

ISSN 1514-2590

Analecta Veterinaria

Publicación de la Facultad de Ciencias Veterinarias

Volumen 21 n° 2 2001



Universidad Nacional de La Plata

La Plata. Buenos Aires. Argentina



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Veterinarias

Autoridades

Decano

Méd.Vet. Eduardo Rafael Pons

Vicedecano

Dr. Edgardo Nosetto

Secretario Académico

Dr. Marcelo Peccoraro

Secretario de Postgrado

Dra. Pilar Peral García

Secretario de Extensión Universitaria

Méd.Vet. Alicia Antonini

Secretario de Ciencia y Técnica

Dr. Edgardo Nosetto

ANALECTA VETERINARIA

Director

Dr. Nestor Oscar Stanchi

Editor Responsable

Dr. Eduardo Marotta

Secretario de Redacción

Méd. Vet. Daniel O. Arias

Comité Editorial

(Facultad de Ciencias Veterinarias)

Dra. Liliana Lagrecca

Dr. Eduardo Gimeno

Bact. Carlos Gómez

Dr. Florestán Maliandi (h)

Dr. Pablo E. Martino

Méd.Vet. Enrique Pennimpe

Dra. Pilar Peral García

Dr. Carlos Perfumo

Responsable Versión Electrónica

Méd.Vet. Santiago Corva

Supervisión de Estilo

Méd.Vet. Julio Bernal

Prof. Nora B. Vázquez

ANALECTA

VETERINARIA

ANALECTA VETERINARIA vol. 21 n° 2, 2001

Publicación de la

Facultad de Ciencias Veterinarias

Universidad Nacional de La Plata

Consultores:

R. Bowden (Argentina). F. Capano (Uruguay), A. Conigliaro (Argentina), L. Estol (Argentina), E. Montero Gei (Costa Rica), A. Parma (Argentina), R. A. Fernández (Argentina), J. Lasta (Argentina), L. Rodríguez Roque (Costa Rica), A. Fernández Alosó (Brasil), H. Tersolo (Argentina), J. Zorzópolos (Argentina), E. Gimeno (Argentina), C. Schenk (Argentina), E. Coppos (Argentina), L.M. Friche Passos (Brasil), J.M. Gutiérrez (Costa Rica), R. Cacchione (Argentina), F. Cortés Benavides (España), M. Carballo (España), R.M. Dauder (España), P. Ostroskywegman (España), J. Surralles Calonge (España), N. Auza (Argentina), M. Barrandeguy (Argentina), M. Carballo (Argentina), J.A. Coppo (Argentina), C. Corbellini (Argentina), F. Costa (Argentina), C. Eddi (Argentina), A. Fosatti (Argentina), E. Gentilini (Argentina), S. Gómez Cabrera (Argentina), C. Gómez Dumm (Argentina), J. González Tomé (Argentina), A. Guglielmone (Argentina), I. von Landzewitsch (Argentina), N. Leardini (Argentina), L. León Vizcaino (España), H. Molinuevo (Argentina), E. Moras (Argentina), S.J. de Oliveira (Brasil), J. Pereira (Argentina), J. Pistani (Argentina), B. Ruksan (Argentina), B. Rutter (Argentina), E. Smitsaart (Argentina), C. Schenk (Argentina), R. de Torres (Argentina), J. Troiano (Argentina), C. Carfangini (Argentina).

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.

ISSN 0365514-8 Versión Impresa

ISSN 1514259-0 Versión Electrónica

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 actual o a crearse del material impreso en esta revista sin el consentimiento expreso del Editor. Autorizada la reproducción con fines académicos-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 mediante el protocolo de traslado de archivo (File Transfer Protocol) (FTP anónimo). Los números de la revista a partir del Volumen 18 están disponibles en formato de archivo: pdf (Portable Document File-Adobe Acrobat Reader®) siendo idéntica a la versión impresa de la revista y puede 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.

Dirección electrónica:

Puede recuperar la revista accediendo a la página en la Web
<http://www.fcv.unlp.edu.ar>

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

Si tiene dificultades para recuperar la revista electrónicamente envíe un mail a:
sgcorva@fcv.unlp.edu.ar

ANALECTA VETERINARIA está indizada en el Índice Latinoamericano de Revistas Científicas LATINDEX (www.latindex.unam.mx),

Ulrich's International Periodicals Directory (www.ulrichsweb.com)

Zoological Records (www.biosis.org.uk/products_services/zrss.html).

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 Veterinaria (VE)* 1998; 18,1/2: 7-13 (7 pantallas). Recuperable de 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 Veterinaria (CD-ROM)* 2001; 21,1: 54-57 (4 pantallas).

Impresión

Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata
CC296 (B1900AVW) La Plata,
Buenos Aires, Argentina

Diseño

Prof.Dr. Nestor Oscar Stanchi

Todos los trabajos publicados en ANALECTA VETERINARIA son sometidos a revisores externos

All articles published in ANALECTA VETERINARIA are submitted to external scientific reviewers



Impreso en papel libre de ácido
Printed in acid-free paper

Impreso en Argentina
Printed in Argentina

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

Artículos de Investigación

Research articles

CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA DE TILMICOSINA Y ERITROMICINA FRENTE A CEPAS DE *Actinobacillus pleuropneumoniae* AISLADAS EN LA REPÚBLICA ARGENTINA

Minimum Inhibitory Concentration of Tilmicosin and Erythromycin Against *Actinobacillus pleuropneumoniae* Field Strains Isolated in Argentina

F. A. Moredo, M. F. Landoni, C. J. Perfumo

6-11

LEUCOSIS ENZOÓTICA BOVINA: EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO (ID, ELISA-I, WB, PCR) EN BOVINOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE

Enzootic Bovine Leukosis: Evaluation of diagnostic techniques (AGID, I-ELISA, WB and PCR) in experimentally inoculated bovines

E.T. González, G.A. Oliva, A. Valera, E. Bonzo, M. Licursi, M.E. Etcheverrigaray

12-20

Artículos de Revisión

Review articles

EPIDEMIOLOGÍA DE LA GASTROENTERITIS VERMINOSA DE LOS OVINOS EN LAS REGIONES TEMPLADAS Y CÁLIDAS DE LA ARGENTINA

Epidemiology of Parasitic Gastroenteritis of Sheep in Temperate and Warm Areas in Argentina

J.R. Romero, C.A. Boero

21-37

***Gymnorhynchus gigas*: TAXONOMÍA, MORFOLOGÍA, BIOLOGÍA Y ASPECTOS SANITARIOS**

Gymnorhynchus gigas: Taxonomy, Morphology, Biology and Sanitary aspects

C. Vázquez-López, C. Armas-Serra, F. Rodríguez-Caabeiro

38-49

ULTRASONOGRAFÍA REPRODUCTIVA EN PRODUCCIÓN PORCINA

Reproductive Ultrasound in Pig Production

S. Williams, P. Piñeyro, R.L. de la Sota

50-56

ACROMEGALIA DEL DIESTRO EN LA PERRA

Canine Diestrous Acromegaly

Y. Corrada; C. Gobello

57-62

Comunicaciones breves

Short communications

EMERGENCIA A LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN CEPAS DE *Campylobacter jejuni* AISLADAS DE CARNE DE POLLO

Emergency to Resistance Strains of *Campylobacter jejuni* Isolates from Raw Retail Poultry Parts

G.I. Giacoboni, R. Cerdá, C. López

63-67

Artículos de Investigación

Research articles

APLICACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE POLIMORFISMO DE DNA EN LA RESOLUCIÓN DE CASOS DE ABIGEATO, IDENTIFICACIÓN INDIVIDUAL Y DETERMINACIÓN DE PATERNIDAD.

The use of molecular markers for individual identification, paternity test and daily rob cases
G Giovambattista, GM Ripoli, JP Lirón, ME Kienast, EE Villegas Castagnaso, FN Dulout, P Peral García. 5-11

FILOGENIA DE LA POBLACIÓN DE NEURONAS PRODUCTORAS DE HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROFINAS (GnRH) DE LOS VERTEBRADOS

Phylogenetic study of the population of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) neurons of the vertebrates

A Soto, G Zuccolilli

12-21

Artículos de Revisión

Review articles

MANEJO ANESTÉSICO DEL PACIENTE EN GESTACIÓN Y PARTO CANINO

Canine Gestation and Parturition Patient Management Anesthetic

MC Stornelli, MA Stornelli

22-30

ENROFLOXACINA: UNA FLUORQUINOLONA DE USO EXCLUSIVO EN VETERINARIA. PARTE I: QUÍMICA, MECANISMO DE ACCIÓN, ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y RESISTENCIA BACTERIANA

Enrofloxacin: A Fluorquinolone of Exclusive Use in Veterinary. Part I: Chemical characteristics, Mechanism of Action, Antimicrobial Activity and Bacterial Resistance

JL Otero, N Mestorino, JO Errecalde

31-41

ENROFLOXACINA. UNA FLUORQUINOLONA DE USO EXCLUSIVO EN VETERINARIA. PARTE II: FARMACOCINÉTICA Y TOXICIDAD

Enrofloxacin: A Fluorquinolone of Exclusive Use in Veterinary. Part II: Pharmacokinetic and Toxicity.

J Otero, N Mestorino, JO Errecalde

42-49

Comunicaciones breves

Short communications

PERITONITIS BILIAR POR COLELITIASIS CON PERFORACIÓN DE LA VESÍCULA BILIAR EN UN PERRO. PRESENTACIÓN DE UN CASO

Cholelithiasis Gallbladder Perforation, and Bile Peritonitis in a Dog. A case report

D Arias, L Klima, R Rodriguez, A Cruz, G Bigeon, M Tortora, M Villanueva, N Stanchi 50-53

EFFECTO DE LAS LLUVIAS SOBRE LA COMPOSICIÓN MINERAL DE GRAMÍNEAS Y LOTUS GLABER MILL DEL PARTIDO DE MAGDALENA

Rainfall Effect on Grass and Lotus Glaber mill. Mineral Composition from Magdalena District

CM Tittarelli, MJ Giuliodori, GA Mattioli, CE Ramírez

54-57

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL CON SEMEN FRESCO, REFRIGERADO Y CONGELADO. APLICACIÓN Y DESARROLLO EN CANINOS

Artificial Insemination with Fresh, Chilled and Frozen Semen. Application and Development in Canine. Artificial Insemination in Dogs

MA Stornelli, MC Stornelli, MS Arauz, L De La Sota

58-66

CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA DE TILMICOSINA Y ERITROMICINA FRENTE A CEPAS DE *Actinobacillus pleuropneumoniae* AISLADAS EN LA REPÚBLICA ARGENTINA

F. A. Moredo¹, M. F. Landoni², C. J. Perfumo³

¹Cátedra de Microbiología. ²Cátedra de Farmacología. ³Instituto de Patología "Dr.B.Epstein".
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo fue determinar la concentración inhibitoria mínima de tilmicosina y eritromicina frente a 27 cepas de campo de *Actinobacillus pleuropneumoniae* aisladas en la República Argentina. Para la realización de este estudio se utilizó la técnica de microdilución siguiendo el protocolo publicado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Subcommittee on Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing, 1994 (M31-P). La CIM_{50} de tilmicosina fue de 2 µg/ml y la CIM_{90} de 4 µg/ml. El rango fue 0,25 - 4 µg/ml. La CIM_{50} y la CIM_{90} de eritromicina fue de 4 µg/ml. El rango de 4 - 1 µg/ml. La concentración bactericida mínima de tilmicosina no fue uniforme, para 15 cepas fue de 4 µg/ml, para 10 cepas de 8 µg/ml y para 2 cepas de 16 µg/ml. Las 27 cepas de *A. pleuropneumoniae* aisladas en la República Argentina son sensibles a tilmicosina pudiendo utilizarse como droga de elección para el tratamiento de la pleuroneumonía porcina, no ocurriendo lo mismo con eritromicina ya que la sensibilidad observada fue intermedia.

