis.org.uk/products_services/zrss.html))

BIOSIS (<http://www.biosis.org>)

Infocyt <http://www.redhucyt.oas.org/infocyt/>

Directory of Open Access Journals

<http://www.doaj.org/>

Se solicita canje - On demande l'échange - We ask for exchange - Si prega lo scambio  
Man bitter um austausch - Pedese permuta - Oni petas intersangon

**Citación de la versión electrónica:** La citación de los artículos aparecidos en la versión electrónica de ANALECTA VETERINARIA (VE) debería seguirse según el siguiente ejemplo:

Costa E.F. y col. Alteraciones en la diferenciación y proliferación celular cutánea en bovinos, inducidas por Hipervitaminosis D de origen vegetal. *Analecta vet* (VE) 1998; 18,1/2: 7-13 (7 pantallas). Recuperable de [www.fcv.unlp.edu.ar](http://www.fcv.unlp.edu.ar)

**Citación de la versión CD-ROM:** La citación de los artículos aparecidos en la versión en CD-ROM de ANALECTA VETERINARIA (CD-ROM) debería seguirse según el siguiente ejemplo:

Tittarelli C.M. y col. Efecto de las lluvias sobre la composición mineral de gramíneas y *Lotus glaber mill* del partido de Magdalena. *Analecta vet* (CD-ROM) 2001; 21, 1: 54-57 (4 pantallas).

### **Impresión**

### **Evaluadores de trabajos de**

#### **ANALECTA VETERINARIA**

ANALECTA VETERINARIA convoca para la evaluación de sus artículos a reconocidos profesionales con amplia trayectoria en las diferentes disciplinas que contemplan las Ciencias Veterinarias.

### **Todos los trabajos publicados en**

#### **ANALECTA VETERINARIA son sometidos**

#### **a revisores externos.**

El Editor se reserva el derecho de editar los artículos para clarificarlos y modificarles el formato para adecuarlos al estilo de ANALECTA VETERINARIA.

### **All articles published in**

#### **ANALECTA VETERINARIA**

#### **are submitted to external**

#### **scientific reviewers.**

The Editor reserves the right to edit articles for clarity and to modify the format to fit the publication style of ANALECTA VETERINARIA

### **Impreso en papel libre de ácido**

Printed in acid-free paper

Impreso en Argentina

Printed in Argentina



# ANALECTA VETERINARIA Vol 30 n° 1, 2010

## Artículos de Investigación/Research articles

- CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DE *Porichthys porosissimus* (PISCES: BATRACHOIDIFORMES) EN EL ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA, ARGENTINA.** HAEMATOLOGICAL FEATURES OF *Porichthys porosissimus* (PISCES: BATRACHOIDIFORMES) FROM THE BAHIA BLANCA ESTUARY, ARGENTINA. Galeano NA, Prat MI, Guagliardo SE, Schwerdt CB, Tanzola RD 5-11
- METODOLOGÍA DE CATETERISMO YUGULAR EN LECHONES DE DESTETE.** A METHOD FOR YUGULAR CATHETERIZATION IN WEANED PIGLETS. Soraci AL, Amanto F, Pérez DS, Martínez G, Dieguez SN, Vega G, Tapia MO 12-15
- EVALUACIÓN DEL USO DE CIPERMETRINA PARA EL CONTROL DE INSECTOS PREDADORES DE ALEVINES DE PECES EN CAVAS DE PRODUCCIÓN ACUÍCOLA.** EVALUATION OF THE USE OF CYPERMETHRIN IN THE CONTROL OF PREDATORY INSECTS OF ALEVINS IN AQUACULTURE PONDS. Plaul SE, García Romero N, Barbeito CG 16-21
- PROLACTIN AND THYROID HORMONES IN DOGS.** PROLACTINA Y HORMONAS TIROIDEAS EN CANINOS. Castillo V, Lalia J, Scodelaro C, Bellini MJ, Gobello C 22-24
- SENSIBILIDAD *IN VITRO* DE *Paenibacillus larvae* FRENTE A LOS ANTIBIÓTICOS OXITETRACICLINA, TILOSINA, TILMICOSINA Y LINCOMICINA.** *IN VITRO* SUSCEPTIBILITY OF *Paenibacillus larvae* AGAINST OXYTETRACYCLINE, TYLOSIN, TILMICOSIN AND LINCOMYCIN. Reynaldi FJ, Rule R, Arauz S, Alippi AM 25-29

## Comunicaciones breves/Short communications

- QUISTE DE INCLUSIÓN EPITELIAL CORNEAL EN UN CANINO.** CORNEAL EPITHELIAL INCLUSION CYST IN A DOG. Zapata GL 30-33
- EVIDENCIA SEROLÓGICA DE INFECCIÓN EN AVES COMERCIALES POR *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) EN LAS PROVINCIAS DE BUENOS AIRES Y ENTRE RÍOS (ARGENTINA).** SEROLOGICAL EVIDENCE OF INFECTION WITH *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) IN COMMERCIAL FLOCKS IN THE PROVINCES OF BUENOS AIRES AND ENTRE RIOS (ARGENTINA). Uriarte J, Corva S, Gornatti D, Origlia J, Pisco M, Cerda R, Herrero M, Marcantoni H, Unzaga MF, Marino F, Spinsantti E, Pecoraro M, Petruccelli M 34-36
- A MULTIDISCIPLINARY STUDY OF SWINE GASTROESOPHAGEAL ULCERS SYNDROME IN SLAUGHTER PIGS OF VENEZUELA.** ESTUDIO MULTIDISCIPLINARIO DE SÍNDROME GASTROESOFAGICO ULCEROSO SUINO EN MATADEROS EN VENEZUELA. Morales A, Bermúdez V, García F, Gomez M 37-38
- AISLAMIENTO DE PNEUMOCYSTIS CARINNI EN UNA COLONIA DE RATONES UTILIZANDO CENTINELAS DE LA CEPA CDA/XID.** ISOLATION OF PNEUMOCYSTIS CARINII IN A MICE COLONY BY USING CDA/XID STRAIN AS SENTINEL. Milocco S, Ayala M, Laborde J, Carriquiriborde M, Principi G, Maschi F, Cagliada P, Carbone C 38-41

## Revisiones/Review

- USO ESTRATÉGICO DE ADITIVOS: IMPACTO SOBRE EL EQUILIBRIO Y SALUD GASTROINTESTINAL DEL LECHÓN.** STRATEGIC USE OF ADDITIVES: IMPACT ON GASTRO-INTESTINAL EQUILIBRIUM -HEALTH IN PIGLETS. Soraci AL, Amanto F, Har-kes R, Pérez DS, Martínez G, Dieguez SN, Tapia MO 42-53

# ANALECTA VETERINARIA Vol 30 n° 2, 2010

## Artículos de Investigación/Research articles

**EVIDENCIA SEROLÓGICA DE INFECCIÓN POR METAPNEUMOVIRUS EN AVES COMERCIALES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES Y ENTRE RÍOS (ARGENTINA).** SEROLOGICAL EVIDENCE OF INFECTION WITH METAPNEUMOVIRUS IN COMMERCIAL FLOCKS IN THE PROVINCES OF BUENOS AIRES AND ENTRE RIOS (ARGENTINA). Uriarte J, Corva S, Origlia J, Gornatti D, Píscopo M, Cerda R, Herrero M, Marcantoni H, Unzaga MF, Spinsanti E, Marino F, Pecoraro M, Petruccelli M. 5-7

**EPIDEMIOLOGÍA Y OPINIÓN PÚBLICA DE LAS MORDEDURAS DE PERRO EN SAN MARTÍN DE LOS ANDES (NEUQUÉN).** EPIDEMIOLOGY AND PUBLIC OPINION OF THE DOG BITES IN SAN MARTIN DE LOS ANDES (NEUQUÉN). Brusoni C, Dezzotti A, Fernández Canigia J. 8-16

**CABRAS CRIOLLAS: INICIO REPRODUCTIVO Y PRODUCTIVIDAD EN LA ZONA DE LA PLATA.** CREOLE GOATS: REPRODUCTIVE AND PRODUCTIVE START TO LA PLATA ZONE. Muro MG, Lacchini RA, Cordiviola CA, Antonini AG. 17-21

**ESTUDIO SOBRE LA ENFERMEDAD DE TYZZER (*Clostridium piliforme*) EN DIFERENTES CEPAS DE RATAS Y RATONES DE LABORATORIO INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE.** STUDY ON TYZZER'S DISEASE (*Clostridium piliforme*) IN DIFFERENT LABORATORY RATS AND MICE STRAINS EXPERIMENTALLY INFECTED. Ayala M, Milocco S, Galosi C, Carbone C. 22-27

**VALIDACIÓN BIOLÓGICA DE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN A CAMPO DE PROGESTERONA FECAL EN EL GATO DOMÉSTICO (*Felis catus*).** BIOLOGICAL VALIDATION OF THE "IN FIELD" EXTRACTION METHOD FOR FECAL PROGESTERONE IN THE DOMESTIC CAT (*Felis catus*). Risso A, de la Sota PE, García P, Díaz J, Corrada Y, Blanco PG, Gobello C. 28-31

**TITULACIÓN DE ANTICUERPOS EN ESTURIONES VACUNADOS CONTRA *Streptococcus iniae*.** ANTIBODY TITER IN VACCINATED STURGERON AGAINST *Streptococcus iniae*. Cattáneo M, Bermúdez J, Assis R. 32-34

**COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DE OXITETRACICLINA Y TILMICOSINA EN EL TRATAMIENTO METAFILÁCTICO DE LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA BOVINA EN ANIMALES DE FEED LOT.** COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF A METAPHYLACTIC TREATMENT WITH OXYTETRACYCLINE AND TILMICOSIN ON BOVINE RESPIRATORY DISEASE IN FEED LOT CALVES. Fazzio LE, Landoni MF. 35-40

## Comunicaciones breves/Short communications

**SÍNDROME EROSIVO ULCEROSO GÁSTRICO ASOCIADO A ESTRÉS EN UNA DANTA (*Tapirus terrestris*).** REPORTE DE UN CASO EN VENEZUELA. GASTRIC EROSIVE ULCER SYNDROME STRESS ASSOCIATED IN A *Tapirus terrestris*. REPORT OF CASE IN VENEZUELA. Gomez R MS, Morales B AA, Garcia F, Alvizu E, Chiachio N, Morales I. 41-44

## Revisiones/Review

**ENTEROHEMORRAGIC *E. coli*: VIRULENCE FACTORS AND INFECTION IN CATTLE.** *E. coli* ENTEROHEMORRÁGICA: FACTORES DE VIRULENCIA E INFECCIÓN EN EL GANADO. Bretschneider G, Pérez SE. 45-56

**OSTEOCONDROSIS EN EQUINOS: UN PROBLEMA LATENTE DE LA INDUSTRIA HÍPICA.** EQUINE OSTEOCHONDROSIS: A PROBLEM LATENT IN HORSE INDUSTRY. Galinelli N, Landoni MF. 57-66

**SÍNDROME DE DERMATITIS Y NEFROPATÍA PORCINO UNA REVISIÓN SOBRE SU EPIDEMIOLOGÍA, PATOLOGÍA Y ETIOLOGÍA.** PORCINE DERMATITIS AND NEPHROPATHY SYNDROME A REVIEW ON EPIDEMIOLOGY, PATHOLOGY AND ETIOLOGY. Insarralde L, Quiroga MA, Cappuccio JA, Machuca MA, Barrales H, Alarcon LV, Perfumo CJ. 67-73

**TEMPERAMENTO Y BIENESTAR. EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BOVINOS DE CARNE.** TEMPERAMENT AND WELFARE. EFFECT ON PRODUCTION OF CATTLE MEAT. Vaca RJA. 74-81

## EVIDENCIA SEROLÓGICA DE INFECCIÓN POR METAPNEUMOVIRUS EN AVES COMERCIALES DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES Y ENTRE RÍOS (ARGENTINA)

Uriarte J<sup>1</sup>, Corva S<sup>2</sup>, Origlia J<sup>1</sup>, Gornatti D<sup>1</sup>, Píscopo M<sup>1</sup>, Cerda R<sup>1</sup>, Herrero M<sup>1</sup>, Marcantoni H<sup>3</sup>, Unzaga MF<sup>1</sup>, Spinsantti E<sup>1</sup>, Marino F<sup>1</sup>, Pecoraro M<sup>4</sup>, Petruccelli M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de las Aves y los Pilíferos.

<sup>2</sup>Cátedra de Bioestadística, <sup>3</sup>Cátedra de Producción Avícola, <sup>4</sup>Cátedra de Virología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

**Resumen:** Se realizó un relevamiento serológico en aves comerciales de las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos mediante la técnica de ELISA. La evidencia serológica de la infección con metapneumovirus se determinó procesando 933 sueros provenientes de pollos parrilleros y gallinas reproductoras, desde el mes de marzo del año 2007 al mes de octubre del año 2008, de los cuales 169 fueron positivos. Estos resultados fueron analizados mediante métodos estadísticos arribando a la conclusión de que existe mayor probabilidad de obtener aves seropositivas en la categoría de reproductores que en la de pollos parrilleros. Así mismo se demuestra por primera vez la evidencia de serología positiva contra metapneumovirus de la República Argentina.

**Palabras clave:** metapneumovirus. ELISA. Parrilleros. Reproductoras. Argentina

## SEROLOGICAL EVIDENCE OF INFECTION WITH METAPNEUMOVIRUS IN COMMERCIAL FLOCKS IN THE PROVINCES OF BUENOS AIRES AND ENTRE RIOS (ARGENTINA)

**Abstract:** A serological investigation was made in commercial flocks of Buenos Aires and Entre Ríos provinces by ELISA technique. The serological evidence of metapneumovirus infection was determined by testing 933 serum samples from broilers flocks and broiler-breeders between March of 2007 and October of 2008. 169 of these samples were positives. The result of this study was analyzed by statistics methods. The conclusion shows a better possibility to obtain positive results in broiler-breeders than in broilers flocks. This is the first report of avian metapneumovirus serological evidence in the Argentinian Republic.

**Key Words:** metapneumovirus. ELISA. broilers flocks. broiler-breeders. Argentina

Fecha de recepción: 01/09/09

Fecha de aprobación: 10/12/10

**Dirección para correspondencia:** Uriarte J, Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de las Aves y los Pilíferos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina. **E-mail:** javieruriarte@fcv.unlp.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Cabeza Hinchada, es una afección que afecta a pollos parrilleros, gallinas de postura y reproductores, caracterizada por una marcada inflamación de la cabeza, con edema submandibular, que afecta a los ojos impidiéndoles ver correctamente. Causa depresión, falta de desarrollo, descenso de postura y mortalidad.

Esta enfermedad esta causada por un metapneumovirus (APV), el mismo que causa la Rinotraqueitis infecciosa del pavo. Fue descrita por primera vez en Sud Africa en el año 1980 (1), en el año 1993 (2) ya fue diagnosticada en Europa y en el año 1995 diagnosticada en Brasil (3). El virus se transmite vía horizontal por descargas nasales, movimiento de animales afectados, agua y alimento contaminado, también se especula que el virus se podría transmitir vía vertical, ya que se lo encuentra en las células del oviducto. Como se mencionó anteriormente, el agente es un virus, sin embargo en todos los casos siempre se encuentra asociado a bacterias (*E. coli*, estafilococos sp. *Proteus* sp., etc.), que no hacen más que complicar el cuadro clínico.

El aislamiento y tipificación del agente es muy complicado, la mayoría de las publicaciones sobre la presencia del agente se basan en la evidencia serológica.

En la República Argentina, sin bien a nivel de campo se observan animales con signología compatible con la enfermedad y el SENASA tiene aprobadas la importación de vacunas a virus muerto, no existen datos veraces o publicados sobre la presencia o ausencia del agente causal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Durante el período comprendido entre marzo de 2007 y octubre de 2008 se recibieron en el Laboratorio de Diagnóstico de enfermedades de las aves y los pilíferos 933 sueros, los cuales provenían de distintos tipos de explotaciones. Los sueros recibidos llegaban al laboratorio para realizarles distintos tipos de estudios, y ninguno de ellos provenía de explotaciones con signología clínica respiratoria. Así mismo ningún plantel de los estudiados había recibido vacunación contra el agente ni en la granja se había aplicado la vacuna previamente. Los mismos fueron clasificados por: tipo de explotación y localidad (tabla 1).

### ESTUDIOS SEROLÓGICOS:

Todos los sueros recibidos fueron sometidos a la titulación de anticuerpos mediante la metodología de ELISA (Idexx laboratories, Avian pneumovirus antibody test kit), de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Los sueros analizados fueron diluidos en una proporción 1:500 utilizando el diluyente provisto en el kit, mientras que los sueros controles positivo y negativo los provee ya

diluidos. La concentración relativa de anticuerpos en la muestra se determina a través del cálculo del coeficiente de la absorbancia de la muestras con respecto a la del control positivo (M/P). Las muestras de suero con coeficientes M/P inferiores o iguales a 0,2 se consideran negativas, aquellas con coeficientes M/P superiores a 0,2 deben considerarse positivas. Los resultados de densidades ópticas fueron analizados con el software xChek 3.2 provisto por el laboratorio Idexx.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados se aplicó el modelo lineal generalizado (GLM)(4), de tipo binomial que permitiera estimar un indicador de riesgo (odds ratio, OR), y los respectivos intervalos de confianza (IC 95%), de acuerdo al tipo de explotación (reproductores y parrilleros), no siendo posible la evaluación por localidad debido al desbalance de la procedencia. Se utilizó el módulo GLM del paquete estadístico R (Free Software Foundation) (5).

## RESULTADOS

Se identificaron en total 169 sueros positivos, de los cuales 82 corresponden a parrilleros y 87 a reproductores. En relación al total de sueros por destino comercial, 574 parrilleros y 359 reproductores, se puede calcular un prevalencia aparente de 14% y 24% respectivamente.

El valor de OR=1,91 (IC 95% 1,37 – 2,68) indica una mayor probabilidad de identificar sueros positivos a APV en explotaciones de reproductores.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos concuerdan con otros autores, indicando mayor probabilidad de encontrar animales positivos en reproductoras o ponedoras que en parrilleros (6, 7). En el presente estudio se observó que existiría 1,91 veces más probabilidad de encontrar un reproductor positivo que un parrillero. Esto puede deberse a la corta vida de los mismos o al momento de la extracción de la muestra que en muchos casos podrían estar en fase aguda de la enfermedad.

Los porcentajes de prevalencia aparente obtenidos son bajos con respecto a otras publicaciones, esto tiene correlato con dos aspectos: el primero, que las muestras recibidas eran de lotes sin signología clínica. Se podría suponer porcentajes más altos si se hubieran tratado de animales con signos respiratorios. El segundo aspecto a considerar es que según Cook y col (8) no existe una relación estricta entre la presencia de anticuerpos y la condición particular de enfermedad. Toro y col. (9) informan la evidencia serológica de la enfermedad en Chile trabajando al igual que en el presente trabajo sobre animales sin signología clínica.

Tabla 1. Sueros positivos y negativos a APV clasificados por localidad y provincia

Provincia	Localidad	Reproductores		Parrilleros	
		Positivos	Negativos	Positivos	Negativos
Buenos Aires	Alsina	2	10	S/D	S/D
Buenos Aires	Azul	3	4	S/D	S/D
Buenos Aires	Baradero	5	13	S/D	S/D
Buenos Aires	Brandsen	28	48	S/D	S/D
Buenos Aires	Cañuelas	0	40	S/D	S/D
Entre Ríos	Concepción del Uruguay	S/D	S/D	3	211
Santa Fé	Figheras	0	16	S/D	S/D
Buenos Aires	General Rodríguez	9	49	S/D	S/D
Buenos Aires	Desconocido	S/D	S/D	0	35
Buenos Aires	Las Heras	S/D	S/D	61	77
Buenos Aires	La Plata	S/D	S/D	0	3
Buenos Aires	Luján	1	4	S/D	S/D
Buenos Aires	Moreno	0	5	S/D	S/D
Buenos Aires	Pilar	12	18	S/D	S/D
Buenos Aires	Plomers	16	21	S/D	S/D
Buenos Aires	Saladillo	0	12	S/D	S/D
Buenos Aires	San Andrés de Giles	S/D	S/D	12	96
Buenos Aires	San Vicente	11	32	S/D	S/D
Buenos Aires	Tres Arroyos	S/D	S/D	6	70
<b>Total</b>		<b>87</b>	<b>272</b>	<b>82</b>	<b>492</b>

El desconocimiento del número total de individuos que integraban los lotes impidieron estimar la prevalencia poblacional, pero se establece un parámetro de importancia para el diseño y cálculo del tamaño muestral para futuros relevamientos. Los resultados obtenidos proveen por primera vez evidencia serológica de metapneumovirus aviar en la República Argentina.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Buys SB, du Preez JH. A preliminary report on the isolation of a virus causing sinusitis in turkeys in South Africa and attempts to attenuate a virus. *Turkeys* 1980, 36: 56.
2. Naylor CJ, Jones RC. Turkeys rhinotracheitis: a review. *Veterinary bulletin* 1993, 63: 439-449.
3. Arns CW, Hafez HM. Isolation and identification of APV from broilers breeder flocks in Brazil. *Proceedings of the 44th Western Poultry Disease Conference*, Sacramento. U.S.A. 1995. pp. 124-125.
4. Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology*, 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, UK, 1995. 280 pp.
5. Free Software Foundation. The R project <http://www.r-project.org/> (10/08/2009)
6. Gharaibeh SM, Algharaibeh GR. Serological and Molecular detection of avian pneumovirus in chickens with Respiratory Disease in fordan. *Poultry Science* 2007. 86: 1677-1681.
7. Owoade AA, Ducatez MF, Muller CP. Seroprevalence os avian Inflenza virus, Infectious bronahitis virus, reovirus, Avian pneumovirus, Infectious laryngotracheitis virus, an Avian Leukosis in Nigerian Poultry. *Avian dis.* 2006, 50: 222-227.

8. Cook JKA, Dlby CA, Sputhee DJ, Mockett PA. Demonstration of antibodies to turkeys rhinotracheitis virus in serum from commercially reared flocks of chickens. *Avian Pathol.* 1988, 17: 403-410.

9. Toro H, Hidalgo H, Ibañez M, Hafez HM. Serologic evidence of pneumovirus un Chile. *Avian Dis.* 1998 Oct-Dec; 42(4) :815-7.

# EPIDEMIOLOGÍA Y OPINIÓN PÚBLICA DE LAS MORDEDURAS DE PERRO EN SAN MARTÍN DE LOS ANDES (NEUQUÉN)

Brusoni C<sup>1</sup>, Dezzotti A<sup>2</sup>, Fernández Canigia J<sup>3</sup>

<sup>(1)</sup> Subsecretaría de Salud, Provincia de Neuquén, Zona Sanitaria IV, Villegas y Rohde,

<sup>(2)</sup> Universidad Nacional del Comahue, Sede San Martín de los Andes

<sup>(3)</sup> Subsecretaría de Gestión Ambiental, Municipalidad de San Martín de los Andes, San Martín de los Andes.

**RESUMEN:** Las mordeduras de perro constituyen un problema epidemiológico generalizado grave que pone en riesgo la salud y el bienestar de las personas. Las características y la opinión sobre esta problemática fueron analizadas en San Martín de los Andes (Neuquén), a través de información recogida a lo largo de 18 años. La tasa de mordeduras aumentó de 0,65 % en 1991 y a 0,85 % en 2000, y posteriormente disminuyó en forma sostenida a 0,49 % en 2007 y 2008. Las personas de hasta 14 años fueron agredidas en mayor proporción, y la mayoría de las lesiones fueron leves, provocados por perros mestizos con dueño y en propiedades privadas. Esta epidemiología fue similar a la observada en diferentes regiones del mundo. La mayoría de las personas encuestadas desconoció las normas sobre la tenencia de animales domésticos y consideró necesario adoptar medidas sobre los canes libres en la vía pública. Las regulaciones sobre control canino en San Martín de los Andes habría provocado la disminución de la tasa de mordeduras. Sin embargo, la solución de esta problemática es compleja porque además se desarrolla en un contexto de un rápido y acelerado crecimiento demográfico.

**Palabras clave:** mordeduras de perro, epidemiología, San Martín de los Andes.

## EPIDEMIOLOGY AND PUBLIC OPINION OF THE DOG BITES IN SAN MARTIN DE LOS ANDES (NEUQUÉN)

**ABSTRACT:** Dog bites constitute a widespread and serious epidemiological problem that affects health and welfare of people. The characteristics and opinions on this topic were analyzed for San Martín de los Andes (Neuquén), using information collected during an 18 years period. Dog bite rate increased from 0.65 % in 1991 to 0.85 % in 2000, and afterward it diminished continuously reaching 0.49 % in 2007 and 2008. People under 14 years old were injured in large proportion and most of wounds were slight, caused by owned, mixed breed dogs and in private properties. This epidemiology was similar to that observed in different regions of the world. The majority of polled people did not know about the existing regulations on ownership of company animals and considered necessary to take measures on vagrant dogs. The enforcement of laws on domestic animals would have caused the decreasing of dog bites rate. However, the resolution of this problem is complex also because it occurs in a context of a rapid and accelerated demographic growth.

**Key words:** dog bites, epidemiology, San Martin de los Andes.

Fecha de recepción: 17/11/09

Fecha de aprobación: 20/11/10

**Dirección para correspondencia:** C. Brusoni, Subsecretaría de Salud, Provincia de Neuquén, Zona Sanitaria IV, Villegas y Rohde, Tel. 427925.

**E-mail:** [brusoni@smandes.com.ar](mailto:brusoni@smandes.com.ar)

## INTRODUCCIÓN

El perro (*Canis familiaris*) representa el experimento genético más complejo y extensivo llevado a cabo en un organismo. Este proceso comenzó con su domesticación hace alrededor de 14.000 años, a partir de un *C. familiaris* salvaje que durante considerable tiempo fue voluntariamente comensal y carroñero, y se lo relaciona con al origen de la sociedad agrícola, más sedentaria (1, 2, 3). La información arqueológica, morfológica y molecular indica que el perro divergió del lobo gris (*C. lupus*) hace más de 100.000 años (1, 2, 4). Los perros antiguos de América se habrían originado de linajes provenientes de Eurasia que acompañaron a las primeras poblaciones humanas que cruzaron el estrecho de Bering a fines del Pleistoceno (5).

La temprana, permanente y compleja asociación entre el hombre y el perro se explica por los indudables beneficios mutuos (6). Sin embargo, estos animales se pueden convertir en un serio riesgo para la salud, el bienestar y la seguridad de las personas debido a la alta capacidad de reproducción, la persistencia en forma independiente, la utilización para fines inapropiados y la desatención individual y pública. El perro es vector de más de 100 enfermedades humanas (e.g., hidatidosis, toxocariasis, triquinosis, difilobotriasis, tétanos, rabia) (7, 8, 9, 10, 11) y es el mamífero de tamaño intermedio más abundante que preda la fauna nativa y de caza, y el ganado doméstico (12). Los perros expresan numerosos comportamientos, entre los cuales el agresivo pone en riesgo la integridad física de las personas y constituye un problema epidemiológico muy grave que está subestimado (13, 14, 15, 16, 17, 18).

La ciudad de San Martín de los Andes tiene una población canina estimada en 5.480 perros, lo que representa 1 perro cada 5 personas (19), una proporción que es el doble de la recomendada por la Organización Mundial de la Salud (6). En 2000, a través de la Ordenanza Municipal 3475 se crea el "Centro de manejo y control de poblaciones de animales domésticos de compañía", para promover la tenencia responsable, el control, la vigilancia epidemiológica y el saneamiento canino. En ésta se estableció la obligatoriedad de la denuncia de las mordeduras y el control antirrábico del perro. En 2006, se la reemplazó por la Ordenanza Municipal 6787 de "Tenencia y protección animales de compañía", en la cual se establecen más consideraciones referidas a las obligaciones de los propietarios y al bienestar de las mascotas (en <http://digesto.smandes.gov.ar/Digesto.nsf/1d8a4f364474b3150325676800777db0/a1232075636004f4032571bd004ee95b?OpenDocument>).

El objetivo general de este trabajo fue obtener información de base para implementar accio-

nes y monitorear su efectividad en el contexto del programa de manejo canino en San Martín de los Andes. Los objetivos particulares fueron a) analizar la incidencia de las mordeduras de perro entre 1991 y 2008, b) caracterizar las mordeduras con relación a la edad, sexo y raza del animal agresor, y a la intensidad, la localización, la resolución, el momento, el lugar geográfico y la circunstancia de ocurrencia de la lesión entre 2005 y 2008 y c) conocer la opinión de la población sobre la problemática de las mordeduras de perro.

## MATERIALES Y MÉTODOS

San Martín de los Andes está en la Provincia de Neuquén, en un valle fluvio-glaciario en la margen occidental del lago Lácar, a 40° 10' S y 71° 21' O y a 647 m s.n.m. Tiene un clima templado húmedo con una estación estival seca contrastante. La temperatura media anual es 10,8 °C y las temperaturas medias máxima y mínima son 17,2 °C (enero) y 4,4 °C (julio), respectivamente. La precipitación anual total es 1.340 mm y el 73 % precipita en otoño e invierno. Los vientos generalmente provienen del O y NO con una velocidad media de 24 km/h (Carlos Weber, com. pers.). El crecimiento demográfico de San Martín de los Andes, para estimar la tasa de mordeduras de perro entre 1991 y 2008, se obtuvo de un modelo de regresión simple exponencial basado en los censos oficiales de 1947, 1960, 1970, 1980, 1991 y 2001 (20, 21). El modelo matemático que presentó el mayor coeficiente de determinación  $R^2$  fue el exponencial de la forma:

$$N_t = N_0 e^{rt} \quad (1)$$

donde:

$N_t$  = cantidad de personas en  $t$  (ind)

$N_0$  = cantidad de personas en  $t_0$  (ind)

$e$  = base del logaritmo natural

$r$  = tasa intrínseca de crecimiento poblacional (ind/(ind año))

$t$  = tiempo (años)

Las características de las mordeduras de perro desde 1991 se obtuvieron de la información colectada por personal de la Guardia de Emergencias del Hospital Zonal Dr. Ramón Carrillo (Tabla 1) y del Cuerpo de Guardias Ambientales de la localidad. Las denuncias se localizaron espacialmente en los 16 sectores en los que se dividió el ejido de San Martín de los Andes (Tabla 2). También se realizó una encuesta con el mismo fin, que se extendió entre el 1 de agosto de 2005 (semana epidemiológica 31) y el 29 de julio del 2006 (semana 30) (periodo 1), entre el 30 de julio de 2006 (semana 31) y el 28 de julio de 2007 (semana 30) (periodo 2), y entre el 29 de julio de 2007 (semana 31) y el 2 de agosto de 2008 (semana 31) (periodo 2).

Para conocer la opinión sobre la problemá-

tica de las mordeduras de perro, el mapa oficial de San Martín de los Andes se dividió en 9 estratos, basado en el valor equivalente de los lotes para los fines impositivos municipales (19). En cada estrato se seleccionó al azar el 10 % de los lotes que contaban por lo menos con una vivienda habitada en forma permanente. Entre mayo y diciembre de 2005 se entrevistó a un informante adulto a través de una encuesta conformada por cinco preguntas (Tabla 3).

## RESULTADOS

En 1947 San Martín de los Andes contaba con 2.366 habitantes (2,7 % de la población provincial) y en 2001 con 23.519 habitantes (5,0 % de la población provincial) (20). La población actual estimada es 32.216 habitantes (21). Este cambio representó un crecimiento exponencial extremadamente alto, a una tasa finita igual a 4,3 % / año y un tiempo de duplicación poblacional igual a 16,6 años (21) (Figura 1). La cantidad de perros estimada en 2005 fue de 5.480 perros. Entre 1991 y 2008 se realizaron 2.725 consultas por mordeduras de perro, que representó un promedio de 151,4 consultas anuales (EE = 7,7, n = 18) (Figura 2). Durante los períodos 1, 2 y 3 se atendieron 188, 178 y 168 pacientes por mordeduras de perro, respectivamente, y se completaron 100 (53,1 % del total de consultas), 159 (89,3 %) y 168 (100 %) planillas de datos, respectivamente.

La cantidad de consultas tendió a aumentar en forma lineal entre 1991 y 2000, registrándose el valor menor en 1991 (99 consultas) y el mayor en 2000 (188). Esto representó un aumento del 89,9 % en la cantidad de consultas a lo largo de 10 años. Sin embargo, a partir de 2000 esta cantidad anual de consultas se estabilizó en 177,7 (EE = 3,9, n = 9). La tasa promedio de denuncias de mordeduras de perro con relación al tamaño estimado de la población local entre 1991 y 2008 fue 0,69 % (EE = 0,2, n = 18). Esta tasa tendió a aumentar entre 1991 (0,65 %) y 2000 (0,85 %), mientras que a partir de ese momento tendió a disminuir sostenidamente, alcanzando el 0,61 % durante 2005 y 2006, el 0,55 % durante 2006 y 2007 y el 0,49 % durante 2007 y 2008 (Figura 2). Estos valores son intermedios en comparación con los observados en las principales localidades de la provincia (Figura 3).

El 34,0 % (periodo 1), 45,2 % (periodo 2) y 42,3 % de las víctimas de mordeduras (periodo 3) tenían entre 0 y 14 años. Estos valores representaron una tasa de mordeduras de 0,30 % (periodo 1), 0,60 % (periodo 2) y 0,56 % (periodo 3). Es decir que durante los últimos dos periodos, esta clase de edad fue particularmente agredida por perros. El 48,0 % (periodo 1), 38,2 % (periodo 2) y 40,5 % (periodo 3) de las denuncias ocurrieron en la clase de entre 15 y 44 años. Esto indica que

las personas comprendidas entre los 0 y 44 años representaron el 82 % (periodo 1), 83,4 % (periodo 2) y 82,8 % (periodo 3) (Figura 4).

La cantidad y tasa de mordeduras se distribuyeron en forma irregular en los diferentes barrios (Tabla 2, Figuras 5 y 6). En el periodo 1, el 51 % de los casos se localizaron en el Centro, la ladera del Cerro Curruhuinca y El Arenal. En el periodo 2, estos sectores ocuparon el 54 % de los casos y en el periodo 3 el 48 %. En el periodo 1, la tasa de mordeduras varió entre 0,06 % (Faldeos de la Vega) y 0,83 % (Barrio El Arenal), en el periodo 2 esta tasa varió entre 0,11 % (Área Lolog) y 1,45 % (Ladera Cerro Curruhuinca), y en el periodo 3 varió entre 0 % (Barrio Kumelkayen) y 0,12 % (Chacra 4).

A lo largo del estudio, los perros mordieron a varones y mujeres en una proporción equivalente. Sin embargo, en la clase de edad de hasta 14 años, los varones sufrieron un porcentaje mayor de agresión, registrando en el primero, segundo y tercer periodo de evaluación, el 64,7 %, 63,4 % y 71,0 % de los casos, respectivamente. La población residente sufrió en promedio el 92 % de las agresiones. Las mordeduras ocurrieron mayormente en horario diurno, y en el otoño y verano (Figura 7). Durante el periodo 1, el 83 % de los casos de mordeduras se produjeron en la vía pública, mientras que en el periodo 2 y 3 este valor disminuyó al 58 % y 61 %, respectivamente, y comenzaron a hacerse importantes los casos de mordeduras en propiedades (viviendas particulares, lugar de trabajo) (Figura 8).

El 86 % de las lesiones fue leve, en tórax, abdomen, brazos y piernas, mientras que el 14 % restante fue grave, en cara, cuello y dedos (Figura 7). La resolución ambulatoria representó el 99,7 % de los casos (n = 419) y sólo uno demandó una intervención quirúrgica en el hospital local y una derivación al hospital regional. La mayoría de las mordeduras correspondió a perros con dueño conocido (la víctima puede identificar al propietario del perro agresor); durante el periodo 1 esta categoría fue 84 % de los casos, en el periodo 2 fue 71 % y en el periodo 3 fue 70 % (Figura 9). El 71 % de los canes agresores fueron mestizos, mientras que el resto se repartió entre razas puras (Tabla 4). Esta categoría se dividió en tres rangos según porte y peso. El 65 % de los canes agresores fueron de tamaño grande (más de 25 kg o de 50 cm de alzada), mientras que el 29 % correspondió a medianos (entre 15 y 25 kg o hasta 50 cm de alzada) y el 6 % a pequeños (menos de 15 kg o hasta 30 cm de alzada). El 83 % de los canes agresores fueron machos.

De las 582 opiniones recolectadas, se percibió una preocupación de la comunidad sobre esta problemática y un consenso sobre la necesidad de controlar la población canina (Tabla 3). El 98 % creyó necesario tomar medidas sobre los

Tabla 1: Planilla de registro de consultas por mordeduras de perro utilizada en San Martín de los Andes.

1. Fecha de consulta:	N° de registro:	
2. Nombre y Apellido:		
3. Edad:		
4. Sexo:		
5. Domicilio habitual		
Calle y número:		
Barrio / Paraje:		
Localidad:		
Provincia:		
6. Localización de la mordedura		
Cabeza:	Tronco:	Cuello:
Abdomen:	Punta dedos:	Brazo / mano:
Pierna / pie:	Otros (especificar):	
7. Tipo de lesión		
Punzante:	Contusa:	
Incisa:	Simple / Complicada:	
8. Resolución		
Seguimiento ambulatorio:		
Internación:		
Derivación:		
9. Circunstancias de la mordedura		
Fecha y hora del evento:		
Lugar (calle y número):		
Barrio:		
Vivienda:	Escuela:	
Vía pública:	Recreación / deporte:	
Trabajo:		
Otros (especificar):		
10. Condición del perro		
Propio:		
Con dueño conocido (consignar nombre y domicilio):		
Vagabundo:		
11. ¿Fue mordido antes por otro perro en la localidad y a qué edad:		
Nombre del encuestador:		
Fecha de la encuesta:		

Figura 1: Población de San Martín de los Andes entre 1947 y 2001 (círculos) y curva de crecimiento poblacional ajustada a un modelo de regresión simple exponencial ( $N_t = N_0 e^{rt}$ ) (ANOVA,  $P \leq 0,05$ ,  $R^2 = 0,996$ ,  $n = 6$ ) (línea continua).

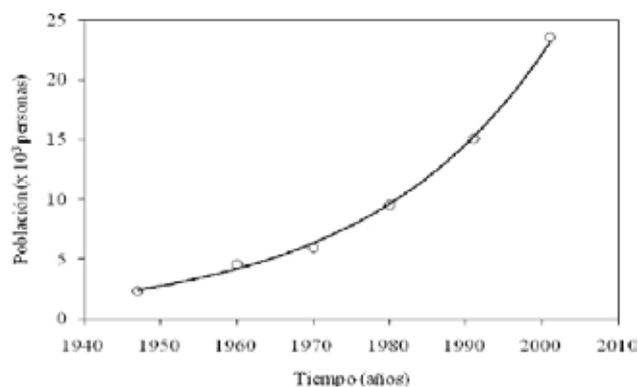


Figura 2: Cantidad de consultas por mordeduras (M) (eje y primario, círculos y línea continua) y tasa de mordeduras (eje y secundario, cuadrados y línea de puntos) en San Martín de los Andes entre 1991 y 2008. La raya vertical indica el momento de la sanción de la Ordenanza Municipal N° 6787 de Tenencia Responsable de Mascotas.

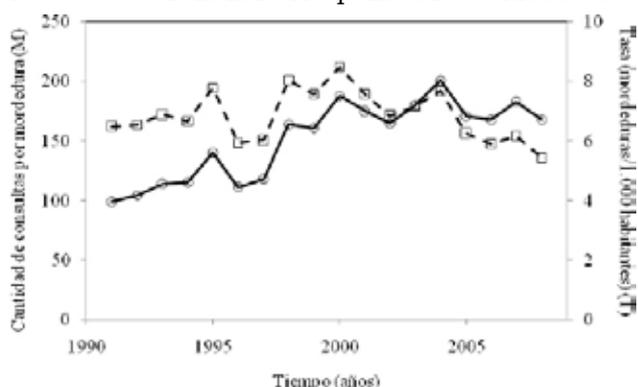


Tabla 2: Cantidad de casos denunciados de mordeduras ( $M_{1-3}$ ), porcentaje respecto al total de casos y tasa de casos (x 100 habitantes) ( $T_{1-3}$ ) durante los periodos 1 al 3 en los diferentes sectores y barrios de San Martín de los Andes.

SECTOR (BARRIO)	$M_1$	%	$T_1$	$M_2$	%	$T_2$	$M_3$	%	$T_3$
El Arenal (Vamep 48, Gobernadores Neuquinos, Kantec, 4 de Febrero, El Arenal, Alborada, Jardín y Federalismo)	16	16	0,83	10	6,6	0,48	14	9	0,73
Cantera	4	4	0,73	4	2,6	0,68	1	1	0,18
Ladera Cerro Curruhuinca (Calderón, Godoy, Obeid, Vallejos, 3 de Caballería, Buenos Aires Chico y Vamep 36)	17	17	0,63	39	25,7	0,14	29	19	1,08
Chacra 30	7	7	0,57	5	3,3	0,37	5	3	0,41
Camino a Lolog (Los Robles, Rincón Radales y Parque Rosales)	2	2	0,49	1	0,7	0,23	2	1	0,49
Altos del Sol y Av. Koessler	7	7	0,39	7	4,6	0,36	11	7	0,61
Chacra 4 (La Islita, Chacra 4, Villa Paur)	6	6	0,37	16	10,5	0,91	19	12	1,17
Covisal (Los Radales y Covisal)	4	4	0,34	3	2,0	0,24	5	3	0,43
Ruca Hue	2	2	0,34	1	0,7	0,16	0	0	0
Centro	18	18	0,33	33	21,7	0,56	31	20	0,57
Kumelkayen	1	1	0,30	3	2,0	0,83	0	0	0
Villa Vega Maipú	5	5	0,23	3	2,0	0,13	9	6	0,42
Vega Plana (La Cascada, Las Rosas y Villa Vega San Martín)	8	8	0,22	8	5,3	0,20	10	6	0,27
Alihuen (Alihuen Alto, Alihuen Bajo y Regimiento de Montaña 4)	1	1	0,10	5	3,3	0,44	3	2	0,29
Faldeos de la Vega (Bickel, Sigrand, Chapelco, Altos del Chapelco, Amancay y Faldeos de Chapelco)	1	1	0,06	2	1,3	0,11	1	1	0,06
Área Rural (Parajes Puente Blanco, Trompul, Lolog y Trabunco)	1	1	0,04	12	7,9	0,43	15	9,7	0,54
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>0,38</b>	<b>152</b>	<b>100</b>	<b>0,53</b>	<b>155</b>	<b>100</b>	<b>0,45</b>

Figura 3: Tasa de mordeduras (x 1.000 habitantes) en localidades de la provincia de Neuquén durante los tres periodos de estudio (datos oficiales del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE)).

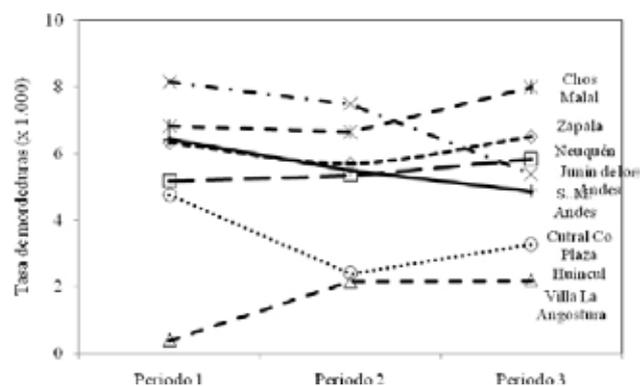


Figura 4: Cantidad de consultas por mordeduras de perro según los grupos etáreos durante el periodo 1 (línea continua y cuadrados), 2 (línea discontinua y círculos) y 3 (línea de rayas y triángulos).