PALABRAS CLAVE: tilmicosina, eritromicina, *A. pleuropneumoniae*, CIM

MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION OF TILMICOSIN AND ERYTHROMYCIN AGAINST *Actinobacillus pleuropneumoniae* FIELD STRAINS ISOLATED IN ARGENTINA

ABSTRACT: The objective of the present study was the determination of tilmicosin and erythromycin's minimum inhibitory concentrations on 27 *Actinobacillus pleuropneumoniae* field strains isolated in Argentina. Microdilution technique, according to guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Subcommittee on Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing, 1994 (M31-P), was applied. MIC_{50} for tilmicosin was 2 mg/ml, while CIM_{90} was 4 µg/ml, being the range 0,25 to 4 µg/ml. For erythromycin, MIC_{50} and CIM_{90} were 4 µg/ml, being the range 4 to 1 µg/ml. Minimum bactericidal concentration for tilmicosin was not uniform, being 4 µg/ml for 15 of the tested strains, 8 µg/ml for 10 strains and 16 µg/ml for the remaining two. All *A. pleuropneumoniae* strains tested in the present study were sensitive to tilmicosin, therefore its use on the treatment of pleuropneumonia can be advised. This is not true for erythromycin since bacterial susceptibility was low.

KEY WORDS: tilmicosin, erythromycin, *A. pleuropneumoniae*, MIC

Fecha de recepción: 16/02/01

Fecha de aprobación: 22/11/01

Dirección para correspondencia: Fabiana Moredo CC 296 (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA.

Tel/Fax: 0221-4257980.

E-mail: fmoredofcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

El término macrólido define a varios antibióticos de estructura química caracterizada por la presencia de un anillo lactónico grande (macrocíclico) unido a dos azúcares; siendo la eritromicina el antibiótico prototipo de esta clase (12). Los macrólidos se diferencian entre sí por su tamaño, poseen entre 14 - 16 átomos de carbono y el patrón de sustitución del anillo lactónico. La eritromicina es un integrante natural del grupo 14, conjuntamente con oleandomicina y espiramicina. Tilosina y tilmicosina son macrólidos del grupo 16, de origen natural y semisintético, respectivamente. Estos últimos ofrecen ventajas importantes sobre la eritromicina ya que poseen un espectro bacteriano más amplio, mejores características farmacocinéticas y menores efectos colaterales (13).

Tilmicosina (20-deoxo-20-(3,5-dimethylpiperidin-1-y 1) desmycosin), es un macrólido semisintético desarrollado exclusivamente para uso veterinario. Su actividad principalmente es contra bacterias Gram positivas y para Gram negativas se limita a los miembros del grupo HAP (*Haemophilus*, *Actinobacillus* y *Pasteurella*) y *Mycoplasma* spp (11).

Tilmicosina ha sido desarrollado para el tratamiento de enfermedades respiratorias bovinas debido a su actividad contra *Pasteurella haemolytica* así como también *Actinomyces pyogenes* (15, 16, 17). Una simple dosis subcutánea de 10 mg/kg es suficiente para exceder la mínima concentración inhibitoria (CIM) para *P. haemolytica* durante 72 horas en pulmón. Pulmotil® (fosfato de tilmicosina, Elanco) es el nombre comercial de una formulación para adicionar al alimento, que fue recientemente desarrollado para la prevención de neumonía bacteriana en cerdos (11, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Tilmicosina posee una muy buena absorción oral así como también una distribución tisular muy amplia, alcanzando en pulmones normales y neumónicos niveles 10 veces superiores a los niveles plasmáticos. Los macrófagos alveolares acumulan niveles extraordinarios de tilmicosina, pudiendo aumentar la habilidad del fagocito para destruir la bacteria ingerida dentro del fagolisosoma (24). Este antibiótico posee muy baja unión a proteínas plasmáticas lo que se refleja en un alto volumen de distribución. Tilmicosina, al igual que el resto de los macrólidos, sufre metabolización hepática siendo ésta la vía más importante de eliminación. Sólo un 20 % se elimina por orina en forma activa. En cuanto a su toxicidad, es un ino-

trópico negativo, siendo especialmente sensibles los cerdos y los equinos.

Actinobacillus pleuropneumoniae es agente etiológico de la pleuroneumonía porcina, enfermedad respiratoria grave y con frecuencia mortal, si no se tratan los animales afectados (1, 2). Su significación epidemiológica está asociada con la intensificación de la producción porcina. La enfermedad fue descrita por primera vez en la Argentina en 1964 (3) y es una de las entidades respiratorias de etiología bacteriana que mayores pérdidas produce en las explotaciones porcinas, particularmente en la etapa de engorde (4). La importancia económica de la enfermedad se debe principalmente a las pérdidas debido a la alta mortalidad, así como al aumento de los costos de producción en razón de la utilización de antibióticos para su control. En piaras crónicamente infectadas la relación de ganancia de peso diario no se ve afectada (5). La vía más importante de diseminación es aerógena y la enfermedad se transmite, principalmente, por contacto directo de cerdo a cerdo. El período de incubación es variable. Si bien todas las categorías (edad/etapas) son susceptibles, en condiciones de campo lo es a partir de los 90 - 100 días hasta la faena. En la fase aguda de la enfermedad la mortalidad es, generalmente, alta aunque puede variar en función de los serotipos presentes y las condiciones ambientales y de manejo, así como la interacción con otros agentes.

La terapia antibiótica es eficiente sólo si se administra en la fase inicial de la enfermedad y por vía parenteral en dosis altas y repetidas. La medicación en la comida y la bebida puede ser utilizada exitosamente; aunque debería ser reservada para tratamientos profilácticos de animales de riesgo en la fase aguda de los brotes. En brotes tempranos, los mejores resultados se obtienen con la combinación de tratamientos parenteral y peroral. No obstante, a pesar del aparente éxito clínico se debe recordar que la terapia antibiótica no elimina la infección de la piara. Lesiones crónicas como abscesos pulmonares o en tonsilas de cerdos portadores constituyen una importante fuente de infección para otros animales (2). Diversos agentes antimicrobianos han sido utilizados para la prevención y tratamiento de las neumonías bacterianas: amoxicilina, ampicilina, ceftiofur, danofloxacina, enrofloxacina, eritromicina, lincomicina, lincomicina-espectinomina, tiamulina, oxitetraciclina, tilosina, obteniéndose diferentes resultados (6, 7, 8, 9, 10). Sin embargo, ninguno de ellos tiene acción específica contra *A. pleuropneumoniae*.

El objetivo de este trabajo fue determinar la concentración inhibitoria mínima de tilmicosina y eritromicina, frente a cepas de campo de *Actinobacillus pleuropneumoniae* aisladas en la República Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

La realización de las técnicas aquí descritas se llevaron a cabo siguiendo el manual de protocolos «*Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Proposed Standards*». Publicado por el «*National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), Subcommittee on Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing, 1994 (M31-P)*»(25). El método de elección para determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) fue el de microdilución.

Preparación de los antimicrobianos

Se evaluaron dos macrólidos, tilmicosina y eritromicina. Las diluciones se realizaron a doble concentración para que una vez incorporado el inóculo, la concentración final fuera la deseada. Por pocillo, se inocularon 0,05 ml del antimicrobiano y 0,05 ml de la suspensión bacteriana.

Tilmicosina (Micotil® 300 Inyectable): se prepararon las siguientes concentraciones 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5 y 0,25 µg/ml.

Eritromicina (Sigma): se prepararon las siguientes concentraciones: 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 y 0,5 µg/ml.

Ambas series de diluciones se realizaron con caldo cerebro-corazón adicionado con β-NAD (20 mg/l) e inoculadas en las microplacas en el momento de su utilización.

Preparación de los inóculos

Actinobacillus pleuropneumoniae: se utilizaron 27 cepas de campo. Las mismas se aislaron de pulmones de cerdos muertos por pleuroneumonía, provenientes de establecimientos de cría intensiva en confinamiento localizados en las provincias de Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe. Una vez tipificadas se almacenaron a -80 °C.

Para la realización de esta prueba se descongelaron y se sembraron en agar sangre adicionado con extracto de levadura (1 % P/V), e incubaron a 37 °C durante 24 horas en atmósfera en-

riquecida con 10 % de CO₂. Posteriormente, se repicaron en caldo cerebro corazón adicionado con β-NAD (20 mg/l) e incubaron nuevamente a 37 °C durante 24 horas en atmósfera normal. Para lograr la concentración 0,5 de McFarland (≅ 1,5 x 10⁸ UFC/ml), 0,1 ml del cultivo anterior se sembró en 2,5 ml del mismo caldo e incubó entre 18 y 24 horas. A partir de esta concentración se realizó una dilución 1:100, obteniéndose, aproximadamente, 10⁶ UFC/ml. La concentración bacteriana final por pocillo fue de aproximadamente 5 x 10⁵ UFC/ml.

Staphylococcus aureus ATCC 29213: se utilizó como cepa de referencia, según indican las Normas NCCLS. Se sembró en agar tripticasa soya e incubó a 37 °C durante 24 horas. La concentración 0,5 de McFarland se obtuvo en caldo cerebro corazón y a partir de allí se procedió como se describió anteriormente.

Inoculación

Dentro de los 15 min de preparados los inóculos, cada serie de ambos antimicrobianos se sembraron con 0,05 ml de las suspensiones bacterianas.