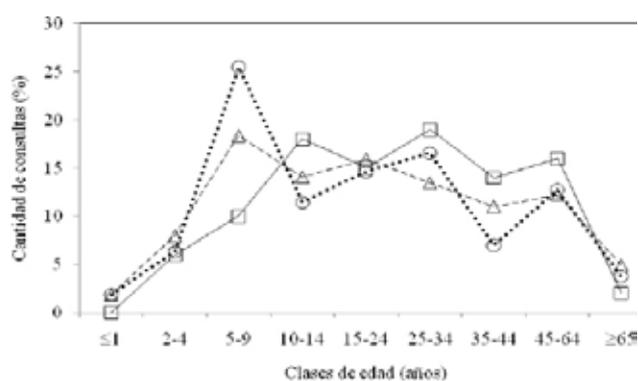


Tabla 3: Encuesta de opinión sobre la problemática de las mordeduras de perro con respuestas afirmativas realizada durante el periodo 1.

PREGUNTA	MEDIA (%)	ESTRATO (%)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
¿Conoce la existencia de la Ordenanza de Tenencia Responsable de Mascotas?	17	10	21	10	22	41	2	30	5	45
¿Está de acuerdo con la actividad de la perrera?	84	95	73	88	78	77	84	89	87	72
¿Cree necesario actuar sobre los perros sueltos en la vía pública?	98	97	97	100	100	97	99	98	97	93
¿Tuvo problemas de agresión de canes?	27	32	28	29	22	28	23	39	14	41
¿Sabe qué hacer en caso de una mordedura?	60	34	71	59	56	64	71	67	68	31
¿Sabe a quién acudir en caso de problemas con animales sueltos o agresivos?	40	29	53	24	38	59	23	63	32	62
¿Recibió una respuesta adecuada de las autoridades en caso de una denuncia?	6	2	7	4	9	3	2	17	6	7

Figura 5: Cantidad de personas mordidas (en porcentaje del total de casos) en los sectores de San Martín de los Andes durante el periodo 1 (barra blanca), 2 (barra gris) y 3 (barra negra).

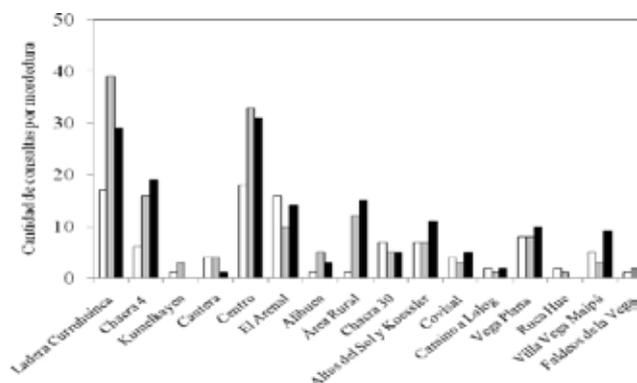


Figura 6: Tasa de mordeduras (x 1.000 habitantes) en los diferentes sectores de San Martín de los Andes durante el periodo 1 (barra blanca), 2 (barra gris) y 3 (barra negra).

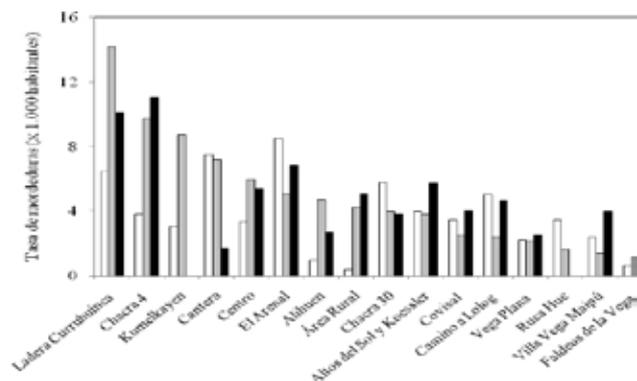


Figura 7: Consultas por mordeduras de perro según horario de ocurrencia (izquierda), estación del año (derecha) y el lugar de la lesión (BP: brazos y piernas, TA: tórax y abdomen, CCD: cabeza, cuello o dedos) (abajo) en San Martín de los Andes entre agosto de 2005 y septiembre de 2007.

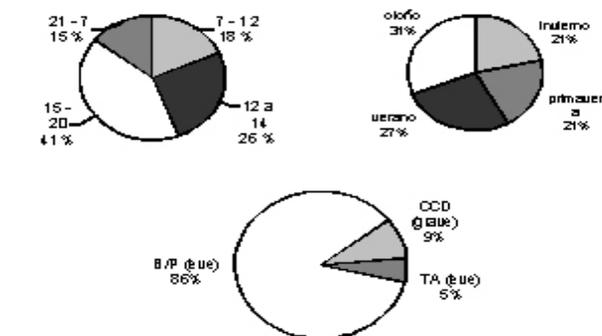


Figura 8: Consultas por mordeduras de perro según lugar de ataque en San Martín de los Andes durante los tres periodos de estudio. Vivienda (barra blanca) y vía pública (barra gris).

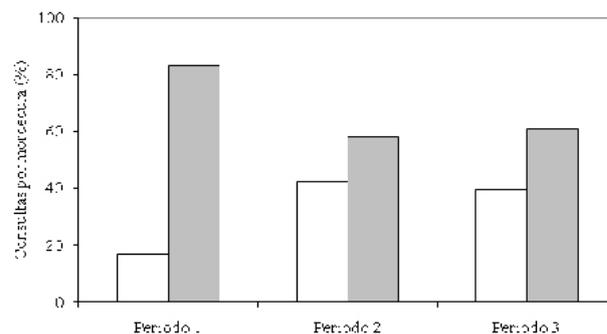


Tabla 4: Raza de los animales agresores en San Martín de los Andes entre agosto de 2005 y septiembre de 2006.

RAZA	FRECUENCIA (%)
Mestiza	71
Labrador Retriever	6
Ovejero Belga	4
Rottweiler	4
Braco Austríaco	2
Coker	2
Fox Terrier	2
Kuvacks	2
Mastín Inglés	2
Ovejero Alemán	2
Dachshund	2
Setter Irlandés	2
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>

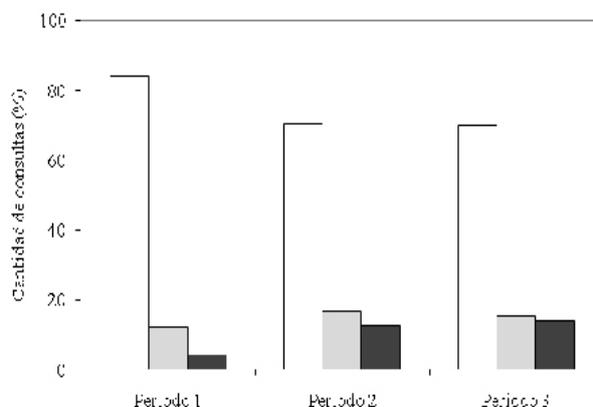
canes libres en la vía pública y el 84 % estuvo de acuerdo con la actividad del centro de detención canina (“perrera”). Sin embargo, en general existe un desconocimiento de las regulaciones sobre la tenencia de animales domésticos y las personas que denunciaron agresiones por canes no recibieron una respuesta adecuada de las autoridades municipales responsables de esta materia.

## DISCUSIÓN

Las mordeduras de perro constituyen una epidemia prevenible grave de carácter global. Por ejemplo, en Estados Unidos entre 1979 y 1994 ocurrieron 266 muertes por ataques de perro. Anualmente, 4,7 millones de personas son mordidas, de las cuales 800.000 requieren atención médica (22). Anualmente, en Australia 100.000 personas y en México 90.000 personas reciben tratamiento por ataques (23). En este último país, en 2007 la tasa de mordeduras fue 0,11 %, mientras que en las personas de hasta 15 años fue 0,19 % (25). En Santiago de Chile, en 2004 y 2005 las tasas fueron 0,13 y 0,11 %, respectivamente (24). En la ciudad de Neuquén, entre 2001 y 2007 esta tasa fue en promedio de 0,44 % / año (26).

Las mordeduras ocurren en diferentes circunstancias, pero en la mayoría de los casos existe subnotificación, las víctimas son menores, los niños son agredidos más que las niñas y los perros agresores tienen dueño (23, 24, 25, 27,

Figura 9: Consultas por mordeduras según pertenencia de perro en San Martín de los Andes durante los tres periodos analizados. Dueño conocido (barra blanca), vagabundo (barra gris) y perro propio (barra negra).



28, 29, 30, 31, 32, 33). Las lesiones tienden a ser leves, en la población general son más frecuentes las de los miembros y en los menores de 5 años las de la cabeza y cara; sin embargo, existen casos fatales que tienden a producirse en personas menores de 14 años (32, 33, 34). En San Martín de los Andes, el patrón de las mordeduras fue común a otras regiones. El grupo etáreo de hasta 14 años fue particularmente sensible, tanto en términos absolutos como relativos. La agresión ocurrió en mayor proporción en las propiedades privadas, con un marcado predominio de lastimaduras leves que se trataron en forma ambulatoria. La mayoría de los ataques fueron provocados por perros con dueño conocido, machos y mestizos y grandes, y ocurrieron en barrios con alta densidad urbana. A partir de 2000 la tasa de mordeduras de perro disminuyó, un fenómeno que estaría asociado a la implementación de la Ordenanza 3475 de control canino. Sin embargo, la resolución del problema se vuelve más compleja teniendo en cuenta el crecimiento demográfico extraordinariamente alto de la ciudad.

Las causas de las mordeduras se encuentran asociadas a la biología del perro. Estos animales expresan determinados comportamientos, entre los cuales el agresivo es el que pone en riesgo la integridad física de las personas. Esta agresividad instintiva controla una organización social jerárquica natural. Desde el estadio inicial, la sociabilización y enseñanza del perro debe estar dirigida a posicionarlo en la menor jerarquía dentro el grupo familiar, lo que minimiza el comportamiento de dominación y agresión y promueve el de sumisión (35). Sin embargo, también existen causas culturales y sociales asociadas a esta problemática. En este sentido, la inducción al perro para que brinde seguridad es una

práctica naturalizada y generalizada sumamente objetable que explicaría numerosas agresiones.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al personal del Servicio de Estadísticas y de Guardia de Emergencias del Hospital Zonal Dr. Ramón Carrillo y al Cuerpo de Guardas Ambientales de San Martín de los Andes, por la eficiente recolección de información de base. Este estudio fue financiado por la Provincia de Neuquén, la Universidad Nacional del Comahue y la Municipalidad de San Martín de los Andes.

## REFERENCIAS

1. Clutton-Brock J. Origins of the dog: domestication and early history. In: The domestic dog: its evolution, behavior and interactions with people. Ed. J Serpell, Cambridge University Press. New York (EEUU), 1995; p. 7-20.
2. Vilà C, Savolainen P, Maldonado JE, Amorim IR, Rice JE, Honeycutt RL, Crandall KA, Lundeberg J, Wayne RK. Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science* 1997; 276: 1687-1689.
3. Koler-Matznick J. The origin of the dog revisited. *Anthrozoös* 2002; 15(2): 98-118.
4. Raisor MJ. Determining the antiquity of dog origins: canine domestication as a model for the consilience between molecular genetics and archaeology. PhD Dissertation. Office of Graduate Studies. Texas A&M University. Texas (EEUU), 2004; p. 1-278.
5. Leonard JA, Wayne RK, Wheeler J, Valadez R, Guillén S, Vilà C. Ancient DNA evidence for Old World origin of New World dogs. *Science* 2002; 298: 1613-1616.
6. WHO. WHO - WSPA guidelines for dog population management. World Health Organization - World Society for the Protection of Animals, Ginebra (Suiza), 1990; p. 1-116.
7. Van der Hoeden J. Zoonoses. Elsevier. Amsterdam (Países Bajos), 1964; p. 1-774.
8. Hubbert W, McCulloch W, Schnurrenberger P. Diseases transmitted from animals to man. Ed. CC Thomas, Springfield (EEUU), 1975; p. 1-1206.
9. Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud. Washington, 1986; p. 1-988.
10. OPS. El control de las enfermedades transmisibles. Organización Panamericana de la Salud (OPS) - Organización Mundial de la Salud. Washington (EEUU), 2001; p. 1-783.
11. Brusoni C, Chistik J, Fernández Canigia J. Estudio de la contaminación con huevos de *Toxocara sp.* en suelos de espacios públicos de San Martín de los Andes, Provincia del Neuquén, Argentina. *Rev Vet* 2005; 6(10): 1-13.
12. Nesbitt W. Ecology of feral dog pack on a wildlife refuge. En: The wild canid. M Fox Ed. Van Nostrand

Reinhold. New York (EEUU), 1975; p. 391-396.

13. Harris D, Imperato P, Oken B. Dog bites: an unrecognized epidemic. *Bull NY Acad Med* 1974; 50: 981-1000.
14. Hervey E. Incidence of bites due to dogs and other animals in Leeds. *British Med J* 1977; 2: 53-54.
15. Winkler W. Human death induced by dog bites, United States, 1974 - 1975. *Public Health Rep* 1977; 92: 425-429.
16. Marr J, Beck A, Lugo J. An epidemiologic study of human bite. *Public Health Rep* 1979; 94: 514-521.
17. Nixon J, Pearn J, McGarn F. Dog bite injuries to children. *Med J Aust* 1980; 1: 175-176.
18. Beck A. The epidemiology of animal bite. Compendium on Continuing Education for the Veterinary Practitioners 1981; 3: 254-258.
19. Brusoni C, Dezzotti A, Fernández J, Lara J. Estructura de la población canina en San Martín de los Andes (Neuquén). *Rev Analecta Vet* 2007; 27(1): 11-23.
20. INDEC. Censo nacional de población y vivienda. Serie B. Instituto Nacional de Estadística y Censos. Buenos Aires (Argentina), 1947 - 2001.
21. Dezzotti A. El crecimiento urbano en el norte de la Patagonia: los casos de Neuquén, San Carlos de Bariloche y San Martín de los Andes. Informe técnico. Universidad Nacional del Comahue. San Martín de los Andes, 2005; p.1-30.
22. Bernardo L, Gardner M, O'Dair J, Fentin N. Analysis of reports of dog bites to a health department. *Nat Acad Practice Forum* 1999; 1: 299-303.
23. Álvarez Peralta E, Domínguez J. Programa para el control integral de la población canina. *Rev AMMVEPE* 2001; 12(3): 83-91.
24. Jofré L, Perret C, Abarca K, Solari V, Olivares R, López J. Recomendaciones para el manejo de mordeduras ocasionadas por animales. *Rev Chil Infect* 2006; 23(1): 20-34.
25. Hernández Arroyo D. Enfoque epidemiológico de las lesiones causadas por mordedura de perro. *Rev Enf Infec Pediatr* 2009; 23(89): 13-20.
26. Bergagna H. Municipios no eutanásicos: perros y zoonosis. *Desde La Patagonia* 2009; 6(8): 20-24.
27. Mathews JR, Lattal KA. A behavioral analysis of dog bites to children. *J Dev Behav Pediatr* 1994; 15: 44-52.
28. Iazzetti L. Anticipatory guidance: having a dog in the family. *J. Pediatr Health Care* 1998; 12: 73-79.
29. Villacis E, Marengo H, Molina A, Ramírez A, Milano H, Vegas T. Mordeduras de perro en niños: un accidente frecuente. *Rev Cir Infantil* 1998; 8(3):164-167.
30. Calkins C. Life threatening dog attacks: a devastating combination of penetrating and blunt injuries. *J Pediatr Surg* 2001; 36(8): 1115-1117.
31. Overall KL, Love M. Dog bites to human-demography, epidemiology, injury, and risk. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218: 1923-1934.

**C. Brusoni y col.**

32. Méndez Gallart R, Gómez Tellado M, Somoza Argibay I, Liras Muñoz J, Pais Piñeiro E, Vela Nieto D. Mordeduras de perro: análisis de 654 casos en 10 años. *An Esp Pediatr* 2002; 56 (5): 425-429.

33. Blanco M, Pérez W. Mordeduras de perro en niños. *Arch Pediatr Urug* 2004; 75(2): 120-124.

34. Borud L, Friedman D. Dog bites in New York City. *Plast Reconstr Surg* 2000; 106: 987-990.

35. Lema F. Mordedura de perro, comportamiento y agresión. *Arch Argent Pediatr* 2005; 103(5): 387-388.

## CABRAS CRIOLLAS: INICIO REPRODUCTIVO Y PRODUCTIVIDAD EN LA ZONA DE LA PLATA

Muro MG<sup>1</sup>, Lacchini RA<sup>1</sup>, Cordiviola CA<sup>1</sup>, Antonini AG

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata.

La Plata, Provincia de Buenos Aires, República Argentina.

**RESUMEN:** *El objetivo del presente trabajo fue evaluar la incidencia de la edad y peso al primer servicio de cabrillas criollas de reposición sobre la productividad al primero y al segundo parto. Se registró: peso al nacimiento de las cabrillas, edad, peso y época del primer servicio, peso preparto, postparto, peso vivo parido, relación porcentual entre el peso de las crías al nacimiento y el peso postparto de la madre, prolificidad, peso de las crías y producción de leche a los 30 días, e intervalo entre partos. Las cabrillas que tomaron servicio antes del año de vida (L1) resultaron significativamente más pesadas al nacimiento. El peso al primer servicio y la prolificidad de las hembras que tomaron servicio con una edad superior al año de vida (L2) fueron significativamente superiores. Las épocas de servicio variaron de la primera a la segunda preñez, no registrándose servicios primaverales en cabrillas de primera parición. Para el nivel productivo de la cabra criolla, una utilización precoz de las hembras de reposición no afectaría la productividad al segundo parto. Resulta recomendable utilizar los animales nacidos en primavera con mayor peso para su inicio reproductivo en el otoño siguiente.*

**Palabras clave:** cabra criolla, servicio, productividad.

## CREOLE GOATS: REPRODUCTIVE AND PRODUCTIVE START TO LA PLATA ZONE

**ABSTRACT:** *The influence of age and weight of creole goats in their first and second parturition productivity was studied. Weight at birth, age, weight and month of their first service, prolificity, pre and post-partum weight, breeding weight and milk production were determined in both parturitions. Goats were grouped according their age at first parturition: L1, less than 12 months; L2, more than 12 months. L1 females were heavier at birth than L2. Birth weight and prolificity showed significant higher values in L2 female. Other variables had no difference among groups. Services distribution were significant different between first and second pregnancy. There were no spring season service for little goats. Early services in little goats had no effect on their productivity. We suggest to use little goats born in spring with higher weight, next autumn.*

**Keys words:** creole goats, service, prolificity.

Fecha de recepción: 29/08/05

Fecha de aprobación: 20/01/06

**Dirección para correspondencia:** M.G. Muro, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 119, La Plata, Provincia de Buenos Aires, República Argentina.

**E-mail:** [izootecnia@ceres.agro.unlp.edu.ar](mailto:izootecnia@ceres.agro.unlp.edu.ar)

## INTRODUCCION

La región ecológica a la que pertenece la Llanura Pampeana, subregión Pampa Deprimida, donde se encuentra la Universidad Nacional de La Plata no es una zona típica de producción de cabras criollas, sin embargo existen algunos emprendimientos dedicados a la producción de carne y leche caprinas. La formación vegetal característica son los pastizales mesotérmicos, el clima es templado con una estación fría poco notable y precipitaciones que superan los 950 mm anuales. Asociado al río Salado con relieves planos y drenaje impedido, se encuentra la Depresión del Salado sujeta a inundaciones periódicas, donde la actividad predominante es la cría de ganado bovino. Debido a la baja rentabilidad de las producciones tradicionales y a la creciente subdivisión de terrenos es que se visualiza la posibilidad de la explotación de la cabra criolla en esta zona.

La explotación de cabras criollas en la República Argentina se desarrolla en áreas marginales desde el punto de vista agroecológico, especialmente en regiones áridas y semiáridas del norte y noroeste argentinos. La producción en estas zonas se caracteriza por un escaso nivel de inversión y reducida aplicación de tecnología. El manejo reproductivo de estos rebaños es muy rudimentario y sin ningún tipo de control (1), permaneciendo el macho en forma continua con todo el rodeo, lo que posibilita que en algunos casos, las cabrillas de reposición puedan recibir el primer servicio a edades tempranas. La actividad reproductiva de la cabra doméstica se ve afectada por gran cantidad de factores, entre los que predominan la raza, la presencia del macho, la nutrición y principalmente el fotoperíodo (2). La cabra es un animal poliéstrico estacional de días cortos, sin embargo la presentación de los ciclos sexuales posee variaciones multifactoriales, observándose diferencias entre razas, latitudes y niveles de nutrición (2, 3). Los factores que afectan la estacionalidad, como los que afectan la pubertad son exactamente los mismos (3). El inicio de la pubertad de la cabra coincide con un peso corporal mínimo y un fotoperíodo decreciente (4). Son variadas las sugerencias en relación a la edad adecuada para efectuar las primeras cubriciones según las distintas regiones de producción. La actividad sexual reproductiva en caprinos regionales de la provincia de Catamarca puede iniciarse a muy temprana edad, cuando los mismos alcanzan la pubertad, lo que ocurre entre los 4 y 7 meses, sin embargo no resulta aconsejable el inicio reproductivo de cabrillas de reposición antes de alcanzar el 60 a 70 % del peso adulto, un peso de 25 a 30 Kg, lo que se produce entre los 12 y 18 meses de vida, según el manejo nutricional.(5). Para cabras criollas de la provincia de la Rioja, se indica como momento

adecuado para el primer servicio de la cabrilla, una edad aproximada de 9 meses con pesos de 23 a 24 Kg (6). En razas lecheras, la mejor edad para iniciar la reproducción en las hembras es de 15 a 18 meses con un peso mínimo de 33 a 35 Kg (7). En cabras canarias (España) se observan servicios a partir de los 8 meses de edad (8). Las cabras con servicios tempranos pueden no completar su desarrollo corporal, siendo difícil la recuperación posterior, dando crías demasiado livianas al nacimiento y mayor mortalidad (9), sin embargo con una adecuada alimentación y manejo del hato, es posible la realización del primer servicio una edad de 6 a 7 meses y 30 a 35 Kg de peso vivo; para sistemas extensivos aconsejan un año o más de edad para efectuar la primera cubrición.

En cabras de recria el objetivo es que alcancen un desarrollo suficiente para ser servidas hacia el octavo mes con un peso vivo superior a los 30 Kg de manera de obtener el primer parto a partir del año de edad (10). Para cabras criollas neuquinas se cita una edad al primer servicio de 8 meses y un peso vivo medio al servicio del 50 % de las categorías adultas observándose una alta capacidad reproductiva (85 %) de preñez en el primer otoño de vida (11).

La actividad reproductiva está relacionada con la época de nacimiento, las cabritas nacidas en primavera alcanzan su madurez sexual durante su primer otoño de vida en regiones templadas. (12), con lo cual sería aconsejable no conservar para la reproducción nada más que aquellas hembras nacidas al principio de la primavera, no utilizando animales antes de los 7 meses de edad, para realizar el primer servicio en cabrillas. (13). En la zona de influencia de la Universidad Nacional de La Plata se observó que las cabras criollas adultas se comportan como poliéstricas estacionales en otoño y monoéstricas en primavera y en verano, no existiendo época primaveral de servicio en cabrillas (14). En algunas zonas del país las pariciones se verifican en primavera, verano y otoño, con índices de prolificidad para cabras criollas santiagueñas de 1,6 crías por hembra parida para la parición de noviembre febrero, y 1,7 para mayo agosto (15).

Para cabras sanluiseñas se señalan índices de prolificidad de 1,27 a 1,4, con pesos al servicio que oscilan en los 33,7 a 37,7 , logrando 0,93 a 1,47 cabritos por cabra y por año (16).

Debido a que las sugerencias sobre la edad adecuada para realizar el primer servicio en cabrillas de reposición no son precisas para la zona, el objetivo de nuestro trabajo fue evaluar la incidencia de la edad y el peso al primer servicio sobre la productividad en el primero y segundo parto de cabras criollas en nuestra zona de influencia.

## MATERIALES Y METODOS

Se evaluaron 47 cabrillas criollas pertenecientes al hato experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata, Provincia de Buenos Aires, República Argentina. Se utilizaron pasturas naturales características de la región en estudio con predominio de géneros tales como: *Bromus*, *Lolium*, *Trifolium*, *Melilotus*, *Paspalum*, *Poa*, etc, realizándose el pastoreo diurno controlado y racionamiento por lote según los requerimientos del INRA con respecto al peso corporal, edad y estado reproductivo de los animales.

Se utilizó el sistema de servicio continuo para las cabrillas del ensayo. Se conformaron dos lotes: las cabrillas L1 fueron las que tomaron su primer servicio con una edad inferior a los 12 meses y las pertenecientes al grupo L2 recibieron su primer servicio efectivo con una edad superior al año de vida. Se registró peso al nacimiento de las cabrillas, edad, peso y época del primer servicio, y los datos productivos del primero y segundo parto, tales como, peso preparto, peso postparto, peso vivo parido, relación porcentual entre el peso de las crías al nacimiento y el peso postparto de la madre, prolificidad, peso de las crías a los 30 días, producción de leche a los 30 días, e intervalo entre el primero y segundo parto.

Se realizó el control de la producción láctea con aparte de las crías en forma quincenal. El método Chi cuadrado fue utilizado para analizar las variables época de nacimiento y época de servicio, mientras que el resto de las variables y sus interacciones fueron evaluados por análisis de varianza multifactorial.

## RESULTADOS

Del análisis de las variables evaluadas, se observa que los pesos al nacimiento de las cabrillas de reposición que tomaron servicio con una edad inferior a los 12 meses de vida, difieren significativamente del de aquellas cabrillas que toman su primer servicio a una edad superior, existiendo una diferencia a favor de las primeras de más de 400 g.

En cuanto al peso alcanzado para el primer servicio, los animales pertenecientes al grupo de mayor edad a la primera cubrición presentaron pesos significativamente superiores que las cabrillas más precoces. Al evaluar los pesos preparto y postparto no se observaron diferencias significativas para los animales agrupados de acuerdo a la edad al primer servicio, para el primero y segundo parto (Cuadro 1). Al analizar en forma conjunta ambas variables se pudieron detectar diferencias significativas según la edad al naci-

Cuadro 1: Datos productivos de las cabrillas.

Variables	Primer Parto		Segundo Parto	
	L1	L2	L1	L2
<b>Peso nacimiento</b>	2,59±0,1 a	2,17±0,1 b		
<b>Peso servicio</b>	22.2±0,9 a	27.25±1,1 b	28.48±1,5a	33.22±1,9a
<b>Peso preparto</b>	34.23±1,8a	36.88±1,6 a	38.48±1,7a	41.45±2,2a
<b>Peso postparto</b>	29.56±1,6a	30.75±1,4 a	32.54±1,5 a	34.77±2 a
<b>Peso vivo parido</b>	3.59±0,2 a	3.23±0,2 a	3,87±1,2 a	3,89±0,2a
<b>%Peso vivo parido</b>	12.0±0,7 a	11.53±0,6 a	12.07±0,6 a	10,74±0,8a
<b>Prolificidad</b>	1.03 a	1.33 b	1,57 a	1,31 a
<b>Producción de leche a los 30 días</b>	0.72±0,1a	0.66±0,1 a	0,68±0,1 a	0,82±0,1a
<b>Peso crías a los 30 días</b>	8.00±0,6a	7.58±0,5 a	8,58±0,4 a	8,83±0,5 a
<b>Intervalo entre partos</b>			10,18±0,4 a	10,34±0,5 a

Letras iguales no difieren significativamente (p<0.05).

Cuadro 2: Valores de p correspondientes al análisis de los efectos de edad al primer servicio, época de nacimiento y sus interacciones.

Variables productivas	Edad al primer servicio(L1 y L2)	Época de nacimiento	interacciones
Tipo de parto	p:0.0210	0.96	0.9094
Peso preparto	p:0.0076	0.1612	0.01301
Peso postparto	p:0.0211	0.1278	0.0209

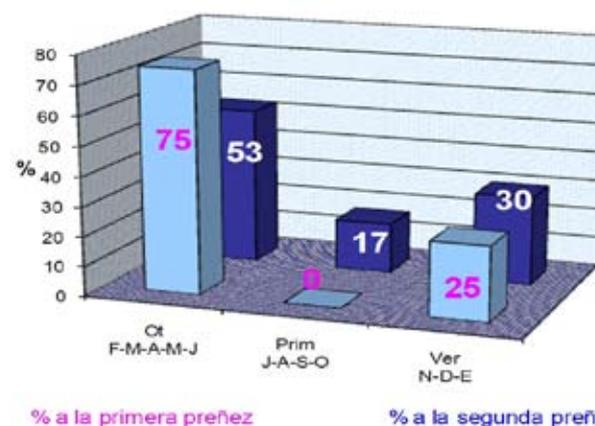
miento e interacciones significativas entre ambas variables (Cuadro 2). Estas interacciones estarían enmascarando el efecto de la edad en el análisis unilateral. Los porcentajes de peso de las crías en relación al peso de sus madres no arrojaron diferencias significativas para ambos grupos de animales para ninguno de los partos analizados. Del análisis de la productividad al primer parto, se observaron diferencias significativas a favor del grupo de animales servidos con un promedio de edad mayor, diferencias que no persisten al analizar el segundo parto. El peso de los cabritos a los 30 días de vida fue similar para ambos grupos de cabras, no evidenciándose diferencias significativas entre ambos lotes de animales en ninguno de los partos en estudio. Los intervalos entre partos de las cabras servidas más precozmente no arrojaron diferencias significativas con respecto a las cabras que tomaron su primer servicio a mayor edad. En el gráfico 1 se observa una distribución significativamente diferente de la época de realización de los servicios entre animales de primera y segunda preñez.

Un 75 % de las cabrillas tomaron su primer servicio en los meses comprendidos entre febrero a junio, y el 25 % restante tuvo su primera cubrición en el período de noviembre a enero. No se observó época primaveral de servicio en las cabrillas. Para el segundo servicio la distribución fue de 53 % en otoño, 17 % en primavera y 30 % en verano. De acuerdo a la época de nacimiento de las cabrillas se observó que aquellas nacidas en otoño llegaban con una edad significativamente inferior a su primer servicio ( $310 \pm 21$  días) que aquellos animales nacidos en los meses de verano que llegaron a su primera cubrición con una edad promedio de ( $403,5 \pm 35$  días.) Del análisis conjunto por época de nacimiento y servicio, surgió que las cabrillas nacidas en otoño tomaron servicio en los dos otoños y los dos veranos siguientes al parto. Las cabrillas nacidas en la primavera tomaron servicio en los dos otoños siguientes y en su segundo verano de vida, verificándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la distribución de los partos según su época de nacimiento. Las cabrillas nacidas en primavera y servidas en el primer otoño de vida, presentaron un peso significativamente mayor al nacimiento ( $p < 0.05$ ), llegando a una época fotoperiódicamente favorable, con un peso y edad adecuados para el inicio de su vida reproductiva.

## DISCUSIÓN

Las cabrillas más pesadas al nacimiento son las que toman servicio en su primer celo fértil debido a la permanencia continua de los machos criollos con las hembras adultas y las cabrillas del hato, y paren más precozmente, no afectándose el peso de las crías al nacimiento, a los 30 días, ni la prolificidad al segundo parto.

Figura 1. Distribución porcentual de servicios a la primera y segunda preñez.



Debido a la influencia de la estacionalidad en el comportamiento reproductivo, las cabrillas más livianas al servicio no utilizan la primera estación reproductiva, entrando en producción a edades superiores. Los animales nacidos en primavera con mayor peso al nacimiento, podrían convertirse en las más precoces al servicio, en coincidencia con lo expresado por Devenson estos animales alcanzarían su actividad reproductiva en el otoño siguiente al nacimiento en las condiciones climáticas de la zona en estudio. Contrariamente a lo manifestado por Ir. Johan y H Koeslag el inicio de la actividad reproductiva con edades inferiores al año de vida, en nuestras condiciones productivas, no afectaría la producción posterior de aquellas hembras más precoces, no disminuyendo los pesos paridos ni los pesos de las crías a los 30 días; tampoco aumentaría el intervalo parto concepción. Por lo tanto la decisión del momento del primer servicio no quedaría determinada por el sistema de explotación sino por el peso al nacimiento y la época de nacimiento.

La cabra criolla no es un animal de alta producción, un inicio reproductivo precoz, no comprometería su desarrollo posterior, ni el peso de las crías paridas. En el análisis de las variables pesos pre y post parto no se observaron diferencias significativas en la edad al primer servicio (Cuadro 1), mientras que considerando que la edad al primer servicio tiene relación con la época de nacimiento (Gráfico 1), al realizar la evaluación conjunta y el análisis de su interacción (Cuadro 2) surgen que las interacciones entre ellas son significativas y serían responsables de enmascarar el efecto de la edad sobre estas variables, que ahora se hace evidente.

La actividad reproductiva estaría relacionada con el peso al nacimiento de las futuras madres y su evolución de peso, de manera de alcanzar la pubertad con un peso adecuado para la realización de la primera cubrición, para de esta manera anticipar la vida reproductiva, en beneficio de la productividad total del hato.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Nogues E. Problemática de la explotación caprina en la Argentina. IV Reunión de intercambio tecnológico para zonas áridas y semiáridas. Salta, Argentina. 1985; 25 (1): 426-445.
2. Alvarez Ramirez L, Ducoing Watty AE, Zarco Quintero L, Trujillo Garcia A. Conducta estral, concentraciones de LH y función lútea en cabras en anestro estacional inducidas a ciclar mediante el contacto con cabras en estro. *Vet. Méx* 1999, 30 (1): 25-31.
3. Gamboa JJ. El establecimiento de la actividad reproductiva en la cabra. Un planteamiento teórico sobre la similitud entre pubertad y estacionalidad. III Congreso Nacional de la Asociación mexicana de Zootecnistas y Técnicos en caprinocultura. (Azteca). Guanacuat Gt.o. 10-13 Diciembre 1986.
4. Gamboa JJ, Luna M, Reynoso M, Romero R. Aspectos neuroendocrinos de la pubertad en cabras mestizas. I. Niveles peripuberales de progesterona (P4) e interacciones del peso corporal y fotoperíodo. XXX Aniversario Congreso nacional de Ciencias fisiológicas. XALAPA ver. 27-30 julio 1987.
5. Herrera V. Manejo reproductivo de Caprinos en sistemas semi-intensivos INTA Catamarca. 1992 p 4.
6. Dayenoff P, Bolaño M, Cáceres R, Carrizo, H. "Factores que afectan el peso al nacimiento y crecimiento del cabrito tipo criollo regional". Factors affecting birth weight and growth rate of the regional Criollo type kids". INTA - Universidad Nacional de La Rioja. Recopilación de Trabajos Area Producción Caprina, Período 1986-1996.
7. Agraz García. Caprinotecnia I Ed. Limusa (México). 1987 p 50-61 .
8. Capote J. En Memorias del Curso de calidad y denominación de origen en la comercialización de productos caprinos. San Luis. Argentina. 16 al 20 de marzo de 1998. p 10.
9. Ir J, Koeslag H. Cabras. Manuales para Educación Agropecuaria. Area de Producción Animal Editorial Trilla. (España) 1991 p 108.
10. Gonzalez Cano J. Alimentación de Bovinos, Ovinos y Caprinos. Ed. Mundi Prensa. Madrid. 1990.
11. Gibbons A, Cueto M. Determinación de la capacidad productiva durante la pubertad en hembras caprinas criollas del Neuquén. Comunicación Técnica N 525. INTA 2008 p 1-4.
12. Devenson S, Forsyth AJ. Retardation of pubertal development by prenatal long days in goat kids born in autum. *J. Reprod Fertil.* 1992 95 (2) 629-37.
13. Quitet E. La cabra. Guía práctica para el desarrollo ganadero. Editorial Mundi Prensa. (España). 1990. p 185-198.
14. Lacchini R, Pereyra E, Calvettyramos M, Cordiviola C, Antonini A. Análisis de productividad de cabrillas criollas de acuerdo a la época de nacimiento en la zona de La Plata. Congreso Argentino de pequeños rumiantes y Camélidos Sudamericanos. Universidad de Buenos Aires. Argentina. 2000.
15. Trouve L, Alvarez R, Carreras L. La ganadería caprina en Santiago del Estero. IDIA. 1983 (Sup 39): 98-108.
16. Rossanigo CE, Frigerio KL, Silva Colomer J. La cabra criolla sanluisense. Información técnica N° 135. INTA E.E.A. San Luis, Programa Social Agropecuario, SAGyP. 1995.

## **ESTUDIO SOBRE LA ENFERMEDAD DE TYZZER (*Clostridium piliforme*) EN DIFERENTES CEPAS DE RATAS Y RATONES DE LABORATORIO INFECTADAS EXPERIMENTALMENTE**

**Ayala MA<sup>1</sup>, Milocco SN<sup>1</sup>, Galosi CM<sup>2,3</sup> Carbone C<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Cátedra de Animales de Laboratorio y Bioterio. <sup>2</sup>Cátedra de Virología.

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

<sup>3</sup>Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires.

**RESUMEN:** Los animales de laboratorio, como reactivos biológicos vivos, deben ser estandarizados genética y microbiológicamente, para que los resultados de las experiencias sean confiables, reproducibles y comparables. El uso de animales en estado de salud deficiente conduce irreversiblemente a la obtención de resultados erróneos. *Clostridium piliforme* es el agente productor de la enfermedad de Tyzzer y hasta el momento se desconocía la susceptibilidad o resistencia a este agente en las diferentes cepas de ratas y ratones. En este trabajo se evaluó, utilizando inoculaciones experimentales, la resistencia y/o susceptibilidad al *Clostridium piliforme* en las diferentes cepas de ratas y ratones de Argentina; se estableció la concentración de microorganismos requerida para producir la morbilidad, pero no la mortalidad; se confirmaron las propiedades biológicas del *Clostridium piliforme* y se determinó el grado de protección brindado por los anticuerpos producidos en animales inoculados con diferentes concentraciones del microorganismo. Se observó que *Clostridium piliforme* es igualmente patógeno para ambas especies y cepas con algunas diferencias en las lesiones encontradas. Se determinó que la dosis de  $2 \times 10^5$  y  $2 \times 10^6$  microorganismos no enfermó a los animales, estimuló a la producción de los anticuerpos y protegió contra una descarga de dosis letal, por lo que se puede considerar que estas dosis pueden ser utilizadas para proteger a los animales de una colonia.

**Palabras claves:** *Clostridium piliforme*, Infección experimental, Ratas, Ratones

## **STUDY ON TYZZER'S DISEASE (*Clostridium piliforme*) IN DIFFERENT LABORATORY RATS AND MICE STRAINS EXPERIMENTALLY INFECTED**

**ABSTRACT:** Laboratory animals like alive biological reactive, must be genetically and microbiologically defined in order to obtain reliable results. The use of unhealthy animals in research leads to wrong results. Tyzzer's disease is caused by *Clostridium piliforme* and the susceptibility or resistance in different rats and mice strains was unknown. In this study, the resistance and susceptibility to *Clostridium piliforme* in different rats and mice strains of Argentina were evaluated by experimental infection. The microbial concentration which produces the disease but not death was established. The biological properties of *Clostridium piliforme* were confirmed and the antibodies protection given in animals inoculated with different concentrations of *Clostridium piliforme* was determined. It was noted that *Clostridium piliforme* is equally pathogenic for different rats and mice strains with some differences in the lesions found. It was determined that the dose of  $2 \times 10^5$  and  $2 \times 10^6$  microorganisms, which stimulated the production of antibodies against Tyzzer's disease, did not cause illness in inoculated animals but they were protected against lethal dose. For that reason dose of  $2 \times 10^5$  and  $2 \times 10^6$  microorganisms could be used to protect rats and mice in a colony.

**Key words:** *Clostridium piliforme*, Mice, Rats, Experimental Infection

Fecha de recepción: 13/01/10

Fecha de aprobación: 20/01/10

**Dirección para correspondencia:** Miguel Ayala, Cátedra de Tecnología y Sanidad de los Alimentos. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina. Tel/fax: 0221-421-1276. **E-mail:** [mayala@fcv.unlp.edu.ar](mailto:mayala@fcv.unlp.edu.ar)

## INTRODUCCION

*Clostridium piliforme* es el agente productor de la enfermedad de Tyzzer. Es un germen Gram negativo, con forma de bastón, de 8 a 10 µm de largo por 0,5 µm de ancho, con tendencia al pleomorfismo. Forma esporas terminales, es móvil por sus flagelos peritricos y se tiñe rápidamente con tinturas básicas de anilinas (PAS – positivo). La técnica de impregnación argéntica es la más adecuada para su demostración con cortes histológicos (1, 2). *Clostridium piliforme* no desarrolla en medios de cultivos libres de células, por lo que es un parásito intracelular obligado. Se reproduce bien en huevos embrionados de gallina inoculados en el saco vitelino o en cultivo primarios de hepatocitos de embriones de pollo o de ratón. La forma vegetativa del bacilo fuera de la célula hospedadora no es viable por lo que es muy inestable y pierde rápidamente la virulencia, excepto si se lo mantiene a -70 °C. Se disemina a través de los esporos que contaminan el lecho de los animales infectados y el medioambiente sobreviviendo en éste por varios años. Son muy resistentes a la repetición de ciclos de congelamiento y descongelamiento, resisten 1 h hasta 60 °C y son inactivados a 80 °C durante 30 min. Los esporos son resistentes al etanol, a los detergentes fenólicos germicidas y a los compuestos de amonio cuaternario, pero son inactivados por el formol, iodofosforados, ácido peracético e hipoclorito de sodio. Los esporos se pueden observar con la tinción de safranina (2, 3).

Se conoce que la enfermedad de Tyzzer afecta a una gran variedad de animales que incluyen a los ratones, ratas, hámsteres, meriones, conejos, cobayos, gatos, perros, ratas almizcleras, coyotes, zorros, liebres, monos y equinos. No se han informado casos en humanos, aunque se ha registrado un caso espontáneo en un primate no humano (*mono rhesus*) (3, 4, 5).

Su presencia se ha registrado en la mayoría de los países del mundo, con una distribución heterogénea. La forma vegetativa es inestable fuera de una célula hospedadora viable, el modo más probable de diseminación es por la ingestión de los esporos esparcidos con las heces. Las epizootias con alta mortalidad aparecen en meriones, hámsteres, ratas y conejos. La forma subclínica es la más frecuente de presentación. La forma clínica de la enfermedad se observa cuando los animales son sometidos a estrés por ejemplo por mal manejo, transporte o destete, o se lo somete natural o experimentalmente a una inmunosupresión (por ejemplo la administración con cortisona o exposición a radiación) (6, 7). Los signos clínicos que presentan pueden ser diarrea, deshidratación, anorexia, lordosis, pelo hirsuto, distensión abdominal y muerte (8, 9).