Las placas se taparon e incubaron durante 24 horas a 37 °C en estufa con humedad controlada.

Control de los inóculos

Se realizó un control de inóculo de cada cepa de *A. pleuropneumoniae* así como de la cepa de referencia, sembrándose 0,05 ml de caldo y 0,05 ml de suspensión bacteriana. Para realizar el conteo viable, se realizó una dilución 1:1000, tomando 0,01 ml de estos pocillos y 9,990 ml de solución fisiológica. Se sembraron 0,1 ml en agar sangre adicionado con extracto de levadura (*A. pleuropneumoniae*) o en agar tripticasa soya (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213) e incubaron a 37 °C durante 24 horas. La presencia de 50 colonias se consideró indicativa de una densidad de inóculo de aproximadamente a 5 x 10⁵ UFC/ml.

Se definió a la CIM como la mínima concentración de antimicrobiano que inhibió el desarrollo bacteriano visible. La CIM₅₀ y CIM₉₀ se definieron como las concentraciones de antimicrobiano que inhibieron el desarrollo del 50 % y del 90 % de las cepas respectivamente. El criterio de sensibilidad y resistencia se determinó en función a los valores expresados en las tablas 1 y 2.

Tabla 1.- Puntos de corte expresados en mg/ml para Tilmicosina y Eritromicina según las Normas NCCLS para *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Table 1.- Tilmicosin and erythromycin breakpoints (mg/ml) for *Actinobacillus pleuropneumoniae* by NCCLS Norms

Antimicrobiano	Sensible	Intermedio	Resistente
Tilmicosina	≤ 8	16	≥ 32
Eritromicina	≤ 0,5	1 - 4	≥ 8

Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM) de Tilmicosina frente a las 27 cepas de *A. pleuropneumoniae*

La CBM se definió como la mínima concentración de antibiótico que mató el 99,9 % de las bacterias.

Luego de realizar la CIM, se subcultivaron todos los pocillos que no presentaron turbidez así como el último que lo hizo. El volumen tomado por pocillo dependió del inóculo inicial que fue utilizado para la CIM calculándose también, a partir de este último dato, la cantidad de colonias que deberían considerarse para el punto de la CBM. Para antimicrobianos bactericidas la CBM coincide con la CIM o difiere en 1 o 2 diluciones más altas, mientras que cuando es bacteriostático la CBM está muy alejada del valor de la CIM.

RESULTADOS

La CIM₅₀ de tilmicosina frente a *Actinobacillus pleuropneumoniae* fue de 2 µg/ml y la CIM₉₀ de 4 µg/ml. El rango fue 0,25 - 4 µg/ml. Todas las cepas estudiadas fueron sensibles a tilmicosina.

La CIM₅₀ y la CIM₉₀ de eritromicina frente a *Actinobacillus pleuropneumoniae* fue de 4 µg/ml. El rango fue 4 - 1 µg/ml. Todas las cepas aisladas presentaron sensibilidad intermedia a eritromicina.

Los valores de CIM de tilmicosina y eritromicina observados frente a la cepa de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 fueron de 1 µg/ml y 0,25 µg/ml respectivamente.

La CBM de tilmicosina no fue uniforme, encontrándose los siguientes resultados: para 15 cepas fue de 4 µg/ml, para 10 cepas de 8 µg/ml y para 2 cepas de 16 µg/ml.

Tabla 2.- Valores aceptados expresados en mg/ml para Tilmicosina y Eritromicina según las Normas NCCLS para *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Table 2.- Tilmicosin and erythromycin breakpoints (mg/ml) for *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 by NCCLS Guideline

Antimicrobiano	Concentraciones (µg/ml)
Tilmicosina	0,5 - 2
Eritromicina	0,12 - 0,5

DISCUSIÓN

Los valores de CIM de tilmicosina, obtenidos con las cepas de *A. pleuropneumoniae* aisladas en nuestro país, son menores a los informados por otros autores, siendo la CIM₅₀ de tilmicosina de 8 µg/ml para Aitken y col., 6,25 µg/ml para Blackall y col., la CIM₅₀ de 4 µg/ml y CIM₉₀ de 8 µg/ml para Barigazzi y col. y prácticamente coincidentes con los hallados por Inamoto y col. donde la CIM₉₀ fue de 3,13 µg/ml e iguales a los de Salmon y col. con valor de CIM₉₀ de 4 µg/ml.

El valor de CIM₅₀ de eritromicina coincidió con el encontrado por Salmon y col., variando el de CIM₉₀ de 16 µg/ml. También hubo diferencias con Raemdonck y col. quienes obtuvieron un valor de CIM₉₀ de 8 µg/ml y con Asawa y col., CIM₉₀ de 6,25 µg/ml.

En un trabajo previo fue determinada la CIM de tilosina frente a estas mismas cepas de *A. pleuropneumoniae* (9), obteniéndose valores de CIM₅₀ y CIM₉₀ de 12,5 µg/ml presentando sensibilidad intermedia.

Los resultados obtenidos coinciden, en parte, con Norcia y col. en cuanto a que, si bien, los macrólidos son en general bacteriostáticos, con *A. pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida*, muestran actividad bactericida. Con respecto a las cepas probadas, en 25 mostró efecto bacteriostático mientras que en las 2 restantes mostró una actividad bactericida.

CONCLUSIONES

Las 27 cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* aisladas en la República Argentina son sensibles a tilmicosina, según los puntos de corte propuestos por la NCCLS pudiendo utilizarse como droga de elección para el tratamiento de la pleuropneumonía porcina. No ocurre lo mismo con eritromicina y tilosina, ya que la sensibilidad observada fue intermedia.

Si bien los estreptococos presentan resistencia cruzada con los macrólidos y los estafilococos resistencia disociada, el comportamiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae* es diferente. El presente estudio demostró que las cepas autóctonas estudiadas poseen sensibilidad intermedia a eritromicina y tilosina. Esto indicaría resistencia cruzada entre macrólidos de diferentes grupos. Sin embargo, la alta sensibilidad a tilmicosina observada, contradice esta hipótesis ya que, como planteamos en la introducción, este antibiótico pertenece al mismo grupo que la tilosina. Por tal motivo, es evidente que siempre deben realizarse estudios de sensibilidad antimicrobiana con cepas autóctonas. No se puede inferir el patrón de susceptibilidad antimicrobiana de una bacteria por los resultados obtenidos en otros países ni por los obtenidos con antimicrobianos pertenecientes al mismo grupo del que se desea utilizar.

Los tratamientos empíricos así como el abuso de los antimicrobianos como promotores del crecimiento favorecen la resistencia bacteriana. Conocer los mecanismos bioquímicos de resistencia ayuda a la detección *in vitro* del fenotipo resistente, lo cual es muy útil para guiar los tratamientos y para dilucidar la resistencia cruzada entre los antibióticos. Este conocimiento es también la base de una elección racional de drogas que eludan la resistencia o estén dirigidas contra otros sitios de acción.

BIBLIOGRAFÍA

1. Fedorka-Cray PJ, Hoffman L, Cray WC. *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*. Part I. History, epidemiology, serotyping and treatment. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1993; 15 (10):1447-1455.
2. Nicolet J. Diseases of Swine. Iowa State University Press (USA), 1992; p.401-408.
3. Shope RE; White DC, Leidy G. Porcine contagious pleuropneumonia. II. Studies of the pathogenicity of the etiological agent *Haemophilus pleuropneumoniae*. *J Exp Med* 1964; 119:369-375.
4. Perfumo CJ; Menendez NA; Petruccelli MA; Idiart RJ, Pons E. Pleuropneumonía del cerdo por *Haemophilus pleuropneumoniae*. II Reproducción experimental. *Rev Med Vet* 1981; 62:89-101.
5. Hunneman WA. Incidence, economic effects, and control of *Haemophilus pleuropneumoniae* infections in pigs. *Vet Q* 1986; 8:83-87.
6. Gilbride KA, Rosendal S. Antimicrobial susceptibility of 51 strains of *Haemophilus pleuropneumoniae*. *Can J Comp Med* 1984; 48:47-50.
7. Gutiérrez CB, Píriz S, Vadillo S, Rodríguez Ferri E. In vitro susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains to 42 antimicrobial agents. *Am J*

Vet Res 1993; 54:546-550.

8. Salmon S, Watts J, Case C, Hoffman L, Wegener H, Yancey R. Comparison of MICs of ceftiofur and other antimicrobial agents against bacterial pathogens of swine from the United States, Canada and Denmark. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2435-2444.
9. Copes J, Pantozzi F, Vena MM, Perfumo CJ, Yamazaki T. Antimicrobial sensitivity of 20 *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovar 1 strains isolated from pneumonic lungs in Argentine. Proc. XXV Congress of the World Veterinary Association. Yokohama, Japan. 1995.
10. Barigazzi G, Candotti P, Foni E, Martinelli L, Raffo A. In Vitro susceptibility of 108 isolated *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains to 17 antimicrobial agents from pig lungs in Italy in 1994-95. Proc. 14th IPVS Congress, Bologna, Italy. 1996.
11. Paradis MA, Vessie G, Merrill JK, Dick CP, Moore C, Charbonneau G, Gottschalk M. Efficacy of Tilmicosin Phosphate in Feed (Pulmotil®, Elanco) for the Prevention of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Infection in Swine. *Am Assoc Swine Pract* 1998; p 105-107.
12. Bergoglio RM. Antibióticos. Ed. Panamericana (España), 1993; 201-219
13. Thomson, TD, Buck JM, Moran JW, Tonkinson LV, Jordan WH. Pharmacology and Safety of Pulmotil (Tilmicosin Phosphate) in Swine. *Am Assoc Swine Pract* 1997; p 51-55.
14. Quintiliani R., Courvalin P. Manual of Clinical Microbiology. ASM Press (USA), 1995; p. 1308-1326
15. Ose EE. In Vitro antibacterial properties EL-870, a new semisynthetic macrolide antibiotic. *J Antibiotics* 1987; 40:190-194
16. Kirst HA, Toth JE, Debono M, Willard K, Truedell B, Ott JL, Counter FT, Felty-Duckworth AM, Pekarek R. Synthesis and Evaluation of Tylosin-Related Macrolides Modified at the Aldehyde Function: A New Series of Orally Effective Antibiotics. *J Med Chem* 1988; 31:1631-1641.
17. Ziv G, Shem-Tov M, Glickman A, Winkler M, Saran A. Tilmicosin antibacterial activity and pharmacokinetics in cows. *J Vet Pharmacol Therap* 1995; 18:340-345.
18. Moore GM, Rodney PB, Tonkinson LV. Clinical field trials with tilmicosin phosphate in feed for the control of naturally acquired pneumonia caused by *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida* in swine. *Am J Vet Res* 1996; 57:224-228.
19. Stoker J, Parker R, Spencer Y. The concentration of Tilmicosin in pigs serum and respiratory tissue following oral administration with Pulmotil® via the feed at a level of 400g/tonne. Proc. 14th IPVS Congress, Bologna, Italy 1996.
20. Thomson TD, Buck JM, Moran JW, Tonkinson LV, Jordan WH. Pharmacology and Safety of Pulmotil (Tilmicosin Phosphate) in Swine. *Am Assoc Swine Pract* 1997; p 51-55.
21. Miller DJ. Comparative Performance of Various

Broad Spectrum Premix Antimicrobials Versus Complex Respiratory Infections. Am Assoc Swine Pract 1997; p 165-174.

22. Aitken IA, Reeve-Johnson L. Antimicrobial susceptibility testing for Tilmicosin and various other antimicrobial agents against porcine pathogens. Proc. 15th IPVS Congress, Birmingham, Englad. 1998; p 202.

23. Bilié V, Habrun B. Efficacy of Tilmicosin for control of pneumonia in weaned pigs. Proc. 15th IPVS Congress, Birmingham, Englad. 1998; p 268.

24. Shryock TR, White DW, Staples JM, Werner CS. Minimum inhibitory concentration breakpoints and disk diffusion inhibitory zone interpretive criteria for tilmicosin susceptibility testing against *Pasteurella* spp. Associated with bovine respiratory disease. J Vet Diagn Invest 1996; 8:337-344.

25. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Proposed Standard. NCCLS Document M31-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa. 1994.

26. Blackall PJ, Asakawa T, Graydon RJ, White M, Adamson M, Wade LK, Lowe LB. *In vitro* antibacterial properties of tilmicosin against Australian isolates of *Pasteurella multocida* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* from pigs. Australian Vet J 1995; 72:35-36.

27. Inamoto T, Kikuchi K, Iijima H, Kawashima Y, Nakai Y, Ogimoto K. Antibacterial activity of tilmicosin against *Pasteurella multocida* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from pneumonic lesions in swine. J Vet Med Sci 1994; 56:917-921.

28. Raemdonck DL, Tanner AC, Tolling ST, Michener SL. Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Salmonella choleraesuis* isolated from pigs. Vet Rec 1994; 134:5-7.

29. Asawa T, Kobayashi H, Mitani K, Ito N, Morozumi T. Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from piglets with pleuropneumonia. J Vet Med Sci 1995; 57:757-759

30. Norcia, LJ, Silvia AM, Hayashi SF. Studies on time-kill kinetics of different classes of antibiotics against veterinary pathogenic bacteria including Pasteurella, Actinobacillus and *Escherichia coli*. J. Antibiot 1999; 52:52-59.

LEUCOSIS ENZOÓTICA BOVINA: EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO (ID, ELISA-I, WB, PCR) EN BOVINOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE

ET González¹, GA Oliva¹, A Valera², E Bonzo³, M Licursi⁴, ME Etcheverrigaray¹

¹Cátedra de Virología, ²Centro de Diagnóstico Veterinario (CEDIVE), ³Cátedra de Epidemiología y Salud Pública, ⁴Becaria de Iniciación de la UNLP.

Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

RESUMEN: Se diseñaron dos experiencias utilizando un total de 12 bovinos (8 inoculados y 4 controles) de 2 años de edad. La transmisión de la infección con virus de la Leucosis Bovina (VLB) se llevó a cabo a partir de 5, 10 o 50 µl de sangre total periférica de bovinos seropositivos asintomáticos, utilizando distintas vías: intradérmica, subcutánea, intramuscular o endovenosa. Se realizó el seguimiento semanal en ambas experiencias, durante 4 meses cada una, obteniendo los siguientes resultados. ELISA indirecto (ELISA-I): la detección de anticuerpos se comprobó en todos los animales entre la 3^o y 6^o semana posinfección (PI). Inmunodifusión en agar (ID): todos los animales inoculados dieron positivos entre la 4^o y 6^o semana, manteniéndose débiles positivos el 40 % de los animales hasta la 6^o semana PI. Western Blot (WB): los sueros positivos mostraron reactividad para la gp51 y la p24. Otras proteínas (gp30, p15, p12 y p10) no fueron detectadas en ningún caso. En el 90 % de los bovinos inoculados, los anticuerpos contra la p24 se detectaron antes (2^o-4^o semana PI) que los anticuerpos contra la gp51. PCR: Una nested PCR fue desarrollada con primers para un segmento conservado del gen env. El 75 % de los bovinos fueron positivos a la 2^o semana PI. Conclusión: 1) Todos los animales inoculados, aún con mínimo volumen de sangre (5 µl) y por cualquiera de las vías, dieron positivo a las técnicas aplicadas. 2) Las pruebas ID y ELISA-I son de especial utilidad en estudios poblacionales, con mayor sensibilidad esta última. 3) Las técnicas de WB y PCR se consideran alternativas para los casos en que se requiera confirmación.

Palabras clave: Leucosis Bovina, ID, ELISA-I, WB, PCR.

ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS: EVALUATION OF DIAGNOSTIC TECHNIQUES (AGID, I-ELISA, WB AND PCR) IN EXPERIMENTALLY INOCULATED BOVINES

ABSTRACT Two experiments were designed using a total of twelve two years old bovines (8 inoculated and 4 controls). The transmission of infection with Bovine Leucosis Virus (BLV) was made with blood of seropositive, asymptomatic bovines (5, 10 and 50 µl) using different ways (ID, SC, IM and EV). All animals were weekly monitored during four month and analyzed comparatively applying the diagnostic methods developed in our laboratory. Indirect ELISA (I-ELISA) : Antibodies at levels higher than cut off point was found between the 3rd and 6th postinoculation (PI) week. Immunodiffusion in agar (ID): All inoculated animals resulted positive between the 4th and 6th PI week. 40 % of the animals kept weak positives until the 6th week. Western Blot (WB): The positive serums showed reactivity against the gp51 and the p24. No other proteins (gp30, p15, p12 and p10) were detected in any case. In 90 % of inoculated bovines, the antibodies against the p24 were detected before (2nd- 4th PI week) than the antibodies against the gp51. PCR: a Nested-PCR was developed with primers for a stored segment of the env gen. In 75 % of bovines provirus were detected 2 weeks PI. From the results of our study we can conclude that: 1) All inoculated animals (through any of the considered ways) made it positive in response to our techniques even those with the minimum blood volume (5 µl). 2) ID and I-ELISA tests are very useful in population studies, being the latter more sensitive. 3) The WB and PCR techniques are alternatives tests for cases requiring confirmation.

Key words: Bovine Leukosis, AGID, I-ELISA, WB, PCR

Fecha de recepción: 21/02/01

Fecha de aprobación: 24/10/01

Dirección para correspondencia: E.T. González. Cátedra de Virología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata CC 296 (B1900AVW) La Plata. Argentina

E-mail: etgonzal@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

El virus de la Leucosis Bovina (VLB) es un virus linfotrópico presente en las poblaciones bovinas de muchos países. La infección generalmente cursa en forma crónica y asintomática y puede dar linfocitosis persistente (LP) en un 30 % de los animales portadores del virus. La entidad clínica se denomina Leucosis Enzoótica Bovina (LEB) y está referida a animales serológicamente positivos. Luego de un prolongado período, en general de 3 a 5 años, solo una baja proporción de animales desarrollan tumor (0,1 - 5 %) (1, 2, 3).

La infección se transmite fundamentalmente en forma horizontal, vía iatrogénica, por exposición de los bovinos susceptibles a los linfocitos "B" portadores del virus (1, 4, 5). La sangre y la leche son los principales vehículos para la transmisión y la vía transplacentaria puede ser responsable de aproximadamente el 5 % de terneros infectados nacidos de madres portadoras.

La prevalencia aumenta a partir de los 6 meses de edad, con la mayor incidencia entre los 2 y 3 años (1), siendo mayor en planteles de bovinos de leche que en bovinos de carne (5, 6).

La infección ocurre frecuentemente a partir de la introducción de animales infectados asintomáticos al plantel y luego toma características enzoóticas.

Las proteínas estructurales de VLB como p24 y gp51 son importantes inmunógenos y los anticuerpos contra ellas pueden ser detectados en la mayoría de los animales infectados. Las proteínas codificadas por el gen *gag*, forman la estructura del virión y juegan un rol importante en las etapas iniciales del ciclo de la infección. Son designadas por su peso molecular como p24, p15, p12 y p10. De ellas, p24 es el mayor componente de la cápside y tiene varios sitios antigénicos.

Las proteínas de la envoltura, codificadas por el gen *env*, son reconocidas por el receptor celular y son responsables del tropismo, interferencia viral y fusión celular. Derivan de un precursor común que es modificado por glicosilación y clivaje proteolítico, produciendo dos proteínas asociadas: gp51 de superficie y gp30 de membrana (7, 8). La gp51 es un potente antígeno, responsable de la principal respuesta humoral del huésped. Los anticuerpos anti gp51 se detectan generalmente con títulos más altos que aquellos dirigidos contra la proteína p24.

En los estudios de infección con VLB se han empleado numerosos métodos diagnósticos tales como: Seroneutralización (SN), Radioinmunoensayo (RIA), Inmunodifusión (ID), *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), *Western Blot* (WB) y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20).

En varios países existen programas oficiales para el control y erradicación de la LEB. El diagnóstico se realiza rutinariamente por métodos serológicos. La ID ha sido por muchos años la prueba de elección por su alta especificidad y aceptable sensibilidad. Recientemente se desarrollaron distintos equipos comerciales de ELISA para ser utilizados en muestras de suero y/o leche (10, 21, 22, 23).

PCR es una prueba conveniente para detectar DNA proviral en muestras de sangre, suspensiones de órganos y material tumoral, siendo un método sensible que permite un diagnóstico rápido y temprano (9, 15, 21).

Los objetivos de este trabajo fueron: 1) comprobar la transmisión del virus de LEB por distintas vías, empleando pequeños volúmenes de sangre total de animales serológicamente positivos y 2) demostrar la sensibilidad comparativa de las técnicas diagnósticas desarrolladas en este laboratorio

MATERIALES Y MÉTODOS

ANIMALES:

Lote A - Bovino donante naturalmente infectado con VLB (seropositivo por ID y ELISA-I. Positivo por PCR (12), asintomático, raza Holando Argentino, 5 años de edad, LP negativo.

Lote B - Doce bovinos de dos años de edad, Aberdeen Angus, provenientes de planteles seronegativos (tres determinaciones por ID y ELISA-I, con tres meses de intervalo. PCR negativos).