La patogénesis de la enfermedad de Tyzzer es incierta. Se desconocen los mecanismos

por los cuales *Clostridium piliforme* se adhiere e ingresa en la célula huésped. La primera fase de la infección es la colonización del intestino (íleon y ciego), luego el microorganismo (MO) asciende hasta el hígado a través de la vena porta y finalmente se disemina por otros tejidos como el miocardio. Microscópicamente, en el hígado y corazón, se pueden observar pequeños focos necróticos grises, blancos o amarillentos de 2 mm de diámetro. El intestino presenta inflamación con producción de gas, distensión y hemorragia en la serosa. Microscópicamente las lesiones de la enfermedad de Tyzzer se caracterizan por necrosis de las células hospedadoras y por la visualización de la típica disposición aleatoria de los bacilos con forma de bastón en el citoplasma celular, aparentemente viables en los bordes de las zonas necróticas. Se puede observar una infiltración moderada de neutrófilos y macrófagos como así también grados variables de cecocolitis, hepatitis y miocarditis. Las lesiones entéricas (con presencia de bacilos en células epiteliales y en células del músculo liso del tejido muscular de la mucosa) tienden a ser severas en ciertas especies como el conejo, hámster y merión. Las lesiones que se observan con mayor frecuencia en todas las especies animales afectadas es la necrosis hepática focal. En las lesiones que se recuperan el bacilo está ausente y se observa infiltrado celular neutrófilo y mononuclear en las áreas afectadas. Los esporos son eliminados con la materia fecal. Los cambios de lecho frecuentes y una buena desinfección de las cajas y jaulas ayudan a evitar la diseminación de los esporos en el medio ambiente (7, 8, 9, 10, 11).

El diagnóstico se basa en la demostración del agente bacilar en el citoplasma de las células del borde de las áreas necróticas. La identificación del agente en los tejidos se puede confirmar mediante la técnica de anticuerpos fluorescentes y tinción de Giemsa. El diagnóstico serológico de las infecciones inaparentes se realiza mediante la detección de anticuerpos utilizando los métodos de enzimo inmuno ensayo (ELISA) o inmunofluorescencia indirecta (IFI). El MO puede aislarse inoculando por vía endovenosa (EV) una suspensión fresca de hígado de animales infectados a ratones recién destetados e inmunodeprimidos previamente o inoculando huevos embrionados en cavidad alantoidea (11, 12, 13, 14).

Las epizootias con alta mortalidad se suceden generalmente en ciertas especies de animales ante situaciones de estrés e inmunosupresión y como consecuencia de ello las experiencias para las que están siendo utilizados estos animales finalizan prematuramente. A modo de ejemplo, puede citarse la alteración de las actividades enzimáticas hepáticas que producen resultados no confiables en estudios toxicológicos del hígado. No existen vacunas disponibles contra este

MO. Las vacunas inactivadas con formalina, que producen inmunidad contra la infección, sólo tuvieron éxito en ratones vacunados experimentalmente (12).

En este trabajo se evaluó la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad de Tyzzer en las diferentes cepas de ratas y ratones, se estableció la concentración de MO requerida para producir la morbilidad pero no la mortalidad en ratas y ratones y se determinó el grado de protección brindado por los anticuerpos producidos en animales inoculados con diferentes concentraciones de *Clostridium piliforme*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 352 ratones y 242 ratas procedentes de diferentes instituciones privadas y estatales (Tablas 1 y 2).

Tabla N° 1: Cepas de ratones utilizados en este estudio (n = 22 por cada cepa)

BALB/c AnN,	CDA	C57BL/6 AnN	DBA/2
BALB/c J	CF-1	C57BL/6 J	HAIR-LESS
BALB/c Nake,	C3H/N	C57BL/6 nu/nu	MPS
BALB/c nu/nu	C3H/Hen	DBA/1	N: NIH (S)-nu

Tabla N° 2: Cepas de ratas utilizadas en este estudio (n = 22 por cada cepa)

ACI/N	LEW/N	WISTAR
BUS	LONG EVANS	WKHA/Hok
BN	SHR	WKY
F344/N	SPRAG DOWLEY	

Los animales se mantuvieron bajo barreras sanitarias, a 22° C +/-1 °C de temperatura y con humedad del 50 %, con aire filtrado (Filtros Hepa 99,9 %) a razón de 15 recambios por hora, en cajas de acero inoxidable (n=4 por caja), con lecho de viruta estéril. Se les proporcionó agua de bebida suplementada con vitaminas y alimento (Cooperación S.R.L.), autoclavados y *ad-libitum*. Todos los procedimientos fueron realizados de acuerdo a las normativas internacionales fijadas por la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Consejo de Investigación Nacional de Estados Unidos, y el Consejo Canadiense para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (<http://bioethics.od.nih.gov/animals.html>).

### CEPA DE CLOSTRIDIUM PILIFORME – INOCULACION EXPERIMENTAL

Se trabajó con la cepa de referencia RT cedida por el Instituto Nacional de Salud de Japón (NIH-Japón, Dra. E Suzuki). Se prepararon

homogenatos de hígados e intestinos con áreas necróticas, provenientes de animales infectados con la cepa de referencia. Se inocularon 0,1 ml de los mismos, por vía EV a 8 animales de las diferentes cepas de ratas y ratones; 2 animales por cada grupo fueron utilizados como controles negativos.

### SEGUIMIENTO CLÍNICO DE LOS ANIMALES INOCULADOS, EUTANASIA Y NECROPSIA

Los animales fueron observados diariamente a las 8 y 18 horas a partir del 1° día pos infección (pi) para constatar la aparición de signos clínicos característicos. A los 4 días pi se sacrificaron los animales con y sin signología clínica y los animales controles negativos, con una mezcla de 70 % CO<sub>2</sub> y 30 % O<sub>2</sub>. Se necropsiaron todos los animales sacrificados y se realizaron improntas del borde de las lesiones encontradas para su posterior tinción con Giemsa y Verde de malaquita y para la técnica de IFI.

### TÉCNICA DE INMUNOFLORESCENCIA INDIRECTA (IFI)

Las improntas se fijaron con acetona fría y se enfrentaron con un suero control positivo anti *Clostridium piliforme* (NIH-Japón, Dra. E Suzuki) durante 30 minutos a 37 °C. Posteriormente se lavaron 3 veces durante 5 minutos cada vez con solución buffer fosfato (PBS), se cubrieron con el conjugado anti-ratón marcado con fluoresceína (Zymed Laboratories, INC. CA, USA) incubándose a 37 °C durante una hora, se lavaron con PBS y se observaron al microscopio de fluorescencia para confirmar la presencia o ausencia del MO.

### INFECCIÓN EXPERIMENTAL SUBLETAL Y DESAFÍO

Se prepararon homogenatos con concentraciones de 2x10<sup>5</sup>, 2x10<sup>6</sup> y 2x10<sup>7</sup> MO para una dosis de 0,1 ml, a partir de los hígados que presentaron lesiones necróticas de los animales infectados con la cepa RT del *Clostridium piliforme*. Estas dosis fueron inoculadas a ratones y ratas de las diferentes cepas, de 6 semanas de edad, divididos en 3 grupos de 3 individuos cada uno y dejando otro grupo de 3 animales como control sin inocular. Los animales que sobrevivieron a la infección subletal fueron desafiados con una dosis letal de 2 x10<sup>7</sup> MO por vía EV a la 12° semana pi.

### TITULACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA CLOSTRIDIUM PILIFORME

Se tomaron muestras de sangre de la vena maxilar externa una vez por semana hasta la 12° semana pi a todos los animales que sobrevivieron a la inoculación experimental subletal. La sangre se colocó a 4 °C durante 12 horas y luego se centrifugó a 1500 rpm durante 10 min. El suero

obtenido fue diluido 1:5 en PBS y posteriormente inactivado a 56 °C durante 20 min para su posterior almacenamiento a -20 °C hasta su uso.

Se realizó la técnica de IFI utilizando los sueros problemas en diluciones en base 2 (a partir de la dilución 1:5 y hasta 1:640).

## RESULTADOS

Los signos clínicos se observaron entre el 2° y 3° día pi en el 78,75 % de todas las cepas de ratones y entre el 7° y 9° día pi en el 78,18 % de todas las cepas de ratas. Clínicamente los animales presentaron lordosis, decaimiento, distensión abdominal, pelo hirsuto y diarrea.

Los hallazgos de la necropsia pueden resumirse de la siguiente manera:

### HALLAZGOS EN RATONES

De los 8 animales inoculados de la cepa BALB/cAnN, 7 presentaron lesiones en miocardio, hígado e intestino (Figura 1).

El total de los ratones de la cepa BALB/cJ (n=8) presentaron las mismas lesiones que la cepa anterior.

En la cepa coisogénica BALB/cNackt se observó que 7 animales presentaban lesiones en miocardio, pero no en hígado e intestino.

Todos los animales de la cepa BALB/c-*nu* mostraron lesiones en el hígado, corazón e intestino.

En los ratones CDA se comprobó que sólo 5 presentaron necrosis hepática típica e inflamación intestinal.

Seis animales del stock CF1 presentaron lesiones en hígado e intestino.

Las cepas C3H/N (n=6) y C3H/HeN (n=7) mostraron las lesiones típicas de la enfermedad: necrosis hepática periportal multifocal, inflamación intestinal y diarrea.

Siete animales de la cepa C57BL/6AnN y 6 de la cepa C57BL/6J presentaron lesiones en hígado e intestino.

Las cepas C57BL/6-*nu* (n=8), DBA/1 (n=4), DBA/2 (n=6), HAIRLESS (n=4) y MPS (n=5) mostraron las lesiones de hígado e intestino típicas de la enfermedad (Figura 2).

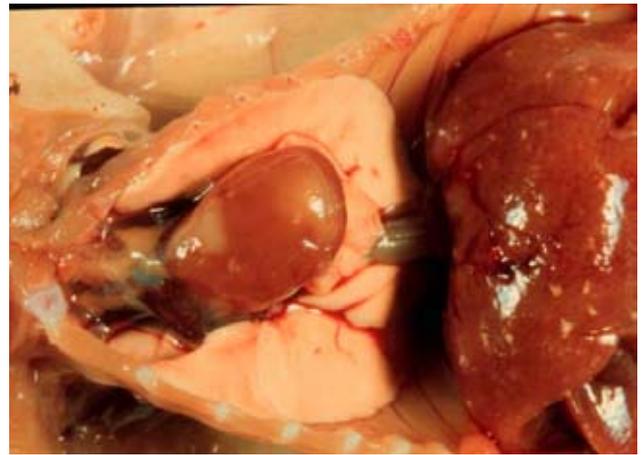
En el stock N:NIH(S)-*nu* los 8 individuos presentaron lesiones sólo en hígado e intestino.

### HALLAZGOS EN RATAS

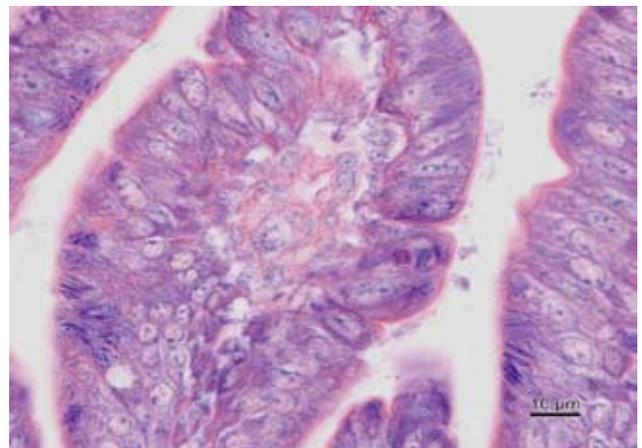
Todas las cepas de ratas: ACI/N (n=7), BUS (n=6), BN (n=7), F344/N (n=6), LEW/N (n=5), LONG EVANS (n=6), SHR (n=4), WKHA/Hok (n=7), WKY (n=5) presentaron lesiones típicas de la enfermedad (Figura 3).

Los stock WISTAR (n=7) y SPRAG DOWLEY (n=8) también fueron positivas a las lesiones típicas.

Ninguno de los animales utilizados como controles presentaron signos clínicos, ni lesiones



**Figura 1.** Observación macroscópica. Las flechas indican la presencia de focos de necrosis en hígado y miocardio de ratón infectado por *Clostridium piliforme*.



**Figura 2.** Observación microscópica. Las flechas indican la presencia de *Clostridium piliforme* en la vellosidad del intestino de ratón infectado. 100X



**Figura 3.** Necropsia de rata con signos clínicos característicos de infección por *Clostridium piliforme*. Se observa hepatomegalia y la presencia de focos de necrosis.

características de la enfermedad.

Con la tinción de Giemsa se observó la morfología típica de la bacteria. La presencia de esporos fue determinada con la tinción con Verde de malaquita. La IFI confirmó la presencia de *Clostridium piliforme* en las improntas de los órganos con lesiones procedentes de los animales con signología y no se observó la presencia del MO en las improntas de los órganos procedentes de ratas y ratones sin signología clínica.

Las dos especies inoculadas con  $2 \times 10^7$  MO también desarrollaron signos clínicos típicos de la enfermedad como en la primera experiencia y se observaron las lesiones características descritas. Las ratas y ratones que se inocularon con  $2 \times 10^5$  y  $2 \times 10^6$  MO no presentaron signos clínicos.

En los animales inoculados con  $2 \times 10^5$  y  $2 \times 10^6$  MO, sobrevivientes a la infección, la curva de Ac producidos se comportó igual en todas las cepas de ratas y ratones observándose el mayor título entre la sexta y séptima semana pi para decrecer abruptamente hasta hacerse no detectable en la 12<sup>o</sup> semana pi.

No se observaron signos clínicos de la enfermedad en las cepas de ratas y ratones que se inocularon con  $2 \times 10^5$  y  $2 \times 10^6$  MO y que sobrevivieron a la infección y fueron desafiadas con una suspensión de  $2 \times 10^7$  MO.

## DISCUSIÓN

Hasta el año 1965, se pensaba que la enfermedad de Tyzzer afectaba sólo a los ratones. Experiencias realizadas por otros autores permitieron reproducir la enfermedad en conejos, hámsteres y meriones, observándose los signos clínicos y patológicos característicos que produce el MO. Posteriormente se demostró que los signos clínicos de la enfermedad de Tyzzer se observaban con más frecuencia en conejos meriones, hámsteres y cobayos, mientras que en la rata y el ratón de laboratorio la infección se presentaba en forma subclínica. Datos presentados por Fujiwara sugirieron la posibilidad de que alguna cepa de ratones y ratas sea más susceptible que otra sin embargo hasta el momento del desarrollo de este trabajo no se había determinado la susceptibilidad de las diferentes cepas de estas especies a la infección (2, 3, 4).

Para seleccionar la dosis infectante a utilizar se realizó una prueba piloto que permitió observar las manifestaciones clínicas y las lesiones patológicas en los animales. Se comprobó que dosis iguales o mayores a  $2 \times 10^7$  MO producían signos clínicos en un período de tiempo corto que imposibilitaba la toma de muestra. Las muertes se sucedían durante la noche produciéndose autólisis que dificultaba el procesamiento de la muestra y la correcta evaluación de las lesiones histológicas.

Se observó que los ratones morían más rápidamente que las ratas. Los signos clínicos que mostraron todos los animales fueron coincidentes con los observados en otros animales de experimentación y citados por otros autores y se comprobó que la infección no siempre es subclínica (3, 7).

En los ratones los signos aparecían más temprano que en las ratas. Probablemente esto se debió a que para el caso de las ratas habría que haber utilizado una dosis infectante más alta. Como el objetivo del trabajo no era comparar en qué momento aparecían los signos en ambas especies sino que se pretendía determinar si había mayor o menor susceptibilidad entre las cepas de cada especie, se realizó la experiencia teniendo en cuenta el curso clínico observado en cada una de ellas.

Las lesiones encontradas no variaron significativamente entre ambas especies y entre cepas de la misma especie. Se comprobó que en la cepa coisogénica BALB/cNACKT el *Clostridium piliforme* causó lesiones cardíacas y no se observaron lesiones en hígado ni en intestino. No se puede concluir cuál fue la razón de por qué se dieron estos resultados, ya que al haberse inoculado por vía EV debería de haber llegado y producido lesiones en órganos peritoneales, dato que no pudo ser comprobado en ninguno de los animales inoculados de esta cepa aunque sí pudieron ser confirmados en las cepas BALB/c, AnN y BALB/cJ. Estos resultados abren un primer interrogante para futuras investigaciones.

En el caso de las ratas, no se encontraron diferencias entre las cepas, siempre se observaron manifestaciones clínicas y en ninguno de los casos hubo infección subclínica. Debería considerarse en futuros trabajos la posibilidad de inocular mayor concentración de MO, realizando controles de los animales en períodos más cortos de manera de comprobar si con mayores dosis también se producen las lesiones cardíacas.

Las técnicas utilizadas para la observación del MO y su morfología en las improntas resultaron específicas y sensibles.

Las dosis infectantes de  $2 \times 10^5$  y  $2 \times 10^6$  MO no produjeron signos clínicos pudiéndose inferir que se produjo una infección de tipo subclínica. Se observó que la inoculación de estas dosis en las dos especies y en todas las cepas estimuló la producción de Ac. En todos los casos la curva de Ac se comportó de manera idéntica. Estos Ac protegieron a los animales de una descarga de  $2 \times 10^7$  MO que en la primera experiencia había resultado letal. La importancia de la dosis subletal protectora determinada nos permitirá en un futuro y mediante nuevos ensayos iniciar estudios de producción de vacunas para su uso en las colonias de ratas y ratones.

Del desarrollo de este trabajo se puede

concluir que: 1) todos los animales de las diferentes cepas de ambas especies resultaron ser susceptibles al agente productor de la enfermedad de Tyzzer, el *Clostridium piliforme*; 2) los ratones pertenecientes a la cepa coisogénica BALB/cNack fueron los únicos que no desarrollaron signos clínicos y lesiones características de esta enfermedad; 3) las concentraciones de  $2 \times 10^5$  y  $2 \times 10^6$  MO no produjeron mortalidad y estimularon la formación de Ac; 4) los Ac protegieron contra la descarga de la dosis letal de  $2 \times 10^7$  MO; y 5) las propiedades biológicas del *Clostridium piliforme* fueron confirmadas.

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. E Suzuki del Instituto Nacional de Salud de Japón (NIH-Japón) por haber cedido gentilmente la cepa de referencia utilizada en este estudio. El presente trabajo resume la Tesis de Doctorado de Miguel A Ayala, dirigido y codirigido por las Profesoras Cecilia Carbone y Cecilia M. Galosi.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Tyzzer EE. A fatal disease of Japanese waltzin mouse caused by a spore-bearing (*Bacillus piliformis* sp.) J Med Res 1917; 37: 307-338.
2. Fujiwara K. Tyzzer's disease. Jpn J Exp Med 1978; 48: 467-480.
3. Ganaway JR, Allen AM, Morre TD. Cultivation of *Bacillus piliformis* in mouse fibroblasts. Am J Pathol 1971; 64: 717-730.
4. Ikegami T, Shirota K, Une Y, Nomura Y, Wada Y, Goto K, Takakura A, Itoh T, Fujiwara K. Naturally occurring Tyzzer's disease in a calf. Vet Pathol 1999; 36: 253-255.
5. Hall WC, Kruiningen HT. Tyzzer disease in a horse. JAVMA 1974; 164: 1187-1189.
6. Duncan AJ, Carman RJ, Olsen GJ, Wilson KH. The agent of Tyzzer's disease is a *Clostridium* species. Clin Infect Dis 1993; 16 Suppl 4: S422.
7. Itho T, Kagiya N, Fujiwara K. Production of Tyzzer's disease in rats by ingestion of bacterial spores. Japan J Exp Med 1989; 59: 9-15.
8. Itho T, Kagiya N. Differences in susceptibility to peroral inoculation with *Bacillus piliformis* spores in mice and rats. Jikken Dobutsu 1990; 39: 425-428.
9. Weisbroth SH. Bacterial and micotic diseases. En: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH (Eds). The Laboratory Rat Vol 1: Biology and Disease, New York Academic Press, 1979; p. 191-241
10. Nicklas W, Baneux P, Boot R, Decelle T, Deeny AA, Fumanelli M, Illgen-Wilcko B. Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. FELASA Working Group on Health Monitoring of Rodent and Rabbit Colonies. Lab Animals 2002; 36: 20-42.
11. Milocco SN, Zuñiga J. Ciencia y Tecnología en protección y experimentación animal. Ed Mc Graw Hill, 2001.
12. Manual of Microbiologic Monitoring of Laboratory Animals. Second Edition. Editors U.S. Department of Health and Human Service, National Institute of Health. 1994.
13. Spencer TH, Ganaway JR, Waggle KS. Cultivation of *Bacillus piliformis* (Tyzzer) in mouse fibroblasts (3T3 cells). Vet Microbiol 1990; 22 (2-3): 291-297.
14. Schaich Fries A. Studies on Tyzzer's disease, isolation and propagation of *Bacillus piliformis*. Lab Animals 1977; 11: 75-78.

## VALIDACIÓN BIOLÓGICA DE LA TÉCNICA DE EXTRACCIÓN A CAMPO DE PROGESTERONA FECAL EN EL GATO DOMÉSTICO (*Felis catus*)

Risso A, de la Sota PE, García P, Díaz J, Corrada Y, Blanco PG, Gobello C.

Laboratorio de Nutrición Mineral y Fisiología Reproductiva, Cátedra de Fisiología.  
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

**RESUMEN :** El objetivo de este trabajo fue validar biológicamente en los felinos domésticos la técnica "a campo" de extracción de progesterona ( $P_4$ ) fecal mediante un estudio de correlación con los valores séricos de esta hormona. Secundariamente se compararon las concentraciones fecales de  $P_4$  en distintas fases del ciclo estral. Se utilizaron un total de 16 muestras fecales procedentes de 13 hembras felinas pospúberes. Las muestras fecales fueron recolectadas en las etapas de estrus ( $n=3$ ), fase lútea ( $n=10$ ), y gestación ( $n=3$ ) definidas por comportamiento, citología vaginal o ultrasonografía. En forma simultánea al muestreo fecal se tomaron muestras sanguíneas ( $n=12$ ). Se realizó el método de extracción de esteroides "a campo" y la  $P_4$  fue determinada por radioinmunoensayo en todos los casos. La concentración de  $P_4$  varió de 20 a 463 ng/g de materia fecal húmeda. El coeficiente de correlación de Pearson entre los valores hallados en materia fecal y en suero fue de 0,77 ( $p < 0,01$ ). Se encontraron diferencias entre los valores obtenidos en fase folicular vs. fase lútea ( $106 \pm 22,5$  vs.  $304 \pm 47,7$ ;  $p < 0,03$ ), ciclos ovulatorios vs. no ovulatorios ( $313,25 \pm 142,3$  vs.  $118,3 \pm 86,4$ ;  $p < 0,02$ ) pero no entre los ovulatorios vs. gestantes ( $313,25 \pm 142,3$  vs.  $292,6 \pm 130,7$ ;  $p = 0,08$ ). Se concluye que en el gato doméstico, esta técnica de extracción fecal resulta válida por su alto grado de correlación con los valores séricos, además de permitir diferenciar los periodos de hiperprogesteronemia de los basales durante el ciclo estral.

**Palabras clave:** extracción fecal, esteroide, felino

## BIOLOGICAL VALIDATION OF THE "IN FIELD" EXTRACTION METHOD FOR FECAL PROGESTERONE IN THE DOMESTIC CAT (*Felis catus*)

**ABSTRACT:** The objective of this article was to biologically validate in domestic felids the "field method" for progesterone ( $P_4$ ) fecal extraction by a correlating fecal and serum values. Additionally, fecal  $P_4$  concentrations in different stages of estrous cycle were compared. A total of 16 fecal samples from 13 postpubertal female cats were used. The samples were collected during estrus ( $n=3$ ), luteal phase ( $n=10$ ), and gestation ( $n=3$ ) defined by behavior, vaginal cytology or ultrasonography. Simultaneously blood samples were drawn ( $n=12$ ). The "field extraction method" was carried out in fecal samples and then  $P_4$  was determined by radiimmunoassay in all the cases. Fecal  $P_4$  concentration ranged from 20 to 463 ng/g wet weight. Pearson correlation coefficient between fecal and serum samples was 0.77 ( $p < 0.01$ ). Differences between follicular and luteal phase ( $106 \pm 22.5$  vs.  $304 \pm 47.7$ ;  $p < 0.03$ ), ovulatory vs. non ovulatory cycles ( $313.25 \pm 142.3$  vs.  $118.3 \pm 86.4$ ;  $p < 0.02$ ) were found, although ovulatory vs. gestational cycles could not be distinguished ( $313.25 \pm 142.3$  vs.  $292.6 \pm 130.7$ ;  $p = 0.08$ ). It is concluded that, in the domestic cat, this extraction method is useful to differentiate hyperprogesteronemia from basal  $P_4$ , and that it provides  $P_4$  fecal values highly correlated with serum ones.

**Key words:** fecal extraction, steroid, felid

Fecha de recepción: 07/06/10

Fecha de aprobación: 20/11/10

**Dirección para correspondencia:** A. Risso, Laboratorio de Nutrición Mineral y Fisiología Reproductiva, Cátedra de Fisiología Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina. **E-mail:** arisso@fcv.unlp.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

El aumento del número de gatos domésticos (*Felis catus*), como animal de compañía, ha provocado el crecimiento de la demanda del mejoramiento reproductivo en la especie. De acuerdo a su ciclo estral, la hembra felina se clasifica como poliéstrica estacional y de ovulación generalmente inducida (1). Además de su importancia como mascota, el gato doméstico es un excelente modelo experimental para el estudio de enfermedades humanas (2, 3) y de nuevas biotecnologías reproductivas para felinos silvestres en peligro de extinción (3).

El seguimiento hormonal del ciclo estral es necesario para la evaluación del potencial reproductivo, de distintos tratamientos técnicos o bien para el desarrollo de técnicas de reproducción asistida. Por esta razón, resulta esencial el desarrollo de métodos prácticos para el monitoreo de la actividad endocrina en la especie felina.

Los métodos convencionales para obtener datos de la endocrinología de los animales domésticos requieren análisis de muestras sanguíneas seriadas. La venopunción periférica es una maniobra invasiva que resulta impracticable en animales susceptibles al estrés como los felinos. Así, los gatos requieren normalmente anestesia general para este procedimiento. Sin embargo, el análisis de muestras sanguíneas permite la medición en tiempo real de la hormona nativa representando el "gold standard". Además, en suero o plasma es posible medir todas las hormonas, independiente de su naturaleza bioquímica. En contrapartida, métodos no invasivos como la medición de metabolitos hormonales excretados en orina o heces son alternativas atractivas ya que no requieren manipuleo de los animales y evidencian concentraciones hormonales promedio. No obstante, solo pueden medirse con estas técnicas esteroides o metabolitos gonadales y adrenales y no hormonas en estado nativo o proteicas. Tampoco resultan en tiempo real las mediciones. Así por ejemplo, el desfase temporal de una hormona en sangre hasta que es eliminada es de 4-12 horas para los metabolitos vertidos en la orina y de 12-24 horas para los eliminados por materia fecal.

La determinación de metabolitos hormonales en materia fecal requiere, como paso previo, el proceso de extracción. Mediante este método, los componentes de interés en las muestras son aislados, removidos o concentrados, evitando la interferencia de otras partículas.

El objetivo de este trabajo fue validar biológicamente en el gato doméstico la técnica "a campo" de extracción de  $P_4$  en materia fecal, mediante un estudio de correlación con los valores séricos. Adicionalmente, como objetivo secundario se compararon las concentraciones fecales de  $P_4$  en las distintas fases del ciclo estral. Concretamente,

se hipotetizó que existe una correlación positiva entre los valores de  $P_4$  hallados en sangre y en materia fecal y que las concentraciones fecales de esta hormona permiten determinar el estadio del ciclo estral

## MATERIALES Y MÉTODOS

### ANIMALES

Para este estudio se utilizaron un total de 13 hembras felinas pospúberes, fértiles, entre 2 y 4 años de edad pertenecientes a la Colonia Experimental del Laboratorio de Nutrición Mineral y Fisiología Reproductiva de la Facultad de Ciencias Veterinarias (UNLP). Las gatas estuvieron alojadas en gateras individuales, de acuerdo a las normas internacionales del cuidado de animales de laboratorio, expuestas a fotoperiodo de 14 horas luz y 10 horas de oscuridad y alimentadas con balanceado comercial y agua *ad libitum*. Un gato macho entero, alojado en similares condiciones, se usó para los servicios y para la observación del comportamiento de las hembras

### SEGUIMIENTO COMPORTAMENTAL Y CITOLÓGICO

Las hembras se examinaron físicamente en forma diaria (>1 hora 2 veces al día) para determinar la aparición de estro, el que se corroboró por los hallazgos de comportamiento y citológicos típicos (4, 5). La citología vaginal, como indicador indirecto de las concentraciones estrogénicas, se realizó mediante hisopos óticos embebidos en solución fisiológica, se tiñó con Tinción 15 (Biopur®, Sta Fe, Argentina) y se analizó e interpretó de acuerdo a Mills y col. (4). Conforme a los resultados obtenidos las muestras se clasificaron en fase folicular (estro) o interestro.

### DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

En tres gatas a las que se les dio servicios con el macho, se confirmó la gestación por ultrasonografía (Toshiba Core Vision Pro, Japan, transductor lineal de 8-MHz) a los 21 días luego de los mismos (6).

### MUESTREO FECAL

Se recogieron un total de 16 muestras fecales durante las etapas de estro (día 3; n=3), interestro (25-28 días del primer día del estro; n=10), y gestación (24-26 días del servicio; n=3). Se seleccionaron heces frescas y libres de elementos ajenos a la muestra. Las muestras fueron conservadas en frascos rotulados a -20 °C hasta su procesamiento.

### MUESTREO SANGUÍNEO

Doce a 24 horas antes del muestreo fecal, en 12 de las hembras, se tomaron muestras de sangre únicas por venopunción periférica y bajo

anestesia general, en las etapas de interestro (n= 10), estro (n= 1) y gestación (n= 1). Las muestras se centrifugaron durante 15 minutos, y el suero obtenido fue almacenado a -70°C hasta su procesamiento.

### **EXTRACCIÓN HÚMEDA DE METABOLITOS FECALES**

El método de extracción de metabolitos de las hormonas esteroideas utilizado es el descrito como "método a campo" por Brown y col. (7). Este método ha sido previamente validado biológicamente para estradiol fecal felino (8).

### **DETERMINACIÓN DE PROGESTERONA**

La P<sub>4</sub> fue determinada en duplicado con un radioinmunoensayo (RIA) de fase sólida (Coat-A-Count, DPC®, Los Angeles, USA). Los coeficientes de variación intra e inter ensayo fueron menores al 10 %. La sensibilidad de este ensayo al 95 % de unión, según el fabricante, es de 0,1 ng/ml. De acuerdo a los valores séricos de P<sub>4</sub> los periodos interestros se clasificaron en ovulatorios (> 2ng/ml) y no ovulatorios (< 2ng/ml). Los resultados obtenidos en el ensayo en ng/ml se transformaron y expresaron en ng/g de materia fecal húmeda.

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó estadística descriptiva (media ± SEM) de los valores fecales de P<sub>4</sub> obtenidos. Además, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre los valores de P<sub>4</sub> en materia fecal y suero (n= 12). Las diferencias entre las concentraciones de P<sub>4</sub> en las muestras fecales tomadas en fase folicular (n=3) vs. en fase lútea (n=13; preñadas y vacías), ciclos ovulatorios (n= 4) vs. no ovulatorios (n= 6), y ovulatorios (n= 4) vs. gestantes (n=3) se compararon mediante tests de Student. El nivel de significancia se estableció como p< 0.05 (Sigma Stat SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

### **RESULTADOS**

En la totalidad de las muestras la concentración de P<sub>4</sub> varió de 20 a 463 ng/g de materia fecal húmeda. El coeficiente de correlación de Pearson entre los valores hallados en materia fecal y en suero fue de 0,77 (p< 0,01). Las concentraciones fecales de P<sub>4</sub> durante las distintas

etapas del ciclo estral se muestran la Tabla 1. Se encontraron diferencias entre los valores obtenidos en fase folicular vs. fase lútea (p<0,03), ciclos ovulatorios vs. no ovulatorios (p<0,02) pero no entre los ovulatorios vs. gestantes (p = 0,08).

### **DISCUSIÓN**

Para muchas especies, la decisión de medir hormonas en materia fecal o en orina lo determina el hecho de que el material sea fácil de recoger, procesar y analizar. Sin embargo, el modo de excreción también debe considerarse. En el caso de los felinos el análisis urinario de esteroides reproductivos no es una opción viable, ya que los esteroides se excretan casi exclusivamente en las heces (7, 9). Además muchas especies felinas, incluida la doméstica, eliminan la orina en forma de spray o gotitas por lo que la recolección resulta imposible.

Así como los estrógenos, en la especie felina, la mayor parte de progesterona (P<sub>4</sub>) se excreta por heces más que por orina. Sin embargo a diferencia de los primeros, la P<sub>4</sub> no se excreta en su forma nativa (10). En otras especies se describió la presencia de metabolitos no conjugados de epimeros pregnenolona en extractos fecales (11). No obstante en el gato más del 70 % de esteroides son conjugados y pueden ser identificados con RIA de P<sub>4</sub> (12).

Se han descrito variadas técnicas de extracción de esteroides sexuales en las heces de mayor o menor complejidad y número de pasos en los felinos (12-14). Empero, la técnica "a campo" resulta muy sencilla y también fue útil para la determinación del estradiol fecal en el gato doméstico (7, 8).

Hasta donde conocemos, éste es el primer reporte de la validación biológica de esta técnica de extracción para P<sub>4</sub> en el gato doméstico. Si bien los valores absolutos de P<sub>4</sub> en materia fecal aquí obtenidos resultaron menores a los reportados en la bibliografía (>2,0± 0,3 µg/g de materia fecal seca(15); es importante considerar que las diferencias pueden deberse al método de extracción y a la muestra fecal usada por cada laboratorio. En este trabajo en particular, el uso de una técnica de extracción en materia fecal húmeda pudo haber contribuido al hallazgo de valores absolutos inferiores que los reportados previamente (15).

**Tabla 1:** Concentraciones (media ± SEM) fecales de progesterona (P<sub>4</sub>; ng/g) durante las fases folicular y lútea de trece gatas domésticas.

	Fase folicular	Fase lútea		
		No ovulatoria	Ovulatoria	Gestante
P <sub>4</sub> (ng/g)	106 ± 22,5	118 ± 86,4	313,25 ± 142,3	292 ± 130,7

De acuerdo a los resultados aquí obtenidos, la técnica de extracción usada resultó representativa de los valores séricos de esta hormona. Además, esta técnica permitió diferenciar los periodos de hiperprogesteronemia (ciclos ovulatorios y gestación) de los de P<sub>4</sub> basal (estro y ciclos no ovulatorios) del ciclo estral felino. Como era de esperar, y tal como ocurriría en suero alrededor del día 25, no se detectaron diferencias significativas en la P<sub>4</sub> fecal entre las gatas pseudopreñadas (ovuladas y vacías) y las preñadas.

La determinación de P<sub>4</sub> sérica y eventos fisiológicos que indirectamente indican progesteronemia basal (conducta de celo, estro colpocitológico) o elevada (gestación) garantizan claramente la validez de la técnica. Se concluye que en el gato doméstico, la técnica de extracción "a campo" para P<sub>4</sub> fecal, además de sencilla, resulta útil por su alto grado de correlación con los valores séricos y permite diferenciar los periodos de hiperprogesteronemia de los de P<sub>4</sub> basal del ciclo estral.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa Vital can, Argentina por la provisión del alimento de los animales de la colonia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Concannon P, Hodgson B, Lein, D. Reflex LH release in estrous cats following single and multiple copulations. *Biol Reprod* 1980; 23: 111-7.
2. Fox PR, Maron BJ, Basso C, Liu SK, Thiene G. Spontaneously occurring arrhythmogenic right ventriculopathy in the domestic cat: a new animal model similar to the human disease. *Circulation* 2000; 102: 1863-70.
3. O'Brien SJ, Nash WG, Winkler CA, Reeves RH. Genetic analysis in the domestic cat as an animal model for inborn errors, cancer and evolution, en: Migaki G, Desnick RJ, Patterson DF. (Eds.), *Animal Models of Inherited Metabolic Diseases*, *Prog. Clin. Biol Res* 1982; 94: 67-90.
4. Mills JN, Valli VE, Lumsden JH. Cyclical changes of vaginal cytology in the cat. *Can Vet J* 1979; 20: 95-101.
5. Shille VM, Lundström KE, Stabenfeldt GH. Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol-17 $\beta$  concentrations in plasma: relation to estrous behavior and cornification of exfoliated vaginal epithelium. *Biol Reprod*, 1979; 21: 953-63.
6. Mattoon J, Nyland T. Ultrasonography of the Genital System. En: Nyland T, Mattoon J. (eds.) *Veterinary Diagnostic Ultrasound*. WB Saunders, Philadelphia. 1995; 141-64
7. Brown JL, Wakter S, Steinman K. *Endocrine manual for eproductive assessment of domestic and non domestic species*. Conservation and Research Center, Smithsonian's National Zoological Park VA. USA 2008; Pp 62.
8. Risso A, Iglesias M, García Romero G, Valiente C, Diaz J, Corrada Y, Gobello C. Validación biológica de la técnica de extracción a campo de estradiol fecal en el gato domestico (*Felis catus*) *Invet*. 2010; 12(1): 53-58.
9. Shille VM, Wing AE, Lasley BL, Banks JA. Excretion of radiolabeled estradiol in the cat (*Felis catus*, L): a preliminary report. *Zoo Biol* 1984; 3: 2019.
10. Mostl E, Lehmann H, Wenzel U. Gestagens in faeces of minks and cats for monitoring corpus luteum activity. *J Reprod Fertil Suppl* 1993; 47: 540-41.
11. Wasser SK, Monfort SL, Southers J, Wildt DE. Excretion rates and metabolites of oestradiol and progesterone in baboon (*Papio cynocephalus cynocephalus*) faeces. *J Reprod Fertil* 1994; 101: 213-220.
12. Brown JL, Wasser SK, Wildt DE, Graham LH. Comparative aspects of steroid hormone metabolism and ovarian activity in felids, measured non-invasively in feces. *Biol Reprod* 1994; 51: 776-86.
13. Shile MV, Haggerty MA, Shackleton C, Lasley BL. Metabolites of estradiol in serum, bile, intestine and feces of the domestic cat (*Felis catus*). *Theriogenology* 1990; 34: 779-94
14. Graham LH, Raeside JI, Goodrowe KL, Liptrap RM. Measurements of faecal oestradiol and progesterone in non-pregnant and pregnant domestic and exotic cats. *J Reprod Fertil Suppl* 1993; 47: 119-120.
15. Pelican K.M, Brown JL, Wildt DE, Ottinger MA, Howard JG. Short term suppression of follicular recruitment and spontaneous ovulation in the cat using levonorgestrel versus a GnRH antagonist. *General and Comparative Endocrinology* 2005; 144: 110-21.

## TITULACIÓN DE ANTICUERPOS EN ESTURIONES VACUNADOS CONTRA *Streptococcus iniae*

Cattáneo M<sup>1</sup>, Bermúdez J<sup>1</sup>, Assis R<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología. Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay

<sup>2</sup>Laboratório Nacional Agropecuario. Brasil.

**Resumen:** En la cría de peces en cautiverio una de las enfermedades de mayor importancia es la causada por *Streptococcus iniae*. El objetivo de este trabajo fue el estudio de los títulos anticuerpos en esturiones vacunados contra *S. iniae*. El trabajo se realizó en un criadero ubicado en Uruguay, donde se aisló como causante de las muertes a *S. iniae*. Se utilizaron dos vacunas, una producida en Uruguay y otra importada. Los títulos de anticuerpos fueron significativamente superiores en los animales vacunados con respecto a los testigos hasta los 120 días postvacunación.

**Palabras claves:** *Streptococcus iniae*, esturiones, vacuna, anticuerpos.

## ANTIBODY TITER IN VACCINATED STURGERON AGAINST *Streptococcus iniae*

**Abstract:** In captive fish breeding, one of the most important diseases is that caused by *Streptococcus iniae* (*S. iniae*). The aim of this work was the study of antibodies titles sturgeons vaccinated against *S. iniae*. The work was conducted in a sturgeon hatchery located in Uruguay, where the microorganism isolated and characterized as causing the deaths was *S. iniae*. Two vaccines were used, one produced in Uruguay and the other from Israel. The results showed that antibody titers were significantly higher in animals vaccinated respect to witnesses within 120 days.

**Key words:** *Streptococcus iniae*, Sturgeron, vaccine, antibodies.

Fecha de recepción: 26/06/10

Fecha de aprobación: 20/11/10

---

**Dirección para correspondencia:** M. Cattáneo, Departamento de Microbiología. Facultad de Veterinaria. UdelaR. Alberto Lasplacas 1550. CP. 11600. Montevideo. Uruguay. Telfax: 059826227311.

**E-mail:** [catta1973uy@yahoo.es](mailto:catta1973uy@yahoo.es)

---

## INTRODUCCIÓN

En la cría de peces en cautiverio una de las enfermedades de mayor importancia es la producida por *Streptococcus iniae*.

*S. iniae* fue inicialmente aislado en 1976 en delfines amazónicos de agua dulce (*Iniae geoffrensis*) que habitaban en el acuario de San Francisco y Nueva York, los cuales presentaban lesiones cutáneas superficiales. Posteriormente en la década del 80 se aisló en Israel, Taiwán y Estados Unidos el agente etiológico de una meningoencefalitis aguda que afectó a tilapias producidas en cultivos intensivos al que denominaron *Streptococcus shiloi* y que luego por pruebas fenotípicas y genotípicas demostraron que se trataba de *S. iniae* (1, 7).

La enfermedad producida por este agente es considerada una zoonosis que en el hombre provoca una infección de los miembros superiores, principalmente en las manos, seguida de una bacteriemia y muerte fulminante. Esto ocurre 24 a 72 horas luego de haber estado en contacto con peces infectados ya sean vivos o muertos (enteros o filetes), frescos o congelados (6). *S. iniae* puede afectar varias especies de peces incluso los peces de mar, pero la tilapia es la especie más afectada. En cultivos de esta especie la enfermedad produce una mortalidad entre 30 y 50 % de la población. Esta enfermedad está presente en Israel, Australia, Japón y Estados Unidos. Las pérdidas económicas ocasionadas por *S. iniae* se estiman superiores a los 10 millones de dólares anuales en Estados Unidos y 100 millones de dólares a nivel mundial.

La infección se presenta como pequeñas lesiones de color rojo en piel, seguido de exoftalmia y septicemia, aislándose la bacteria en sangre, cerebro, riñón e hígado. Los animales se observan letárgicos y con pérdida de peso, en abdomen presentan líquido hemorrágico. Hay esplenomegalia, hígado friable y en el cerebro se observa congestión difusa con líquido cefalorraquídeo hemorrágico (4, 7, 6, 2).

El objetivo de este trabajo fue la evaluación de los títulos de anticuerpos en esturiones

vacunados contra *S. iniae* en un establecimiento dedicado a la cría de estos peces, ubicado en Uruguay. En ese criadero se aisló y tipificó a *S. iniae* como causante de un 30 a 35 % de mortalidad anual de peces.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos especies de esturiones, una rusa (*Acipenser gueldenstaedtii*) y otra siberiana (*Acipenser baerii*). Los peces tenían un peso promedio de 3 kg y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura, alimentación y manejo.

Se trabajó con 5 grupos de peces (tabla 1) y se utilizaron 2 vacunas de diferentes orígenes, una producida en Uruguay (vacuna A) y otra importada (vacuna B). La vacuna A consistió en un cultivo de 24 horas de crecimiento en un medio a base de peptona, glucosa, extracto de levadura y un buffer fosfato. El cultivo se mantuvo a 37 °C con agitación y aire por profundidad, cuando se obtuvo una concentración de  $9 \times 10^9$  UFC/ml se inactivó con formalina al 0,3 % durante 7 días. Se controló la inocuidad y esterilidad y se utilizó un adyuvante oleoso. La vacuna B era una bacterina también con adyuvante oleoso. A los grupos 1 y 2 se aplicó una sola dosis de la vacuna A en el mes de mayo, al grupo 3 dos dosis, la primera en el mes de enero con la vacuna B y la segunda el mes de mayo con la vacuna A, y al grupo 4 una sola dosis de la vacuna B en el mes de mayo. El grupo 0 no se vacunó (tabla 1). La dosis administrada de ambas vacunas fue de 1 ml/kg vía intraperitoneal.

Se realizó la extracción de sangre por vía intravenosa de los grupos 1 y 3 el día cero, de todos los grupos a los 30, 60, 120 días post vacunación y a los 180 días a los grupos 1 y 4. La sangre se remitió refrigerada, identificada y en tubos de plásticos con tapa rosca, luego en el laboratorio se centrifugaron, se extrajo el suero y se guardaron por triplicado a -70 °C.

La titulación de los sueros se realizó con la técnica de aglutinación en placa descrita por Van Der Walt (8). Debido a la ausencia de sue-

Tabla 1. Descripción de los grupos.

Grupos	Vacuna utilizada	Especie de esturión	Sexo	Nº de peces por grupo	Nº de peces muestreados
0	Control sin vacunar	Esturión siberiano ( <i>Acipenser baerii</i> )	Hembra	545	30
1	Vacuna A	Esturión siberiano ( <i>Acipenser baerii</i> )	Hembra	102	30
2	Vacuna A	Esturión ruso ( <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> )	Macho	253	30
3	Vacuna B + A	Esturión siberiano ( <i>Acipenser baerii</i> )	Hembra	148	30

ros controles positivos contra *S. iniae* se elaboró un suero hiperinmune en conejos con el fin de utilizarlo como control positivo en las pruebas serológicas.

El antígeno utilizado en la técnica de aglutinación se realizó según Wetherrell & Bleiwies (9). El método estadístico utilizado fue la prueba T de comparación de medias con un nivel de confianza del 95 % (3).

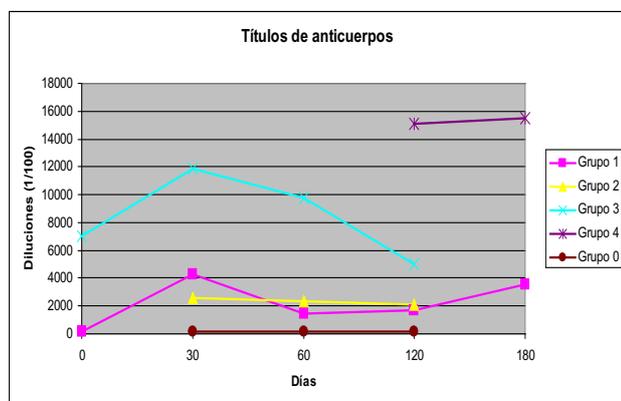
## RESULTADOS

Los títulos de anticuerpos de los peces vacunados y no vacunados se presentan en la tabla 2 y figura 1.

Tabla 2. Títulos promedios de anticuerpos en unidades internaciones por ml.

Grupos	Día 0	Día 30	Día 60	Día 120	Día 180
1	155	4240	1467	1667	3520
2	-	2613	2320	2107	-
3	7000	11893	9733	5013	-
4	-	-	-	15117	15467
0	-	137	137	131	-

Figura 1. Títulos de anticuerpos de todos los grupos.



## DISCUSIÓN

De acuerdo con el estudio estadístico, se verificó que los títulos de anticuerpos fueron significativamente superiores ( $p < 0,05$ ) en los animales vacunados con respecto a los testigos hasta los 120 días.

En los grupos que recibieron una dosis de vacuna no hubieron diferencias significativas de títulos entre las especies y sexos de los esturiones estudiados ( $p > 0,05$ ). Se observó que con la revacunación los títulos fueron significativamente superiores a los encontrados con una sola dosis ( $p < 0,05$ ), lo que indica que la revacunación sería necesaria para mantener niveles altos de anticuerpos.

Cuando se comparan los títulos obtenidos de las vacunas A y B (grupos 1, 2 y 4), se observa

que la vacuna B tuvo una mayor respuesta inmune. Esto podría haber ocurrido debido a que las bajas temperaturas son inmunosupresoras en los peces (5), y siendo que, la vacuna B fue aplicada en el mes de enero, con una temperatura ambiental entre 25-30 °C, y la vacuna A en mayo con una temperatura entre 12-15 °C.

A pesar de que los títulos de anticuerpos con la vacuna B fueron notoriamente superiores, se verificó que con ambas vacunas se obtuvo una buena respuesta inmune. De este modo, como la vacuna A es producida en Uruguay, no siendo necesaria su importación y consecuentemente tener un menor costo, se decidió aplicarla en los animales de producción con el objetivo de controlar la infección. Luego de transcurrido un año de su utilización, se verificó que la mortalidad de esturiones en el criadero disminuyó de un 30-35 % a un 5 %. Este es el primer estudio en donde se utiliza esta técnica para evaluar títulos de anticuerpos en esturiones vacunados contra *S. iniae*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bacharch G, Zlotkin A, Hurvitz A, Evans DL, Eldar A. Recovery of *Streptococcus iniae* from diseased fish previously vaccinated with a *Streptococcus* vaccine. Applied and Environmental Microbiology. 2001; 67 (8): 3756-3758.
- Baiano JCF, Tumbol RA, Umapaty A, Barnes AC. Identification and molecular characterisation of a fibrinogen binding protein from *Streptococcus iniae*. BMC Microbiology. 2008; 8: 67.
- Box GEP, Hunter WG, Hunter JS. Estadística para investigadores. Editorial Reverté, S.A. 2005, p.19-155.
- Fuller JD, Bast DJ, Nizet V, Low DE, Azavedo JCS, Kolman H. Primary humoral response in siberian sturgeon after exposure to anti-furunculosis bacterin. Czech. J. Anim. Sci. 2002; 47 (5):183-188.
- Kolman H. Primary humoral response in siberian sturgeon after exposure to anti-furunculosis bacterin. Czech. J. Anim. Sci. 2002; 47(5):183-188.
- Locke JB, Colvin KM, Datta AK, Patel SK. *Streptococcus iniae* capsule impairs phagocytic clearance and contributes to virulence in fish. Journal of Bacteriology. 2007; 189 (4):1279-1287.
- Romano LA, Mejía J. Infección por *Streptococcus iniae*: una enfermedad emergente que afecta a peces de cultivo y a humanos. Revista AquaTIC. 2003; 18:25-32.
- Van Der Walt ML. The demonstration of the k-antigen of *Campylobacter fetus venerealis* using a microtitre agglutination test. Onderstepoort J. Vet. Res. 1987; 54: 613-615.
- Wetherrell J, Bleiwies AS. Antigens of *Streptococcus mutans*; characterization of a polysaccharide antigen from walls of strain GS-5. Infection and immunity. 1975; 12(6): 1341-1348.

# COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DE OXITETRACICLINA Y TILMICOSINA EN EL TRATAMIENTO METAFILÁCTICO DE LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA BOVINA EN ANIMALES DE FEED LOT

Fazzio LE<sup>1</sup>, Landoni MF<sup>2</sup>

1. Cátedra de Clínica de Grandes Animales.
2. Cátedra de Farmacología, Farmacotecnia y Terapéutica.  
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

**RESUMEN:** El presente estudio evaluó la eficacia de oxitetraciclina y tilmicosina como tratamiento metafiláctico de la ERB. Los animales, 1473 terneros con pesos entre 92 a 155 kg, fueron divididos al azar en tres grupos. Un grupo recibió oxitetraciclina a la dosis de 40 mg/kg, otro tilmicosina, a la dosis de 10 mg/kg y el último (control) no recibió tratamiento. En los grupos tratados metafilácticamente el número total de enfermos fue significativamente menor que en el grupo control ( $P < 0.05$ ). La diferencia entre los grupos oxitetraciclina y tilmicosina en el número de animales que enfermaron no fue estadísticamente significativa. Desde el punto de vista económico, el costo por tratamiento metafiláctico con oxitetraciclina fue menor que el de tilmicosina (0,89 y 2,76 U\$D/100 kg peso vivo, respectivamente). Sin embargo, la aplicación de oxitetraciclina fue más complicada por los grandes volúmenes a administrar, lo que obligó a la inyección en varios puntos.

**PALABRAS CLAVES:** enfermedad respiratoria bovina, metafilaxia, terneros, feed lot.

## COMPARISON OF THE EFFECTIVENESS OF A METAPHYLACTIC TREATMENT WITH OXYTETRACYCLINE AND TILMICOSIN ON BOVINE RESPIRATORY DISEASE IN FEED LOT CALVES

**ABSTRACT:** The present study has evaluated the efficacy of a metaphylactic treatment with oxytetracycline and tilmicosin on bovine respiratory disease. Animals, 1473 calves weighting 92 to 155 kg, were randomly divided into three groups. One of the groups received oxytetracycline at a dose rate of 40 mg/kg, the second tilmicosin at a dose rate of 10 mg/kg and the remaining not treatment (control group). The amount of diseased animals was significantly ( $p < 0.05$ ) lower on groups receiving metaphylactic treatment. Statistically significant differences were not observed between oxytetracycline and timicosin treated groups. From the economic point of view, the cost of the metaphylactic treatment with oxytetracycline was lower than with tilmicosin (0.89 and 2.76 U\$S/100 kg, respectively). However, administration of oxytetracycline, due to the large volumes required that lead to multiple injections, was more complex.

**KEY WORDS:** bovine respiratory disease, metaphylaxis, calves, feed lot

Fecha de recepción: 08/07/10

Fecha de aprobación: 20/11/10

**Dirección para correspondencia:** L. Fazzio, Cátedra de Clínica de Grandes Animales. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

**E-mail:** fazzio@fvc.unlp.edu.ar

## INTRODUCCION

La enfermedad respiratoria bovina (ERB) es la principal entidad que afecta bovinos en explotaciones de feed lot al comienzo de la etapa de engorde (1, 2, 3). Esta situación particular se presenta más comúnmente en explotaciones intensivas ya que ingresan terneros jóvenes y están expuestos a diversas situaciones estresantes, entre ellas, viajes prolongados, cambios de alimentación (pastoreo a comederos) y reorganización jerárquica dentro del nuevo hábitat (corral) (4, 5).

Los agentes infecciosos involucrados en los cuadros de ERB incluyen virus y bacterias; dentro de estas últimas *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* son las más comúnmente aisladas, y en consecuencia, el objetivo terapéutico (6, 7, 8). Esta enfermedad tiene importantes consecuencias económicas, debido a la menor ganancia diaria de peso, incremento en días hasta llegar a peso de faena, disminución en la calidad de la carcasa y pérdidas por muerte (9).

El costo-beneficio de la implementación de un evento sanitario juega un rol muy importante dentro de las explotaciones intensivas, siendo de elección las estrategias conducentes a mayor producción al menor costo (10). Para la ERB el tratamiento metafiláctico (tratar el lote cuando al menos un animal presenta signos clínicos de la enfermedad) es una herramienta útil para disminuir el número de animales afectados dentro de una población (11, 12). Numerosos autores han evaluado el uso metafiláctico de diferentes antimicrobianos y, en general, reportan resultados satisfactorios. Entre los antimicrobianos más utilizados en el tratamiento metafiláctico de la ERB se incluyen los macrólidos (tilmicosina y tulatromicina), fenicoles (florfenicol) y tetraciclinas (oxitetraciclina) (4, 10, 11, 13).

Los macrólidos, tienen la particularidad de penetrar y acumularse en las células blancas y por lo tanto mantener niveles efectivos en el foco infeccioso por periodos de tiempo prolongados, esto los transforma en herramientas muy efectivas (14). Otro antimicrobiano con perfil favorable para el uso metafiláctico es la oxitetraciclina (en especial los preparados de larga acción) ya que posee alta liposolubilidad, lo que le permite acceder fácilmente al foco infeccioso y mantenerse en el mismo por un período de tiempo prolongado; esto último se ve aumentado cuando se administra a dosis altas (15).

El objetivo del presente estudio fue comparar la eficacia clínica, relación costo-beneficio y practicidad, del tratamiento metafiláctico de la ERB en terneros de feed lot con oxitetraciclina de larga acción a la dosis de 40 mg/kg y de tilmicosina a la dosis de 10 mg/kg ambos por vía subcutánea.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó entre los meses de junio de 2008 a julio de 2009, en un feed lot comercial con capacidad para 13000 animales ubicado en la localidad de Marcos Paz, provincia de Buenos Aires, Argentina. Se utilizaron 1473 terneros (machos y hembras) de razas cruzas británicas (Hereford y A. Angus) y cruzas indicas (Bradford y Brangus). Todos los animales fueron adquiridos en mercados de concentración con pesos que variaron entre los 92 a 155 kg.

A su llegada al establecimiento los animales fueron alojados en corrales de recepción, donde se les suministró heno de buena calidad y agua. Al momento del arribo y durante las primeras 72 h se verificó la presencia de signos de ERB. Un lote se consideró de riesgo cuando al menos un 10 % de los animales presentaba mala condición corporal, signos de depresión, descarga nasal, presencia de secreciones oculares y tos. Por otro lado, se consideró la duración del viaje, condiciones climáticas y ausencia de registro de antecedentes sanitarios.

Cumplidas las 72 h de descanso y rehidratación, los animales fueron identificados con caravanas numeradas, suministrándoseles una dosis de vacuna polivalente clostridial (Policlostrigen® Biogénesis-Bagó) y antiparasitario (Ivergen®-ivermectina 1%- Biogénesis-Bagó). Posteriormente, los animales fueron divididos al azar en tres grupos. El primer grupo recibió oxitetraciclina base (Maxibiotic® 20% Biogénesis-Bagó) a la dosis de 40 mg/kg por vía subcutánea (grupo OXIT), el segundo tilmicosina (Micotil® Elanco Animal Health), por la misma vía, a la dosis de 10 mg/kg (grupo TIL) y el tercero no recibió tratamiento antimicrobiano de ningún tipo y fue considerado grupo control (grupo CTL). Los animales permanecieron en los corrales asignados (corral 1, 2, 3, 4 y 5) por un lapso de 50 días (momento en que culminó el ensayo), no permitiéndose el ingreso ni egreso de animales.

La alimentación fue a base de granos maíz, expeler de girasol, afrechillo de trigo y núcleo vitamínico mineral. El contenido de fibra de la ración inicial fue del 25 %, el cual fue disminuyendo progresivamente.

Los corrales eran observados dos veces al día (mañana y tarde) por veterinarios y personal entrenado en el diagnóstico de ERB. Los signos clínicos evaluados fueron clasificados en básicos y complementarios. Dentro de los signos básicos se incluyeron: apariencia general del animal y actitud, hiperpnea (> 30/min), presencia de secreción por ollares, temperatura corporal rectal por encima de 39,5 °C. Como signos complementarios: tos, presencia de secreciones oculares, indiferencia al medio, renuencia al movimiento, posición ortopneica y decúbito permanente. El estado clínico de los animales fue clasificado

en cuatro grados: Grado 0 (sin signos), grado 1 (leve, con presencia de los signos básicos), grado 2 (estado moderado, signos básicos acompañados de uno o dos signos complementarios) y grado 3 (estado grave, signos básicos acompañados por más de tres signos complementarios).

Los animales con signos clínicos de la enfermedad fueron tratados en el corral de forma terapéutica con oxitetraciclina base inyectable (Maxibiotic® 20% Biogénesis-Bagó) a la dosis de 40 mg/kg en combinación con el antiinflamatorio no esteroide, meloxicam (Metacam® 20 % Boering Ingelheim) a la dosis de 0.5 mg/kg. A los animales que murieron durante el estudio se les realizó la necropsia correspondiente, tomándose muestras para estudios bacteriológicos.

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante contrastes ortogonales del grupo control con los grupos tratados (CTL vs TRT) y entre los grupos tratados (OXIT vs TIL), aplicando el número de animales en cada grupo como covariable de análisis. En todos los casos se considero significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

En todos los corrales incluidos en el estudio se identificaron animales con ERB pertenecientes al grupo CTL, indicando la presencia de la enfermedad en la población.

En la tabla 1 se presenta la conformación final de los corrales con el número de animales correspondiente a cada grupo de tratamiento ensayado.

En la tabla 2 se presenta el número (y porcentaje correspondiente) de animales que padeció ERB dentro cada grupo experimental y requirió tratamiento terapéutico.

En la tabla 3 se presenta el porcentaje total de animales que desarrollaron un cuadro clínico de ERB en cada uno de los grupos (CTL, OXIT y TIL) y los contrastes respectivos entre CTL vs TRT y entre los tratamientos antimicrobianos (OXIT vs TIL).

En los animales que desarrollaron la enfermedad, el score de estado clínico al momento del tratamiento fue de  $1,16 \pm 0,37$ ;  $1 \pm 0,00$  y  $1,14 \pm 0,38$  para los grupos CTL, TIL y OXIT, respectivamente, no encontrándose diferencias significativas entre los grupos.

En el grafico I se presenta la distribución temporal al momento de la primer administración terapéutica en los animales que presentaron signos clínicos de ERB en los tres grupos experimentales.

Durante el ensayo se registró un animal muerto, en el corral 5, el cual pertenecía al grupo CTL. El cuadro clínico estaba clasificado como grado 1, con una temperatura corporal rectal de

Tabla 1: Número de animales en los diferentes grupos experimentales en los corrales de observación.

Grupos	Corral 1	Corral 2	Corral 3	Corral 4	Corral 5	TOTAL
CTL	108	91	77	101	57	434
OXIT	89	109	70	90	162	520
TIL	80	98	108	124	109	519
TOTAL	277	298	255	315	328	1473

CTL: control, OXIT: oxitetraciclina, TIL: tilmicosina.

Tabla 2. Distribución de animales enfermos de acuerdo al corral y grupo experimental.

Grupos	Corral 1 (%)	Corral 2 (%)	Corral 3 (%)	Corral 4 (%)	Corral 5 (%)	TOTAL
Tratados CTL	7 (6,5)	12 (13,2)	11 (14,3)	9 (8,9)	3 (5,3)	42
Tratados OXIT	2 (2,2)	3 (2,8)	0 (0)	0 (0)	2 (1,2)	7
Tratados TIL	0 (0)	1 (1,0)	0 (0)	0 (0)	1 (0,9)	2
Peso Promedio (kg)	120	130	155	92	93	NC

CTL: grupo control, OXIT: grupo oxitetraciclina, TIL: grupo tilmicosina, NC: no corresponde

Tabla 3. Porcentaje total de animales enfermos dentro de cada grupo experimental y comparación estadística de los grupos.

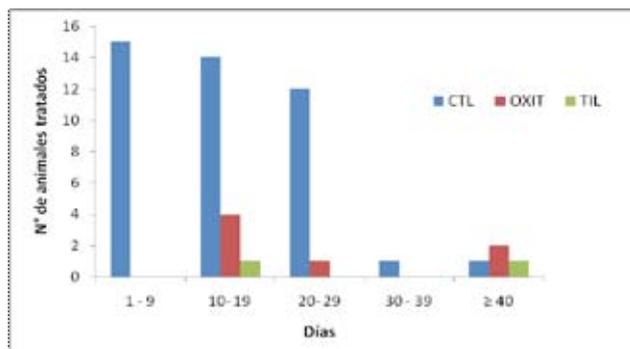
	Tratamiento (%)			SEM	Valor de P	
	CTL	OXIT	TIL		CTL vs TRAT	OXIT vs TIL
<b>Enfermos</b>	8,8	1,2	0,2	1,0	< 0,001	0,47

CTL: grupo control, OXIT: grupo oxitetraciclina, TIL: grupo tilmicosina

TRAT: grupos que recibieron tratamiento antibiótico (oxitetraciclina + tilmicosina).

SEM: error estándar de la media.

Figura I. Distribución temporal del tratamiento terapéutico en los animales que mostraron signos de ERB en los tres grupos experimentales.



CTL: grupo control, OXIT: grupo oxitetraciclina, TIL: grupo tilmicosina.

40,3 °C. La muerte se produjo 5 h post-tratamiento al 6to día de haber ingresado al corral. El diagnóstico anatomopatológico fue de bronconeumonía fibrinosa con afectación de lóbulo craneal, lóbulo medio y región cráneo-ventral del lóbulo caudal de ambos pulmones. La porción afectada del pulmón se observó de color rojo oscuro y al tacto poseía consistencia friable. Los estudios bacteriológicos de las muestras extraídas del lóbulo medio y caudal izquierdo, indicaron la presencia de *Pasteurella multocida* y *Mannheimia hemolítica*. El antibiograma realizado a las cepas aisladas reportó alta sensibilidad a oxitetraciclina, tilmicosina, florfenicol y fosfomicina y sensibilidad intermedia a estreptomycin.

## DISCUSIÓN

El mayor porcentaje de ERB en establecimientos de feedlot en Argentina se presenta en animales recientemente ingresados. En ese momento confluyen diferentes factores estresantes que favorecen la aparición de la enfermedad (11,16). Los resultados obtenidos demuestran que el tratamiento metafiláctico, independientemente del antimicrobiano utilizado, modifica la distribución temporal y el número de animales enfermos por ERB (ver Gráfico I).

En el presente estudio se observaron animales con signos de ERB en el grupo CTL en todos los corrales de observación. Los porcentajes variaron entre el 5,3 a 14,3 %. Este valor es simi-

lar al reportado por nuestro grupo de trabajo en un estudio anterior, donde se comparó la eficacia terapéutica de los dos antimicrobianos en estudio (12). Este valor de incidencia, común para nuestro país, es mucho más bajo que el reportado para países del hemisferio norte de América y África. En este sentido, Jim et al. (9) reportan para un feedlot comercial en Alberta, Canadá, una tasa de incidencia en el rango de 27 a 32 %, Daniels et al. (11) para el estado de Arizona, USA, valores cercanos al 47 %, mientras que Thompson et al. (17) reportan para la provincia de Gauteng, Sudáfrica, una incidencia del 23 %. Las causas de las diferencias en la incidencia de ERB son difíciles de explicar; podrían estar relacionadas a la mayor virulencia de los agentes etiológicos de la ERB así como, a las diferencias de manejo en los distintos países. Es importante remarcar que *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* son habitantes normales de la nasofaringe, y su patogenicidad es consecuencia de la colonización del tracto respiratorio inferior. La capacidad de estas bacterias de colonizar esta zona depende de fallas en el sistema inmune, las cuales están relacionadas con los niveles de estrés al que los animales se ven sometidos (5). Por otro lado se cita a *Mycoplasma bovis* como causa emergente y ha sido incluido en la patogenia de ERB (18). Este es un punto importante que diferencia nuestro país con países donde ERB posee más alta incidencia. En Argentina *Mycoplasma spp.* no es, a la fecha, un aislamiento habitual ni es frecuente encontrar lesiones compatibles con este microorganismo en los estudios histopatológicos. Esto no es así en países como Canadá o USA, en los cuales *Mycoplasma bovis* es el principal agente aislado de lavajes bronco pulmonares y de muestras recolectadas en la necropsia (4,18). Esta incidencia diferencial de *Mycoplasma spp.*, podría ser la explicación de la baja incidencia de ERB en nuestro país, ya que *Mycoplasma bovis* actuaría como agente perpetuante produciendo lesiones caseonecroticas difíciles de resolver, colonizando zonas previamente lesionadas por otros agentes infecciosos (18, 19).

En los grupos tratados metafilácticamente con OXIT y TIL el número total de enfermos fue significativamente menor comparado con el grupo CTL en todos los corrales; es de destacar lo observado en los corrales 3 y 4 donde no se

presentaron casos en los grupos tratados con OXIT y TIL, mientras que se observó un alto porcentaje de animales enfermos dentro del grupo CTL. Esto demuestra la eficacia del tratamiento metafiláctico frente a ERB independientemente del antimicrobiano elegido. La eficacia observada en el presente estudio es significativamente mayor comparada con la reportada para estos fármacos por otros autores (11, 13). En el mismo sentido Booker *et al.* (10) informan una eficacia menor del tratamiento metafiláctico, aún cuando complementaban la terapia con antimicrobianos en la ración.

Es importante remarcar que la diferencia entre el grupo OXIT y TIL en el número de animales que enfermaron (1,2 y 0,2 %, respectivamente) no fue significativa desde el punto de vista estadístico. Asimismo, el porcentaje de animales con signos de enfermedad que debieron ser tratados es significativamente menor al reportado por otros autores que utilizaron OXIT o TIL de forma metafiláctica. Booker *et al.* (10) informan que un 14,04 % de animales requirieron tratamiento luego de la administración metafiláctica de TIL, mientras que este valor fue de 17,02 % cuando se utilizó OXIT. La causa de estas diferencias, en el caso de OXIT, podría ser consecuencia de la menor dosis utilizada en el mencionado estudio (30 mg/kg). Por otro lado, se debe considerar la presencia de *Mycoplasma spp.*, el cual al inducir importantes lesiones en el parénquima pulmonar reduciría la capacidad de penetración de los antimicrobianos (18).

Todos los animales que mostraron signos de ERB (independientemente del grupo al que pertenecían), se recuperaron en forma completa tras la administración terapéutica de oxitetraciclina en monodosis. Otros autores (10) informan que tras la administración metafiláctica de TIL y OXIT un 14 % y 17 %, respectivamente, requirieron tratamiento terapéutico; de ese porcentaje, el 38 % requirió una segunda dosis.

El único animal que murió durante el ensayo lo hizo 5 horas post-tratamiento lo que indicaría un fallo en la detección precoz de los signos clínicos de ERB más que en la eficacia del antimicrobiano utilizado. Cabe aclarar que el antibiograma de los aislamientos procedentes de este animal reportaron que las cepas bacterianas presentes eran sensibles a los antibióticos utilizados en el presente estudio.

Desde el punto de vista económico, el costo por tratamiento metafiláctico con OXIT fue sustancialmente menor que el de TIL (0,89 y 2,76 U\$D/100 kg peso vivo, respectivamente), aún cuando la dosis utilizada, 40 mg/kg, es el doble de la dosis utilizada habitualmente para el tratamiento de ERB en bovinos.

Desde el punto de vista práctico el tratamiento con TIL, comparado con la aplicación de

OXIT, fue rápido y fácil. La administración de OXIT, debido a la alta dosis y baja concentración de los preparados comerciales disponibles en Argentina, implicó la administración de grandes volúmenes (por ejemplo, para animales de 155 kg -como los del corral 3- se debían administrar 60 ml), esto obligó a dividir la dosis en al menos 4 puntos de aplicación, mientras que para TIL la dosis para animales de ese peso era de 5 ml, lo que permitía la aplicación en un solo punto.

Basado en los resultados del presente estudio, la administración metafiláctica de TIL, a la dosis 10 mg/kg y de OXIT, a la dosis de 40 mg/kg fueron igualmente efectivas para prevenir cuadros de ERB en animales de feed lot. Desde el punto de vista de los costos de tratamiento OXIT es ventajosa, sin embargo la menor practicidad en la administración implica un costo adicional en lo referente al manejo de los animales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Costa EF, Giuliadori MJ, Dezillio M, Romero JR. Mortalidad en un feedlot de La Plata (Buenos Aires, Argentina): causas, distribución mensual e impacto económico. *Analecta Vet* 2003; 23: 13-19.
- Kelly AP, Janzen ED. A review of morbidity and mortality rates and disease occurrence in North America feedlot cattle. *Can Vet J* 1986; 27: 496-500.
- Schunicht OC, Booker CW, Guichon PT, Jim GK, Wildman BK, Pittman TJ, Perrett T. An evaluation of the relative efficacy of tulathromycin for the treatment of undifferentiated fever in feedlot calves in Nebraska. *Can Vet J* 2007; 48(6): 600-606.
- Catry B, Duchateau L, Van De Ven J, Laevens H, Opsomer G, Haesebrouck F, De Kruif A. Efficacy of metaphylactic florfenicol therapy during natural outbreaks of bovine respiratory disease. *J Vet Pharmacol Therap* 2008; 31: 479-487.
- Cusack PM, Mc Meniman N, Lean IJ. The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. *Aust Vet J* 2003; 81: 480-487.
- Dabo SM, Taylor JD, Confer AW. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Anim Health Res Rev* 2007; 8:129-150.
- Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* 9ª Edición. Ed. Mc Grow- Hill. 2002; pp 514-547.
- Rice JA, Carrasco-Medina L, Hodgins DC, Shewen PE. *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Anim Health Res Rev* 2007; 2: 117-128.
- Jim GK, Booker CW, Guichon PT, Schunicht OC, Wildman BK, Johnson JC, Lockwood PW. A comparison of florfenicol and tilmicosin for the treatment of undifferentiated fever in feedlot calves in western Canada. *Can Vet J* 1999; 40(3): 179-184.
- Booker CW, Abutarbush SM, Schunicht OC, Jim GK, Perrett T, Wildman BK, Guichon PT, Pittman TJ, Jones C, Pollock CM. Evaluation of the efficacy of tulathromycin as a metaphylactic antimicrobial in feedlot

**L. Fazio y col.**

calves. *Vet Therp* 2007. 8 (3): 183-200.

11. Daniels TK, Bowman JGP, Sowell BF, Branine ME, Hubbert ME. Effects of metaphylactic antibiotics on behavior of feedlot calves. *Profess Anim Scientist* 2000; 16 (4): 247-253.

12. Fazio LE, Landoni MF. Estudio comparativo de la eficacia de oxitretaciclina a la dosis de 40 mg/kg y tilmicosina, combinadas con meloxicam, en el tratamiento de enfermedad respiratoria bovina en animales de feed lot. *Analecta Vet* 2009; 29 (1): 20-24.

13. Van Donkersgoed J, Merrill JK, Hendrick S. Comparative efficacy of tilmicosin versus tulathromycin as a metaphylactic antimicrobial in feedlot calves at moderate risk for respiratory disease. *Vet Therap* 2008; 9 (4): 291- 297.

14. Lawrence K. Micotil: safe use and administration. *Vet Rec* 2007; 161: 731-740.

15. Terhune TN, Upson DW. Oxytetracycline pharmacokinetics, tissue depletion, and toxicity after administration of a long acting preparation at double the label dosage. *J Am Vet Med Assoc* 1989; 194 (7): 911-917.

16. Duff GC, Galyean ML. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *J Anim Sci* 2007; 85: 823-840.

17. Thompson P, Stone A, Schultheiss W. Use of treatment records and lung lesion scoring to estimate the effect of respiratory disease on growth during early and late finishing periods in South African feedlot cattle. *J Anim Sci* 2006; 84:488-498.

18. Caswell JL, Archambault M. *Mycoplasma bovis* pneumonia in cattle. *Anim Health Res Rev* 2007; 8 (2): 161-186.

19. Khodakaram-Tafti A, López A. Immunohistopathological Findings in the Lungs of Calves Naturally Infected with *Mycoplasma bovis*. *J Vet Med A* 2004; 51: 10-14.

## SÍNDROME EROSIVO ULCEROSO GÁSTRICO ASOCIADO A ESTRÉS EN UNA DANTA (*Tapirus terrestris*). REPORTE DE UN CASO EN VENEZUELA

Gomez R MS<sup>1</sup>, Morales B AA<sup>2</sup>, Garcia F<sup>2</sup>, Alvizu E<sup>3</sup>, Chiachio N<sup>3</sup>, Morales I<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Agronomía. <sup>2</sup>Departamento de Patología.  
Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Central de Venezuela.  
<sup>3</sup>Parque Zoológico "El Pinar" Caracas, Venezuela.

**RESUMEN:** Con el objetivo de describir y reportar el síndrome erosivo ulceroso gástrico asociado a estrés en Venezuela en una danta (*Tapirus terrestris*) de sexo macho, de 6 años de edad, con antecedentes de anorexia, depresión, colapso, shock y muerte. Se practico un estudio anatomopatológico (técnica de necropsia e histopatología). Bajo condiciones de cautiverio en el Zoológico "El Pinar" de Caracas, Venezuela. Secciones de mucosas gástrica fueron tomadas en todas sus regiones (cardial, fundica y pilórica), siendo fijadas a formalina al 10%, procesándolas por los métodos convencionales de procesamiento histológico. Los resultados macroscópicos fueron dilatación gástrica gaseosa, gastritis crónica erosiva con microulceras focales y úlceras tipo lineales desde la región cardinal hasta el fondo del estomago, hiperqueratosis paraqueratótica focal en la región cardinal. Los cortes histológicos de mucosa gástrica evidenciaron gastritis crónica erosiva y ulcerosa caracterizada por un infiltrado linfocitario en la (lamina propia), con grado variable de exposición de la submucosa. El estudio morfométrico de mucosa gástrica revelo pérdida del epitelio gástrico en la región fundica. El promedio de daño fue de  $220,21 \pm 30,28 \mu\text{m}$ . En conclusión se reporto un caso gastritis crónica erosiva ulcerosa en una danta asociado a estrés.

**Palabras claves:** gastritis, erosión, úlceras, estrés, *Tapirus terrestris*.

## GASTRIC EROSIVE ULCER SYNDROME STRESS ASSOCIATED IN A *Tapirus terrestris*. REPORT OF CASE IN VENEZUELA

**ABSTRACT:** The aim of this study was to report of gastric ulcer syndrome associated with erosive stress in Venezuela in a Tapir (*Tapirus terrestris*) Sex male, 6 years old with a history of anorexia, depression, collapse, shock and death. It is practical histology (necropsy and histopathology). Under conditions of captivity at the Zoo "El Pinar" in Caracas, Venezuela. Sections of gastric mucosa were taken in all regions (cardiac, fundic and pyloric), being set at 10 % formalin, processed by conventional methods of histological processing. The results were macroscopic gaseous gastric dilation, chronic erosive, gastritis and ulcer focal line type of the cardiac region and of the bottom of the stomach, focal parakeratotic hyperkeratosis in the cardiac region. The histology of gastric mucosa showed erosive gastritis and chronic with ulcer characterized by lymphocytic infiltration in the (lamina propria), with varying degree of exposure of the submucosa. The morphometric study revealed gastric mucosal epithelial loss gastric fundic region. The average damage was  $220.21 \pm 30.28 \mu\text{m}$ . In conclusion a case was reported chronic erosive gastritis in a tapir associated with stress.

**Keywords:** gastritis, erosion, ulcer, stress, *Tapirus terrestris*.

Fecha de recepción: 25/06/10

Fecha de aprobación: 20/11/10

**Dirección para correspondencia:** Mariam Gomez Rivas. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Venezuela.

**E-mail:** sarahygoomez@hotmail.com

## INTRODUCCION

El estrés es una de las mayores preocupaciones para los profesionales que trabajan en medicina de la conservación de fauna silvestre (2). Se ha definido el estrés como un estímulo interno (psicológico o psicogénico) o medioambiental que inicia un cambio adaptativo en un animal (2). Se han identificado entidades como la miopatía de captura, el síndrome de estrés porcino y el estrés calorico (2). Sin embargo existen pocos ejemplos en la literatura con animales sudamericanos (2).

El estrés es considerado multifactorial, incluye: múltiples enfermedades, los cambios en el manejo alimenticio, el ejercicio y el hacinamiento. Cualquier tipo de estrés, ya sea físico o neurogénico, produce un aumento súbito de la secreción de hormona adrenocorticotrópica (ACTH) por la hipófisis anterior, seguida en minutos por un aumento de la secreción cortico-adrenal de cortisol.

Cuando el estrés es mantenido en el tiempo, es capaz de producir una serie de efectos deletéreos sobre la salud, siendo uno de ellos el desarrollo de gastritis y úlceras gástricas. El estrés agudo produce inhibición de la secreción de prostaglandina, incrementando los niveles de CIH, disminuyendo la motilidad del tránsito en el intestino delgado; estos cambios se deben por un lado al descenso del tono parasimpático y al aumento del tono simpático, que disminuye el flujo sanguíneo en el tracto gastrointestinal (4). La integridad de la mucosa gástrica se conserva a través de mecanismos mucosos de defensa que equilibran los efectos ulcerogénicos del ácido y la pepsina.

Al existir un desequilibrio entre los mecanismos de defensa de la mucosa gástrica y las fuerzas nocivas, dependiendo de la etiología, se va a desencadenar el desarrollo de úlceras gástricas (1). La respuesta vascular inicial a la gastritis es vasoconstricción de los capilares en el área lesionada, después se presenta una vasodilatación y aumento de la permeabilidad de los capilares venosos (1).

Los leucocitos, las plaquetas y los eritrocitos comienzan su adhesión al endotelio. La liberación de mediadores químicos durante el proceso de la inflamación perpetúa la respuesta inflamatoria (1). Al incrementarse la secreción de ácidos van a producir un aumento en la concentración de hidrogeniones, disminuyendo el pH, esta acidosis va a generar daño sobre la mucosa gástrica.

En virtud de esta importante área de estudio se plantea como objetivo describir y reportar el síndrome erosivo ulceroso gástrica en una danta (*Tapirus terrestris*) asociado a estrés en Venezuela.

## MATERIALES Y METODOS

Se estudio una danta (*Tapirus terrestris*), de sexo macho, correspondiente a 6 años de edad, bajo condiciones de cautiverio en el Parque Zoológico "El Pinar" Caracas, Venezuela. Con historia de anorexia, depresión, colapso, shock, y finalmente la muerte del mismo, por tal motivo se le practicó la técnica de necropsia, donde se tomaron secciones de tejido gástrico de la mucosa escamosa (región cardial), glandular (región fúndica) y región pilórica. Las secciones de mucosa gástrica fueron fijadas en formalina al 10 % y se procesaron por los métodos convencionales de procesamiento histológico. Se realizó el análisis morfológico de la mucosa gástrica mediante los programas informáticos para análisis de imágenes y el "Image tool" (3).

## RESULTADOS

Los hallazgos macroscópicos arrojaron dilatación gástrica gaseosa, gastritis crónica erosiva con microulceras focales y úlceras tipo lineales desde la región cardial hasta el fondo del estomago. Los cortes histológicos de mucosa gástrica evidenciaron importante respuesta inflamatoria por infiltrado mixto predominantemente mononuclear linfocitario, en la submucosa. Congestión marcada y hemorragia focal. Edema de la lamina propia submucosa. Pérdida focal de la continuidad de la mucosa gástrica con necrosis de coagulación del epitelio gástrico y exposición de los estratos inferiores lamina propia. Hiperqueratosis paraqueratótica focal en la región cardial. El estudio morfológico reveló una pérdida significativa de epitelio gástrico en los cortes histológicos estudiados con prevalencia en la región fúndica. El promedio de daño fue de  $220,21 \pm 30,28 \mu\text{m}$ .

## DISCUSIÓN

En todas las regiones de la mucosa gástrica (región escamosa, fúndica y pilórica) se obser-



Figura 1.- Danta (*Tapirus terrestris*).



Figura 2.- DANTA (*Tapirus terrestris*) estomago erosión en el fundus gástrico (flecha).

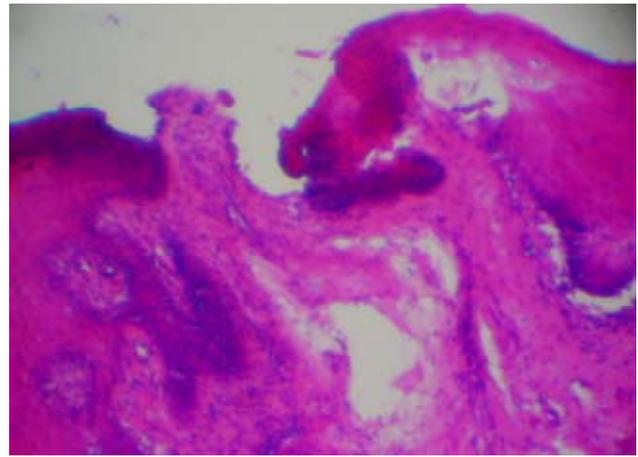


Figura 5.- Danta (*Tapirus terrestris*) mucosa gástrica con erosión y microulceración focal (flechas). Hematoxilina y eosina 10X.



Figura 3.- Danta (*Tapirus terrestris*) estomago con ulceración tipo lineal en los límites del margo plicatus (flecha).

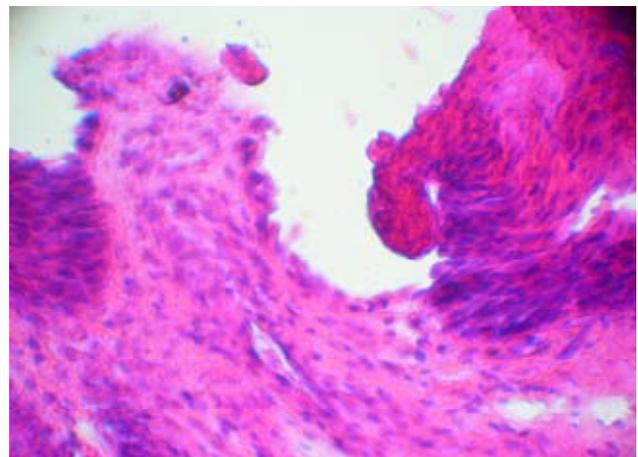


Figura 6.- Danta (*Tapirus terrestris*) mucosa gástrica con erosión y microulceración focal (flechas). Hematoxilina y eosina 20X.

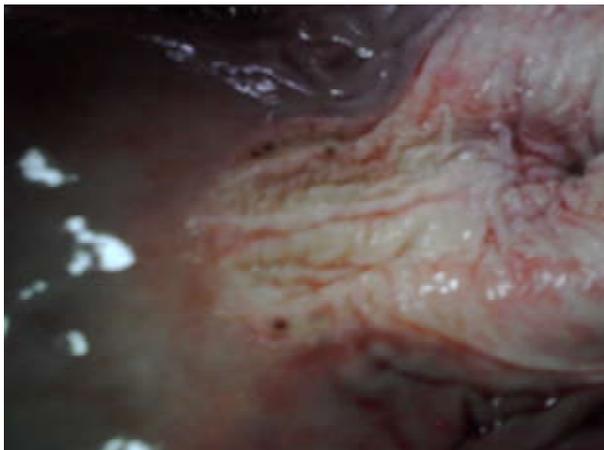


Figura 4.- Danta (*Tapirus terrestris*) estomago con ulceración tipo lineal en los límites del margo plicatus (flechas).

varon lesiones inflamatorias. Existen escasos reportes en la literatura de úlceras en *T. terrestris*. Las úlceras gástricas pueden originarse por diversas causas, pero todas tienen en común la alteración entre el equilibrio de los agentes citoprotectores (moco) y los agentes injuriantes

(CIH y pepsinogeno) (1). En situaciones de estrés o cuadros depresivos, se produce una descarga vagal, la cual genera una hiperestimulación del sistema nervioso autónomo parasimpático, además de generar la liberación de catecolaminas y esteroides endógenos y serotonina, aumentando la secreción de CIH y pepsinógeno de manera exacerbada ocasionando una lesión aguda en la mucosa gástrica (1).

La danta según la [Lista Roja de la IUCN](#) su estado de conservación es “vulnerable” (VU), pero se encuentra “críticamente amenazada” (CR) (6). El tipo de amenaza que sufre es la destrucción de su hábitat, la caza, el hecho de las poblaciones estén aisladas y en declive (5). El manejo, la nutrición, la higiene, sanidad y las condiciones ambientales deben ser estudiadas en detalles y mejoradas en pro de la conservación de especies *ex situ*.