EXPERIENCIA I: Gráfico I (Período julio-noviembre). Se inocularon cuatro bovinos del lote B con 10 µl de sangre total del bovino dador lote A por vía intramuscular (IM), endovenosa (EV), subcutánea (SC) e intradérmica (ID), dejando como controles dos bovinos inoculados con solución fisiológica (SF).

Todos los animales fueron sangrados semanalmente separando los sueros para análisis serológicos (ID, ELISA-I, WB) y sangre con heparina para estudios hematológicos.

EXPERIENCIA II: Gráfico II (Período diciembre-marzo). A partir de dos animales seropositivos de la experiencia I (06/203 y 08/7173) se inocularon cuatro bovinos del lote B, todos por vía SC. Dos de ellos con 5 µl y dos con 50 µl de sangre total. Como controles se inocularon dos bovinos con SF.

Todos los animales fueron sangrados semanalmente separando los sueros para análisis serológicos (ID, ELISA-I, WB) y sangre con heparina para estudios hematológicos y PCR.

En ambas experiencias los animales controles convivieron con los inoculados, aplicando un antiparasitario externo (Cipermetrina) a todos los animales, para prevenir la posible transmisión horizontal de la enfermedad por insectos hematófagos.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS:

Inmunodifusión (ID): todas las muestras de suero fueron analizadas empleando el equipo comercial producido en la Cátedra de Virología Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, aprobado por SENASA, Servicio Nacional de Sanidad Animal (Exp. 41.285/87). El equipo detecta suero positivo de referencia E4 diluido 1/10 en suero negativo (Council Directive 64, EEC, July 1989, Annex G0).

ELISA-indirecto (ELISA-I): la técnica fue realizada según se detalla en el instructivo del equipo de diagnóstico de un ELISA-indirecto desarrollado en este Laboratorio de Virología (LeucoKit-La Plata). Básicamente el procedimiento fue el siguiente: en placas de poliestireno (Nunc-Immuplate) se colocaron 100 µl en cada pocillo de la dilución de antígeno previamente establecida. Luego de la incubación y respectivos lavados, se sembraron por duplicado diluciones 1:24 de los sueros controles positivo y negativo y de las muestras problema en un volumen total de 100 µl por pocillo. Luego de lavar 3 veces, se agregó 50 µl por pocillo de anti-inmuno globulina bovina marcada con peroxidasa, incubando 1 hora a 37 °C. Luego de lavar, se colocó 100 µl de la solución de sustrato (ABTS) a cada pocillo, incubando y realizando finalmente la lectura en espectrofotómetro con filtro 405 nm. El valor de corte (media de los sueros negativos + 2 desvíos estándar) fue establecido con 100 sueros provenientes de tres planteles de bovinos sin antecedentes de la enfermedad y seronegativos en tres pruebas consecutivas con intervalos de tres meses cada vez.

Los resultados fueron expresados ($X_s - X_n$) / ($X_p - X_n$), donde:

X_s = Promedio de las dos lecturas del suero problema

X_n = Promedio de las dos lecturas del suero control negativo

X_p = Promedio de las dos lecturas del suero control positivo.

Western Blot (WB): se utilizó un antígeno parcialmente purificado obtenido de una línea celular (FLK) infectada persistentemente con VLB. El antígeno se diluyó 1:2 en buffer de muestra en condiciones no reducidas y se corrió en geles de poliacrilamida al 12 %, a 100V. Las proteínas virales fueron luego transferidas a papeles de nitrocelulosa (Bio-Rad 0,45 µm). Se bloqueó con gelatina al 3 % y luego de lavar apropiadamente, se incubó con los sueros problemas y testigos diluidos 1/100. Después de lavar se incubó con el suero antibovino marcado con peroxidasa diluido 1/500. El revelado de la reacción se realizó con 3,3 diaminobencidina y peróxido de hidrógeno (13).

Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR): se aplicó una Nested PCR siguiendo la técnica detallada oportunamente (12). Los cebadores sintetizados para un segmento del gen *env* son los siguientes:

Primers externos:

OVLB -1 5'- GTGCCAAGTCTCCCAGATACA-3'

OVLB -6 5'- TATAGCACAGTCTGGGAAGGC-3'

Primers internos:

OVLB- 3 5'- CTGTAAATGGCTATCCTAAGATCTACTGG 3

OVLB- 5 5'- GACAGAGGGAACCCAGTCACTGTTCAACTG-3'

Para cada muestra de sangre se separaron los linfocitos utilizando Ficoll-Hypaque (resuspendidos en PBS a una concentración de 10^4 cel/50 µl) tratados luego a 100 °C por 12 min y conservados a -20 °C hasta su uso.

Las dos amplificaciones se realizaron en un volumen total de 50 µl, en 30 ciclos cada una (1 min a 94 °C, 1 min a 60 °C). Los productos finales fueron corridos en un gel de agarosa al 2 % y teñidos con Bromuro de Etidio. Utilizando UV las muestras positivas fueron caracterizadas por la aparición de una banda correspondiente a 360 pares de bases. Para corroborar la especificidad de la prueba los productos de la segunda amplificación se sometieron a un corte con enzima BamHI y luego se corrieron en geles de poliacrilamida al 6 % (12).

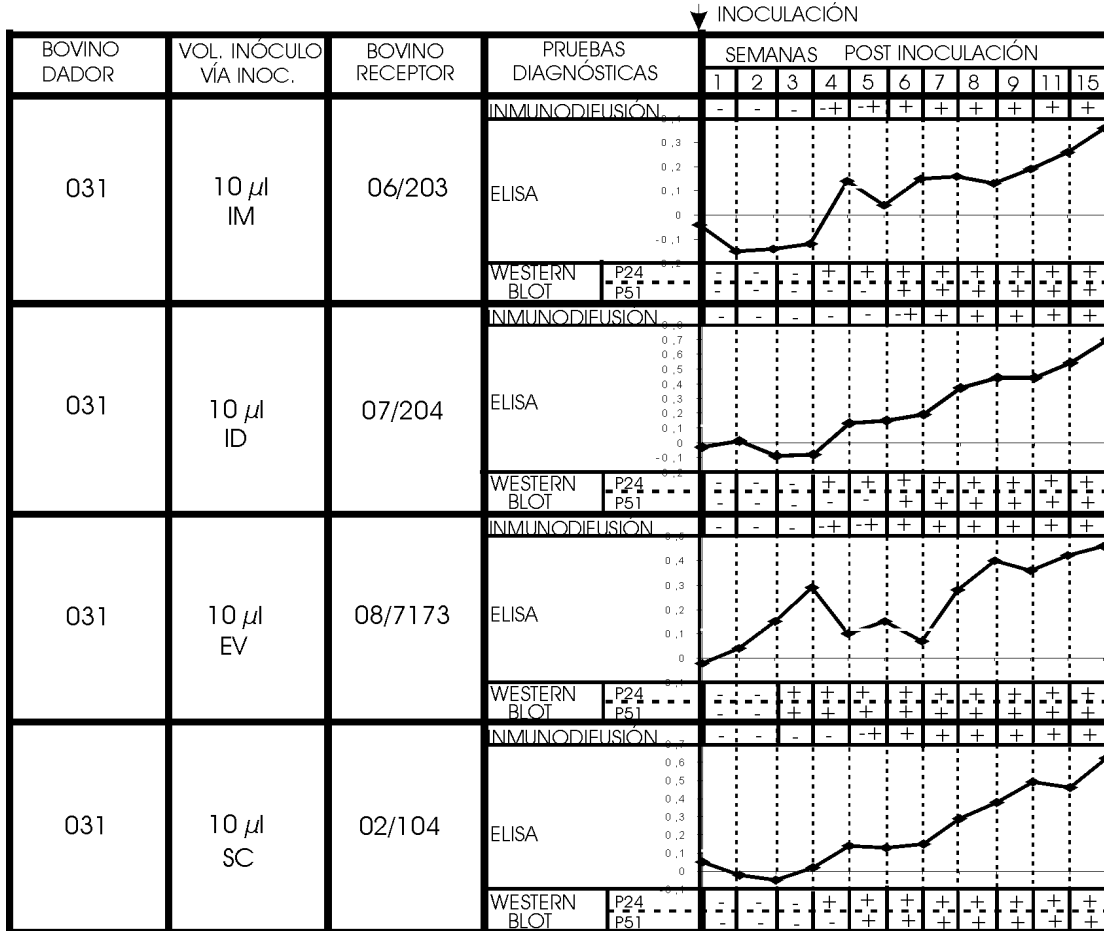
RESULTADOS

En todos los casos se demostró transmisión de la enfermedad con pequeños volúmenes: 5, 10 y 50 µl de sangre periférica, independiente de la vía considerada (subcutánea, endovenosa, intradérmica e intramuscular).

Ninguno de los bovinos que participó en las dos experiencias presentó linfocitosis durante las doce semanas que duró cada una.

EXPERIENCIA I (Gráfico I)

ID: tres animales fueron débilmente positivos



Bovino 031: naturalmente infectado

BOVINOS CONTROLES *

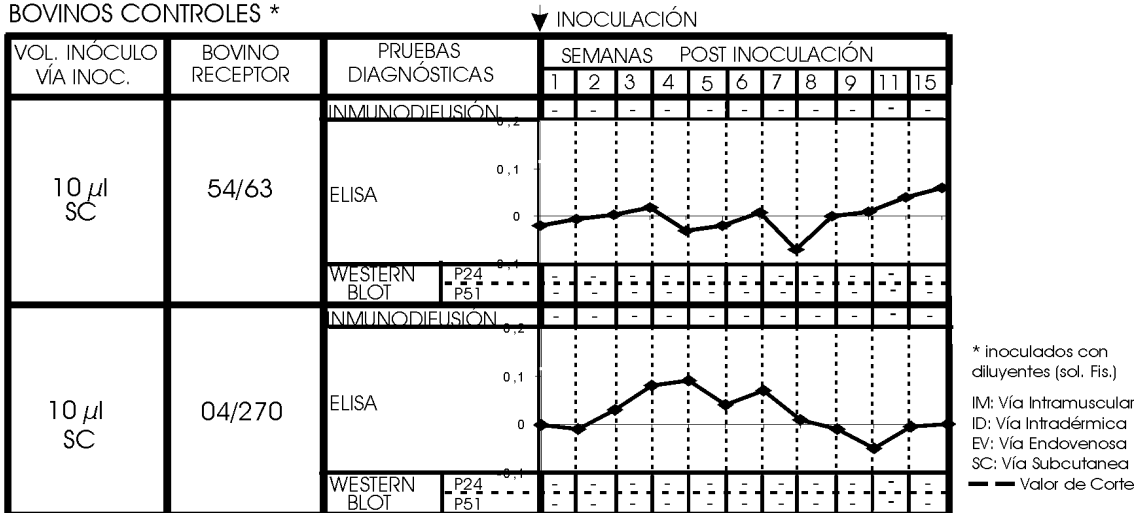


Gráfico I. Experiencia I: Evolución de la respuesta de anticuerpos en 4 bovinos infectados experimentalmente y 2 controles, aplicando las pruebas ID, ELISA-i y Western Blot.