Los hallazgos clínicos, macroscópicos e histológicos evidencian en el caso estudiado importantes cambios morfológicos en la mucosa gástrica específicamente: gastritis, erosión y ul-

ceras con grados variables de severidad consistentes con el síndrome erosivo ulceroso gástrico asociado a estrés en Venezuela. Estos resultados corresponden al primer reporte del síndrome ulceroso gástrico en un *T. terrestris* bajo condiciones de cautiverio en Venezuela.

## BIBLIOGRAFÍA

1 Cotran, R.; Kumar V. Y Collins T. Robbins. Patología estructural y funcional. 6ta. Ed. Mac Graw-Hill Interamericana. Madrid 2000. 377-853.

2 Falla-B. AC. Ier. Hallazgos clínicos y patológicos de estrés en animales silvestres. Congreso Internacional de Medicina y Aprovechamiento de Fauna Silvestre Neotropical. Agosto 25-27 de 2005. Bogota Colombia. Pagina 1.

3 Karent P, Kubinova L, Krekule I. (1998). STESYS software for computer-assisted stereology. *Physiol. Res.* 47; 271-278.

4 Merritt, A. The equine stomach: A personal perspective (1963-2003). In 49 Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. 2003. New Orleans, Louisiana.

5 Tresguerres J, Benítez E, Cahofeiro M, Cardinali D, Loyzaga P, Lahera J, Martínez J, Mora F, Rodríguez R, Romano M, Tamargo J, Zarco P. 2000 Fisiología veterinaria, 2<sup>da</sup> Edición,

6 Van Der Kolk JH, Van Der Hage MH. A South American tapir (*Tapirus terrestris*) with peritonitis. *Tijdschr Diergeneeskd.* 1999 Jul 15-Aug 1;124(14-15):439-40.

# ENTEROHEMORRHAGIC *E. coli*: VIRULENCE FACTORS AND INFECTION IN CATTLE

Bretschneider G<sup>1</sup>, Pérez SE<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA),  
Estación Experimental Agropecuaria (EEA)-Rafaela, Provincia de Santa Fe, Argentina.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias (UNCPBA-Tandil), Provincia de Buenos Aires, Argentina.  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (CONICET)

**Abstract:** *Enterohemorrhagic E. coli (EHEC) strains constitute a subset of the verotoxigenic E. coli (VTEC) or Shiga toxin (Stx)-producing E. coli (STEC). Within this group, E. coli O157:H7 is the most well-known Stx-producing serotype. EHEC strains produce hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome in humans. Like enteropathogenic E. coli (EPEC) strains, they mediate their pathogenesis through “attaching and effacing” (A/E) lesions. Cattle are the main reservoir of E. coli O157:H7 and they are directly linked to most of the human outbreaks. In this review, the virulence factors involved in the pathogenesis of EHEC strains, especially those participating in the colonization of the bovine intestinal mucosa, are analyzed.*

**Key Words:** EHEC, *E. coli* O157:H7, virulence factors, cattle, colonization

## *E. coli* ENTEROHEMORRÁGICA: FACTORES DE VIRULENCIA E INFECCIÓN EN EL GANADO

**Resumen:** *Las cepas de E. coli enterohemorrágica (EHEC) constituyen un subgrupo de las E. coli verotoxigénicas (VTEC) o E. coli productoras de toxinas Shiga (Stx) (STEC). Dentro de este grupo, E. coli O157:H7 es el serotipo productor de Stx más conocido. Las cepas de EHEC producen colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico en humanos. Al igual que las cepas enteropatogénicas de E. coli (EPEC), estas cepas median su patogénesis a través de lesiones de “adherencia y destrucción” (lesión A/E). El ganado bovino es el principal reservorio de E. coli O157:H7 y se lo asocia directamente a la mayoría de los brotes en humanos. En esta revisión se analizan los factores de virulencia involucrados en la patogénesis de las cepas EHEC, especialmente aquellos que participan en la colonización de la mucosa intestinal de los bovinos.*

**Palabras Clave:** EHEC, *E. coli* O157:H7, factores de virulencia, ganado bovino, colonización

Fecha de recepción: 27/10/09

Fecha de aprobación: 12/10/10

---

**Dirección para correspondencia:** G. Bretschneider. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria (EEA)-Rafaela (2300).

**E-mail:** [gbretschneider@rafaela.inta.gov.ar](mailto:gbretschneider@rafaela.inta.gov.ar)

---

## INTRODUCTION

*Escherichia coli* belongs to the family *Enterobacteriaceae*, which contains mostly motile, Gram-negative bacilli. *E. coli* strains that cause diarrhea are classified into six categories: EPEC (enteropathogenic *E. coli*); EHEC (enterohemorrhagic *E. coli*); ETEC (enterotoxigenic *E. coli*); EIEC (enteroinvasive *E. coli*); EAEC (enteroaggregative *E. coli*); and DAEC (diffusely adherent *E. coli*) (25). EPEC strains are an important cause of diarrhea in developing countries and, as part of their pathogenesis, they mediate the production of "attaching and effacing" (A/E) lesions (25). ETEC strains elaborate enterotoxins, which are the main cause of intestinal secretion. EAEC strains do not secrete enterotoxins and they have the ability to attach to each other in aggregates or in a "stacked-brick" configuration on the surface of host cells *in vitro*. In contrast, DAEC strains produce a diffuse pattern of adherence. EIEC strains are closely related to *Shigella spp.* and they cause invasive inflammatory colitis, dysentery and watery diarrhea (25). Finally, EHEC strains are an important cause of hemorrhagic colitis (HC) and hemolytic uremic syndrome (HUS) in humans. Like EPEC strains, they also cause A/E lesions. EHEC strains constitute a subset of the verotoxigenic *E. coli* (VTEC) or Shiga toxin (Stx)-producing *E. coli* (STEC) because of their ability to produce toxins that are cytotoxic to Vero cells (immortalized monkey kidney cells) and because these toxins are variants of the Shiga toxin produced by *Shigella dysenteriae* serotype 1. Not all STEC are pathogenic; however, based on the original definition, all EHEC are considered pathogenic (29). The incidence of EHEC infection in humans is low even when the prevalence of Stx-producing strains in cattle (the main reservoir) is high, which suggests that Stx production alone may not be sufficient for EHEC infection (8, 27, 60). Therefore, the terms STEC or VTEC are used to characterize bacterial strains that express cytotoxin irrespective of their pathogenicity. Additional factors, such as a pathogenicity island (PAI) called "The Locus of Enterocyte Effacement" (LEE) and the large pO157 plasmid (60) appears to be required for full virulence. Within the EHEC group, *E. coli* O157:H7 is the most well-known Stx-producing serotype (40). *E. coli* O157:H7 is responsible for two-thirds of the EHEC infections in the United States, with the other one-third of cases attributed to non-O157 STEC, mainly O26, O111, O103 and O145 serotypes (27, 57).

## EHEC-ASSOCIATED HUMAN DISEASE

*E. coli* O157:H7 is an emerging zoonotic pathogen that causes HC and HUS. In some cases, humans infected with EHEC strains may remain asymptomatic or exhibit mild, non-bloody

diarrhea (40, 54). In other cases, HC may be the only manifestation of *E. coli* O157:H7 infection, or this condition can progress to HUS (54). HUS occurs most frequently in children younger than 5 years old, after a bloody diarrheal prodrome (40, 54). Elderly and immunocompromised individuals also have a high risk of developing clinical disease (42, 54).

HUS is characterized by non-immune hemolytic anemia, thrombocytopenia and acute renal failure (42). Complications involving the central nervous system (CNS) can also occur in 30 %-50 % of patients. Thrombotic thrombocytopenia purpura (TTP), which has only been reported in adults, was thought to represent a more extensive form of the clinical spectrum that causes HUS (54). However, TTP is now known to involve a process distinct from STEC-induced damage (56). There is no specific treatment for *E. coli* O157:H7 infections, other than supportive therapy and management of complications (54, 56, 57).

## PATHOGENESIS OF EHEC

The infection dose of *E. coli* O157:H7 is low, and the production of Stx is the most important virulence trait responsible for the local and systemic outcomes of infection. Local intestinal damage, which includes microvascular injury, results in bloody diarrhea, whereas HUS results from microvascular injury at extra-intestinal sites, especially in the kidney and brain (40, 56, 60). It has been estimated that the infective dose to cause HUS is <50 organisms. Approximately 10 organisms are able to cause disease in outbreaks associated with non-O157 STEC (27). The incubation period ranges from 1 to 9 days (54, 56, 60) and diarrhea usually lasts for 3 to 7.5 days (54, 56). Clinical symptoms of EHEC infection include severe abdominal cramps, nausea and vomiting. Unlike other bacterial infections causing bloody diarrhea, fever is not always present or it can be very mild (54).

EHEC produces two types of Stx, Stx1 and Stx2. The risk of HUS is higher with *E. coli* O157:H7 isolates containing Stx2 genes, which suggests that this toxin is more virulent than Stx1 (54). There is no evidence of bacteremia in human disease (40). However, Stx production triggers a cascade of coagulative events that results in widespread thrombus formation and systemic disease. It is believed that *E. coli* O157:H7 releases toxins in the bowel and after their absorption into the circulation, they induce vascular endothelial damage (54). The kidney and CNS have high levels of toxin receptor (40, 60). Thus, these organs are particularly targeted during infection. Thrombotic microangiopathy is the main histopathological feature observed in patients with HUS. At the intestinal level, the

most severe abnormalities occur in the cecum and ascending colon. In cases of HC, colonic mucosal edema, erosion and hemorrhages are evident (54).

## TRANSMISSION AND EPIDEMIOLOGY

*E. coli* O157 is a widespread zoonotic, food-borne pathogen, with water-borne, animal-to-person and person-to-person transmission implicated in human outbreaks (42, 59). Infected cattle are the main reservoir of EHEC O157 and other strains (54, 59). Animals colonized by EHEC are difficult to identify since infection of calves, adult cattle and sheep is asymptomatic (53). STEC strains can remain viable in feces for months (8). The presence of *E. coli* O157 in cattle feces represents a serious public health risk due to direct bacterial transmission to people or fecal contamination of food, water and/or the environment (42). Feces of non-bovine species such as sheep, dogs, horses, flies and birds can also contain *E. coli* O157. Vegetables, fruits and inadequately pasteurized milk are other vehicles of infection (59, 60).

Many recent outbreaks of *E. coli* O157:H7 infection have been associated with low pH products (salami, yogurt), highlighting the ability of the bacterium to tolerate acidic pH and survive processes of fermentation and drying (8). Transmission of *E. coli* O157:H7 to humans has been primarily linked to undercooked meat since under these conditions, the bacteria survive and retain pathogenicity. Food can be cross-contaminated by improper handling procedures during manufacturing, storage, marketing and even in the household itself (59).

*E. coli* O157:H7 infection of humans has a peak incidence during warmer months (54). The first outbreaks associated with *E. coli* O157:H7 infection were registered in 1982, in Michigan and Oregon. In both cases EHEC was transmitted by undercooked beef (60). In Europe, serotype O157:H (non-motile), sorbitol-fermenting STEC strains have emerged as a cause of HUS. In South America, *E. coli* O157:H7 infections are endemic, with Argentina being the country with the highest incidence (more than 300 cases each year) (11).

The case-fatality rate of HUS ranges between 0 % and 30 % and the risk of developing HUS after EHEC infection is 2 % to 7 % (59). About 30 % of HUS patients suffer permanent disabilities, including chronic renal insufficiency, hypertension and neurological disorders (60).

## CATTLE AS *E. coli* O157:H7 RESERVOIR

Cattle are considered the main reservoir of *E. coli* O157:H7 strains (8, 42) and they can also harbor non-O157 STEC serogroups (27). Present-

ly, sheep are also considered an important EHEC reservoir (8). It is estimated that 10% to 80% of cattle may carry Stx-producing *E. coli* (60) and because most ground beef is derived from adult cattle, it is critical to reduce *E. coli* O157:H7 in this population (12). In young calves (> 3 weeks old), experimental inoculation of *E. coli* O157:H7 ( $10^{10}$  CFU) does not induce significant clinical disease (13) and the presence of A/E lesions is not readily detected, suggesting that *E. coli* O157:H7 localizes within the intestinal content rather than in the mucosal surface (7).

*E. coli* O157:H7 fecal shedding in healthy cattle is usually transient or intermittent (26, 27) and the prevalence is highly variable. Smith *et al.* (49) determined that the prevalence by pen in feedlot cattle varied from 1 % to 80 %. In other studies, prevalences of 13.4 % in beef cattle and 16.1 % for cull dairy cattle were reported (42). Fegan *et al.* (15) reported no significant differences in prevalence in grain- (15 %) or grass- (10 %) fed cattle. High isolation rates of *E. coli* O157 in mouth and hide samples have been reported, indicating that cattle may have additional sites of bacterial colonization or carriage other than the distal gastrointestinal tract (52). The prevalence of *E. coli* O157:H7 in fecal samples is highest in summer and lowest during winter (27). It is also known that a high percentage of cattle shed the bacterium for a short period of time, which is followed by longer periods of low prevalence within herds (42). The magnitude and duration of fecal shedding of *E. coli* O157:H7 is usually greater in calves than in adults. It is believed that age-related differences in rumen function (concentration of volatile fatty acids [VFA], pH) may contribute to this phenomenon (12). Gastrointestinal disturbances and feeding regimens can also affect the pattern of fecal shedding (42). It has also been established that previous infection does not prevent re-infection against a high-level challenge of *E. coli* O157:H7 (7, 12).

*E. coli* O157:H7 can be horizontally transmitted among cattle (42). Bretschneider *et al.* (5) showed that experimentally infected adult beef cattle shed *E. coli* O157:H7 for 24 days (range of 8-42 days). Similarly, Besser *et al.* (1) reported that the duration of fecal excretion of *E. coli* O157:H7 in naturally infected cattle was < 1 month. Kahitsa *et al.* (26) found that the length of fecal shedding in feedlot cattle ranged from 1 to 4.5 weeks, and peaked during the epidemic phase, which corresponds to times of higher challenge levels. In contrast to the findings by Fegan *et al.* (16), in a sheep model, Kudva *et al.* (28) demonstrated that a dietary change from alfalfa pellet to grass, by itself or in combination with withholding of feed for 24 hours, triggered the excretion of *E. coli* O157:H7 in experimental infected lambs. It was hypothesized that the

dietary shift induced a selective *E. coli* O157:H7 growth in the intestine. They suggested that feed withholding might induce bacterial shedding in animals by triggering the growth of *E. coli* O157:H7 present in the intestine or by increasing the susceptibility to infection. Furthermore, fasting also causes an increase in rumen pH and a drop in VFA concentration, which favor *E. coli* O157:H7 proliferation (53).

## VIRULENCE FACTORS

### LOCUS OF ENTEROCYTE EFFACEMENT (LEE)

PAIs are large regions of chromosomal DNA (10-200 kilobases) that are essential for bacterial pathogenicity. PAIs are usually associated with tRNAs, they have different G+C content and codon usage from the rest of the genome and their borders are marked by repeated sequences or insertion elements (25, 31). The ability to induce A/E lesions is encoded by genes on a 35-kilobase PAI called "The Locus of Enterocyte Effacement" (LEE) (25, 35). LEE 1, 2 and 3 are identical in EHEC and EPEC and they encode products required for type III secretion. LEE 4 encodes the *E. coli* secreted proteins EspA, EspB, EspD and EspF. A further operon contains Tir, its chaperone CesT, and intimin (45). In EHEC, LEE enables bacterial colonization of the intestinal tract (43).

The Ler locus in EHEC and EPEC encodes a regulator of virulence gene expression, which directly modulates genes within the LEE elements in response to environmental signals inside the human gut (21). Therefore, Ler is essential for the formation of A/E lesion.

Quorum sensing (QS) is a mechanism by which bacteria regulate their gene expression in response to cell density, via the production of hormone-like compounds (auto-inducers), which stimulate gene expression (10). QS has been shown to be involved in the regulation of the expression of EPEC and EHEC LEE operons by Ler. However, because of the low infectious dose of EHEC, these strains should detect auto-inducer signals produced by commensal *E. coli* and other bacteria present at high concentration in the large intestine to initiate the expression of virulence factors (25, 40).

### THE TYPE III SECRETION SYSTEM (TTSS)

Four pathways of protein secretion have been described in Gram-negative bacteria (types I to IV). A fifth system, involved in conjugal transfer of plasmids, is not well-characterized (15, 18, 23). For some Gram-negative pathogens, the TTSS is an essential virulence determinant (23) required for the delivery of bacterial factors into the host cells (9, 18, 31). The best-studied TTSS is that

of *Yersinia spp.* In EHEC, the TTSS is primarily required for the persistence of the bacterium in the terminal portion of the gastrointestinal tract (45).

Most of the bacterial pathogenicity factors interact with eukaryotic host cells (23). Therefore, virulence factors are exposed either at the surface of the bacterial cell or are transported out of the bacteria. The outer membrane in Gram-negative microorganisms led to the evolution of secretion systems which are different from those of Gram-positive bacteria. In EPEC and EHEC, the TTSS is dedicated to the secretion of specific proteins (Tir, EspA, EspB and EspD), which are essential for the subversion of signal transduction pathways and the formation of A/E lesions (9). The TTSS functions by a "contact-mediated" mechanism, *i.e.* it is triggered when a pathogen comes in close contact with a host cell (18, 31). The TTSS is composed of about 20 proteins, most of which are located in the inner membrane (15, 18, 23), and are homologous to the flagellar biosynthesis apparatus (18, 23, 31).

Secreted proteins require small cytoplasmic proteins (chaperones), to prevent premature interaction with other components of the secretion system (23, 31). Chaperones physically associate with the effector in the bacterial cytosol and remain at this location following translocation of the effector into the host cell. Then, bacterial proteins are released through a prominent needle-like structure on the outer surface of the bacterial cell (18).

When A/E pathogens enter their host via ingestion, the gastrointestinal conditions activate LEE gene expression, leading to the assembly of the TTSS apparatus. A/E pathogens use calcium concentrations to regulate type III secretion and to control the hierarchy of translocators (EspA, EspB and EspD) and effectors (EspF, EspG, EspH, Tir and Map). The levels of calcium present in the extracellular fluid of the intestinal lumen trigger the secretion of EspA, EspB and EspD, which mediate the assembly of the translocon and the formation of a pore in the host cell membrane. In the bridge that connects the bacterial and host cytoplasm, the calcium concentration is limited. Therefore, low levels of calcium suppress the secretion of translocators and activate the secretion of effectors. Other environmental signals might also play a role in regulating TTSS (14).

### *E. coli* -SECRETED PROTEINS (ESP)

At least eight Esp have been identified, of which six are encoded by the LEE. Particularly, EspA, EspB and EspD are proteins secreted in significant quantities in a TTSS-dependent manner by EPEC strains. These proteins are required for effector proteins secretion and A/E lesion formation (10).

EspA is a 20-kDa protein (198 amino acids) (18, 23) which forms filaments that bridge the bacteria and the host cell membrane (46) to carry proteins from the pathogenic bacteria to the host cell (18). EspA filaments are usually 90 nm in length (18) and are found on the bacterial surface at early stages of A/E lesion formation (9). EspA might also act as a bacterial adhesin at the initial stages of infection (9, 15). EspA filaments are required for the delivery of EspB. EspA initiates polymerization from the tip of the needle and assembles a sheath-like structure, which is expandable and its elongation is controlled by the amount of EspA (46). EspA amino and carboxyl termini are conserved between EPEC and EHEC. However, the central region of the protein is variable and may influence the cell-binding specificity of the different strains (51).

The *espB* gene product is a 37-kDa protein (321 amino acids), which is an essential signal transduction molecule (23). EspB is translocated and it is required for the translocation of other proteins (15). EspB becomes resistant to protease digestion upon association with the host cell. It is required for tyrosine phosphorylation of Tir in EPEC and for the accumulation of actin filaments beneath adherent bacteria (23). EspB binds EspA, which suggests that there is a continuous path between the filament and the host cell. Together with EspD, EspB forms a pore in the distal part of the EspA filament (18, 45) which is required to insert Tir into the eukaryotic membrane (23). EspA and EspB are critical for disease and are involved in inflammation and disruption of the mucosal epithelial surface. They are critical for A/E lesion formation, cytoskeletal rearrangement and formation of cup-like structures *in vivo* (15).

EspD is a 39-kDa protein (381 amino acids) (10, 23). It is involved in the formation of the translocon; thus, its primary function would be the delivery of other virulence factors rather than acting as an effector (9).

EspF is a 21-kDa, proline-rich, effector protein translocated by the TTSS (9, 10) but not required for A/E lesion formation (10). It is involved in EPEC-induced host cell death (45) and disruption of the host intestinal tight-junctions through the re-distribution of occludin, a component of the cellular tight-junctions (9, 25). EspF also appears to promote EHEC colonization by modulating the host inflammatory response through inhibition of polymorphonuclear cells accumulation in the colon (43).

Little is known about EspG function. It is a 44 kDa-protein, which appears to be involved in virulence, but which does not seem to function in A/E lesion development (10). However, EspG deletion mutants have reduced levels of intestinal colonization. This protein would cause transient

microtubule destruction and actin polymerization (51).

The functions of EspH have not been completely studied. It is a modulator of the host actin cytoskeleton with the effect of repressing the formation of filopodia and enhancing the formation of actin pedestals (58). EspH also promotes EHEC-induced diarrhea and intestinal colonization by increasing the initial intestinal adherence (43).

### **MITOCHONDRION-ASSOCIATED PROTEIN (MAP)**

Map is a multifunctional protein that induces the formation of filopodia via the Rho GTPase Cdc42 and also targets the mitochondria to disrupt their membrane potential (25). Map-induced signaling inhibits pedestal formation. In contrast, Tir, in association with intimin, down-regulates filopodia formation by Map (45), probably as a required step for A/E lesion formation (10). In a yeast model, EPEC Map, together with EspD and EspG, was demonstrated to inhibit growth by depolarization of the actin cytoskeleton (44).

In conclusion, EspH, EspF, EspG and Map are not required for A/E lesion formation *in vitro* or *in vivo*. However, they appear to be important to guarantee maximal intestinal colonization (43).

### **TRANSLOCATED-INTIMIN RECEPTOR (TIR)**

Tir is a 72-kDa protein (549 amino acids), which is secreted by the TTSS into the eukaryotic membrane (23). Tir is the first recognized example of a bacterium inserting its own receptor into the host cell membrane (9). It contains two potential transmembrane domains (15, 17, 23), and functions as a receptor for the bacterial attachment factor, intimin (16, 23, 25). Tir anchors intimin to the host cell actin and other cytoskeleton proteins. Thus, the bacteria can initiate pedestal formation and mediate its pathogenic effect while remaining on the extracellular surface (9). Tir promoter activity is almost undetectable before bacteria-host cell contact. However, it is expressed at higher levels after host cell contact has taken place (45).

Tir and its chaperone, CesT (16, 45), are encoded by LEE, immediately upstream of the *eae* intimin gene (16). In EPEC, CesT is critical for Tir secretion by the recruitment of Tir to the inner membrane (45). The affinity of Tir for intimin is higher in its free state than in its chaperone-bound form (CesT-Tir). In addition to binding Tir, *E. coli* - CesT binds Map (18), having a central role in its secretion.

Once transferred into eukaryotic cells, Tir is phosphorylated on C-terminal tyrosines and

this phosphorylation appears to be required for the function of Tir as an actin nucleator (23, 25, 45) and as a signal transduction molecule in epithelial cells. Tir orchestrates pedestal formation and directs the recruitment of several cytoskeletal proteins to the site of EHEC attachment. In contrast to EPEC, in EHEC, cytoskeletal protein recruitment is independent of the tyrosine phosphorylation by Tir (45). Furthermore, the Tir protein of EHEC O157:H7 is not functionally identical to that of EPEC because EHEC pedestal formation is initiated without Tir binding to the adaptor protein Nck (25), which is implicated in the initiation of actin signaling (10). Thus, in EHEC, additional bacterial factors are translocated to trigger actin signaling (25).

Recently, studies demonstrated that Tir is essential for *E. coli* O157:H7 intestinal colonization in calves (47), mainly because it mediates bacterial attachment to the intestinal mucosa via intimin binding.

### **INTIMIN**

Intimin is a 94-kDa outer membrane protein (23), which resembles eukaryotic adhesion molecules (16). It is not secreted by the TTSS, but it is encoded within the same gene cluster that encodes this bacterial system (23). The *eae* gene is present in EPEC and EHEC and there is an 86% sequence homology (60). Expression of intimin is essential for A/E lesion formation and is required for full virulence (15, 23, 47). Intimin binding to Tir elicits cytoskeletal rearrangements within the host cell, leading to the formation of actin-rich pedestals beneath the adherent bacteria (15). Intimin also binds host-encoded receptors, such as  $\beta$ 1 integrin (35). A role for intimin in the stimulation of mucosal Th1 responses and intestinal crypt hyperplasia has also been reported (25). At an early stage of A/E lesion formation, intimin would have an additional, Tir-independent function, involving the remodeling of the mammalian cell surface (9, 17).

At least 17 types of intimin ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  and others) have been identified, according to amino-acid variations at the C-terminal domain. Intimin  $\alpha$  is found in EPEC strains, whereas intimin  $\gamma$  is specifically associated with EHEC O157:H7. The existence of different intimin types suggests that the protein is responsible for the differential tissue targeting exhibited by EHEC and EPEC (8, 9, 17). Despite the importance of intimin in intestinal colonization of cattle, the *eae* gene is not present in all Stx-producing *E. coli* strains isolated from cattle, suggesting that other factors may influence the persistence of the bacteria in the bovine gastrointestinal tract (53).

### **ATTACHING AND EFFACING (A/E) LESION**

EPEC is a well-studied pathogen that causes A/E lesions in intestinal cells. Other pathogens include *Hafnia alvei*, *Citrobacter rodentium* and EHEC (35). A/E bacteria can affect the small or the large intestine, and they cause diarrhea (60), likely because of a reduction in the absorptive capacity of the intestinal mucosa and the consequent electrolyte imbalance (10). Whereas EPEC strains colonize both the small and large bowel, EHEC strains are only localized in the large intestine (33). The mucosa of the terminal rectum (3-5 cm proximal to the recto-anal junction) is the principal site of colonization of EHEC O157:H7 (32). After initial adherence, EPEC strains attach intimately to the epithelial cell surface, leading to the effacement of the microvilli beneath the bacteria. This characteristic clustered pattern of adherence produces the histopathologic phenotype known as the A/E lesion. Both intimin and EPEC TTSS are required for intimate attachment (23) and lesion formation.

Subjacent to adherent bacteria, the host cellular cytoskeleton is re-organized into a lesion in which the surface microvilli are disrupted and F-actin is recruited into a pedestal structure (15). As long as the host cell remains healthy, the bacteria remain attached and multiply on the surface of the cell (45).

EspA filaments are excluded from the region of intimate contact once A/E lesions are produced. Therefore, fully developed A/E lesions are devoid of EspA filaments (15).

A three-stage model was described for the interaction of EPEC with epithelial cells and A/E lesion formation: (1) localized adherence (initial, non-intimate attachment); (2) signal transduction; and (3) intimate adherence. In EPEC, localized adherence is mediated by the plasmid-encoded bundle forming pili (BFP) (9, 35). Although initial adherence is not essential for A/E lesion development (9, 35), BFP helps to bring the bacteria in close contact with the host cells (35). In contrast to EPEC, EHEC does not carry BFP (60, 51). In association with the constant peristaltic flushing that this microorganism must surmount, the specific tropism of *E. coli* O157:H7 for the terminal rectum (32) would indicate that an initial adherence factor is needed to facilitate the final colonization by a highly complex A/E mechanism. In this regard, it was recently established that H7 flagella act as an adhesin to the bovine intestine in the crucial initiating step of *E. coli* O157:H7 colonization (30). During the intimate adherence, EspA filaments are lost from the bacterial cell surface (10) and intimin/Tir binding activates additional signaling cascades that induce cytoskeletal rearrangements to form the pedestals upon which A/E bacteria reside

(9, 15, 35). Actin is the major component of the brush border cytoskeleton and the site-specific concentration of cytoskeletal actin is characteristic of A/E histopathology. Actin pedestals are up to 10  $\mu\text{m}$  in length (9). Other cytoskeletal proteins ( $\alpha$ -actinin, talin, ezrin, villin, myosin light chain, VASP, WASP and arp2/3 complex) are also present in A/E lesions, and they accumulate under the adherent bacteria within 3 hours of EPEC infection (9). An elevation in the intracellular levels of calcium can contribute to the depolymerization of actin and, consequently, to the breakdown of host cytoskeleton during A/E lesion formation. Interestingly, EPEC does not have an effect on the Rho family of small GTP-binding proteins that are normally involved in cytoskeletal rearrangement. Therefore, EPEC would use a non-traditional mechanism for actin rearrangement.

### SHIGA TOXIN (STX) FAMILY

The toxin known as "Shiga toxin" is the exotoxin of *Shigella dysenteriae* type I. The terms Shiga toxin and Verotoxin are synonymous. Vero cells are killed within a few hours by low doses of Stx (57). Stx is considered the key virulence factor of EHEC (54). As previously mentioned, the Stx family contains two subgroups, Stx1 and Stx2, which share approximately 55% amino-acid homology (25, 40). Stx1 shows little sequence variation; however, several variants of Stx2 have been described (8).

Most Stxs are encoded by lambda-like bacteriophages (25, 54), and they are transcribed from a promoter that also controls the expression of late lambda phage lysis genes, thereby linking toxin expression with a lytic function responsible for the release of the toxin (25).

All Stxs consist of an A subunit (toxic moiety) and five B subunits (receptor binding) (57, 59). Stx1 differs by only one amino acid on subunit A with respect to Stx2 and they share the same cell receptor and intracellular mechanism of action *in vitro* (54).

To enter into the cell, the B chains bind to the Gb3 receptor, also known as CD77 or PK (57). Once the holotoxin is internalized into an endosome, the A subunit is cleaved. The free A chain has N-glycosidase activity (57, 59); adenine is cleaved from the ribosomal RNA at a point where the aminoacyl transfer RNA is assembled, thus, arresting protein synthesis (51, 57). Stx can also induce direct apoptosis of renal (59) and epithelial cells (25) and it can trigger monocytes to produce and release cytokines such as TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-6 and IL-8 (40), likely using a receptor different from Gb3 (57). In addition, Stx is also able to bind to platelets and trigger their direct activation (40).

Stx2 increases the severity and duration of EHEC-induced diarrhea and modulates the

host inflammatory response in the infant rabbit model. Gut inflammation would facilitate the severe manifestations of EHEC infection by allowing increased uptake of Stx from the lumen into the systemic circulation (60). In cattle, Stx down-modulates the mucosal inflammatory responses (51).

Stx1 is more frequently identified in cattle isolates, whereas Stx2 is more prevalent in human isolates (27, 57) and it has been suggested that Stx2 is more virulent in humans than Stx1 (40). It is believed that the distribution of the Gb3 receptor is responsible for the devastating effects of human infections by EHEC and for the absence of clinical symptoms in cattle. Unlike humans, Gb3 is not present on bovine endothelial cells. Therefore, Stx expression does not produce the severe vascular injury and hemorrhage observed in humans (51). The production of Stx distinguishes EHEC from EPEC. STEC serotypes do not normally invade the host, but the immediate proximity of colonizing bacteria to the epithelium might promote the delivery of Stx directly to the mucosa (25, 57).

### pO157 PLASMID

The pO157 plasmid of EHEC encodes 35 proteins (8), some of which are accessory toxins (25). This 90-Kb plasmid (8, 60) is present in almost all EHEC isolates that encode an EHEC hemolysin (60). The pO157 plasmid also encodes an EHEC *KatP* catalase-peroxidase and an extracellular serine-protease, EspP. This protease cleaves pepsin A and human coagulation factor V, suggesting that it may participate in the induction of intestinal hemorrhage (8, 60). Another virulence gene, *toxB*, which appears to be present in all EHEC O157 isolates, is also encoded within this plasmid. *toxB* may influence the expression of LEE-encoded type III secreted proteins and it may inhibit lymphocyte activation (8). Intra-rectal inoculation of 5 to 8-month-old cattle with isogenic strains of *E. coli* O157:H7 identified a significant role for the pO157 plasmid in the colonization of the terminal rectum (47).

### EHEC HEMOLYSIN

*ehxA* is the structural gene for the enterohemolysin of EHEC, which is a pore-forming toxin (55). It might contribute to EHEC pathogenesis because the hemoglobin released during hemolysis provides a source of iron to the bacteria. This would be especially important for human isolates but not for isolates from cattle. Together with intimin and Stx genes, the enterohemolysin appears to be a marker of virulence for most of the EHEC O157 and non-O157 strains (60).

### **LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS)**

LPS is an endotoxin that consist of a lipid A, responsible for the toxic action; an O-antigenic polysaccharide (O-PL), which is structurally non-conserved among related bacterial species; and a core oligosaccharide that links O-PL with lipid A (98). Endotoxemia is observed in patients with HUS caused by *Shigella dysenteriae* type I, but not in EHEC infection (56). However, it has been suggested a synergistic effect of Stx and LPS in the pathogenesis (40).

*E. coli* LPS has five distinct core oligosaccharides structures, designated K-12 and R1 to R4. R3 is frequently found in STEC isolates from cattle and humans (18). Compared to healthy volunteers, serum from convalescent patients has significantly higher levels of IgA against O157 LPS and R3. Because of its conserved structure, the core oligosaccharide is responsible for cross-reactive antibodies. The R3 core LPS is the most common core type in the STEC group (19).

In calves and adult cattle, the serum antibody response to STEC O157 LPS lasts more than 5 months (24). However, this immune response is unable to prevent re-infection with the homologous STEC strain.

### **FIMBRIAE**

Fimbriae are thread-like structures that extend out from the bacterial surface and provide multiple functions, including adherence to host cells. Although EHEC contains 10 putative fimbrial loci, little is known about their relative contribution to virulence (53). Stx-producing *E. coli* do not produce type I fimbriae, the most common *E. coli* adhesin. Absence of fimbriae expression in EHEC O157 is due to the presence of a 16 base pair deletion within the regulatory region of *fimA* (60).

### **NON FIMBRIAL ADHESINS**

Adhesins are responsible for pathogen binding to intestinal epithelial cells (40). In addition to intimin, other adhesins would support the EHEC carrier state in the bovine intestine. LEE-negative EHEC isolates from ruminants encode an auto-agglutinating adhesin (8, 53) and a novel type IV pilus (51). In non-O157 EHEC strains, a gene known as *efa1*, which encodes a factor of adherence has been identified (51, 53).

*E. coli* are peritrichous flagellated bacteria that assemble about ten flagella over their cell surface (36). The flagellum consists of three morphologically distinct structures: a basal body, a hook and a helical filament (2, 41, 94). The basal body is embedded in the bacterial cell envelope, whereas the hook and the filament extend beyond the cell surface (94). Flagella provide motility and chemotaxis (41), increase adhesion (20, 41) and are involved in protein translocation (20). Motil-

ity is considered a virulence factor that promotes establishment of infection and transmission (36). Flagellin, the structural component of the flagellar filament, also plays a major role in the induction of the host immune responses. Flagellar expression is subject to phase variation and some pathogenic bacteria produce flagellin in order to promote colonization and mucosa invasion (41). In EPEC strains, flagellin and BFP are produced simultaneously during infection. Like BFP, the flagellum is also directly involved in local adherence, contributing to A/E lesion formation (20). Because EPEC flagella are involved in adherence and microcolony formation, it is required a coordinated transcription of the flagellar system and the virulence genes encoded by the LEE, which are the main responsible for the development of A/E lesion (48). In addition to the TTSS, bacteria can use the flagellar system as an additional mechanism for the export of virulence factors (41).

EHEC H7 flagella are composed of flagellin subunits of about 66,000 Da and they have also been demonstrated to be immunogenic (30). Flagellin of EPEC is an important adhesive structure, which is highly induced upon interaction between epithelial cells and, probably, a secreted signaling molecule of eukaryotic origin (20). The authors could not demonstrate that EHEC H7 was able to mediate attachment to epithelial HeLa cells. However, Bretschneider *et al.* (4) demonstrated that *E. coli* O157:H7 strains lacking flagellin expression did not effectively colonize the intestine of adult beef cattle. In addition, animals inoculated with a non-flagellated variant of *E. coli* O157: H7 were more susceptible to a second challenge with a motile *E. coli* O157: H7 than those originally inoculated with motile strains. These findings suggested that this appendage has an essential function in colonization. Later, Mahajan *et al.* (30) confirmed the presence of abundant H7 flagella in physical contact with the terminal rectum epithelial cells, demonstrating that H7 flagellum acts as an adhesin, which is crucial in the initial step of colonization of *E. coli* O157:H7.

Hayashi *et al.* (22) demonstrated that flagellin is the ligand for toll like receptor (TLR)-5. TLR-5 is able to detect both extracellular-luminal and invasive-flagellated pathogenic bacteria (41). Recognition of flagellin by TLR-5 induces the expression of the pro-inflammatory cytokine IL-8, the recruitment of neutrophils to the site of infection, and the activation of dendritic cells (41). Flagellin is a potent stimulator of humoral immune mechanisms, a hallmark of Th2 responses. Moreover, stimulation of an antibody response has been proposed to be related to the direct activation of dendritic cells within the mucosa by flagellin (41). Similar to EPEC, flagella from *E. coli* O157:H7

also induced IL-8 secretion in a colonic epithelial cell line (36). It was confirmed that H7 flagellin proteins, and not the production of Shiga-like toxins, are responsible for the up-regulation of pro-inflammatory chemokine production and sub-epithelial influx of neutrophils (7).

Microcolony formation and adhesion by EPEC depend on the coordinated transcription of flagellum and LEE genes (48). In addition, Girón *et al.* (20) demonstrated that EPEC strains that are mutated in the LEE-encoded genes are impaired in the expression of flagella. This was interpreted by the authors as indication of an association between flagellation, motility and the TTSS. Furthermore, Bretschneider *et al.* (2) found that *E. coli* O157:H7 *tir* deletion mutants were unable to express flagella and suggested a regulatory link between flagellum and Tir expression. Finally, Spears *et al.* (51) suggested that because of the importance of LEE-TTSS in the colonization process and the structural relationship between LEE and flagellar-TTSS, EHEC intestinal colonization is likely to be mediated by a regulatory cross-talk between both systems.

## CONTROL OF EHEC INFECTION IN CATTLE

Vaccines should induce high titers of specific IgA at mucosal surfaces to prevent cattle infection and shedding of EHEC into the environment and/or colostral IgG responses for passive protection of neonates (53). During the course of infection, adult cattle are able to mount a serological response against *E. coli* O157:H7-type III-secreted proteins, intimin and LPS (5). Overall, these authors detected a positive association between the pattern of fecal shedding and the serum IgG titers to Tir, intimin or O157 LPS. However, for EspB, the IgG response was robust and persistent throughout infection, irrespective of the level of *E. coli* O157:H7 shedding. A positive relationship between hydrophilicity and immunogenicity was previously shown by Noya *et al.* (34). In this regard, bioinformatics analysis of *E. coli* O157:H7 LEE proteins, revealed the presence of two main hydrophilic domains in the central and carboxy-terminal regions of EspB (3). An occasional and very low mucosal IgG and IgA responses were also detected on mucosal scrapings of terminal colon and rectum of experimentally infected adult cattle. However, it is unclear the role of these antibodies in the protection to the infection (6).

Intimin would be a good candidate for vaccination. Nevertheless, these vaccines would require the incorporation of several intimin subtypes, mainly  $\beta$ ,  $\gamma$ , and  $\epsilon$ , to protect against the prevalent EHEC serotypes in cattle (53).

A glycoconjugate vaccine containing O157 LPS did not protect against intestinal coloniza-

tion of mice with *E. coli* O157:H7 (27). Although specific O antibodies are detected in the serum of experimentally infected calves, correlation with bacterial clearance is not observed (24).

Potter *et al.* (39) demonstrated that a vaccine composed of *E. coli* O157:H7 culture supernatant enriched with type III-secreted proteins was effective in reducing intestinal colonization of cattle. Peterson *et al.* (38) determined that a three-dose regimen of this vaccine elicited a significant humoral response to Tir and LPS and reduced *E. coli* O157:H7 colonization of the terminal rectum under natural exposure. Recently, Smith *et al.* (50) concluded that a two-dose regime of the same vaccine was also effective in reducing the probability (92%) of *E. coli* O157:H7 colonization of the terminal rectum of commercially fed cattle at harvest. Type III-secreted proteins are relatively conserved among EHEC serotypes. Therefore, it was proposed that this formulation would have the advantage of providing cross-protective immunity (39). However, preliminary results of a recent study by the same research group suggest that protection, for the most part, is serotype-specific (3).

The use of H7 flagellin, as a component of a systemic vaccine, reduced the colonization rates and delayed peak of O157:H7 shedding in calves; however, it did not affect total bacterial shedding. This immunization effect was correlated with serum and mucosal antibody responses (31). Immunological strategies, targeting H7 flagella, are actually under study (30).

Passive protection by the use of recombinant antibodies directed to EHEC colonization factors in food-producing farm animals has also been proposed as a measure to reduce EHEC intestinal carriage before slaughter (53).

Furthermore, probiotic mixtures have also shown some effectiveness in reducing intestinal colonization of experimentally inoculated young calves and sheep. A two-year clinical trial in a research feedlot with a direct-fed microbial showed that cattle were 35% less likely to shed *E. coli* O157:H7 than untreated cattle (37). The use of lytic bacteriophages and bacteria capable of inhibiting EHEC growth in the gastrointestinal tract might also be useful for the control of EHEC in ruminants prior to slaughter, although the development of genetic resistance poses a problem to the long-term use of these control measurements (53). The USDA Food Safety and Inspection Service has recently approved the use of bacteriophage treatment for *E. coli* O157:H7 in live cattle. Bacteriophages are applied as a mist, spray or wash on live animals prior to slaughter.

Finally, it is important to consider that preharvest intervention strategies, for instance, vaccines against *E. coli* O157:H7 in cattle, must be produced at low cost to be adopted by farmers.

## ACKNOWLEDGMENTS

G. Bretschneider gratefully thanks Dr. Rodney A. Moxley for the opportunity of working in his laboratory at the University of Nebraska, Lincoln, USA, as a PhD student. Moreover, he extends his thank to all members of his Supervisory Committee: Dr. Raúl Barletta, Dr. Andrew Benson, Dr. Terry Klopfenstein and Dr. David Smith.

## REFERENCES

1. Besser TE, Hancock DD, Pritchett LC, McRae EM, Rice DH, Tarr PI. Duration of detection of fecal excretion of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle. *J Infect Dis*. 1997; 175: 726-729.
2. Bretschneider G, Berberov EM, Moxley RA. Reduced intestinal colonization of adult beef cattle by *Escherichia coli* O157:H7 tir deletion and Nalidixic-acid-resistant mutants lacking flagellar expression. Sixth International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin)-Producing *Escherichia coli* Infections., Melbourne, Australia, from Oct. 29<sup>th</sup> to Nov 1<sup>st</sup>, 2006; Abstract No. P09.1.04
3. Bretschneider G. *Escherichia coli* O157:H7 infection and associated immune responses in adult cattle. Ph.D Thesis. University of Nebraska, Lincoln, United States of America. 2007.
4. Bretschneider G, Berberov EM, Moxley RA. Reduced intestinal colonization of adult beef cattle by *Escherichia coli* O157:H7 tir deletion and nalidixic-acid-resistant mutants lacking flagellar expression. *Vet Microbiol*. 2007a; 125:381- 386.
5. Bretschneider G, Berberov EM, Moxley RA. Isotype-specific antibody responses against *Escherichia coli* O157:H7 locus of enterocyte effacement proteins in adult beef cattle following experimental infection. *Vet Immunol Immunopathol*. 2007b; 118:229- 238.
6. Bretschneider G, Berberov EM, Moxley RA. Enteric mucosal antibodies to *Escherichia coli* O157:H7 in adult cattle. *Vet Rec*. 2008; 163:218-219.
7. Brown CA, Harmon BG, Zaho T, Doyle MP. Experimental *Escherichia coli* O157: H7 carriage in calves. *Appl Env Microbiol*. 1997; 63:27-32.
8. Caprioli A, Morabito S, Brugere H, Oswald E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet Res*. 2005; 36:289-311.
9. Chen HD, Frankel G. Enteropathogenic *Escherichia coli*: unravelling pathogenesis. *FEMS Microbiol Rev*. 2005; 29:83-98.
10. Clarke SC, Haigh RD, Freestone PP, Williams PH. Virulence of enteropathogenic *Escherichia coli*, a global pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2003; 16:365-378.
11. CNSAP (Comité de Nefrología de la Sociedad Argentina de Pediatría), 2005. Boletín N° 4.
12. Cray WC Jr, Moon HW. Experimental infection of calves and adult cattle with *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol*. 1995; 65:586-1590.
13. Dean-Nystrom EA, Bosworth BT, Moon WH, O'Brien AD. Pathogenicity of *Escherichia coli* O157: H7 in the intestines of neonatal calves. *Infect Immun*. 1997; 65: 1842-1848.
14. Deng W, Li Y, Hardwidge PR, Frey EA, Pfuetzner RA, Lee S, Gruenheid S, Strynacka NC, Puente JL, Finlay BB. Regulation of type III secretion hierarchy of translocators and effectors in attaching and effacing bacterial pathogens. *Infect Immun*. 2005; 73:2135-2146.
15. DeVinney R, Gauthier A, Abe A, Finlay BB. Enteropathogenic *Escherichia coli*: a pathogen that inserts its own receptor into host cells. *Cell Mol Life Sci*. 1999a; 55:961-976.
16. Fegan N, Vanderlinde P, Higgs H, Desmarchelier P. The prevalence and concentration of *Escherichia coli* O157 in faeces of cattle from different production systems at slaughter. *J Appl Microbiol*. 2004; 97:362-370
17. Frankel G, Phillips AD, Trabulsi LR, Knutton S, Dougan G, Matthews S. Intimin and the host cell--is it bound to end in Tir(s)!. *Trends Microbiol*. 2001; 9:214-218.
18. Ghosh P. 2004. Process of protein transport by the type III secretion system. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2004; 68:771-795.
19. Gibbs RJ, Stewart J, Poxton IR. The distribution of, and antibody response to, the core lipopolysaccharide region of *Escherichia coli* isolated from the faeces of healthy humans and cattle. *J Med Microbiol*. 2004; 53:959-964.
20. Girón JA, Torres AG, Freer E, Kaper JB. The flagella of enteropathogenic *Escherichia coli* mediate adherence to epithelial cells. *Mol Microbiol*. 2002; 44:361-379.
21. Haack KR, Robinson CL, Miller KJ, Fowlkes JW, Mellies JL. Interaction of Ler at the LEE5 (tir) operon of enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*. 2003; 71:384-392.
22. Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, Hawn TR, Yi EC, Goodlett DR, Eng JK, Akira S, Underhill DM, Aderem A. The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature*. 2001; 410:1099-1103.
23. Hueck CJ. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998; 62:379-433.
24. Johnson,RP, Cray WC Jr, Johnson ST. Serum antibody responses of cattle following experimental infection with *Escherichia coli* O157:H7. *Infect Immun*. 1996; 64:1879-1883.
25. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2004; 2:123-140.
26. Khaitisa ML, Smith DR, Stoner JA, Parkhurst AM, Hinkley S, Klopfenstein TJ, Moxley RA. Incidence, duration, and prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding by feedlot cattle during the finishing period. *J Food Prot*. 2003; 66:1972-1977.
27. Koohmaraie M, Arthur TM, Bosilevac JM, Guerini M, Shackelford SD, Wheeler TL. Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. *Meat Sci*. 2005; 71:79-91.

28. Kudva IT, Hatfield PG, Hovde CJ. Effect of diet on the shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in a sheep model. *Appl Environ Microbiol.* 1995; 61:1363-1370.
29. Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis.* 1987; 155:377-389.
30. Mahajan A, Currie CG, Mackie S, Tree J, McAteer S, McKendrick I, McNeilly TN, Roe A, La Ragione RM, Woodward MJ, Gally DL, Smith DG. An investigation of the expression and adhesion function of H7 flagella in the interaction of *Escherichia coli* O157: H7 with bovine intestinal epithelium. *Cell Microbiol.* 2009; 11:121-137.
31. Meccas JJ, Strauss EJ. Molecular mechanisms of bacterial virulence: type III secretion and pathogenicity islands. *Emerg Infect Dis.* 1996; 2:270-288.
32. Naylor SW, Low JC, Besser TE, Mahajan A, Gunn GJ, Pearce MC, McKendrick IJ, Smith DG, Gally DL. Lymphoid follicle-dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the bovine host. *Infect Immun.* 2003; 71:1505-1512.
33. Nougayrede JP, Fernandes PJ, Donnenberg MS. Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to host cells. *Cell Microbiol.* 2003; 5:359-372.
34. Noya O, De Noya BA, Ballen DE, Bermudez H, Bout D, Hoebeker J. Immunogenicity of synthetic peptides from the Sm31 antigen (cathepsin B) of the *Schistosoma mansoni* adult worms. *Parasite Immunol.* 2001; 23:567-573.
35. Ogino T, Ohno R, Sekiya K, Kuwae A, Matsuzawa T, Nonaka T, Fukuda H, Imajoh-Ohmi S, Abe A. Assembly of the type III secretion apparatus of enteropathogenic *Escherichia coli*. *J Bacteriol.* 2006; 188:2801-2811.
36. Ottemann KM, Miller JF. Roles for motility in bacterial-host interactions. *Mol Microbiol.* 1997; 24:1109-1117.
37. Peterson RE, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Folmer J, Hinkley S, Moxley RA, Smith DR. Effect of *Lactobacillus acidophilus* strain NP51 on *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding and finishing performance in beef feedlot cattle. *J Food Prot.* 2007a; 70:287-291.
38. Peterson RE, Klopfenstein TJ, Moxley RA, Erickson GE, Hinkley S, Bretschneider G, Berberov EM, Rogan D, Smith DR. Effect of a vaccine product containing type III secreted proteins on the probability of *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding and mucosal colonization in feedlot cattle. *J Food Prot.* 2007b; 70:2568-2577.
39. Potter AA, Klashinski S, Li Y, Frey E, Townsend H, Rogan D, Erickson G, Hinkley S, Klopfenstein T, Moxley RA, Smith DR, Finlay BB. Decreased shedding of *Escherichia coli* O157: H7 by cattle following vaccination with type III secreted proteins. *Vaccine.* 2004; 22:362-369.
40. Proulx F, Seidman EG, Karpman D. Pathogenesis of Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Res.* 2001; 50:163-171.
41. Ramos HC, Rumbo M, Sirard JC. Bacterial flagellins: mediators of pathogenicity and host immune responses in mucosa. *Trends Microbiol.* 2004; 12:509-517.
42. Renter DG, Sargeant JM. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: epidemiology and ecology in bovine production environments. *Anim Health Res Rev.* 2002; 3:83-94.
43. Ritchie JM, Waldor MK. The locus of enterocyte effacement-encoded effector proteins all promote enterohemorrhagic *Escherichia coli* pathogenicity in infant rabbits. *Infect. Immun.* 2005; 73:1466-1474.
44. Rodriguez-Escudero I, Hardwidge PR, Nombela C, Cid VJ, Finlay BB, Molina M. Enteropathogenic *Escherichia coli* type III effectors alter cytoskeletal function and signalling in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology.* 2005; 151:2933-2945.
45. Roe AJ, Hoey DE, Gally DL. Regulation, secretion and activity of type III-secreted proteins of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157. *Biochem Soc Trans.* 2003; 31:98-103.
46. Sekiya K, Ohishi M, Ogino T, Tamano K, Sasakawa S, Abe A. Supermolecular structure of the enteropathogenic *Escherichia coli* type III secretion system and its direct interaction with the EspA-sheath-like structure. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98:11638-11643.
47. Sheng H, Lim JY, Knecht HJ, Li J, Hovde CJ. Role of *Escherichia coli* O157:H7 virulence factors in colonization at the bovine terminal rectal mucosa. *Infect Immun.* 2006b; 74:4685-4693.
48. Sircili MP, Walters M, Trabulsi LR, Sperandio V. Modulation of enteropathogenic *Escherichia coli* virulence by quorum sensing. *Infect Immun.* 2004; 72:2329-2337.
49. Smith DR, Blackford M, Younts S, Moxley R, Gray J, Hungerford L, Milton T, Klopfenstein T. Ecological relationships between the prevalence of cattle shedding *Escherichia coli* O157:H7 and characteristics of the cattle or conditions of the feedlot pen. *J Food Prot.* 2001; 64:1899-1903.
50. Smith DR., Moxley RA, Peterson RE, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Bretschneider G, Berberov EM, Clowser S. A two-dose regimen of a vaccine against type III secreted proteins reduced *Escherichia coli* O157:H7 colonization of the terminal rectum in beef cattle in commercial feedlots. *Foodborne Pathog Dis.* 2009; 6: 155-161.
51. Spears KJ, Roe AJ, Gally DL. A comparison of enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli* pathogenesis. *FEMS Microbiol Lett.* 2006; 255:187-202.
52. Stanford K, Bach SJ, Marx TH, Jones S, Hansen JR, Wallins GL, Zahiroddini H, McAllister TA. Monitoring *Escherichia coli* O157:H7 in inoculated and naturally colonized feedlot cattle and their environment. *J Food Prot.* 2005; 68:26-33.
53. Stevens MP, van Diemen PM, Dziva F, Jones PW, Wallis TS. Options for the control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in ruminants. *Microbiology.* 2002; 148:3767-3778.
54. Su C, Brandt LJ. *Escherichia coli* O157: H7 infection in humans. *Ann Intern Med* 1995; 123:698-707.

**G. Bretschneider y col.**

55. Taneike I, Zhang HM, Wakisaka-Saito N, Yamamoto T. Enterohemolysin operon of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: a virulence function of inflammatory cytokine production from human monocytes. FEBS Lett. 2002; 524:219-224.
56. Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome. Lancet. 2005; 365:1073-1086.
57. Taylor CM, Monnens LA. Advances in haemolytic uraemic syndrome. Arch Dis Child. 1998; 78:190-193.
58. Tu X, Nisan I, Yona C, Hanski E, Rosenshin I. EspH, a new cytoskeleton-modulating effector of enterohaemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*. Mol Microbiol. 2003; 47:595-606.
59. Verweyen HM, Karch H, Brandis M, Zimmerhackl LB. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections: following transmission routes. Pediatr Nephrol. 2000; 14:73-83.
60. Welinder-Olsson C, Kaijser B. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). Scand J Infect Dis. 2005; 37:405-416.

## OSTEOCONDROSIS EN EQUINOS: UN PROBLEMA LATENTE DE LA INDUSTRIA HÍPICA

Galinelli N<sup>1</sup>, Landoni MF<sup>2</sup>

Cátedra de Farmacología General.  
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.  
<sup>1</sup>Becario CICPBA. <sup>2</sup>CIC-CONICET

**Resumen:** Esta revisión está centrada en la Osteocondrosis (OC) en equinos. La osteocondrosis es un disturbio en la osificación endocondral de etiología multifactorial que afecta a equinos y otras especies animales. No hay un acuerdo entre los investigadores en la clasificación de la OC; algunos sostienen que se trata de una enfermedad metabólica mientras que otros la incluyen dentro de las Enfermedades Ortopédicas del Desarrollo (DOD). En los caballos la OC afecta principalmente a las articulaciones de nudos, tarsos y babillas. Las lesiones pueden aparecer en varias localizaciones en un mismo animal, a veces ocurren en sitios bilaterales y simétricos. Los signos clínicos son principalmente la distensión articular y diferentes grados de claudicación. La etiopatogenia de OC es desconocida, habiendo sido propuestos varios factores etiológicos como, desbalances en la dieta y/o tasa de crecimiento, traumas, conformación anatómica y factores genéticos. En la clínica veterinaria el diagnóstico se realiza por a través de la evaluación radiológica de las articulaciones. Sin embargo, se han desarrollado otros métodos diagnósticos (ecografía, resonancia magnética y tomografía computada). El tratamiento clásico de OC consiste en remover el fragmento óseo y reparar las lesiones por artroscopia. Sin embargo, el tratamiento puede ser conservador dependiendo la edad del equino; basado en el carácter dinámico de la enfermedad temprana, pequeñas lesiones pueden desaparecer eventualmente.

**PALABRAS CLAVE:** Osteocondrosis; equinos; osificación endocondral; etiopatogenia.

## EQUINE OSTEOCHONDROSIS: A PROBLEM LATENT IN HORSE INDUSTRY

**Abstract::** This review is focused on osteochondrosis (OC) in horses. OC is a disturbance in endochondral ossification of multifactorial etiology affecting equines and other animal species. There is no agreement about the classification of OC, since some researchers defined it as a metabolic disease while others classify it within the group of Developmental Orthopedic Disease (DOD). In horses, OC mainly affects fetlock, hock and stifle joints. Lesions may appear in several locations in a single animal, and sometimes occurs in bilaterally symmetrical sites. Clinical signs are mainly joint distension and differing degrees of lameness. Pathogenesis of the OC is unknown, but many etiologic factors have been proposed such as, dietary imbalance, growth rate, trauma, anatomic conformation and genetics. In veterinary clinics, the diagnosis is carried out mainly by radiological joints evaluation. However, other diagnostic methods have been developed (ultrasound scan, magnetic resonance imaging and computed tomography). Finally, the treatment of OC is aimed to remove free fragments and to repair other lesions by arthroscopic surgery. However treatment may be conservative, depending on horse age. Some researchers believe in the dynamic character of early OC and the eventual disappearance of small lesions.

**KEY WORDS:** Osteochondrosis; equines; endochondral ossification; etiopathogenesis.

Fecha de recepción: 15/12/10

Fecha de aprobación: 15/06/10

---

**Dirección para correspondencia:** N Galinelli, Cátedra de Farmacología general. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

**E-mail:** [landoni@fcv.unlp.edu.ar](mailto:landoni@fcv.unlp.edu.ar)

---

## INTRODUCCION

La osteocondrosis (OC), incluida entre las enfermedades metabólicas de hueso (1), puede ser definida como una alteración o defecto en el proceso de osificación endocondral (2). Esta entidad afecta a varias especies animales, entre ellas, la equina (3).

Algunos autores prefieren incluirla en el complejo de enfermedades ortopédicas del desarrollo en equinos (4), (*DOD, developmental orthopedic disease*), término introducido en 1986 (5) y aplicado a desordenes del crecimiento en esta especie.

En el grupo de las *DOD* se incluyen la osteocondrosis, osteocondritis disecante (OCD), quistes óseos subcondrales (QOS), fisitis, deformaciones angulares, deformaciones flexurales, malformación del hueso cuboidal y malformación vertebral cervical (3).

El término OC hace referencia a un disturbio en la osificación endocondral de etiología multifactorial (6). El término discondroplasia suele utilizarse como sinónimo de OC (7) sin embargo, la discondroplasia representa un desorden metabólico generalizado que afecta a todo el desarrollo del esqueleto desde los estadios más tempranos (3).

Se han propuesto dos formas de OC, (8) una primaria (idiopática) en la cual el defecto es inherente al cartílago y, una secundaria (adquirida) la cual sería consecuencia de influencias biomecánicas, nutricionales y metabólicas aplicadas sobre un cartílago normal.

## INCIDENCIA

Esta enfermedad afecta a un elevado número de animales produciendo grandes pérdidas económicas. En el noroeste de Europa se ha reportado que 20.000 a 25.000 potrillos por año muestran algún grado de osteocondrosis (9). Por otro lado los datos de prevalencia son altos, con valores de 13% en caballos de deporte Francés (10), 17.9% en caballos Pura Raza Española (11), 34% en *Warmblood Horses* (12) y 62% en *South German Coldblood Horses* (13). La incidencia, al igual que la prevalencia, varía de acuerdo a la raza (10; 14; 15; 16; 17).

En nuestro País si bien no se cuenta con registros certeros, los datos empíricos recolectados de comunicaciones personales con veterinarios clínicos indican una elevada tasa de prevalencia de la enfermedad.

## ETIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS

La etiología de la OC es desconocida, considerándose una afección de etiología multifactorial (6). Los factores más importantes relacionados con esta enfermedad incluyen, factores nutricionales, de crecimiento, biomecánicos y genéticos.

## FACTORES NUTRICIONALES:

Los factores nutricionales, especialmente en relación con alteraciones endocrinas, han sido estudiados intensamente durante los últimos 15 años.

Olsson (2) y Strömberg y col., (18) propusieron que altos valores de carbohidratos en las dietas predisponían a la aparición de OC. Por otro lado, utilizando modelos experimentales se logró inducir lesiones similares a OC en 6 de 12 potrillos alimentándolos con niveles de energía digestible 129% superiores a los recomendados por el NRC (19).

La relación altos niveles de carbohidratos/OC estaría asociada con la liberación consecuyente de insulina. La insulina estimularía la remoción rápida de la circulación de las hormonas tiroideas T3 y T4, conduciendo a una hipotiroxemia que afectaría la maduración de condrocitos y la estructura de la matriz extracelular, con disminución en el número de vasos capilares necesarios para la osificación endocondral en potros jóvenes (20).

Otra deficiencia asociada a la OC es la de cobre; un estudio realizado en 1987 en Ohio y Kentucky (USA) relacionó las deficiencias de cobre y excesos de zinc (el cual inhibe la absorción del primero), con incrementos en la incidencia de las *DOD* en potrillos (21; 22). El cobre funciona como co-factor de la enzima lisiloxidasa, la cual cataliza la formación de los enlaces cruzados entre las cadenas de colágeno; una deficiencia en este metal conduciría a un debilitamiento de la matriz cartilaginosa (23). En este sentido, Van Weeren y col., (24) ha reportado que la suplementación con cobre tiene un efecto positivo en la reparación de las lesiones de OC.

Los desbalances fósforo/calcio también se incluyen en la lista de causales de lesiones similares a OC. Sin embargo, el control de la relación de estos minerales en la dieta es parte de la rutina en los haras, por lo que en la actualidad es muy raro que se presenten.

Otra situación, aunque poco frecuente, que se ha relacionado a la OC es el déficit de ácidos grasos esenciales o acidosis metabólica (exceso de aniones) (25).

## TASA DE CRECIMIENTO:

Desde inicios de los '90, se ha reportado una relación entre altos valores nutricionales/altas tasas de crecimiento y OC (26; 27). En este sentido, Donabédian y col., (28) han realizado estudios relacionando el tamaño corporal con la incidencia y severidad de las *DOD*. En estos estudios, se aplicaron diferentes tipos de dietas conformadas por nutrientes balanceados (suministradas desde el nacimiento hasta el año de vida), estableciéndose 2 poblaciones de potrillos, una de rápido y otra de moderado crecimiento.

Los resultados obtenidos demostraron una asociación significativa entre la incidencia de OC y el tamaño corporal/tasa de crecimiento. Estas observaciones permiten inferir que la predisposición a desarrollar gran tamaño corporal (determinado por el acervo genético) conjuntamente con la alimentación recibida, puede predisponer a sufrir DOD, entre ellas la OC. Cabe aclarar que existen controversias en este tema, como lo reflejan los resultados reportados por Jelan y col., (29); estos autores en un estudio similar realizado en Irlanda con animales sangre pura de carrera no observaron asociaciones significativas entre tasas de crecimiento e incidencia de OC.

### **FUERZAS BIOMECÁNICAS Y EJERCICIO:**

Las fuerzas biomecánicas juegan un rol importante en la localización y severidad de las lesiones osteocondrales (30). Esto se basa en que las fuerzas biomecánicas, al igual que los traumas, ejercen su acción sobre las superficies óseas y cartilagosas.

Los traumas mecánicos son sugeridos como causales de las lesiones a nivel cartilaginoso que conducen a desprendimiento de *flaps*, como también micro fracturas en la superficie de contacto; estas zonas son las que absorben mayor presión a nivel de cartilago articular y hueso subcondral. En este sentido, existe una controversia relacionada al origen osteocondral o puramente traumático de las lesiones de tipo POF (*Palmar/plantar osseus fragment*). Foerner y McIlwraith (31) citan las razones por las cuales este tipo de lesiones deberían atribuirse a la osteocondrosis:

Falta de explicación anatómica o mecánica para la frecuencia desproporcionada en la porción medial de los miembros posteriores de los caballos.

Ausencia de signos clínicos típicos de una fractura.

Ocurrencia en el mismo individuo, con ubicaciones laterales y mediales en las diferentes articulaciones de los nudos.

Presencia en los animales antes de comenzar el entrenamiento.

Falta de consolidación y ausencia de callo óseo.

Dentro de los factores biomecánicos también se encuentra el ejercicio físico que desarrolla el animal desde el nacimiento. Trabajos realizados han relacionado diferentes sistemas de crianza con la aparición de esta patología. Brama y col., (32) ha reportado que potrillos criados en boxes comparados con aquellos que permanecieron en pasturas poseen niveles significativamente menores de calcio y de enlaces cruzados en la lisilpiridinolina (LP) y en la hidroxilisilpiridinolina (HP) en el hueso subcondral. Estos enlaces cruzados

entre las fibras del colágeno son los que aportan propiedades como ductilidad y resistencia al hueso para dar soporte al cartilago articular.

Asimismo, se ha reportado una asociación entre el tiempo de permanencia en box durante el primer mes de vida y un retardo en el desarrollo normal, el cual es compensado suprimiendo la restricción al ejercicio (33). De hecho, Van den Hoogen y col., (34) han demostrado que la crianza en pastura, permitiendo el ejercicio libre, mejora la salud del cartilago. De acuerdo con estos resultados, investigaciones realizadas con diferentes niveles de ejercicio permiten concluir que la realización de actividad de alta intensidad y corta duración reduce la incidencia de OC en potrillos de la raza *Hanoverian Warmblood Horses* (30). Estos trabajos sugieren que la realización de ejercicio tendría una influencia protectora sobre el desarrollo de la enfermedad.

### **PREDISPOSICIÓN GENÉTICA:**

El componente genético como causal de OC ha sido reportado en varias especies incluyendo la equina (7; 35; 36; 37; 38). La heredabilidad es un factor importante en la aparición de osteocondrosis; distintos trabajos realizados reportan valores de heredabilidad diferentes según las razas estudiadas. Grøndahl y Dolvik (35) citan valores de heredabilidad de 0.52 para osteocondrosis en articulación tibiotarsal y de 0.21 para las articulaciones metacarpo-metatarsofalangeana en la raza *Standardbred trotters*. Por otro lado, para la raza *Hanoverian Warmblood Horses* se reportan, para machos y hembras respectivamente, valores de heredabilidad de 0.41 y 0.25 en fragmentos óseos en las articulaciones tarsianas, mientras que los valores para las articulaciones de los nudos son de 0.21 y 0.23 (38). Wittwer y col., (39) reportan para la raza *South German Coldblood Horses* valores de heredabilidad de 0.17 para lesiones osteocondrales en nudos y tarsos y de 0.48 para fragmentos óseos palmares/plantares en nudos. Pieramati y col., (37) reportan para la raza *Maremano horses* una heredabilidad en el rango 0.09-0.14.

Si bien, como se mencionó previamente, la OC obedece a múltiples causas, estudios recientes refuerzan la teoría genética, relacionándolo con el tamaño del animal adulto. No existen reportes de OC en razas pequeñas, como Poneyes (40).

Las asociaciones entre marcadores genéticos (microsatélites y QTL, *Quantitative Trait Loci*) y la aparición de lesiones osteocondrales han sido estudiadas en diferentes razas (13; 40). La aplicación de técnicas moleculares permitió identificar genes que se asociaban significativamente a la aparición de lesiones osteocondrales en potrillos. Los estudios de Dierks y col., (41) han permitido identificar genes asociados a lesio-

nes osteocondrales en potrillos, de los cuales se conoce su función en base a comparaciones de mapeos genómicos con humanos. Sin embargo, no se ha descrito su rol en la etiopatogenia de la enfermedad. Entre los genes identificados, los más prometedores son el MANT1, LAMB1, PTHR1 y el SLC35D1.

El MANT1 ha sido descrito en humanos. En esta especie su mutación ha sido asociada con una variedad de condrodisplasia hereditaria. El LAMB1 codifica para la proteína laminina, una glicoproteína extracelular de matriz implicada en una gran variedad de procesos incluyendo adhesión celular, diferenciación, migración y metástasis. El PTHR1 codifica para el receptor de la hormona paratiroidea; defectos en este receptor en humanos han sido asociados con diversas patologías, entre ellas: la condrodisplasia metafiseal de Jansen's, la condrodisplasia tipo Blomstrand y la encondromatosis (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene>). El gen SLC35D1 codifica para una proteína de la familia 35 de las transportadoras de solutos, (*UDP-glucuronic acid/UDP-N-acetylgalactosamine dual transporter*) ampliamente distribuida en el cartilago en los humanos, cuya función se asocia al transporte de sustratos necesarios para la biosíntesis de condroitin sulfato y, su deficiencia se ha asociado a la displasia de Schneckenbecken (42).

Wittwer y col., (43) a través de un mapeo del cromosoma 18 equino, identificó la asociación significativa de la OC al gen XIRP2, sugiriendo que las variantes dominantes de dicho gen estarían relacionadas a la patogénesis de la enfermedad.

Esto demuestra que el componente genético en esta patología juega un papel importante. Si bien no es el factor determinante para que se desarrolle la enfermedad, debe ser considerado para evaluar la predisposición a su desarrollo.

### DINÁMICA DE LA ENFERMEDAD

El carácter dinámico de la osteocondrosis fue reportado por varios autores, demostrando que ciertas lesiones osteocondrales podían llegar desaparecer eventualmente (44). Un estudio longitudinal (16) demostró que los fragmentos o lesiones que se habían observado en las radiografías podían repararse y curar completamente. Estos hallazgos refuerzan la idea de que las lesiones producidas a edades tempranas pueden ser reparadas.

Se ha demostrado que la capacidad de regeneración del cartilago es inversamente proporcional a la edad del animal. Van Weeren (40) ha construido una curva de reparación de la matriz cartilaginosa en la que se observa que los valores de reparación llegan a un 30% a los 6 meses y disminuyen hasta menos del 10 % a los 24 meses de edad (**Fig. 1**), señalándose el denominado

“punto de no retorno para la remodelación del cartilago”, a partir del cual la resolución de las anomalías es poco probable (20). El punto de no retorno varía con la articulación afectada, sin embargo su valor promedio está entre los 8 y 12 meses (16).

### CAMBIOS MOLECULARES:

Los cambios a nivel molecular podrían jugar un papel importante en el debilitamiento de la matriz cartilaginosa asociada con la OC (45).

Se ha reportado que alteraciones en las

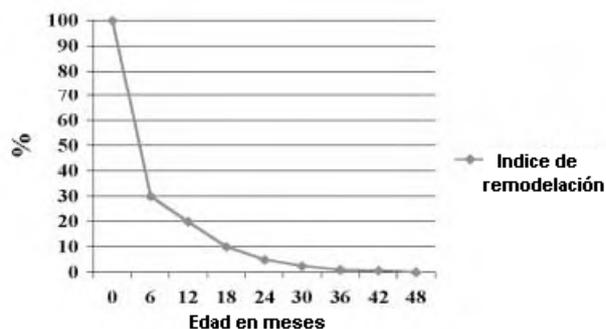


Fig. 1 - Representación esquemática de la declinación en el índice de remodelado de la matriz extracelular del cartilago articular en relación a la edad. La capacidad de remodelado (y posibilidad de reparación) es alto durante los primeros meses de la vida, cayendo en forma marcada a partir de los 6 meses.

señales entre condrocitos de las zonas de cartilago hipertrófica y pre-hipertrófica producen un retraso en la diferenciación de las células y retardo en la calcificación de la matriz lo que conduce al desarrollo de lesiones (46). Asimismo, la asociación de cambios en las cadenas de colágeno, en proteoglicanos y en la actividad de las enzimas de la matriz del cartilago con la presencia de lesiones osteocondrales ha sido ampliamente demostrada (9; 47; 48).

Entre las enzimas señaladas como causales de la enfermedad se encuentran las catepsinas. Esta familia de enzimas se asocia a la degradación de la matriz extracelular y proteoglicanos, tanto en procesos fisiológicos (como la renovación de la matriz cartilaginosa) como fisiopatológicos (artritis). Las catepsinas degradan proteoglicanos (agrecan), proteína enlazadora (estabiliza los puentes entre el agrecan y el ácido hialurónico) y distintos tipos de colágeno (I, II, IX, X y XI). Adicionalmente, activan otras proteinasas, entre ellas pro-plasminógeno, pro-colagenasa, y pro-estromelisinasa.

La catepsina B se localiza principalmente en condrocitos de la superficie articular y en la zona de hipertrofia del cartilago en crecimiento. La catepsina L predomina en la zona de proliferación celular en el cartilago fetal y neonatal (47).

El aumento de la expresión de catepsina B en condrocitos es una característica de la discondroplasia. Esta sobre-expresión conduce a fallas en la osificación endocondral y debilitamiento en la placa de crecimiento, ambas alteraciones caracterizan a la discondroplasia equina (49).

## SINOLOGÍA CLÍNICA

La osteocondrosis no siempre presenta signos clínicos, siendo la distensión no dolorosa de la articulación afectada la signología más común. En equinos la enfermedad se manifiesta clínicamente de diferentes formas dependiendo del tamaño de la lesión, localización, edad, actividad física, etc.

Las articulaciones afectadas presentan una sinovitis que puede estar asociada o no con claudicación de grado variable, pudiendo observarse, en ocasiones, atrofia muscular en la región anatómica donde se ubica la lesión (50).

Las lesiones osteocondrales tienen distintas características, pueden ser simples como aplanamientos o irregularidades de las superficies óseas articulares, o más complejas como fragmentos óseos macroscópicos. Estos fragmentos pueden estar unidos al hueso o desprendidos, denominándose en este último caso osteocondritis disecante (51).

En general los signos aparecen repentinamente, reflejando el desplazamiento de un fragmento a una zona que produce dolor (50).

La presencia de quistes óseos subcondrales (QOS) en relación con la OC es controversial. Algunos autores consideran a los QOS lesiones óseas de tipo quístico no necesariamente relacionadas a la osteocondrosis (52). Otros autores los refieren como quistes óseos subcondrales propiamente dichos, y los consideran manifestaciones de osteocondrosis (53; 54; 55; 56; 57; 58). Un tercer grupo de autores se ubican en un punto medio; los consideran manifestaciones de osteocondrosis solo cuando se presenten en más de un sitio y en animales jóvenes (4; 59).

En el animal afectado por OC, las lesiones pueden encontrarse en la mayoría de las articulaciones, en forma bilateral y simétrica. Las lesiones bilaterales se presentan más comúnmente en las articulaciones tarsales y de la babilla, y las cuadrilaterales en los nudos (60). Las articulaciones más comúnmente afectadas en orden decreciente son la babilla, el tarso, los nudos, el hombro, el carpo, vertebras cervicales y codos. (61).

La babilla es una de las articulaciones más afectadas por los QOS, que se ubican principalmente en el cóndilo medial del fémur y en menor medida en el lateral (62). Las lesiones compatibles con OCD se encuentran principalmente en la tróclea femoral lateral y con menor frecuencia en la medial y rótula (61). La signología que presenta esta articulación cuando esta afectada es efusión articular y claudicación de

grado variable de acuerdo a la magnitud de la lesión y a su asiento en uno o ambos miembros (63). Otro signo común que puede encontrarse con las lesiones en babilla es el acortamiento de la fase anterior del paso del miembro afectado, así como luxación lateral de la rótula en asociación con OCD de la tróclea lateral del fémur (50).

Las lesiones en el tarso pueden localizarse principalmente en 5 puntos anatómicos, en orden decreciente de frecuencia, cresta intermedia distal de la tibia, tróclea lateral del astrágalo, tróclea medial del astrágalo, maléolo lateral y maléolo medial de la tibia (50; 64). La presencia de fragmentos óseos en la cresta troclear medial del astrágalo conducen al síndrome de la gota de rocío (*dewdrop syndrome*). Estos fragmentos no producen sintomatología y son hallazgos radiológicos (63). Las lesiones que manifiestan signología más intensa (efusión sinovial y grados diferentes de claudicación) son las ubicadas en la cresta troclear lateral del astrágalo. Ocasionalmente las lesiones pueden ser totalmente silentes (hallazgos radiológicos) (63).

En los animales que aun no han comenzado el entrenamiento lo más comúnmente observado es la efusión articular (**Fig. 2**) sin claudicación.

Cuando las lesiones se asientan en la articulación metacarpo/tarsofalangeana se puede observar efusión articular, la cual es usualmente la primera indicación de la existencia del problema, y claudicación de grado variable. Los



Fig.2: Efusión articular en articulación Tarsiana, observada en un equino con OCD.

sitios más comúnmente afectados son, en orden decreciente, dorsal del menudillo, cresta sagital del 3° hueso metatarsiano/carpiano, palmar/plantar de la primera falange (*POF: Palmar/plantar Osseus fragment*), y los bordes de los

huesos sesamoideos. En cuanto a los cóndilos articulares de los huesos 3° metacarpiano/tarsiano, pueden encontrarse irregularidades en sus bordes o fragmentos desprendidos así como quistes óseos subcondrales.

Las lesiones que afectan a la cresta sagital del 3° metatarsiano/carpiano fueron clasificadas en tres tipos (50). Las de tipo I se caracterizan por una depresión en la cresta, en las tipo II por un fragmento osteocondral unido a la cresta y en las tipo III por un fragmento desprendido de la cresta.

Existe una importante controversia en lo referente al origen de las lesiones dorsales de la 1° falange y bordes sesamoideanos y en los POF. Un grupo de autores sostiene que su origen es osteocondral (65; 66), mientras que otro las considera de origen traumático (67; 68).

La signología en esta articulación es generalmente la efusión articular y como en las demás articulaciones, claudicación de grado variable. Un indicio clínico es que la flexión de la articulación, en general aumenta el grado de claudicación (50).

## DIAGNOSTICO

El diagnóstico definitivo de la osteocondrosis es fundamentalmente el radiológico. Se observan irregularidades o aplanamiento en las superficies óseas y fragmentos óseos unidos o no (OCD) a la superficie articular. En caso de existir un quiste se visualiza como una zona radiolúcida en el espesor del hueso subcondral (52).

Si bien se reportan casos de radiografías normales con detección de anomalías cartilaginosas al examen artroscópico, el método radiológico es el método no invasivo más accesible del que se dispone en la industria hípica para el diagnóstico de esta patología (69).

En países europeos se cuenta con distintos

protocolos de control radiológico para el diagnóstico de OC; en Francia, Bélgica y Holanda consiste de entre 8 y 14 radiografías de las articulaciones más afectadas mientras que en España, la ANCCE (Asociación Nacional de Criadores de Caballos Pura Raza Española) estableció en el año 2007 un protocolo de control radiológico de los caballos que van a ser destinados para reproductores que consta de 10 radiografías de las articulaciones más frecuentemente afectadas (70), graduando las lesiones de acuerdo a su gravedad, de modo tal que la existencia de cierto tipo de ellas no permite el ingreso del animal como futuro reproductor.

La utilidad de la radiología en el diagnóstico se basa en la observación y valoración de los puntos más importantes en cada articulación. Por ejemplo, en la figura 3 se presentan 2 radiografías en las cuales se puede observar un fragmento desprendido del borde dorsal proximal de la primera falange.

En los tarsos, también pueden verse fragmentos osteocondrales por ejemplo en la cresta tibial, como se observan en la figura 4.

En el caso de la articulación femorotibial, debe prestarse atención a la cresta lateral del fémur, asiento de las principales lesiones osteocondrales en esta articulación (**fig. 5**).

El diagnóstico puede hacerse métodos más avanzados como ultrasonografía, resonancia magnética o tomografía computada (58). Sin embargo, estos métodos no siempre están al alcance del médico veterinario clínico. En el caso de la ultrasonografía se debe contar con profesionales muy experimentados en la visualización de las estructuras articulares, pudiéndose ver el cartílago articular como una línea regular hiperecoica sobre la superficie del hueso subcondral la cual en caso de lesión se ve interrumpida, o engrosa-



Figura 3: fragmento de OCD en el borde dorsal proximal de la primera falange



Figura 4: Tarso izquierdo de un equino con OCD en la cresta tibial.

da en caso de aumento de espesor del cartilago subcondral. (58).

### TRATAMIENTO Y PRONÓSTICO

El tratamiento es dependiente de la lesión. El tratamiento más conservador es el reposo (con o sin medicación intra-articular), sin embargo este tipo de tratamiento puede conducir a la profundización del cuadro clínico (31). La administración sistémica de fármacos antiinflamatorios no esteroides (AINEs) se ubica en un punto intermedio entre el reposo y el tratamiento mas invasivo, la cirugía (71).

Se considera que el tratamiento con AINEs acompañado de ejercicio controlado resuelve el cuadro clínico en un 55 al 60% de los casos (56)

En los últimos años con el advenimiento de

la cirugía artroscópica se ha hecho más accesible este tipo de cirugías y el riesgo de complicaciones pos-quirúrgicas es mucho menor comparado con la artrotomía tradicional, por lo que el tratamiento quirúrgico se ha hecho una práctica frecuente.

En caso de existir fragmentos óseos en la cavidad articular el tratamiento de elección es el quirúrgico, ya que se remueve el fragmento y se curetea el defecto para que la cicatrización ósea normal repare la lesión. En los quistes óseos también se opta por la cirugía, enucleando el contenido del quiste y cureteando el defecto (31). Otros autores reportan el implante de hueso esponjoso en el defecto del quiste, aunque los resultados reportados no son concluyentes (71; 72)

El pronóstico de la cirugía varía con la severidad y ubicación de las lesiones. En los cuadros que cursan con defectos que afectan la superficie articular el pronóstico es generalmente reservado. En casos de menor gravedad el pronóstico en general es bueno, pudiendo volver a la actividad atlética sin problemas luego de una correcta recuperación posoperatoria. Se reportan datos de recuperación y retorno a la actividad cercanos al 80% (31).

### BIBLIOGRAFÍA

1. Lawrence L, Pagan J. The role of nutrition in developmental orthopaedic disease. Proceeding of the 3rd Mid-Atlantic Nutrition Conference. University of Maryland, College Park. 2005; 185-196.
2. Olsson SE. Osteochondrosis in domestic animals. Introduction. Acta radiol. Suppl. 1978; 358: 9-14.
3. Hurtig M, Pool R, Pathogenesis of equine osteochondrosis. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. Joint Disease in the Horse. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 335-358.
4. McIlwraith CW. Developmental Orthopaedic Disease: Problem of limbs in young horses. Journal of Equine Veterinary Science. 2004; 24: 475-479.

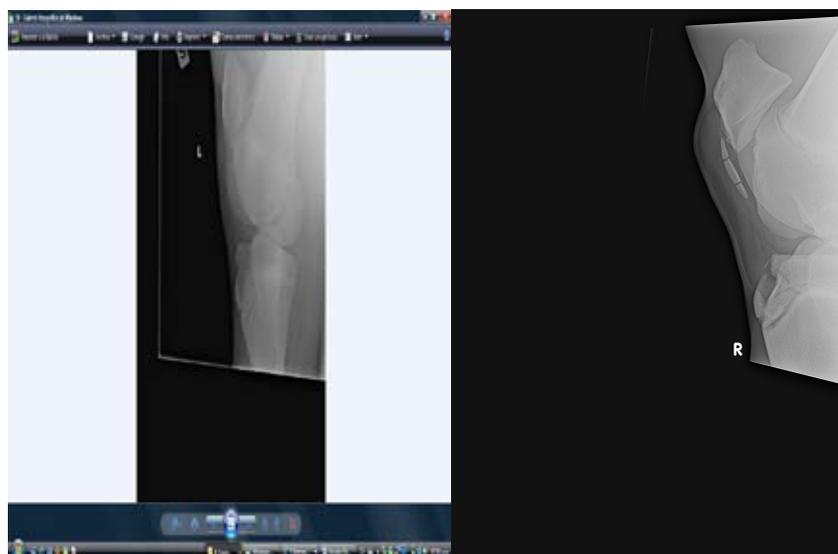


Figura 5: Lesiones de OCD en cresta lateral de fémur.