Graphic I. Experience I: Evolution of antibodies response in four bovinos experimentally infected and two controls applying ID, ELISA-i and Western Blot techniques.

vos entre la 4^o y 5^o semana (06/203, 08/7173 y el 02/104) mostrando reactividad franca a partir de la 6^o semana PI, el cuarto bovino (07/204) fue débil positivo a la 6^o semana, demostrándose como franco positivo a partir de la 7^o semana PI.

ELISA-I: uno de los animales (08/7173) fue positivo a partir de la 2^o semana, con posteriores fluctuaciones en el título y elevación franca a partir de la 7^a semana PI. Otro ternero (06/203) fue positivo a la 4^o semana, con elevación del título de anticuerpos a partir de la 6^o semana. Los restantes bovinos (07/204 y 02/104) reaccionaron positivamente en las muestras tomadas a partir de la 4^o semana.

WB: se determinaron anticuerpos contra las dos principales proteínas, p24 y gp51, apareciendo más tempranamente los correspondientes a la primera de ellas. En uno de los animales (08/7173) los anticuerpos contra p24 se detectaron a la 3^o semana y en el resto de los animales a la 4^o semana PI. Para la gp51 uno de los animales (08/7173) fue positivo a la 3^o semana PI, otros dos (06/203 y 02/104) a la 5^o semana y el 4^o bovino (07/204), a la 6^o semana PI (Figura 1).

Los controles se mantuvieron negativos por la totalidad de las técnicas (ID, ELISA-I, WB), a lo largo la experiencia.

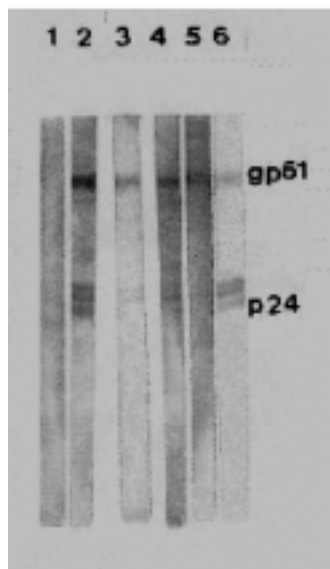


Figura 1. Western Blot. 1: control negativo, 2: control positivo, 3-6: sueros positivos con distinto grado de reactividad para la gp51 y p24.

Figure 1. Western Blot. 1: negative control, 2: positive control, 3-6: positive serum with different reactivity against gp51 and p24.

EXPERIENCIA II (Gráfico II)

ID: en tres animales se comenzó a detectar seroconversión a la 4^o semana PI (57/40, 36/34, 54/64). Uno de ellos (36-34) se mantuvo débil positivo durante toda la experiencia. Otro de los animales (72/72) seroconvirtió a la 6^o semana como débil positivo siendo franco a partir de la 7^o semana PI .

ELISA I: los cuatro animales seroconvirtieron entre la 4^o y 5^o semana PI.

WB: al igual que en la experiencia I, se observó la aparición de anticuerpos contra la p24 antes que para la gp51. En dos animales (72/72 y 54/64) los anticuerpos contra la p24 se detectaron a la 3^o y a la 4^o semana para los dos restantes (57/40 y 36/34).

Los anticuerpos contra la gp51 se detectaron en un animal (54/64) a la 4^o semana, en otro (72/72) a la 5^o semana y en los restantes (57/40 y 36/34), a la 6^o semana PI.

PCR: (Figura 2) a partir de la 2^o semana PI tres de los cuatro animales (57/40, 36/34, 54/64) dieron resultado positivo correspondiente a una banda de 360 pb y el restante (72/72) a partir de la 3^o semana PI. En todos los casos el producto de la digestión con Bam-HI dio como resultado 2 fragmentos de DNA correspondientes a 198 y 162 pares de bases (Figura 3).

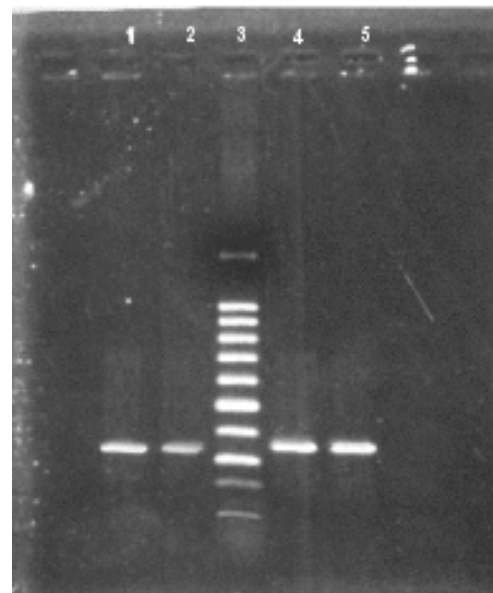
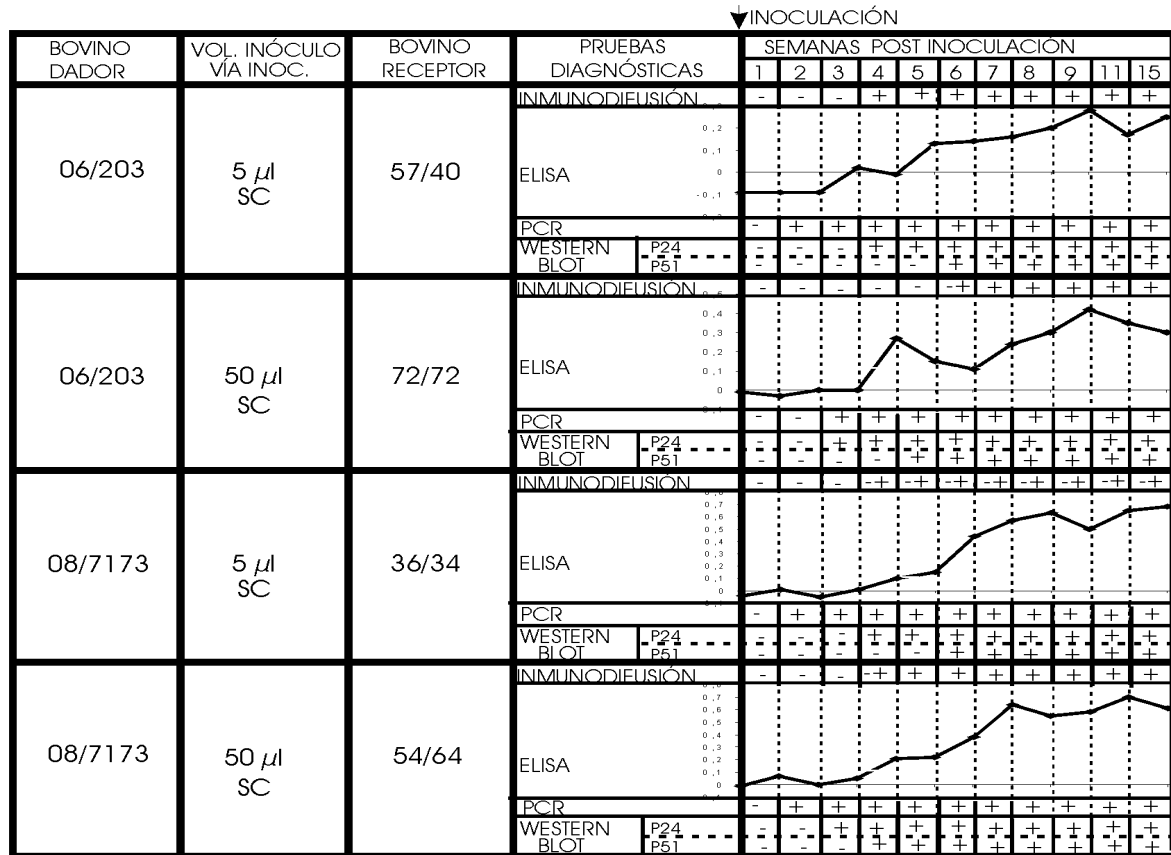


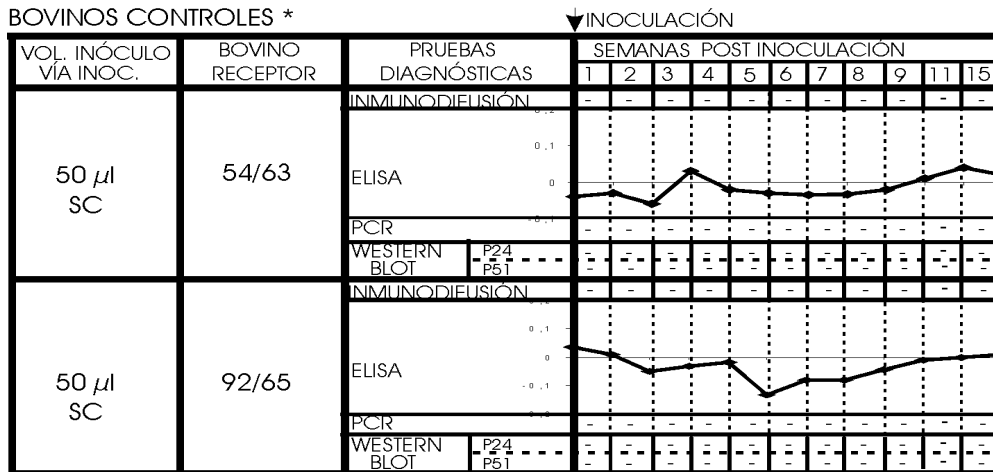
Figura 2. PCR . 1, 2, 4, 5: amplificación del segmento de 360 pb correspondiente a las muestras de la experiencia II. 3: marcador de peso molecular.

Figure 2. PCR. 1, 2, 4, 5: amplification of 360 bp segment corresponding to experience II samples. 3: MW marker.



Bovinos 06/203 y 08/7173: animales infectados en la experiencia I

BOVINOS CONTROLES *



* inoculados con diluyentes (sol. Fis.)
 SC: Vía Subcutánea
 — Valor de Corte

Gráfico II. Experiencia II: Evolución de la respuesta de anticuerpos y detección de provirus en 4 bovinos experimentalmente inoculados y 2 controles, aplicando las pruebas de ID, ELISA-i, Western Blot y PCR.
 Graphic II. Experiencia II: Evolution of antibodies response and provirus detection in four bovines experimentally infected and two controls applying ID, ELISA-i, Western Blot and PCR.