5. Beeman G, McIlwraith C. Summary of panel findings. In McIlwraith CW, editor. AQHA, Developmental Orthopedic Disease Symposium. Amarillo, Texas; 1986. p. 55-63.
6. Ytrehus B, Carlson C, Ekman S. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. *Vet Pathol.* 2007; 44: 429-448.
7. Jeffcott L. Osteochondrosis in the horse--searching for the key to pathogenesis. *Equine Vet. J.* 1991; 23: 331-338.
8. Pool RR. Difficulties in definition of equine osteochondrosis; differentiation of developmental and acquired lesions. *Equine Veterinary Journal Supplement.* 1993; 16: 31-37.
9. Van de Lest C, Brama P, Van El B, DeGroof J, Van Weeren PR. Extracellular matrix changes in early osteochondrotic defects in foals: a key role for collagen? *Biochimica et Biophysica Acta.* 2004; 1690: 54-62.
10. Denoix JM, Valette JP. Pathologie ostéo-articulaire chez le jeune cheval (incidence, évaluation clinique, facteurs de risque et conséquences). *Proc. Journée d'étude de Haras Nationaux.* 2001, 27: 101-13.
11. Hernandez E. Valoración de diferentes protocolos de estudios radiológicos de osteocondrosis en el caballo Pura Raza Española. VIII Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina (SICAB'07). Sevilla, España; 2007. p. 175-181.
12. Koene M, Rutyer A. Prevalence of effects of osteochondral lesions and intra-articular osseous fragment on the outcome of the lameness examination within the pre-purchase examination of 1440 German Warmblood horses. *The Cutting edge in Veterinary Orthopaedics, European Society of Veterinary Orthopaedics and Traumatology.* 2006, 176-177.
13. Wittwer C. Mapping quantitative trait loci (QTL) and comparative analysis of positional candidate genes for osteochondrosis in South German Coldblood horses. Doctoral Thesis: University of Hannover; 2006.
14. Alvarado AF, Marcoux M, Breton L. Proceedings of 35<sup>th</sup> American Association Equine Practitioners Annual Convention; 1989. p. 35: 295.
15. Sandgren B, Dalin G, Carlsten J. Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints. *Equine Veterinary Journal Supplement.* 1993; 16: 31.
16. Dik K, Enzerink E, Van Weeren P. Etiology, Diagnostic and treatment of Osteochondrosis (OCD). *Clinical Techniques in Equine Practice.* 1999; 5: 248-258.
17. Paasch K, Bramlage L. Focus Joints Meeting. Proceedings of American Association Equine Practitioners. Louisville, Kentucky. 2004: 17.
18. Strömberg B, Renjö S. Osteochondrosis in the horse: I. A clinical radiologic investigation of osteochondritis dissecans of the knee and hock joint. *Acta Radiol Suppl.* 1978; 358: 139-152.
19. Savage CJ, McCarthy RN, Jeffcott LB. Effects of dietary energy and protein on induction of dyschondroplasia in foals. *Equine Veterinary Journal Supplement.* 1993; 16: 74-79.
20. Löhring K. Genome scan for Quantitative Trait Loci (QTL) for osteochondrosis in Hanoverian Warmblood horses using an optimised microsatellite marker set. Doctoral Thesis, Hannover University; 2003.
21. Knight DA, Gabel AA, Reed SM, Bramlage LR, Tyznik WI, Embertson RM. Correlation of dietary mineral to incidence and severity of metabolic bone disease in Ohio and Kentucky. *Proceedings American Association Equine Practitioners.* 1985; 31: 445-461.
22. Glade M, Belling T. A dietary etiology of osteochondrotic cartilage. *Journal Equine Veterinary Science.* 1986; 6: 151-155.
23. Hurtig M, Green SL, Dobson H, Mikuni-Takagaki Y, Choi J. Correlative study of defective cartilage and bone growth in foals fed a low-cooper diet. *Equine Veterinary Journal Supplement.* 1993; 16: 66-73.
24. Van Weeren PR, Knaap J, Firth EC. Influence of liver cooper status of mare and newborn foal on the development of osteochondrotic lesions. *Equine Vet J.* 2003; 35: 67-71.
25. Wolter R. Osteochondrose et alimentation chez le cheval. *Prat. Vet. Equine.* 1996; 28: 85-96.
26. Blum J, Zentek J, Meyer H. The effect of a different energy supply on the growth intensity and skeletal development of growing Great Danes. 2. Effect of Insulin-Like growth factor I and on thyroid hormones. *Zentralbl Veterinarmed A.* 1992; 39: 568-574.
27. Barneveld A, Van Weeren P. Conclusions regarding the influence of exercise on the development of the equine musculoskeletal system with special reference to osteochondrosis. *Equine Vet J.* 1999; 31: 112-119.
28. Donabédian M, Fleurance G, Perona G, Robert C, Lepage O, Trillaud-Geyl C, et al. Effect of fast vs. moderate growth rate related to nutrient intake on developmental orthopaedic disease in the horse. *Animal Research.* 2006; 55: 471-486.
29. Jelan ZA, Jeffcott LB, Lundeheim N, Osborne M. Growth rates in Thoroughbred foals. *Pferdekeilkunde.* 1996; 12: 291-295.
30. Van Weeren PR, Barneveld A. The effect of exercise on the distribution and manifestation of osteochondrotic lesions in Warmblood foal. *Equine Vet. J.* 1999; 31: 16-25.
31. Foerner J, McIlwraith CW. Cirugía ortopédica en el equino de carrera. En: Simon A. Turner NLG, editor. *Prácticas en las pistas de carrera.* Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 191-230.
32. Brama P, Tekoppele JM, Bank RA, Barneveld A, Van Weeren PR. Biochemical development of subchondral bone from birth until age eleven months and the influence of physical activity. *Equine Vet J.* 2002; 34: 143-149.
33. Cornelissen B, Van Weeren PR, Ederveen A, Barneveld A. Influence of exercise on bone mineral density of immature cortical and trabecular bone of the equine metacarpus and proximal sesamoid bone. *Equine Veterinary Journal Supplement.* 1999; 3: 79-85.
34. Van Den Hoogen BM, Van de Lest CHA, Van Weeren PR, Van Golde IMG, Barneveld A. Effect of exercise on

- the proteoglycan metabolism of articular cartilage in growing foals. *Equine Veterinary Journal Supplement*. 1999; 31: 62-66.
35. Grøndahl AM, Dolvik NI, Heritability estimations of osteochondrosis in the tibiotarsal joint and of bony fragments in the palmar/plantar portion of the metacarpal and metatarsophalangeal joints of horses. *J Am Vet Med Assoc*. 1993; 203: 101-104.
36. Phillipson J, Adreasson E, Sandgren B, Osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints in Standardbred trotters. II. Heritability. *Equine Veterinary Journal Supplement*. 1993; 16: 38-41.
37. Pieramati C, Pepe M, Silvestrelli M, Bolla A, Heritability estimation of osteochondrosis dissecans in Maremmano horses. *Livestock Production Science*. 2003; 79: 249-255.
38. Stock KF, Hamann H, Distl O, Estimation of genetic parameters for the prevalence of osseous fragments in limb joints of Hanoverian Warmblood horses. *J Anim Breed Genet*. 2005; 122: 271-80.
39. Wittwer C, Hamann H, Rosenberger E, Distl O, Genetic parameters for the prevalence of osteochondrosis in the limb joints of South German Coldblood horses. *J Anim Breed Genet*. 2007; 124: 302-307.
40. Van Weeren PR. Natural history of and recommendations for OC lesions. *Proceeding of 13th ESVOT Congress, Munich, Germany, 2006*, 200-202.
41. Dierks C, Löhring K, Lamp V, Wittwer C, Dröguemüller C, Distl O. Genome-wide search for markers associated with osteochondrosis in Hanoverian warmblood horses. *Mammalian Genome*. 2007; 18: 739-747.
42. Hiraoka S, Furuichi T, Nishimura G, Shibata S, Yanagishita M, Rimoin DL, et al. Nucleotide-sugar transporter SLC35D1 is critical to chondroitin sulfate synthesis in cartilage and skeletal development in mouse and human. *Nature Medicine*. 2007; 13: 1363-1367.
43. Wittwer C, Hamann H, Distl O. The Candidate Gene XIRP2 at a Quantitative Gene Locus on Equine Chromosome 18 Associated with Osteochondrosis in Fetlock and Hock Joints of South German Coldblood Horses. *Journal of Heredity*. 2009; 100: 481-486.
44. Carlsten J, Sandgren B, Dalin G. Development of osteochondrosis in the tarsocrural joint and osteochondral fragments in the fetlock joints of Standardbred trotters. I. A radiological survey. *Equine Veterinary Journal Supplement*. 1993; 16: 42-47.
45. Semevolos S, Nixon A, Brower-Toland B, Changes in molecular expression of aggrecan and collagen types I, II and X, insulin-like growth factor-I, and transforming growth factor-B1 in articular cartilage obtained from horses with naturally acquired osteochondrosis. *Am. J. Vet Res*. 2001; 62: 1088-1094.
46. Semevolos S, Nixon A. Osteochondrosis: Etiologic Factors. *Compend Equine*. 2007; 2: 158-164.
47. Gläser KE, Davies ME, Jeffcott LB. Differential distribution of cathepsins B and L in articular cartilage during skeletal development in the horse. *Equine Vet J*. 2003; 35: 42-7.
48. Al-Hizab F, Clegg P, Thompson C. Microscopic localization of active gelatinase in equine osteochondritis dissecans (OCD) cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 2002; 10: 653-661.
49. Hernandez Vidal G, Valdez Martinez A, Valdez FM, Garza JK, Romero RR, Davies E, et al. Inmunolocalización de Catepsina B en condrocito y osteoclastos en discondroplasia (Osteocondrosis) equina. *Veterinaria México*. 2002; 33: 395-408.
50. McIlwraith CW. Clinical Aspect of Osteochondritis Dissecans. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. *Joint Disease in the Horse*. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 362-383.
51. Poulos P. Radiologic manifestations of developmental problems. In McIlwraith, CW editor. *AQHA: Developmental Orthopedic Disease Symposium*. Amarillo, Texas; 1986. p. 1-2.
52. Mahaffey M. La Rodilla y el Tarso. En: Thrall DE, editor. *Tratado de Diagnóstico Radiológico Veterinario*. Tercera edición. Inter-Médica SAICI, Argentina; 2001. p. 212-216.
53. Nyack B, Morgan JP, Pool R, Meagher D. Osteochondrosis of the shoulder joint of the horse. *Cornell Vet*. 1981; 71: 149-63.
54. Nixon AJ, Adams RM, Teigland MB. Subchondral cystic lesions (osteochondrosis) of the femoral heads in a horse. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 1988; 192: 360-362.
55. Riley C, Scott W, Caron J, Fretz P, Bailey J, Barber S. Osteochondritis dissecans and subchondral cystic lesions in draft horses: A retrospective study. *Canadian Veterinary Journal*. 1998; 39: 627-633.
56. Watkins J. Osteocondrosis/Fisititis. In: Colahan PT, Mayhew IG, Merritt AM, Moore JN, eds. *Medicina y Cirugía Equina*. 4ª ed: Editorial Inter-Médica. 1998, 1205-1213.
57. Riegel R. The fetlock and pastern. *Illustrated atlas of clinical equine anatomy and common disorder of the horse*. Volume One. Marysville: Equistar; 2001. p. 82-102.
58. Rossetti R, Correia da Silva L. Diagnostico y tratamiento de los quistes oseos subcondrales en caballos: revisión de la literatura. *Rev. Educ. Contin. CRMV-SP, Sao Paulo*. 2005; 8: 55-67.
59. Varela de Arco M, Lorente I, Gimeno B, Jackson P, Roman J. Revisión de las enfermedades ortopédicas del desarrollo en los caballos de carrera. *Revista Profesión Veterinaria, España*. 2007; 66: 18-24.
60. McIlwraith CW. What are the major problems associated with growth and how important are they really? Harris PA, Hill SJ and Abeyasekera LA editors. *The 1st Waltham International Breeding Symposium*. Newmarket. Newmarket (England). June 2005. p. 25-31.
61. Novales M. La Osteocondrosis en el caballo Pura Raza Española. En: Lindner A, editor. *Conferencia Internacional de Caballos de Deporte (CICADE)*. San José de Costa Rica; 2007. p. 41- 49.
62. Bramlage M. Osteochondrosis related bone cysts. *Proceedings of 39th American Association Equine Practitioners Annual Convention*. 1993; 39: 83-85.

**N. Galinelli y col.**

63. Foerner J. Osteochondrosis in the Horse. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2003; 23:142-145.
64. Vanderperren K, Raes E, Bree H, Saunders J. Diagnostic imaging of the equine tarsal region using radiography and ultrasonography. Part 2: Bony disorders. *The Veterinary Journal*. 2007; 179: 188-196.
65. Sande R. Articulación metacarpofalangica (metatarsofalangica). En: Thrall DE, editor. *Tratado de diagnostico radiológico veterinario*. 3ª edición. Inter-Médica SAICI, Argentina; 2001. p. 242-243.
66. Goodman N, Baker B. Diagnóstico y tratamiento en las claudicaciones en el Quarter Horse de Carrera. En: Simon A, Turner NLG, editors. *Prácticas en las pistas de Carrera*. Philadelphia: WB Saunders; 1995. p. 109-140.
67. Nixon A, Pool R. Histologic appearance of axial osteochondral fragments from the proximoplantar/proximopalmar aspect of the proximal phalanx in horse. *Journal of American Veterinary Medicine Association*. 1995; 207: 1076-1080.
68. Dalin G, Sandgren B, Carlsten J. Plantar osteochondral fragment in the metatarsophalangeal joint in Standardbred Trotter; result of osteochondrosis or trauma? *Equine Veterinary Journal Supplement*. 1993; 16: 62-65.
69. Steinheimer D, McIlwraith W, Park R, Steyn P. Comparison of Radiographic Subchondral bone changes with arthroscopic findings in the equine femoropatellar and femorotibial joints: A retrospective study of 72 joints (50 Horses). *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 1995; 36: 478 – 484.
70. Novales M. Sistema de control de Osteocondrosis en los caballos Pura Raza Española. *Revista Electrónica de Clínica Veterinaria (RECVET)*. 2008;3:01-11. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n020208.html>
71. Baxter G. Subchondral cystic lesions in horses. In: McIlwraith CW, Trotter GW, editors. *Joint Disease in the Horse*. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p. 384-397.
72. McIlwraith CW. Disease of joints, tendons, ligaments and related structures. In: Stashak TS, editor. *Adams' lameness in horses*. 5<sup>th</sup> edition. Baltimore: Wiley-Blackwell; 2002. p. 459-644.

# SÍNDROME DE DERMATITIS Y NEFROPATÍA PORCINO UNA REVISIÓN SOBRE SU EPIDEMIOLOGÍA, PATOLOGÍA Y ETIOLOGÍA

Insarralde L<sup>1,2</sup>, Quiroga MA<sup>1</sup>, Cappuccio JA<sup>1</sup>, Machuca MA<sup>1</sup>,  
Barrales H<sup>1,3</sup>, Alarcon LV<sup>4</sup>, Perfumo CJ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Patología Especial, Facultad de Ciencias Veterinarias,  
Universidad Nacional de La Plata.

<sup>2</sup>Beca de iniciación de la UNLP. <sup>3</sup>Beca para estudiantes de la  
Facultad de Ciencias Veterinarias,

Universidad Nacional de La Plata <sup>4</sup>Profesional privado.

**Resumen:** El síndrome de dermatitis y nefropatía porcino (SDNP) es una entidad exclusiva de los cerdos que afecta, en general, a animales de desarrollo y engorde. Su presentación suele ser esporádica con una prevalencia en las granjas afectadas menor al 1% y una letalidad entre el 50 y 100% que varía según la edad. Se caracteriza por la aparición súbita de lesiones multifocales rojo-violáceas en piel y riñones pálidos que se cubren de hemorragias petequiales. La lesión microscópica típica consiste en una vasculitis generalizada y glomerulonefritis sugestivas de una reacción de hipersensibilidad tipo III, mediada por inmunocomplejos. Si bien su etiología no es conocida, distintos trabajos asocian al SDNP con la infección por circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) basados en ciertas evidencias epidemiológicas, las características de algunas de las lesiones microscópicas y, aún cuando inconstante, la detección de antígeno y/o ácido nucleico de PCV-2 en tejidos de animales enfermos. En el presente trabajo se describen las principales características de la enfermedad desde el punto de vista de su epidemiología, patología y etiología, incluyendo datos sobre la situación en la Argentina.

**Palabras clave:** síndrome de dermatitis y nefropatía porcino; epidemiología; patología; patogenia, etiología.

## PORCINE DERMATITIS AND NEPHROPATHY SYNDROME A REVIEW ON EPIDEMIOLOGY, PATHOLOGY AND ETIOLOGY

**Abstract:** Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) is a disease that affects growing and finishing pigs characterized by a sporadic presentation, prevalence lower than 1% and variable lethality. PDNS affected pigs shows acute multifocal red-to-purple skin lesions and enlarged tan kidneys with petechial hemorrhages. The hallmark microscopic lesions of PDNS are a generalized vasculitis and glomerulonephritis that suggest a type III hypersensitivity reaction. Although the etiology remains unknown, different works have showed the association between porcine circovirus type 2 (PCV-2) and PDNS based on epidemiological evidences, microscopic lesions and, the inconstant detection of PCV-2 antigen and / or nucleic acid in affected tissues. In this article the main characteristics of the disease from an epidemiological, pathological and etiological standpoint are described. Information about national situation is also included.

**Key words:** Porcine dermatitis and nephropathy syndrome; epidemiology; pathology; pathogenia; etiology.

Fecha de recepción: 25/03/10

Fecha de aprobación: 20/11/10

**Dirección para correspondencia:** L. Insarralde, Cátedra de Patología Especial. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

**E-mail:** lucasinsarralde@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

El síndrome de dermatitis y nefropatía porcino (SDNP) es una entidad exclusiva de los cerdos caracterizada clínicamente por la aparición súbita de lesiones en piel y riñones. Afecta a animales en desarrollo y engorde siendo, generalmente, de presentación esporádica (1). Si bien su etiología no es conocida, distintos trabajos asocian al SDNP con la infección por circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) (2, 3, 4, 5, 6). Desde el punto de vista de su patogenia, las lesiones microscópicas y la presencia de inmunoglobulinas y de factores del complemento en el glomérulo sugieren como mecanismo, una respuesta de hipersensibilidad de tipo III (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

El SDNP se describió por primera vez en el Reino Unido en el año 1993 (10). Posteriormente se han descrito casos en Europa, América del Norte y principalmente América del Sur, lo que habla de una distribución mundial de la enfermedad (15, 16). En América del Sur la primera descripción data del año 1997 en Chile (9), posteriormente en Brasil (17), Argentina (18) y más recientemente en Perú (19).

En Argentina, se han reportado casos en forma esporádica, en animales de engorde y terminación y sólo en granjas positivas a PCV-2 (20).

## EPIDEMIOLOGÍA

El SDNP afecta en general, a animales de desarrollo y engorde aunque también puede presentarse en cerdos de terminación y en hembras de reposición (2). Su presentación suele ser esporádica (21), con una prevalencia en las granjas afectadas menor al 1% (usualmente entre 0,05 y 0,5 %) (16). Sin embargo, en el Reino Unido y en otros países se ha detectado una mayor prevalencia con variaciones entre el 0,25 y 20 % o más (16). La letalidad varía según la edad. En animales afectados de más de 3 meses de edad, la letalidad es próxima al 100 %, mientras que en aquellos de 1,5 a 3 meses se reduce a la mitad (16). Las evidencias epidemiológicas indican que el SDNP está fuertemente asociado con la infección por PCV-2. En algunas granjas, el síndrome mutisistémico de adelgazamiento posdestete (SMAP) y el SDNP coexisten y este último frecuentemente emerge cuando la incidencia de SMAP baja o se estabiliza (4, 22, 23). De todos modos se considera que no existe una relación directa entre SMAP y SDNP. Además, los cerdos con SMAP, nunca desarrollan SDNP o viceversa (2). En Argentina, el SDNP siempre ha sido descrito en granjas positivas a PCV-2 con o sin SMAP, con una prevalencia menor al 1 % (18, 22). Sin embargo, en los últimos años se han observado prevalencias mayores en algunas granjas. En este sentido, el monitoreo anatomo-

patológico realizado entre los años 2006-2009 en una granja porcina sin entidad clínica de SMAP, puso en evidencia que sobre el total de causas de muerte registradas en crecimiento y engorde, entre el 4,0 y el 6,2 % correspondió a descarte por SDNP (comunicación personal Dr. Perfumo CJ, 2009). Por otro lado, el SDNP representó un 2,9 % del total de casos diagnosticados en cerdos, provenientes de 11 granjas, durante el periodo 2003-2009 en el Servicio de Anatomía Patológica de la Cátedra de Patología Especial (FCV, UNLP), con un mayor porcentaje durante los años 2008-2009.

## ETIOPATOGENIA

La lesión característica del SDNP es una vasculitis necrotizante sistémica que afecta principalmente piel y riñón aunque puede también observarse en otros órganos tales como pulmón y bazo (1).

Las características de las lesiones microscópicas observadas en el SDNP se asocian fuertemente con una enfermedad mediada por complejos inmunes (10). Generalmente, inmunoglobulina M (IgM), IgA, ocasionalmente IgG y factores del complemento como C3 y C1q son detectados en la pared de los vasos afectados y en el glomérulo renal (8, 9). Se ha observado que los complejos inmunes presentan una localización subendotelial en la membrana basal del glomérulo (9). Mediante microscopía electrónica se han identificado poros que facilitan la exudación de fibrina, observándose también material celular degenerado dentro del espacio urinario. Estos poros probablemente, promuevan también el pasaje de antígenos hacia el interior del glomérulo (13).

En general, el daño mediado por inmunocomplejos puede ser causado por antígenos endógenos, tales como componentes antigénicos de células y tejidos, o por proteínas exógenas, como proteínas de la dieta, agentes infecciosos (virales o bacterianos), químicos o agentes terapéuticos (6, 13, 24). Pero en el caso del SDNP el componente antigénico de los complejos inmunes no ha sido aún determinado (11).

Hasta 1998 el virus del síndrome respiratorio reproductivo porcino (PRRSv), PCV-2, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus spp* y lipopolisacáridos de bacterias gram-negativas han sido propuestos como posibles antígenos asociados con el SDNP. Entre todos estos, el virus de PRRSv ha sido el más estudiado (5, 6, 9, 13, 24).

Se ha observado que muchos animales afectados con SDNP resultaron serológicamente positivos a PRRSv (25). Asimismo PRRSv causó vasculitis necrotizante en cerdos infectados experimentalmente (26). Se ha demostrado, por inmunohistoquímica (IHQ), la presencia de este virus dentro de los macrófagos periféricos a los

vasos sanguíneos renales y de la piel y, mediante técnica de PCR, en el pulmón y en el bazo habiéndose logrado el aislamiento viral en cerdos afectados con SDNP (12).

Sin embargo PRRSV no ha sido demostrado dentro de la pared vascular dañada, ni tampoco en todos los casos de SDNP. Por otro lado, en países libres de PRRSV tal como Argentina, también el síndrome está presente (18, 20).

Existen evidencias que ciertas bacterias cumplirían un papel significativo en el desarrollo de la enfermedad (13). Tal es el caso de *Streptococcus* beta hemolítico en la glomerulonefritis inmunomediada en humanos (13). Por lo tanto es posible su potencial participación en la etiología del SDNP (13). Otra bacteria muy bien estudiada es *Pasteurella multocida* la que ha sido aislada en muchos casos de campo de SDNP. Esto indicaría una participación en la patogenia del síndrome (24). En este sentido, antígenos específicos de *P. multocida* han sido demostrados en los riñones de cerdos con SDNP, encontrándose un mismo patrón de restricción de ADN por electroforesis de campo pulsado (24). Sin embargo este patrón también fue hallado en una alta proporción de cepas aisladas de animales sin SDNP (24). Estudios IHQ permitieron identificar antígenos de *P. multocida* en túbulos contorneados proximales, en el glomérulo, en lesiones de vasculitis renales y en el citoplasma de células mononucleares del intersticio. Todo esto demuestra, al menos, la existencia de una asociación entre la bacteria y el desarrollo de las lesiones del SDNP, aunque no permite considerar a *P. multocida* como un agente primario de la enfermedad (24).

Ciertas evidencias epidemiológicas y la detección de antígeno y ácido nucleico de PCV-2 en piel y en riñones de animales con SDNP han llevado a especular que este virus juega un papel importante en la etiología del síndrome (2, 3, 22, 27). Y si bien es aún tema de controversia, diversos estudios demuestran una fuerte asociación entre PCV-2 y el SDNP (5, 28).

Desde el año 1997 el PCV-2 es considerado el agente etiológico SMAP (29, 30). Esta enfermedad tiene cierta similitud con el SDNP por lo que en los últimos años se comenzó a investigar la posibilidad que PCV-2 sea el causante también de SDNP.

En el año 2000 se realizó la primera descripción que asocia el PCV-2 con el SDNP (36). Aunque anteriormente, investigaciones de casos de SDNP en Irlanda del Norte en los años 90, donde las granjas eran libres de PRRSV, ya habían demostrado la presencia de antígenos de PCV-2 asociados a lesiones de linfadenitis granulomatosa (32).

Opriessnig y col (28) no lograron demostrar por IHQ la presencia de PCV-2 en todos los casos confirmados de SDNP, pero sí identificaron en

todos ellos ADN viral, por medio de técnicas de PCR. A su vez confirmaron, también mediante PCR, la ausencia tanto de parvovirus porcino como de PRRSV en muchos de los casos confirmados de SDNP (28).

Por otro lado, estudios realizados en España y EE.UU. utilizando hibridación *in situ* e IHQ, demostraron la presencia de ácido nucleico y/o antígeno de PCV-2 en células linfoides, macrófagos y células histocíticas de linfonódulos, placas de Peyer, tonsilas, pulmón, bazo, riñón, hígado y piel (5, 14, 25, 33).

En Argentina, si bien en el primer caso descrito de SDNP se identificó, por hibridación *in situ*, ácido nucleico de PCV-2 en las paredes arteriolares renales (20), un estudio IHQ realizado sobre muestras de riñón y linfonódulo de 20 casos de SDNP demostró, en forma preliminar, la ausencia de asociación estadística entre la inmunomarcación de PCV-2 y las lesiones renales y de linfonódulos. No obstante, dadas las lesiones observadas, estos resultados no excluyen la posibilidad de una infección por PCV-2 en fase resolutive (34).

Wellenberg y col (33) describieron que los animales afectados por el SDNP evidenciaban títulos de anticuerpos contra PCV-2 extremadamente elevados, pudiendo estos anticuerpos actuar como disparadores del desarrollo del síndrome, soportando así la hipótesis de la hipersensibilidad tipo III. Sin embargo, por otro lado, infecciones experimentales con PCV-2 en las que se detectó hipergammaglobulinemia no indujeron el SDNP (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

Si bien al presente, no se ha logrado la reproducción experimental del SDNP mediante la infección con PCV-2 y el antígeno viral no ha sido consistentemente encontrado en las lesiones histopatológicas típicas del síndrome, la existencia de una relación es reconocida en diversos países como España, Francia y el Reino Unido (6, 15, 35, 36) situación que ha llevado a incluir a SDNP dentro del grupo de enfermedades asociadas a PCV-2 (PCV-AD) (5, 7).

## SIGNOS CLÍNICOS Y LESIONES

SDNP se caracteriza clínicamente por la aparición repentina de lesiones en piel ligeramente sobreelevadas, violetas, redondas o irregulares que progresan hasta áreas multifocales rojovioláceas y que luego se vuelven costrosas con un centro negro (28). Estas lesiones a menudo coalescen y forman grandes parches y placas, comprometiendo inicialmente, la piel de la región de los cuartos traseros, miembros y abdomen para luego progresar e involucrar tórax, flancos y orejas (37, 38). Los animales levemente afectados pueden permanecer afebriles, alertas y a menudo, se recuperan espontáneamente. Los animales afectados severamente presentan fiebre,

anorexia, depresión, letargia, postración, ataxia, paresia, rigidez al caminar o rehúsan moverse, notándose una rápida pérdida de la condición corporal previo a la muerte (1, 6, 24, 37, 38). A la necropsia se observan extensas áreas de edema y hemorragias en el tejido subcutáneo y en la dermis. Los riñones están aumentados de tamaño, firmes, pálidos y frecuentemente se cubren de hemorragias petequiales. También pueden aparecer, en algunos casos, manchas blancas en la superficie. Los linfonódulos, principalmente los inguinales y renales, se encuentran aumentados de tamaño y rojo oscuro (33). Este color rojizo es consecuencia del drenaje de sangre de las zonas afectadas (12, 13, 15, 24).

No todos los cerdos evidencian lesiones macroscópicas en piel y riñones. Algunos no presentan lesiones cutáneas y otros sólo desarrollan lesiones renales muy leves o directamente no las presentan. Aunque atípico, estos casos pueden considerarse como formas del síndrome ya que, de todos modos, está presente la vasculitis necrotizante sistémica (6, 15).

Las lesiones microscópicas son características de una hipersensibilidad tipo III, consecuencia de un desorden inmuno-mediado causado por depósitos de complejos inmunes en las paredes de los capilares y del glomérulo renal (5, 37, 38, 39). De este modo se observan vasculitis necrotizante generalizada y glomerulonefritis fibrinonecrótica. La vasculitis se puede encontrar en varios órganos, pero lo más frecuente es observarla en piel, pelvis renal, mesenterio y bazo (15, 40).

Las múltiples lesiones puntiformes, pequeñas y rojizas, similares a petequias, que se presentan en la corteza renal se corresponden microscópicamente con glomérulos aumentados de tamaño, con el espacio de Bowman distendido y lleno de fibrina, células inflamatorias y eritrocitos (glomerulitis necrotizante fibrinosa) (15, 26, 33, 41). También se observa una moderada a severa nefritis intersticial no supurativa con infiltración de células mononucleares (24), y con túbulos renales dilatados y llenos de material proteináceo. Distintos grados de degeneración, necrosis y atrofia tubular, así como fibrosis intersticial, caracterizan la lesión túbulo-intersticial (25, 33, 42, 43).

La lesión renal entonces, varía desde una leve a severa glomerulonefritis fibrinosa con vasculitis necrotizante aguda a una glomerulonefritis crónica con glomerulosclerosis y fibrosis intersticial (3, 13, 14, 15, 33, 43, 44).

Microscópicamente, las lesiones en linfonódulos y otros tejidos linfoides son similares a las encontradas en los casos de SMAP, y consisten en depleción linfoide asociada a necrosis folicular (33, 45) y parafoficular (3, 45) y cierto grado de infiltración de células gigantes multinucleadas y/o histiocitos diseminados por la corteza y paracorteza (3, 15, 33, 41, 45).

El estudio histopatológico de las lesiones en piel revela una necrosis en dermis y epidermis, con degeneración fibrinoide, presencia de vasculitis necrótica y trombosis (33).

## DIAGNÓSTICO

El SDNP es relativamente sencillo de diagnosticar basado en los signos clínicos y en las lesiones macroscópicas. Sin embargo, para realizar el diagnóstico definitivo es esencial la identificación, mediante histopatología, de glomerulonefritis y vasculitis necrótica sistémica particularmente en los vasos de la pelvis renal, subcutis y dermis de la piel (12, 14, 16, 46). La glomerulonefritis fibrinosa difusa es a menudo la lesión más destacable que se observa en la mayoría de los animales con SDNP (16, 46).

En todos los casos graves, los cerdos presentan altos niveles de urea y creatinina en sangre y en el humor acuoso, que indican una falla renal severa que lleva a la muerte de estos animales. Estos cambios son distintivos de la glomerulopatía que se presenta en esta enfermedad (3, 14, 33, 44, 46). Los valores en el humor acuoso de urea son aproximadamente de 24,14 mm/l (normal: 4,5 mm/l) y los de creatinina son de 9,2 mm/l (normal: 2,09 mm/l).

Desde un punto de vista diagnóstico, la detección del PCV-2 no se incluye entre los criterios para el diagnóstico de SDNP (16).

## DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La baja prevalencia del SDNP en la mayoría de las granjas puede contribuir al diagnóstico. Sin embargo, en aquellas donde la prevalencia es más alta de lo habitual (mayor al 1%), debería realizarse el diagnóstico diferencial con otras enfermedades (6, 14).

En el SDNP las lesiones macroscópicas primarias están presentes en riñón y piel, por lo tanto las enfermedades o condiciones que pueden ocasionar diferentes cuadros patológicos en piel como son peste porcina clásica, erisipela porcina, salmonelosis septicémica, infecciones por *Actinobacillus suis*, eritemas pasajeros (pisos mojados de orina, quemaduras por químicos, etc.), dermatosis por deficiencia de zinc y otras infecciones por bacterias septicémicas deberían incluirse como diagnósticos diferenciales. De las mencionadas, sólo peste porcina clásica y salmonelosis septicémica pueden producir lesiones en los riñones muy similares a las observadas en el SDNP aspecto que debe tenerse en cuenta en aquellos países en que dichas entidades coexisten (1, 6, 13, 14, tabla N° 1).

Por lo tanto los diagnósticos diferenciales a tener en cuenta varían según la región geográfica y las características de presentación del SDNP, ya sea con predominio de lesiones en piel y/o riñón. Por ejemplo, en algunos países de Europa la

<sup>1</sup>Diagnóstico diferencial en SDNP: signos clínicos y hallazgos de necropsia.

Signos clínicos y lesiones	PPC	SDNP	Eri	SS	DZn
Fiebre	+	+	+	+	-
Muerte súbita	+	+	+	+	-
Linfonódulos agrandados	+	+	+	+	-
Linfonódulos hemorrágicos	+	+	-	-	-
Hemorragias	+	+	-	-	-
Lesiones cutáneas	+	+	+	+	+
Lesiones renales	+	+	+	+	-

PPC= peste porcina clásica, Eri= erisipela porcina, DZn= dermatosis por deficiencia de Zinc, SS= salmonellosis septicémica.

principal diferenciación diagnóstica se hace con peste porcina clásica, y en EE.UU. y Canadá el principal diagnóstico diferencial es la salmonellosis septicémica (6).

### CONCLUSIÓN

En el caso del SDNP, numerosos estudios de campo y experimentales han comprobado que no existe una relación causal directa entre la infección por PCV-2 y el desarrollo de la enfermedad. De todos modos, si bien la identificación del virus en SDNP es inconstante, la inflamación granulomatosa en los linfonódulos también presente con frecuencia en riñón, es característica de la infección por PCV-2 observándose que el uso masivo de la vacuna contra este virus ha reducido su incidencia. Considerando que la infección por PCV-2 es endémica en la mayoría de las granjas y que la signología de PCV-AD es inespecífica, debemos ser precavidos al relacionar un cuadro clínico-patológico y la identificación del virus en los tejidos, con una entidad particular. Esto ha originado una revisión de los criterios diagnósticos de las PCV-AD que involucra: el cuadro epidemiológico, las lesiones histopatológicas, la inmunomarcación del virus en las mismas así como su cuantificación. Para sumar mayor complejidad, este patrón de diagnóstico no es aplicable a SDNP. Al igual que ocurre con otras presentaciones asociadas a la infección por PCV-2, es probable que en el caso de SDNP se sumen causas o circunstancias adicionales, que aún desconocemos, que actúen como disparadores de la enfermedad y que constituyen un desafío descifrar.

### BIBLIOGRAFIA

- Harding JC. The clinical expression and emergence of porcine circovirus 2. *Vet Microbiol* 2004; 98: 131-135.
- Chae CA. A review of porcine circovirus 2-associated syndromes and diseases. *Vet J* 2005; 169 (3): 326-336.
- Choi C, Chae C. Colocalization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus 2 in porcine dermatitis and nephropathy syndrome by double-labeling technique. *Vet Pathol* 2001; 38:436-441.

- Krakowka S, Rings DM, Ellis JA, Allan GM, McNelly F, Meehan BM, McCullough KC, Botner A, Nauwynck HJ, Charreyre C. The pathogenesis of PCV2 infection and PMWS. En: *White Book n° 4: PCV2 diseases: intimate relationships between host and pathogen & a close-up on Asia*. Merial Ed., 1<sup>st</sup> APVS 2003 September; pp. 9-24; Seoul, Korea.

- Rosell C, Segalés J, Ramos-Vara JA, Folch JM, Rodriguez-Arriola GM, Duran CO, Balasch M, Plana-Duran J, Domingo M. Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet Rec* 2000 Jan 8; 146 (2), 40-43.

- Segalés J, Rosell C, Domingo M. Trends in emerging viral infections of swine. Ed. Iowa State Press. Iowa (EE.UU) 2002; p.313-318.

- Ellis J. Porcine circovirus and the PRRSV-PCV dilemma. Proceedings of the Annual Meeting of the 57<sup>th</sup> American College of Veterinary Pathologists and 41<sup>st</sup> American Society for Veterinary Clinical Pathology; 2006 December 2-6; Tucson, Arizona.

- Hélie P, Drolet R, Germain MC, Bourgault A. Systemic necrotizing vasculitis and glomerulonephritis in grower pigs southwestern Quebec. *Can Vet J* 1995; 36: 150-154.

- Sierra MA, de las Mulas JM, Molenbeek RF, van Maanen C, Vos JH, Quezada M, Gruys E. Porcine immune complex glomerulonephritis dermatitis (PIGD) syndrome. *Eur J Vet Pathol* 1997; 3: 63-70.

- Smith WJ, Thompson JR, Done S. Dermatitis/nephropathy syndrome of pigs. *Vet Rec* 1993; 132: 47.

- Stockhofe-Zurwieden N, Wichgers-Schreurs P, Van Es M, Niewold T. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS) is associated with hypergammaglobulinemia. Proceedings of the 19<sup>th</sup> IPVS Congress 2006 July 16<sup>th</sup> -19<sup>th</sup>; Vol 2. 80; Copenhagen, Denmark.

- Thibault S, Drolet R, Germain MC, D'Allaire S, Laroche R, Magar R. Cutaneous and systemic necrotizing vasculitis in swine. *Vet Pathol* 1998; 35: 108-116.

- Thomson JR, MacIntyre N, Henderson LEA, Meikle CS. Detection of *Pasteurella multocida* in pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet Rec* 2001; 149: 412-417.

- Thomson JR, Higgins RJ, Smith WJ, Done SH. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome: clinical and pathological features of cases in the United

- Kingdom (1993-1998). J Vet Med Physiol Clin Med 2002; 49: 430-437.
15. Segalés J, Rosell C, Domingo M. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated diseases. Vet Microbiol 2004; 98: 137-149.
16. Segalés J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. Animal Health Research Reviews 2005; 6: 119-142.
17. Morés N. Epidemiologia da infecção pelo PCV2 em rebanhos do sul do Brasil. I simpósio UFRGG sobre Manejo, Reprodução e sanidade suína, 16-18 de maio 2006; p: 27; Vila Tamanduá, Concórdia, SC.
18. Machuca M, Segalés J, Sanguinetti HR, Perfumo CJ. Hallazgos anatomopatológicos y epizootiológicos del síndrome de dermatitis y nefropatía del cerdo. Tercera Reunión Argentina de Patología Veterinaria 2002 noviembre 28-29; p: 63; Rosario, Santa Fe, Argentina.
19. Olivera L, Torres M, Quiroga MA, Cappuccio JA, Piñeyro PE, Machuca MA, Perfumo CJ. Porcine circovirus type 2-associated syndromes in Peru. Proceedings of the 19<sup>th</sup> IPVS Congress 2006; vol. 2: 81; Copenhagen, Denmark.
20. Machuca MA, Segalés J, Idiar JR, Sanguinetti HR, Perfumo CJ. Síndrome de dermatitis y nefropatía porcina en la República Argentina: patología y detección de circovirus porcino. Rev Med Vet 2000; Vet., 81: 337-339.
21. Harding JC, Halbur PG. PMWS or a group of PCV2-associated syndromes: ever-growing concerns. White Book n° 3: PMWS and PCV2 diseases. Beyond the debate. Merial Ed. 17<sup>th</sup> IPVS 2002 June; pp. 19-31; AMES Iowa.
22. Cappuccio JA, Quiroga MA, Machuca MA, Piñeyro PE, Arauz MS, Pinto ME, Vigo GB, Perfumo CJ. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome as a cause of death, retarded growth and increased isolation of *Salmonella* Typhimurium in grower finisher phases in three Argentinean farms. Proceedings of the 19<sup>th</sup> IPVS Congress; 2006 July 16<sup>th</sup>-19<sup>th</sup>; Vol 2: 95; Copenhagen, Denmark.
23. Quiroga MA, Machuca MA, Cappuccio JA, Massone AR, Idiar JR, Labala J, Delas P, Perfumo CJ. Síndrome multisistémico de adelgazamiento postdestete. Aspectos epidemiológicos, clínicos y anatomopatológicos observados en tres granjas. Memorias del VII Congreso Nacional de Producción Porcina 2003 Octubre; p: 19; Río Cuarto, Córdoba.
24. Lainson FA, Aitchison KD, Donachie W, Thomson JR. Typing of *Pasteurella multocida* isolated from pigs with and without porcine dermatitis and nephropathy syndrome. J Clin Microbiol 2002; Vol 40: 588-593.
25. Saoulidis K, Kyriakis SC, Kennedy S, Lekkas S, Miliotis ChC, Allan G, Balkamos GC, Papoutsis PA. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis nephropathy syndrome in pigs in Greece. J Vet Med B 2002; 49: 202-205.
26. Cooper VL, Hesse RA, Doster AR. Renal lesions associated with experimental porcine reproductive syndrome virus (PRRSV) infection. J Vet Diagn Invest 1997; 9: 198-201.
27. Piñeyro PE, Quiroga MA, Cappuccio JA, Machuca MA, Ramos-Vara JA, Perfumo CJ. Neumonía necrótica y proliferativa: patología e identificación de virus por técnicas de inmunohistoquímica y microscopía electrónica. V Congreso de Producción Porcina del MERCOSUR 2006; pp: 286; Córdoba, Argentina.
28. Opriessnig T, Xiang-Jin M, Patrick GH. Porcine circovirus type 2-associated disease: Update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. J Vet Diagn Invest 2007; 19: 591-615.
29. Clark EG. Skin lesions: A diagnostic dilemma. Proceeding of the Iowa State University Swine Disease Conference for Swine Practitioners 1997; pp: 15-18.
30. Kennedy S, Moffett D, McNeilly F, Meehan E, Ellis J, Krakowka S, Allan G. Reproduction of lesion of postweaning multisystemic wasting syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with porcine parvovirus. J Comp Pathol 2000; 122: 9-24.
31. Cheung AK, Lager KM, Kohutyuk OI, Vincent AL, Henry SC, Baker RB, Rowland RR, Dunham AG. Detection of two porcine circovirus type 2 genotypic groups in United States swine herds. Arch Virol 2007; 152: 1035-1044.
32. Allan GM, McNelly E, Kennedy S, Meehan B, Moffett D, Malone F, Ellis J, Krakowka S. PCV-2-associated PDNS in Northern Ireland in 1990: porcine dermatitis and nephropathy syndrome. Vet Rec 2000; 146:711-712.
33. Wellenberg GJ, Stockhofe-Zurwieden N, de Jong MF, Boersma WJ, Elbers AR. Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a case-control study. Vet Microbiol 2004; 99: 203-214.
34. Insarralde L, Quiroga MA, Cappuccio JA, Machuca MA, Barrales H, Perfumo CJ. Síndrome de dermatitis y nefropatía porcino: categorización de las lesiones y estudio inmunohistoquímico. XIV congreso ABRIVES 2009; Uberlandia, MG, Brasil.
35. Gresham A, Jackson G, Giles N, Allan G, McNeilly P, Kennedy S. PMWS and Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Great Britain. Vet Rec 2000; 146:143.
36. Madec F, Eveno E, Morvan P, Hamon L, Blanchard P, Cariolet R, Amenna N, Morvan H, Truong C, Mahé D, Albina E, Jestin A. Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) In France: clinical observations from follow-up studies on affected farms. Livest Prod Sci 2000; 63: 223-233.
37. Drolet R, Thibault S, D'Allaire S, Thomson JR, Done SH. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): an overview of the disease. J Swine Health Prod 1999; 7:283-285.
38. Duran CO, Ramos-Vara JA, Render JA. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a new condition to include in the differential diagnosis list for skin discoloration in swine. J Swine Health Prod 1997; 5: 241-244.

39. Piñeyro PE, Cappuccio JA, Machuca MA, Quiroga MA, Massone AR, Perfumo CJ. Estudio comparativo de las lesiones renales de cerdo con síndrome multisistémico de adelgazamiento postdestete y de dermatitis y nefropatía. Cuarta Reunion Argentina de Patología Veterinaria 2004 junio 2-4; p: 64; La Plata, Argentina.
40. Phaneuf LR, Ceccarelli A, Laing JR, Moloo B, Turner PV. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome associated with porcine circovirus 2 infection in a Yorkshire pig. *J Am Assoc Lab Sci* 2007; 46: 68-72.
41. Madić J, Grabarević Z, Bacanek B, Biu-Rudan A, Artuković B, Smolec O, Beck A. PCR detection of porcine circovirus type 2 in pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Croatia. Proceedings of the 18<sup>th</sup> Congress 2004; June 27<sup>th</sup> – July 1; Vol 1; Hamburg, Germany.
42. Gresham A, Done S, Livesey C, MacDonald S, Chan D, Sayers R, Clark C, Kemp P. Survey of pig's kidneys with lesions consistent with PMWS and PDNS ochratoxicosis. Part 2: Pathological and histological findings. *Vet Rec* 2006; Dec 2, 159: 761-8.
43. Molnárt T, Glávits R, Szeredi L, Dán A. Occurrence of porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Hungary. *Acta Vet Hung* 2002; 50: 5-16.
44. Brakmann B, Wendt M. PDNS: Histological lesions compared with parameters of renal function. Proceedings of 18<sup>th</sup> Congress; 2000 June 27<sup>th</sup> –July 1; Vol 1, p 370; Hamburg, Germany.
45. Piñeyro P, Pereda A, Quiroga MA, Cappuccio JA, Machuca MA, Perfumo CJ. Comparación entre las técnicas de inmunohistoquímica y PCR para la detección de circovirus porcino tipo 2 en linfónodos. Sexta reunión Argentina de Patología Veterinaria 2008 julio 16-19; p: 112; Corrientes, Argentina.
46. Segalés J, Piella J, Marco E, Mateu de Antonio EM, Espuna E, Domingo M. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Spain. *Vet Rec* 1998; 142: 483-486.