Los controles se mantuvieron negativos durante toda la experiencia por las cuatro técnicas aplicadas (ID, ELISA-I, WB y PCR).

DISCUSIÓN

A diferencia de Johnsson y col. y Klintevall y col. (16,20), quienes sostienen que la infección con BLV depende de la dosis y la ruta de infec-

ción, en ambas experiencias (I y II) se observó que todos los animales resultaron infectados por distintas vías y con volúmenes pequeños como 5 µl de sangre periférica de animales seropositivos y sin linfocitosis. Se debe señalar que en la experiencia II se utilizaron como dadores animales recientemente infectados (4 meses) provenientes de la experiencia I y todos los bovinos receptores re-

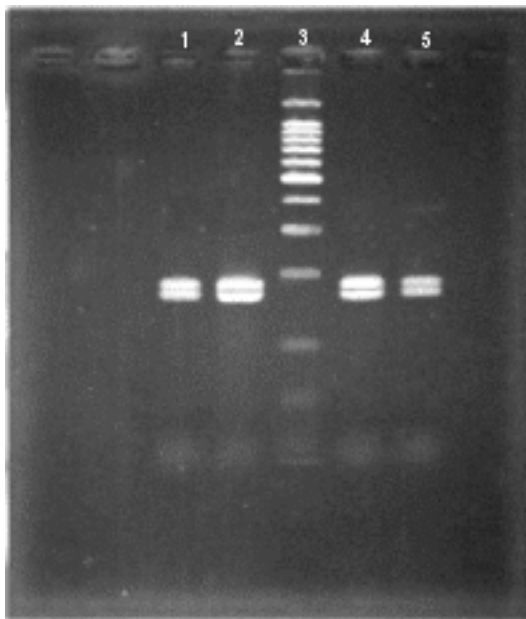


Figura 3. 1, 2, 4, 5: resultados de la digestión enzimática con *Bam HI* de los productos de PCR de muestras de la experiencia II. 3: marcador de peso molecular.

Figure 3. 1, 2, 3, 5: results of enzymatic digestion with *Bam HI* of PCR experience II products. 3: MW marker.

sultaron susceptibles a la infección detectándose anticuerpos (ID, ELISA-I, WB) y virus (PCR). La cantidad de linfocitos utilizados para realizar la transmisión horizontal fue al menos de 3×10^4 linfocitos (5 μ l de sangre). Esto se contradice con lo señalado por Naif y col. (4) quien informa no haber detectado anticuerpos anti VLB en animales infectados con 10^7 linfocitos de un animal persistentemente infectado.

La prueba de ID es específica y práctica para detectar anticuerpos en muestras individuales de suero y ha demostrado sensibilidad comparable a lo informado por otros autores para esta técnica (2, 4, 5).

El ELISA-I aplicado en las muestras obtenidas semanalmente, demostró ser un método sensible, rápido y de resultados objetivos, que podrá ser útil a la hora de hacer análisis de un gran número de muestras.

Comparando nuestros resultados de ID y ELISA-I, se observa buena correlación entre ambas técnicas y pueden ser usadas en forma complementaria en planes de control y erradicación.

Las proteínas identificadas por la técnica de WB corresponden a los genes *env* y *gag* (3, 16,

18, 22, 25). Respecto al producto del gen *env*, es esperable la detección de 2 glicoproteínas, gp51 y gp30, componentes del envelope y relacionadas directamente con la infectividad viral (16, 18, 5). Los anticuerpos contra la p24 (codificada por el gen *gag*) se detectan en general más tempranamente que aquellos para la gp51, siendo la primera de ellas un importante antígeno y de valor diagnóstico en la prueba de WB. Según lo señalado por Kittelberger y col. (19), la reacción contra la proteína p24 puede ser muy clara por WB, mientras que la reacción contra gp51 puede ser débil o incluso estar ausente. Dicha ausencia de reactividad contra gp51 no debe ser considerada necesariamente como diagnóstico negativo de infección (2).

De acuerdo a nuestros resultados, la reactividad para la p24 fue en algunos animales más temprana que para la gp51 pero finalmente se detectaron anticuerpos para ambas proteínas en todos los animales inoculados. Los anticuerpos contra la gp30 no fueron detectados en ningún caso.

WB puede emplearse como prueba confirmatoria en una etapa tardía de un programa de erradicación, ya que es altamente específico y detecta anticuerpos contra las proteínas principales de VLB.

Según recomiendan Dinte y col. (7) cuando se comparan resultados por diferentes métodos serológicos, se debe incluir en las pruebas un suero estándar de referencia. Nosotros incorporamos en esta experiencia el suero de referencia internacional E4, que determina el límite menor de sensibilidad en ID o ELISA tanto para suero como para leche.

Respecto a la prueba de PCR aplicada a las muestras de los animales de la experiencia II, ha permitido detectar DNA proviral a partir de la segunda semana y en general en forma más temprana que las pruebas serológicas (con la excepción de un animal en la que se igualó a la reactividad observada para la p24 en la prueba de WB). La PCR no es práctica para ser aplicada en un elevado número de muestras, pero resulta apropiada para ciertos casos como el diagnóstico en terneros jóvenes que posean anticuerpos calostrales o en casos de un resultado no concluyente de otras pruebas serológicas.

PCR debe considerarse como un método de alta sensibilidad y confirmatorio en la detección de infección con VLB (9).

CONCLUSIONES

A) Se confirma la posibilidad de transmisión de la infección en forma horizontal a partir de pequeños volúmenes de sangre periférica de dador asintomático seropositivo; corroborando de esta forma la importancia de los recaudos en las medidas de manejo que se deben aplicar para impedir la vía iatrogénica de infección (cambio de agujas en vacunaciones, cambio de guantes para tacto, moqueta, etc.).

B) Todas las técnicas aplicadas (indirectas: ID, ELISA-I, WB y directa: PCR), fueron apropiadas para la detección de infección (variando en la sensibilidad).

C) La técnica de ID y ELISA-I son apropiadas para aplicar a nivel poblacional (planes de control y erradicación).

D) WB y PCR son pruebas alternativas para casos en que se requiera confirmación, siendo esta última la apropiada para detección directa del virus.

BIBLIOGRAFÍA

- Di Giacomo RF. The epidemiology and control of bovine leukemia virus infection. *Vet Med.* 1992; 3: 248-257.
- Domenech A, Llamas L, Goyache J, Suárez G, Gómez-Lucía E. Comparison of four tests to evaluate the reactivity of rabbit sera against envelope or Gag-related proteins of bovine leukemia virus (BLV). *Vet Microbiol.* 1998; 60: 13-25.
- Grover YP, Guillemain B. An immunoblotting procedure for detection of antibodies against Bovine Leukemia Virus in cattle. *J Vet Med B.* 1992; 39: 48-52.
- Naif H, Daniel RCW, Cogle WG, Lavin MF. Early detection of bovine leukaemia virus by using an enzyme-linked assay for polymerase chain reaction-amplified proviral DNA in experimentally infected cattle. *J Clin Microbiol.* 1992; 30: 675-679
- Schwartz I, Levy D. Pathobiology of bovine leukemia virus. *Vet Res.* 1994; 25: 521-536.
- Hoff- Jorgensen R. An international comparison of different laboratory tests for the diagnosis of bovine leucosis: suggestions for international standardization. *Vet Immunol Immunopathol.* 1989; 22: 293-297.
- Dinter Z. Enzootic bovine leucosis, diagnostic virology. In: J. Moreno-Lopez (Ed). A review of methods at the National Veterinary Institute 1989: 115-122.
- Klintevall K, Ballagi Pordány A, Näslund K, Belák S. Bovine Leukaemia Virus: Rapid detection of proviral DNA by nested PCR in blood and organs of experimentally infected calves. *Vet Microbiol.* 1994; 42:191-204.
- Ballagi-Pordány A, Klintevall K, Merza M, Klingeborn B, Belák S. Direct Detection of Bovine Leukemia Virus Infection: Practical Applicability of a Double Polymerase Chain Reaction. *J Vet Med B* 1992; 39: 69-77.
- Gallo R, Wong-Staal F. *Retrovirus Biology and Human Disease*, Ed. Dekker, New York (EEUU) 1990; p.130-155.
- Rodak L, Granátová M, Veselý T, Nevoránková Z. Monoclonal Antibody for the demonstration by ELISA of antibodies to protein p24 of enzootic bovine leucosis virus in individual and pooled blood serum and milk samples. *J Vet Med B* 1997; 44: 425-436.
- Gonzalez ET, Norimine J, Valera AR, Travería G, Oliva GA, Etcheverrigaray ME. A Rapid and sensitive diagnosis of bovine leukaemia virus infection using the nested shuttle polymerase chain reaction. *Rev Pesq Vet Bras.* 1999;19:63-67.
- Gonzalez ET, Oliva GA, Norimine J, Cid de la Paz V., Echeverría MG, Etcheverrigaray ME. Enzootic Bovine Leukosis (ELB): evaluation of the Western Blot technique applied to the diagnostic. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1999; 51 (4): 299-305.
- Graves DC, McQuade M, Weibel K. Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay with an early polykaryocytosis inhibition assay and the agar-gel immunodiffusion test for the detection of antibodies to bovine leukemia virus. *Am J Vet Res* 1982; 43 (6): 960-966.
- Heeney J, Valli VE, Montesani J. Alterations in humoral immune response to bovine leukemia virus antigens in cattle with lymphoma. *J Gen Virol.* 1998;69: 659-666.
- Johnson R, Kaneene JB. Bovine leukemia virus. Part I: Descriptive epidemiology, clinical manifestations, and diagnostic tests. Continuing education article 12. *The Compendious, North American Edition. Food Animal.* 1991;13: 315-327.
- Johnson R, Kaneene J. Bovine Leukemia Virus and Enzoitic Bovine Leukosis. *Vet. Bull.* 1992; 62: 287-312.
- Kettmann R, Covez D, Burny A. Restriction endonuclease mapping of linear unintegrated proviral DNA of Bovine Leukemia Virus. *J Virol.* 38: 27-33
- Kittelberger R, Reichel MP, Meynell RM, Tham K, Molloy JB. Detection of antibodies against the core protein p24 of the bovine leukaemia virus in cattle for confirmatory serological testing. *J of Virological Methods* 1999; 77: 109-114.
- Klintevall K, Fuxler L, Fossum C. Bovine Leukemia Virus: early reflections in blood after an experimental infection of calves. *Comp Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 1997; 20 (2): 119-130.
- Kono YW, Irishio H Sentsui. Syncytium-induction Inhibition Test with Complement for Detection of Antibodies Against Bovine Leukemia Virus. *Can J Comp Med* 1983; 47: 328-331.
- Mamoun RZ, Morisson M, Rebeyrotte N, Busetta B, Covez D, Kettmann R, Hospital M, Guillemain G.