# TEMPERAMENTO Y BIENESTAR. EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE BOVINOS DE CARNE

## Vaca RJA

Cátedra de Zootecnia Especial II. Departamento de Producción Animal  
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

**RESUMEN:** Los bovinos con temperamento indócil ganan menos peso, producen carne mas dura, y presentan pérdidas por hematomas y abscesos en distintas áreas musculares, adquiridas durante el manejo y el transporte que deben eliminarse para comercializar. Las perdidas en argentina se estiman en 0,89 u\$s por animal faenado siendo de 28 y 47 dólares para Estados Unidos, aumentando la preocupación por el bienestar de los animales. El temperamento se define como el conjunto de comportamientos de los animales relacionados con el hombre atribuido al miedo. Los test que miden temperamento evalúan el miedo, imitando condiciones peligrosas con las que se encuentran los animales en su ambiente de producción, para estandarizar la reactividad entre individuos. Algunos test restringen físicamente a los animales para evaluar su comportamiento, otros observan los animales en áreas grandes incluyendo interacción con el operador. Existen indicios de que es posible modificar la intensidad de las reacciones emocionales por manejo y selección, amansando los animales mediante procesos de habituación y de aprendizaje asociativo. Las medidas del temperamento tuvieron moderada a alta heredabilidad ( $h^2 = 0,54$ ) cuando los test se realizaron al destete y baja ( $h^2 = 0,26$ ) cuando se evaluaron nuevamente a los 18 meses de edad. Siendo el temperamento un carácter heredable que impacta sobre el bienestar animal y la producción bovina, el mismo puede utilizarse como criterio de selección. La selección por temperamento requerirá establecer un sistema de evaluación estandarizado e implementar buenas prácticas de manejo para reducir las perdidas económicas.

**Palabras clave:** temperamento, bienestar, calidad de carne

## TEMPERAMENT AND WELFARE EFFECT ON PRODUCTION OF CATTLE MEAT

**ABSTRACT:** The bovine ones which have unruly temperament gain less weight produce firm meat, and present losses for bruises and abscesses in different muscular areas acquired during the managing and the transport that must be eliminated to commercialize. The losses in Argentine are estimated in 0,89 u\$s by slaughtered animal being 28 and 47 dollars for The United States, increasing the worry for the welfare of the animals. The temperament is defined as the set of behaviors of the animals related to the man attributed to fear. The tests that measure temperament evaluate fear, imitating hazardous conditions which find the animals in their production environment, to standardize the reactivity among individuals. Some tests restrict animals physically; others observe the animals in big areas including interaction with the operator. There are evidences which indicate that it is possible to modify the intensity of the emotional reactions for managing and selection, taming the animals by means of processes of habituation and of associative learning. Temperament measures were moderate heritability ( $h^2 = 0,54$ ) when the test carried out to the weaning and fell ( $h^2 = 0,26$ ) when they were evaluated again at 18 months of age. Being the temperament a character inheritable that strikes on the animal well-being and the bovine production, it can be used as criterion of selection. The selection for temperament will need to establish a standardized evaluation system and to implement good managing practices to reduce economic losses.

**Keywords:** temperament, welfare, behavior

Fecha de recepción: 29/03/10

Fecha de aprobación: 20/11/10

**Dirección para correspondencia:** R. Vaca, Cátedra de Zootecnia Especial II. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

**E-mail:** rovacar@yahoo.com.ar

## INTRODUCCIÓN

Si bien son escasos los datos nacionales sobre pérdidas relacionadas con la falta de bienestar animal definidas como daños producidos por hematomas, desgarros, cortes oscuros y descarte de cortes valiosos por pH alto, información proveniente de auditorías nacionales realizadas en los Estados Unidos en 1991, 1995 y 2000, estiman las pérdidas en 47, 28 y 40 dólares, respectivamente, por cada animal gordo faenado. Auditorías realizadas en Uruguay por INAC, INIA y CSU, en el 2003 cuantificaron las pérdidas en 32 dólares por cabeza siendo las lesiones más comunes por hematomas y cortes oscuros. (7). En la República Argentina los datos obtenidos por la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Centro (7) estiman las de pérdidas en u\$\$ 0,89 por animal faenado. Si bien este valor es bastante inferior a los reportados en EEUU y Uruguay, si consideramos una faena de 14.200.000 (cabezas faenadas en el año 2004) la suma asciende a u\$\$12.590.000 por año siendo esto un valor considerable (8)

Se ha determinado que el ganado bovino con temperamento indócil tiene menor ganancia de peso (12, 43), posee carne más dura (43, 19, 41) y ocasiona aumento de las pérdidas debidas a la presencia de hematomas y recortes por lesiones adquiridas durante el manejo y el transporte (21).

Incluso algunos productores, de hecho, consideran el temperamento como un rasgo importante a la hora de seleccionar el ganado para la compra (17).

Diversos autores consideran que ha sido considerable el aumento de la preocupación por el bienestar de los animales en las explotaciones ganaderas (2). Esta preocupación por un mejor bienestar de los animales se incrementa en la medida que las sociedades se hacen más ricas y urbanas (38).

Esto ha llevado a la necesidad de definir los conceptos de bienestar desde una manera simple tal como la ausencia de sufrimiento (16) o como una medida de adaptación de los animales al ambiente (11).

Gran parte de los esfuerzos utilizados para mejorar el bienestar animal se han concentrado en la modificación de las instalaciones o en las prácticas de manejo, intentando adaptar el sistema a los animales, por lo cual se incrementan los costos.

Algunas de las situaciones en las que los animales sufren estrés no se podrán modificar (carga y descarga de animales) y tampoco es posible lograr que los procesos adaptativos se hagan a la velocidad con que cambian los sistemas de producción, aunque la mejora del ganado acompaña indirectamente una selección por adaptación a los sistemas y al manejo (36).

Esta adaptabilidad según Dantzer (38) se define como la capacidad de ajustarse en respuesta al estrés de las condiciones de producción, incluyendo los hábitos alimentarios, aspectos locomotores y la reactividad al estrés, la cual se puede evaluar mediante el estudio del comportamiento, marcadores bioquímicos y endocrinos.

Por lo tanto, frente a determinados problemas, resultaría muy útil pensar no solo en adaptar el sistema al animal y sus necesidades, sino poner en marcha programas de selección en búsqueda de animales más adaptados a los sistemas de producción (38).

Considerando al temperamento como un carácter heredable que impacta en el Bienestar Animal y sobre la producción de carne bovina, el mismo podría utilizarse como criterio de selección.

En la presente revisión se discute acerca de los efectos del temperamento sobre la producción de carne bovina y los métodos de evaluación del temperamento de los bovinos de forma práctica y objetiva.

## TEMPERAMENTO

Temperamento es el conjunto de comportamientos de los animales relacionados con el hombre generalmente atribuido al miedo (21) o la expresión o modo en que los animales perciben y reaccionan frente a estímulos que originan miedo (10), o la respuesta comportamental de un animal al manejo producido por el hombre, equivaldría a la personalidad de los humanos (12). Este es el resultado de la organización hormonal, nerviosa y física del individuo.

El temperamento afecta la eficiencia productiva (14), los rasgos reproductivos (26) y la calidad de la carne (41). Si bien datos bibliográficos indican que los efectos negativos del temperamento sobre las características productivas se presentan en casos extremos (15).

El interés por el temperamento de los animales está basado principalmente en que este rasgo de conducta impacta sobre la optimización de los sistemas de producción, sobre todo cuando hablamos de miedo prolongado e intenso que tiene efectos negativos sobre la productividad (8).

El miedo y la ansiedad son estados emocionales indeseables en los bovinos, pues resultan en estrés y en reducción del bienestar. Entonces la podemos considerar una característica de importancia económica, ya que tratar con animales indóciles es más estresante e implica mayores costos por: necesidad de más personal de campo, mayores riesgos de accidentes de trabajo, más tiempo en el manejo, mayor infraestructura para el manejo, pérdidas de calidad de carne por contusiones, otras lesiones y disminución de las ganancias de peso (36).

La hipótesis de que el temperamento influye

sobre la eficiencia productiva, la capacidad inmune y en última instancia en la calidad de carne, se basa en la relación entre el temperamento y la respuesta al estrés del animal.

Vacas con temperamentos más excitables manifiestan una respuesta de corticosteroides presentando niveles basales más altos, como consecuencia de una activación crónica de la adenohipofisis.

Según Minton (33) la exposición repetida a estresores agudos no logra disminuir la respuesta de los animales cuando los mismos vuelven a enfrentarse a situaciones de estrés. Esto concuerda con las conclusiones de Grandin (23) quien demostró que el comportamiento calmo o agitado durante la restricción en la casilla de operaciones de la manga en repetidas sesiones de trabajo, los animales propensos a respuestas de estrés largas no pudieron aclimatarse a condiciones estresantes crónicas y manifiestan menores ganancias de peso y menor calidad de carne.

Es posible que para algunas medidas de temperamento que se utilizan como predictores de la respuesta fisiológica del animal ante nuevas experiencias, pueda existir una aparente conducta de aprendizaje, lo cual podría sugerir que las últimas medidas de temperamento tendrían un valor predictivo menor que las que se toman al inicio del proceso de evaluación (17).

Según datos publicados por King (28) la puntuación en el test de velocidad de salida (*flight time*) fue menor en muestreos realizados al arribar a las instalaciones de encierre respecto de las efectuadas antes del envío. Esto puede ser reflejo de una adaptación o comportamiento aprendido de los animales que adquieren experiencia.

Las experiencias previas de cada individuo tienen un efecto importante sobre la magnitud de la respuesta al miedo, ya diversos trabajos han puesto de manifiesto que los procesos de miedo y ansiedad se encuentran en parte bajo control genético, lo cual puede determinar la aparición de diferencias individuales (10).

En bovinos de carne, la experiencia demuestra que el manejo intensivo con animales aislados no mejora el temperamento de los animales ni a corto ni a largo plazo (12) ni tampoco posee efecto sobre el nivel de susceptibilidad al estrés, el crecimiento y la calidad de la carne (32).

## TEST DE EVALUACIÓN

Para medir el temperamento de los animales necesitamos una metodología eficiente, segura y de fácil repetición en los establecimientos pecuarios. Los test de comportamiento se basan en evaluar el miedo para lo cual imitan condiciones peligrosas con las que se encuentran los animales en su ambiente natural o de producción, de esta manera se pretende facilitar

la reactividad psicobiológica entre individuos de forma estandarizada.

Dentro de los más utilizados está el test de velocidad de salida o *flight time* que consiste en determinar la velocidad a la cual salen los animales de la balanza o casilla de operaciones, asignando un *score*, siendo los más reactivos los que salen más rápidamente (5, 9, 39, 12).

Muchos de ellos restringen físicamente el comportamiento del animal, como el test de la balanza o el test del cepo en los que se observan y registran por medio de observadores entrenados las vocalizaciones, la cantidad e intensidad de movimientos, las coces, los intentos de huida, la intensidad y la frecuencia de las respiraciones audibles, etc.

Existen otras pruebas donde los animales son observados en áreas abiertas, por ej. los corrales e incluyen interacción con el operador, entre ellos podemos citar el test de aproximación – evasión (test del corral), test de campo abierto (*open field*) y test de velocidad de huida (8).

También podríamos evaluar el temperamento observando las respuestas a cambios ambientales, como el aislamiento social, el manejo, introducción de objetos nuevos en el ambiente o la competencia alimentaria. Grandin (23) sostiene que la crianza de animales jóvenes en entornos carentes de variedad y estímulos sensoriales puede hacer que los animales sean más reactivos y excitables cuando se conviertan en adultos.

El temperamento bovino es heredable y las diferencias de temperamento persisten cuando se mide este rasgo a lo largo de un periodo de tiempo. Además, el temperamento no solo es influenciado por la genética sino también por la manipulación (37). La reactividad a estímulos intermitentes puede servir para predecir cuales animales serán más propensos a agitarse cuando se los exponga a situaciones nuevas, tales como un remate, un corral de engorde o una planta de faena (1).

Las medidas de temperamento cambian con el tiempo. Burrow *et al* (13) no encontraron diferencia de velocidad de salida en toros y vaquillonas cuando se midió este parámetro al destete, pero las vaquillonas tuvieron velocidad más baja que los toros a los 18 meses de edad. Los toros que se estudiaron fueron manejados más intensivamente que las vaquillas lo que sugiere que la experiencia es cada vez mayor al aumentar la edad y puede afectar las medidas del temperamento.

Esto es consistente con lo informado por Falkenberg *et al* (20), quienes establecieron que las velocidades de salida tomadas al final del periodo de alimentación son más lentas que cuando son tomadas anteriormente. Curley (17) reportó que la velocidad de salida de los toros Brahman calificados como temperamentales disminuyó

en las evaluaciones posteriores a los 60 días. Sin embargo toros de temperamento intermedio o calmo no mostraron una disminución similar. Grandin (24, 25) afirmó que los toros se habituaban a un manejo no aversivo en el tiempo. Esto fue confirmado por Becker y Lobato (5) quienes encontraron que los terneros expuestos a un manejo tranquilo, mostraron un comportamiento más curioso, se manejaron más eficientemente y tuvieron menos intentos de escape en relación a los animales que no habían sido manejados anteriormente.

Los resultados colectivos de estos trabajos sugieren que los valores de varios indicadores de temperamento decrecen a través del tiempo pero la clasificación relativa dentro de los grupos contemporáneos son consistentes (28).

Para proveer medidas del temperamento más objetivas Burrow (14) midió la velocidad de salida encontrando una heredabilidad alta ( $h^2=0,54$ ) al destete pero baja ( $h^2=0,26$ ) cuando fue tomada a los 18 meses de edad. La expresión de esta capacidad adaptativa no solo depende del medio ambiente sino también de su experiencia anterior, incluso la prenatal, ya que modifica el eje hipotálamo hipofisiario.

La reducción en la velocidad de salida como medida del temperamento se correlaciona con rasgos de producción y calidad de carne, cuando se compararon los *scores* al inicio del sistema de engorde y en evaluaciones posteriores (18, 28).

Sin embargo Curley (17) observó solo mínimos cambios en la velocidad de salida en mediciones realizadas cada 60 días en toros Brahman calificados como calmos (temperamento intermedio), pero en toros de temperamento excitable la medición a los primeros 60 días se redujo, coincidiendo con los resultados citados anteriormente. Tal vez la capacidad predictiva de las diferencias en el *score* del test de la balanza se deban al efecto de las experiencias previas de los animales.

Según Voisinet (45), los animales tienen capacidad para discriminar entre distintos tipos de interacción con seres humanos, según estas sean agradables o desagradables y también entre distintos lugares de un conjunto de instalaciones de encierro en las que han experimentado situaciones muy desagradables.

## EFFECTOS DEL TEMPERAMENTO SOBRE EL MANEJO DEL RODEO

Al analizar las consideraciones para el manejo del rodeo es necesario definir la zona de fuga entendida como la menor distancia en que un animal permite que se le acerquen antes de iniciar un movimiento de evasión. Este concepto es utilizado como una medida de reactividad. (24) aunque su determinación es difícil de realizar y requiere mucho tiempo para ser determinada

(15). Además, la subjetividad natural del método depende de la consistencia de los evaluadores. Adicionalmente, las reacciones al manejo y la zona de fuga pueden ser afectadas por diversos eventos (hojas o materiales movidos por el viento, movimientos bruscos de operadores o de animales en los corrales, ruidos extraños, etc.) encontrados por el animal durante la evaluación (30).

Como fue expuesto por Paranhos da Costa y Cromber (37), hay que tener cautela en la formación de lotes ya que podemos mantener animales en un constante estrés social.

En condiciones de sistemas intensivos de producción es frecuente la formación de grandes grupos de animales mantenidos en alta densidad. Estos sistemas buscan aumentar la producción pero no podemos olvidar que tendrá un efecto sobre la expresión de su comportamiento. Por ejemplo cuando los bovinos son mantenidos en ambientes con reducido espacio por animal no pueden evitar la violación de su espacio individual, lo que determina un aumento de las interacciones agresivas y del estrés social (38).

Además, cuando los grupos son grandes, los animales pueden tener dificultad para reconocer cada compañero y memorizar el rango social de todos ellos, aumentándose la incidencia de interacciones agresivas (38). En estas condiciones los animales están sujetos a lesiones que perjudican el comportamiento y la calidad de la carne.

Es interesante observar que la relación entre la velocidad de salida y los factores productivos son más fuertes al destete. Tomando el puntaje de la velocidad de salida evaluada durante el periodo de engorde, fue mucho menos eficaz en la predicción de los atributos de la calidad de la carne (30), lo que podría estar indicando que hay un proceso de aprendizaje y aclimatación durante el engorde de los animales.

## EFFECTO DEL ESTRÉS SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA CALIDAD DE LA CARNE

El defecto más común de la calidad de la carne atribuido al estrés ante-mortem es la incidencia de cortes oscuros. Esta condición se da por periodos largos de estrés que resultan en un aumento del pH, debido al incremento de la concentración de glucocorticoides y catecolaminas que coincide con aumentos séricos de glucosa y lactato.

Cuando los animales son llevados a la faena, el animal estresado produce carne con alto pH medido post-mortem en la primeras 24 h (3). Cortes con bajos valores de pH (menor a 5,7) tienen bajos valores de fuerza de corte. Incrementando el pH aproximadamente a 6 se requiere mayor fuerza de corte.

Al someter a los animales a situaciones estresantes resulta difícil diferenciar el efecto del estrés ante-mortem sobre la terneza y los cambios generados por el efecto del pH del músculo. Diversos autores reportaron que altos valores de pH en carnes de carcasas asociadas con estrés ante-mortem se debían a un incremento de actividad de la enzima m-calpaína (enzima responsable de proteólisis muscular) y a una mayor terneza (6).

Sin embargo, es posible que la respuesta causada por prácticas comunes de manejo tenga un impacto negativo sobre la terneza de la carne independientemente del pH del músculo (30).

Voisinet *et al* (46) cuando evaluaron animales en engorde mediante la prueba de corral, reportaron en vacas excitables mayor porcentaje de muestras límites de cortes oscuros que animales menos temperamentales y los cortes de las carcasas de los animales excitables fueron más duros que los de los animales calmos cuando se evaluaron por fuerza de corte con el método Warner-Bratzler.

Los animales de temperamento excitable tuvieron menos ganancia de peso que aquellos con temperamento calmo (27). Wulf (48) demostró que el test del cepo tiene una correlación positiva con la actividad de la enzima calpastatina (enzima que inhibe a la m-calpaína) a las 24 h y el valor de fuerza de corte ( $r=0,35$  y  $0,49$  respectivamente) y negativa con la ganancia diaria de peso, peso vivo final y peso de la carcasa ( $-0,58$ ,  $-0,34$ ,  $-0,24$  respectivamente).

Vann *et al.*, (43) reportaron una baja a moderada correlación entre velocidad de salida y el score del corral con la fuerza de corte ( $r=0,24$  a  $0,35$ ). Falkenberg *et al* (20) evaluaron velocidad de salida en terneros al destete, al momento de ingresar a los corrales de engorde e inmediatamente antes de ir a faena, encontrando que la medida de la velocidad de salida al destete se correlaciona negativamente con la ganancia de peso ( $r=-0,28$ ) y positivamente con la fuerza de corte ( $r=0,29$ ). Adicionalmente estos autores encontraron que el incremento de la velocidad de salida se asocia con menores pesos de carcasas.

## ASPECTOS GENÉTICOS DEL TEMPERAMENTO

Además de poder actuar por medio del manejo, promoviendo el amansamiento de los animales a través de procesos de habituación y de aprendizaje asociativo o condicionamiento (4, 22), si bien es difícil reconocer las reacciones emocionales de los animales y sus efectos sobre la producción, existen indicios de que es posible modificar la intensidad de las reacciones por la selección (14, 41)

Bouchard *et al.*, (12) pusieron de manifiesto que los procesos del miedo y ansiedad se encuen-

tran bajo control genético, lo cual puede acarrear diferencias individuales en la respuesta. La heredabilidad de la reacción de defensa frente a otros animales y a los humanos ha mostrado valores consistentes en bovinos de carne (32), siendo la raza un factor importante en dicha reactividad. Vaquillas de raza Salers son más reactivas socialmente y dominan a otras de raza Holstein (42, 31), de la misma forma que estudios de Wagnon *et al* (47) demostraron que las vacas de raza A. Angus eran dominantes y más reactivas en relación a las Hereford y las de raza Shorthorn presentaban una predisposición media al manejo del hombre, por lo que sería necesario ser cuidadoso en la formación de lotes para no mantener algunos animales en estrés constante (37).

El parámetro genético simple de mayor interés es la heredabilidad ( $h^2$ ), que ofrece información sobre la probabilidad de cambios de un rasgo a través de la selección genética en una población específica. Esto implica que al ser el temperamento moderadamente heredable es susceptible de selección.

La inclusión del temperamento en un índice de selección de bovinos de leche aumentaba la ganancia genética entre un 5 y un 7 % respecto a la selección por producción corregida por grasa. Este índice sin embargo, no contempla la reducción de mano de obra y otros costos, así como la mejora del bienestar animal (40) lo cual podría ser aun más beneficioso.

Aunque estas afirmaciones son valederas, según Burrows (14) construir un índice de selección tendría sus complicaciones ya que no se conocen las relaciones entre el temperamento los otros caracteres de producción, a lo que le deberíamos agregar que muchos de ellos dependen del sistema de producción y el temperamento tendría mayor efecto sobre el crecimiento en sistemas de producción extensivos, por los animales más temperamentales tienen menores posibilidades de interacción.

Más recientemente la genética molecular ha identificado la presencia de nuevos marcadores genéticos (QTLs Locus de rasgos cuantitativos) relacionados con el miedo que pueden conducir a identificar genes que condicionan el comportamiento (40). Estos genes controlarían los mecanismos de regulación en forma muy general y podrían actuar junto a muchos caracteres en su capacidad de adaptación. Por medio de la genómica funcional se pretende identificar los genes cuya expresión está vinculada a una función o un carácter (29).

Si bien la mejora del temperamento podría incrementar la rentabilidad de los sistemas de producción de carne, requiere de un análisis económico de factores como mano de obra, reducción de lesiones, costos de instalaciones adecuadas, etc., que todavía no se ha realizado y además se

deberían corregir las falencias en la evaluación del temperamento para elaborar un sistema de valoración fenotípica estandarizado.

## CONCLUSIONES

El temperamento de los bovinos es una pauta comportamental heredable que puede ser medida objetivamente.

Existen varios test que miden temperamento factible de realizar en establecimientos ganaderos en forma repetida y objetiva, aunque aun hace falta definir cual de ellos es el más eficaz para nuestras condiciones de trabajo.

Los datos bibliográficos indican que los *escores* de temperamento decrecen cuando la prueba se repite posteriormente debido a una aclimatación al manejo habitual, lo que indicaría la necesidad de establecer un momento de evaluación estandarizado que podría ser al destete.

La implementación de buenas prácticas de manejo en relación al bienestar animal reduciría las pérdidas económicas.

El mayor conocimiento de la genética molecular relativa al estrés y su relación con el miedo ayudarían a lograr una mejor adaptación de los animales a un medioambiente en constante cambio.

## BIBLIOGRAFIA

1. Aguilar NM, Balbuena O, Kuceva DC, Navamuel JM. Evaluación del temperamento en bovinos cruza cebú. Universidad Nacional del Nordeste. Publicaciones Científicas y Tecnológicas. 2004.
2. Apleby MC, Hughes BO, Elson HA. Poultry Production Systems. Behavior, Management and Welfare, pp87-101. CAB International, Wallingford. 1992.
3. Apple JK, Minton JE, McMurphy RM, Fedde MR, Leith DE, Unrah JA. Effects of restraint and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen depletion and incidence of dark-cutting longissimus muscle in sheep *J Anim Sci*. 1995, 71:71.
4. Becker GB. Efeito do manuseio sobre a reatividade de terneiros ao homem. Dissertacao (Maestrado em Zootecnia). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Rio Grande do Sul Porto Alegre, 139p. 1994.
5. Becker BG, Lobato JFP. Effect of genrle handling on the reactivity of Zebu crossed calves to humens. *Applied Animal Behaviour Science*, 1997, 53, 219-224.
6. Beltrán JA, Jaime I, Santolaria P, Sañudo C, Alberti P, Roncales P. Effect of stress-induced high post-mortem pH on protease activity and tenderness of beef. *Meat Science*, 1997. 45, 201-207.
7. Bienestar animal y calidad de Carne. Buenas prácticas de manejo del ganado. Cuadernillo Técnico n° 1. Instituto de promoción de la Vacuna. 2006.
8. Evaluación de las prácticas ganaderas en bovinos que causan perjuicios económicos en plantas frigoríficas de la Republica Argentina. Cuadernillo Técnico n° 3. Instituto de promoción de la Carne Vacuna. 2007.
9. Boissy A. Fear and fearfulness in determining behavior. En: T. Granding (ed.) *Genetics and behavior of domestic animals*, pp. 67-11. Academic Press, San Diego. 1998.
10. Boissy A, Bouissou MF. Assessment of individual differences in behavioural reactions of heifers exposed to various fear-eliciting situations. *Appl Anim Behav Sci*, 1995.46, 17-31.
11. Borba LHF, Piovezan U, Paranhos da Costa MJR. Uma Abordagem preliminar no estudo de associação entre escores de reatividade e características produtivas de bovinos de corte. *Anais de Etologia*, 1997, 15: 388.
12. Bouchard TJ, Lykken DT, McGue M, Segal NL, Tellegen A. Sources of humanpsychological differences: The Minnesota study of twins reared apart. *Science*, 1990, 250: 223-228.
13. Broom DM. Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal*, 1986, 142: 524-526.
14. Burrow HM. Measurement of temperament and their relationships with performance traits of beef cattle. *Animal Breed Abstr*. 1997, 65: 477-495.
15. Burrow HM, Seifert GW, Cobert NJ. A new technique for measuring temperament in cattle. *Australian Society of Animal Production*. 1988, 17: 154-157.
16. Burrow HM, Prayaga KC. Correlated responses in productive and adaptive traits and temperament following selection for growth and heat resistance in tropical beef cattle. *Livestock Production Science* 2004, 86: 143-161.
17. Curley KO, Neuendorff DA, Lewis AW, Cleere JJ, Welsh TH, Randel RD. Evaluation of temperament and stress physiology may be useful in breeding programs. *Texas Agricultural Experimental Satation*. 2004.
18. Duncan IJH. Animal welfare measured in terms of feelings. *Acta Agric. Scand.*, Section A, *Animal Science*, Suppl. 1996, 27: 29-35.
19. Elder JK, Kearnan JF, Waters KS, Dunwell GH, Emmerson FR, Knott SG, Morris RS. A survey concerning cattle tick control in Queensland. 4. Use of resistant cattle and pasture spelling. *Aust Vet J*. 1980, 56: 219.
20. Falkenberg SM, Miller RK, Holloway JW, Rouquette Jr FM, Randel RD, Carstens GE. Exit velocity effects on growth, carcass characteristics, and tenderness in half-blood Bosmara steers. In *Proceedings 51<sup>st</sup> International Congress of Meat Science and Technology* (p.29), 7-12 August 2005, Baltimore, MD. 2005.
21. Fell LR, Colditz KH, Walker Watson DL. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering and commercial feedlot. *Aust J Exp Agric*. 1999, 39: 795-802.
22. Fordyce G, Goddard ME, Tyler R, Williams G, Toleman MA. Temperament and bruising of *Bos Indicus* cross cattle. *Aust. J. Exp. Agric*, 1985, 25: 283-288.
23. Fordyce G, Dodt RM, Wythes JR. Cattle temperaments in extensive herds in northern Queensland.

## R. Vaca

- Aust J Exp Agric. 1988, 28, 683-687.
24. Grandin T. Observations of cattle behavior applied to desing of cattlehandling. Applied Animal Ethology, 1980, 6: 19- 31.
25. Grandin T. Behavioral agitation during handling of cattle is persistent over time. Applied Animal Behaviour Science, 1993, 36: 1-9.
26. Grandin T. Assessment of stress during handling and transport. Journal Animal Science. 1997, 75: 249-250.
27. Grandin T. Livestock handling and transport, CAB International: Wallingford-UK, 320 pp. 1993.
28. Hammond AC, Olson CC, Chase Jr, Bowers EJ, Randel RD, Murphy CN, Vogt DW, Tewolde A. Heat tolerance in two tropically adapted Bos Taurus Breeds, Senepol and Romosinuano, Compared with Brahman, Angus, and Hereford cattle in Florida. J Anim Sci. 1996, 74: 295-303.
29. Jensen P, Buitenhuis B, Kjaer J, Zanella A, Mormède P, Pizzari T. Genetics and genomics of animal behaviour and welfare. Challenges and possibilities. Applied Animal Behaviour Science, 2008, 113 (4): 383-403.
30. King DA. Evaluation of the relationship between animal temperament and stress responsiveness to M. Longissimus Lumborum tenderness in feedlot cattle. Office of Graduate Studies of Texas A&M University. 2005.
31. Le Neindre P, Poindou P, Trillat G, Orgeur P. Influence of breed in reactivity of sheep to humans. Genet Sel Evol, 1993, 25, 447-458.
32. Le Neindre P, Trillat G, Sapa J, Ménissier F, Bonnet J, Chupin J. Individual differences in docility in Limousin cattle. J Anim Sci., 1995, 73: 2249-2253.
33. Lowe TE, Deviene CE, Wells RW, Lynch LL. The relationship between postmortem urinary catecholamines, meat ultimate ph, and shear force in bulls and cow. Meat Science, 2004, 67: 251-260.
34. Mc Intyre BL, Ry WJ. Effect of level of handling on meat quality of cattle of two breed types. Proc. Australian Soc Anim Prod, 1986, 16: 267-270.
35. Minton JE. Function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the sympathetic nervous system in models of acute stress in domestic farm animals. Journal of Animal Science, 1994, 72: 1891-1898.
36. Price EO. Behavioral aspects of animal domestication. Q. Rev. Biol. 1984, 59: 1-32.
37. Paranhos da Costa MJR, Cromberg VU. Alguns aspectos a serem considerados para melhorar o bem-estar de animais em sistemas de pastejo rotacionado. In: Peixoto, A.M., Moura, J.C e Faria. V.P. (ed). Fundamentos de pastejo rotecionado. FEALQ: Piracicaba, p. 273-296, 1997.
38. Paranhos da Costa MJR. Ambiência na producao de bovinos de corte a pasto. Anais de Etología, 2000, 18: 26-42.
39. Paranhos da Costa MJR, Piovezan U, Cyrillo JNSG, Razook AG. Genetic and environmental factors affecting cattle temperamento in four beff breeds. In 7° World Congress on Genetics Applied to Livestock production. Montpellier- France: INRA. 2002.
40. Piedrafita J, Manteca X. Mejora genética del comportamiento y del bienestar del ganado rumiante. 2004.
41. Piovezan U. Análise de fatores genéticos e ambientais na reatividade de quatro raças de bovinos de corte ao manejo. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias Veterinárias. UNESP. Jaboticabal- SP, 50pp. 1988.
42. Romeyer A, Bouisson MF. Assesment of fear reactions in domestic sheep and influence of breed and rearing conditions. Appl. Anim. Behav. Sci. 1992, 34: 93-119.
43. Vann RC, Paschal JC, Randel RD. Relationships between measures of temperament and carcass traits in feedlot steers. Journal Animal Science 2004, 82 (Suppl.1): (Abstr. 432) p.259
44. Vann RC. Relationships between carcass quality and temperament in beef cattle. Pages 69-72 in Proc. Beef Improv. Fed., Chocktaw, MS. Available: <http://www.beefimprovement.org/proceedings.html>. Accessed Sept. 2006.
45. Voisinet BD, Grandin T, O'Connor SF, Tatum JD, Deesing MJ. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and higher incidence of borderline dark cutters. Meat Science, 1997, 46: 367-377.
46. Voisinet BD, Grandin T, Tatum JD, O'Connor SF, Struthers JJ. En engorde a corral el ganado calmo gana más peso por día que el ganado arisco. J. Anim. Sci. 1997, 75: 892-896.
47. Wagnon KA, Loy RG, Rollins WC, Carrol FD. Social dominancie in heard of Angus, Hereford and Shorthorn cows. Anim. Behav 1996, 14: 474-479.
48. Wulf DM, O'Connor SF, Tatum JD, Smith GC. Using objective measures of muscle color to predict beef longissimus tenderness. Journal of Animal Science, 1997. 75: 684-692.



# INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

La revista ANALECTA VETERINARIA es una publicación semestral de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos científicos en el campo de las Ciencias Veterinarias, generados en esta Unidad Académica y en otras instituciones. Asimismo, reflejará las actividades académicas de postgrado, de extensión y de educación a distancia que se desarrollan en esta Casa de Estudio. El idioma oficial es el español aunque se aceptarán trabajos en inglés que seguirán el mismo esquema detallado más abajo.

ANALECTA VETERINARIA seguirá los "Requerimientos uniformes" para la presentación de manuscritos en revistas biomédicas según la quinta edición de 1997 (*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirement for manuscript submitted to biomedical Journals. N Engl J Med 1997; 336:309-15*). Puede obtener el original en Inglés en: <http://www.icmje.org/index.html>. Una traducción de estos requerimientos pueden ser recuperada en INTERNET en la dirección electrónica:

<http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta.html>

ANALECTA VETERINARIA puede ser recuperada gratuitamente en INTERNET en formato pdf (Adobe Acrobat Reader®) que permite su impresión tal como aparece en la copia final incluyendo gráficos y tablas. La misma se encuentra en la dirección electrónica <http://www.fcv.unlp.edu.ar>. La revista consta de las siguientes secciones:

I.-Trabajos de investigación, II.-Artículos de revisión, III.-Comunicaciones breves IV-Información institucional y V. Cartas al editor.

## Normas generales de redacción

Los manuscritos deberán ser enviados para su publicación al Comité editorial en idioma español o inglés. Deberán enviarse por triplicado en hoja tamaño A4 (210 x 297 mm), numeradas correlativamente y escritas a doble espacio, simple faz, con un margen de 4 cm a la izquierda y no menor de 2 cm en el derecho. Deberá enviarse además una copia en archivo electrónico (MS-Word 2000®) que pueden enviarse vía mail; dos de las copias no deberán contener el nombre de los autores ni su filiación científica. Los autores deben retener una copia de todo el material enviado inclusive fotografías ya que no se aceptará responsabilidad por daño o pérdida de trabajos.

Las fotografías en blanco y negro podrán ser incluidas en número no mayor a 3 por artículo. Otras inclusiones de fotografías en blanco y negro o en color tendrán un cargo extra y estarán a cargo de los autores. Las versiones electrónica y en CD-ROM de la revista podrán contener fotografías color sin costo para los autores. La inclusión de fotografías color en el material impreso deberá ser expresamente solicitado al editor. El material enviado estará listo para su reproducción, deberán además enviarse fotografías o gráficos en formato TIF, CRD o JPG.

No son aceptables aquellos gráficos, esquemas, fotografía, tabla de excel o similares "incrustados" en el archivo de texto (word) o en planillas de cálculo (excel).

El costo de cada artículo será de \$ 50 (o 50 U\$S si el lugar de trabajo del primer principal proviene del exterior) hasta 5 hojas (publicadas) y \$ 10 por cada hoja adicional que deberá ser abonado por los autores indefectiblemente antes de su publicación.

Las unidades de medida se expresarán siguiendo las normas del Sistema Internacional de Unidades. El material enviado será analizado para su publicación por el Comité Editorial, el que lo someterá a consideraciones del referato externo. El Comité Editorial informará al autor del trabajo de las correcciones y/o recomendaciones sugeridas por el evaluador y determinará en función de ello la aceptación o rechazo del mismo. Si hubiere correcciones, las mismas deberán ser efectuadas por los autores en un plazo máximo de 6 meses, caso contrario se considerará el trabajo como "rechazado". Se deja constancia que el hecho de recibir un trabajo no conlleva la obligación de su publicación por parte de ANALECTA VETERINARIA. Una vez aceptado el trabajo se enviará a los autores la "prueba de galera" para su corrección, la que deberá ser devuelta en un plazo no mayor de 15 días. La falta de respuesta luego del plazo estipulado se entenderá como una aceptación de la misma. El envío de un trabajo a ANALECTA VETERINARIA deberá realizarse con el consentimiento de todos los autores. En todos los casos se tomará como fecha de remisión la del timbre postal correspondiente.

La falta de cumplimiento de cualquiera de las normas implica la devolución del trabajo para su adecuación. La Facultad no se hace solidaria con las opiniones vertidas en los trabajos, siendo los autores los únicos responsables. Tampoco se hace responsable ni respalda la publicidad incluida en la revista.

## Normas particulares de redacción:

### 1.Trabajos de investigación:

No deberán exceder de 30 páginas, incluyendo 25 citas bibliográficas. Deberán ser inéditos y estarán organizados de la siguiente manera.

a)Título: será breve, preciso y reflejará el contenido del trabajo. A renglón seguido se indicará el nombre y apellido (s) del autor, acompañados de sus grados académicos más importantes, separando los autores por una coma. A renglón seguido se señalará el nombre de la institución, cátedra o laboratorio a la que pertenece, así como su dirección postal, número de fax, y dirección electrónica si la posee. Cuando haya más de un autor que pertenezca a diferentes instituciones, cátedras o laboratorios, las mismas serán identificadas con un número arábigo superíndice, después del apellido. Agregar un título resumido de un máximo de 40 caracteres (considerar espacios y símbolos como caracteres).

b)Resumen: será redactado en castellano y en inglés (abstract) incluyendo además en este último caso el título en idioma inglés. El resumen deberá sintetizar los objetivos principales del trabajo, la metodología empleada, los resultados más sobresalientes y las conclusiones que se hayan obtenido. No

superará tanto en español como en inglés las 200 palabras.  
c) Palabras clave: al finalizar el resumen y el "abstract" en renglón aparte, deberán consignarse palabras clave, cinco como máximo, colocándolas bajo el título Palabras clave o "Key Words" según corresponda.

d) Introducción: se señalarán los antecedentes sobre el tema, citando la bibliografía más relevante y especificando claramente los objetivos y el fundamento del trabajo.

e) Materiales y Métodos: toda técnica nueva deberá detallarse para facilitar su comprensión. Se evitará pormenorizar sobre métodos ya experimentados, citándose los materiales utilizados en la realización del trabajo. En los casos en que el diseño experimental requiera una evaluación estadística, se indicará el método empleado.

f) Resultados: se presentarán en forma clara, ordenada y breve.

g) Discusión: incluirá la evaluación y la comparación de los resultados obtenidos con los de otros autores, indicando las referencias bibliográficas correspondientes. Las conclusiones deberán sustentarse en los resultados hallados, evitando todo concepto vago o condicional.

h) Agradecimientos: colaboraciones, ayuda técnica, apoyo financiero, etc. deberán especificarse en agradecimientos. Estas personas deberán conceder su permiso para ser nombradas.

i) Bibliografía: deberá escribirse en hoja aparte ordenada según aparece en el texto y numerada correlativamente con números arábigos, contendrá todas las citas mencionadas en el texto teniendo en cuenta el siguiente formato:

Autores: Apellido, seguido por las iniciales del/los autor/res separados del siguiente autor por coma. Título: completo del trabajo en el idioma en que fue publicado. Nombre de la revista o publicación donde aparece el artículo abreviada de acuerdo al "US National Library of Medicine (NLM)" que usa el *Index Medicus* <http://www.nlm.nih.gov>. En forma seguida el año de publicación; en forma continuada el número de volumen de la revista, seguido de coma y el número de la revista (si lo posee), dos puntos, seguido del número de páginas de inicio y terminación del trabajo. Ej.

1. Rodríguez-Vivas RI, Domínguez-Alpizar JL. Grupos entomológicos de importancia veterinaria en Yucatán, México. *Rev Biomed* 1998; 9 (1):26-37

En el texto del trabajo hacer referencia mediante números arábigos entre paréntesis.

Si se tratase de trabajos publicados en libros:

Apellido y nombres en forma similar al indicado para revistas periódicas. A continuación el nombre del libro, edición, editorial, ciudad, país entre paréntesis, seguidas del año de publicación y páginas consultadas. Ej.

1. Plonat H. Elementos de Análisis Clínico Veterinario, Ed. Acribia. Zaragoza (España), 1984; p.45-75

Las tablas se presentarán en hojas separadas y con títulos completos ubicados sobre el margen superior y numerados con números arábigos, deberá incluirse además el título en inglés. Los gráficos se presentarán también en hojas separadas pero con títulos explicativos ubicados al pie de los mismos y numerados consecutivamente con números romanos debiéndose incluir además el título en inglés. Las tablas, gráficos o fotos se adjuntarán al final del manuscrito debiéndose indicar en el texto la posición correspondiente "insertar" tabla N° o gráfico N° o foto N°. Las fotografías deberán remitirse con la numeración en el reverso escrito con lápiz (o pegar una etiqueta de papel) de acuerdo a su secuencia en el texto, así como también indicarse el título y

el autor del trabajo y cuál es la parte superior de la misma. El tamaño deberá ser de 10 por 15 cm, pudiendo reducirse en la publicación por lo que se sugiere la buena calidad del detalle que se quiera resaltar. Cada foto deberá ser acompañada de una breve reseña explicativa de la misma en español y en inglés.

**MUY IMPORTANTE:** No enviar trabajos con bibliografía numerada automáticamente por el procesador Word, tampoco copiar y pegar *link* de internet, estos deben ser tipeados en el procesador de texto por los autores.

## II. Artículos de revisión

Versarán sobre temas relevantes incluyendo una revisión bibliográfica adecuada y sus autores deberán tener idoneidad en los mismos. Estos artículos incluirán las siguientes secciones: título, título en inglés, resumen, "abstract", texto, agradecimientos y bibliografía. La extensión de estos trabajos no excederán las cincuenta páginas y sesenta citas bibliográficas.

El autor no deberá solamente realizar una recopilación bibliográfica exhaustiva, sino que además deberá hacer una discusión crítica sobre el tema considerado, destacando la trascendencia actual y futura y los puntos sobre los que existan diferencias de opinión.

## III. Comunicaciones breves

Esta sección estará destinada a la comunicación de hallazgos preliminares en trabajos de investigación en marcha y a la descripción de nuevas técnicas (de laboratorio, quirúrgicas, de producción), hallazgos clínicos exóticos o poco frecuentes, etc. Su organización deberá seguir el lineamiento general indicado en el ítem I. No deberán exceder las dos páginas incluyendo no más de 10 citas bibliográficas.

## IV. Información institucional

Esta sección será destinada a difundir todas aquellas actividades o informaciones de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata que tengan una relación directa con los objetivos dispuestos para la presente publicación.

## V. Cartas al editor

En esta sección se incluirán actualizaciones breves y comentarios sobre artículos ya publicados. Las cartas (hasta 1000 palabras de texto) deberán ser en formato carta y no se dividirán en secciones. Las cartas comenzarán con una introducción breve sobre la relación del tema. Incluir desarrollo de métodos; referencias, en no más de cinco; y figuras o ilustraciones, en no más de dos.

## Correspondencia

Toda correspondencia dirigida a esta revista deberá realizarse a la siguiente dirección:

Sr. Director ANALECTA VETERINARIA  
CC 296 (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA  
TEL/FAX: 0221-4257980

Desde el exterior: +54-221-4257980

E-mail: [analecta@fcv.unlp.edu.ar](mailto:analecta@fcv.unlp.edu.ar)

<http://www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html>