Sequence variability of bovine leukemia virus env gene and its relevance to the structure and antigenicity of the glycoproteins. *J Virol.* 1990; 64: 4180-4190.

23. Reichel MP, Tham KM, Barnes S, Kittelberger R. "Evaluation of alternative methods for the detection of bovine leukaemia virus in cattle" *N Z Vet J* 1998; 46: 140-146.

24. Takahashi K, Kono Y. Development of Practical ELISA for Detection of Antibodies to Bovine Leukemia Virus: A Comparison of its Sensitivity with that of virus Neutralization and Agar Gel Immunodiffusion Tests. *Jpn J Vet Sci.* 1985; 47(2): 193-200.

25. Uckert W, Hertling I, Kraft R, Bossomann H, Rösler H, Meyer U. Structural components of bovine leukemia virus: further biochemical and immunological characterization of major structural proteins and glycoproteins. *Virus Res.* 1986; 4: 343-356.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA GASTROENTERITIS VERMINOSA DE LOS OVINOS EN LAS REGIONES TEMPLADAS Y CÁLIDAS DE LA ARGENTINA

JR Romero¹, CA Boero²

¹Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias CEDIVE
Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata.

²Director Técnico de Laboratorio Mesopotámico.

RESUMEN: Se presenta una discusión sobre epidemiología del parasitismo gastrointestinal de lanares con especial énfasis en la problemática de áreas templadas. Se revisa la información disponible en la Argentina y Uruguay, discutiendo situaciones sobre las que no se dispone de datos experimentales. Además se analiza el problema de la resistencia a antihelmínticos con vistas al manejo integrado del parasitismo como alternativa.

Palabras clave: Gastroenteritis verminosa, ovinos, Argentina, epidemiología

EPIDEMIOLOGY OF PARASITIC GASTROENTERITIS OF SHEEP IN TEMPERATE AND WARM AREAS IN ARGENTINA

ABSTRACT: The paper discusses epidemiological aspects of gastrointestinal parasitism, particularly in temperate areas, and reviews available information on real situations of Argentina and Uruguay. In addition some aspects of drug resistance are discussed pointing out the use of integrated management systems as an alternative measure to control parasitism.

Key words: Parasitic gastroenteritis, sheep, Argentina, epidemiology

Fecha de recepción: 11/04/00

Fecha de aprobación: 10/01/02

Dirección para correspondencia: Jorge Romero. Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias CEDIVE, Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata. CC 147 (B 7130) Chascomús, ARGENTINA **E-mail:** jromero@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Las existencias ovinas del país se estiman actualmente en algo menos de 15 millones de cabezas, la mitad de las cuales está en la Patagonia. La provincia de Buenos Aires tiene unos 3 millones, Corrientes y Entre Ríos tienen 1.800.000, y el resto está distribuido en explotaciones de importancia menor, o vinculadas a economías de subsistencia en todo el país.

En términos generales la explotación de la Patagonia es eminentemente lanera, especializada en lanas finas, predominando raza Merino, salvo en las provincias de Santa Cruz y Tierra del Fuego, donde tiene gran representatividad la raza Corriedale.

En Buenos Aires existe gran diversidad de razas y tamaños de explotación: en la región Sudeste y Sudoeste hay Merino y Corriedale, mientras que en la Zona Deprimida del Salado predominan las existencias de Romney y Corriedale, resultando insignificantes en la actualidad las majadas de Lincoln. Existen en la Pampa húmeda gran cantidad de majadas pequeñas, de consumo sin proyección comercial. Si bien no son numéricamente importantes, las explotaciones lecheras son un interesante foco de atención, las razas más importantes constituyen cruza Frisonas y en menor medida, Texel y Manchega. En la Mesopotamia existen aún importantes explotaciones comerciales siendo predominantes las razas Corriedale, Romney e Ideal (Polward).

El negocio de carne, es el consumo interno (y de estancia). La depresión del mercado de lanas en las últimas décadas, ha sido la causa de la reducción del stock en la Argentina y en otros países. El parasitismo gastrointestinal es la variable sanitaria más importante de explotación de lanas en áreas templadas y por ello hemos puesto en éstas el enfoque de la presente revisión.

Principales especies que parasitan a lanas en nuestro medio.

Los especies gastrointestinales más importantes aislados en lanas en nuestro país revisadas por Johnstone (1), Lukovich (2), M. Suárez (3), V. Suárez (4, 5) entre otros son:

Estómago:

Ostertagia ostertagi, *O. lyrata*, *O. trifurcata*, *Marshallagia marshalli*, *Teladorsagia circumcincta*, *T. daviana*.

Haemonchus contortus, *H. placei*

Trichostrongylus axei

Intestino delgado:

T. colubriformis, *T. vitrinus*, *T. longispicularis*, *T. capricola*

Strongyloides papillosus

Cooperia serrata, *C. curticei*, *C. oncophora*, *C. mcmasteri*, *C. pectinata*

Nematodirus filicollis, *Nematodirus spathiger*, *N. abnormalis*, *N. oriatianus*, *N. battus*, *N. helveticus*

Bunostomum trigonocephalum

Toxocara vitulorum

Intestino grueso

Chabertia ovina

Oesophagostomum columbianum, *O. venulosum*

Trichuris ovis

Reseña del ciclo evolutivo:

No es intención de la presente revisión extenderse en este sentido y sólo se hará una breve referencia. Las hembras adultas de estas especies depositan sus huevos en la luz del tracto gastrointestinal, los que se eliminan con la materia fecal del hospedador.

Las larvas de *Toxocara* spp. (Orden *Ascaridida*) y *Trichuris* (Orden *Trichurida*), evolucionan dentro del huevo. Cuando éstas maduran constituyen la forma infectante, existiendo en el primero, además, transmisión transplacentaria. Las formas parasitarias de *Strongyloides* spp. (Orden *Rhabditida*) son hembras partenogenéticas. Sus huevos, una vez en el medio, dan lugar a la formación de generaciones de adultos de vida libre y larvas 3 infectantes. Estas pueden también provenir de esas generaciones de vida libre. Las L3 de *Strongyloides* spp., infectan atravesando la piel o la mucosa oral de los animales, con lo que las infecciones suelen ser muy tempranas. Luego de una migración traqueal alcanzan el intestino delgado y en pocos días cumplen totalmente el período prepatente iniciando la oviposición.

El resto de los nematodos mencionados pertenecen al orden *Strongylida* con un patrón de ciclo evolutivo similar, en que los huevos liberados con la materia fecal evolucionan en el medio ambiente (generalmente en el interior de la masa de heces) eclosionando una L1. Esta se alimenta en el medio fecal, crece y muda dos veces. La larva 3 surgida de esa segunda muda retiene la cutícula de la L2, lo que le da gran resistencia a las condiciones ambientales (como excepción, *Nematodirus* spp. alcanza el estado L3 dentro del huevo y luego eclosiona conservando su doble cutícula) Este proceso dura entre poco más de una y seis semanas, según la temperatura, pudiendo dete-

nerse cuando las temperaturas son inferiores al umbral de cada especie, o retomarse si las condiciones no han sido letales. Las L1 y 2 son las más susceptibles. La L3 es la infectante y su supervivencia y capacidad de dispersión es clave en el proceso de alcanzar al siguiente hospedador. Pueden sobrevivir varios meses y en condiciones ideales, hasta un año o más. Una vez ingeridas las L3 deben fijarse en su órgano blanco, luego de lo cual vuelven a mudar. En su estado de L4 son histotróficas y, eventualmente, pasan un período en hipobiosis que prolonga a veces por varios meses. El tiempo de prepatencia normalmente es de 3 a 4 semanas en *Trichostrongylidae* y de 6 a 8 en *Strongylidae* para alcanzar el estado adulto en la luz del estómago o intestino.

El daño que producen los parásitos:

Las lesiones en el estómago producidas por *Ostertagia* spp., *Teladorsagia circumcincta*, y *Trichostrongylus axei*, alteran la funcionalidad de las glándulas. Esto disminuye la producción de ácido clorhídrico, elevando el pH gástrico e impidiendo la activación del pepsinógeno, con la consiguiente falta de digestión proteica. La infiltración e inflamación de la mucosa altera la continuidad de las uniones desmosómicas entre células epiteliales con el consiguiente pasaje de proteínas hacia la luz de la víscera y eventualmente de pepsinógeno al plasma. Luego, la diarrea se debe al pasaje de quimo indigesto al intestino, y la hipoproteïnemia a la pérdida osmótica y a la falta de digestión péptica. *Trichostrongylus axei*, cuyos adultos introducen su extremidad anterior en la lámina propia y en distinto grado las formas juveniles de éstos y de *Haemonchus* spp., producen el mismo cuadro dominado por la reacción del hospedador (6).

Haemonchus contortus, tiene una acción parasitaria expoliatriz hematófaga, el signo característico es la anemia. Como es muy elevado su potencial biótico suelen alcanzarse rápidamente altas cargas parasitarias por esta razón el cuadro de anemia y muerte de los animales se presenta también muy rápido (en esos brotes son comunes niveles de hematocrito de 15 %). Cuando los picos de infección coinciden con la parición, esos cuadros se presentan también en animales adultos, y si la parición coincide con el final de un período de hipobiosis, pueden registrarse cargas elevadas en las hembras paridas.

Cooperia spp. y *Nematodirus* spp., producen lesiones superficiales en la mucosa intestinal las que revisten gravedad sólo en infecciones importantes. Las infecciones intestinales por *Nematodirus* spp. son frecuentes en corderos y difícilmente

alcanzan cargas elevadas. De los huevos que sobreviven cómodamente inviernos fríos, eclosionan larvas en primavera que infectan a animales jóvenes en los que rápidamente inducen inmunidad que, de alguna forma, limita una larga sucesión de reinfecciones. La estacionalidad es relativamente menos marcada en zonas cálidas pero su abundancia es siempre baja. Las especies de *Cooperia* no alcanzan en nuestro medio cargas elevadas y varían según la cohabitación de potreros con terneros y la existencia de infecciones cruzadas. *Bunostomum* sp. es un parásito de gran patogenicidad por su acción expoliatriz y efecto traumático. No es frecuente hallar altas cargas.

Las especies de *Trichostrongylus* que habitan el intestino delgado, especialmente *T. colubriformis* son más patógenas y los adultos lesionan más profundamente en la mucosa sumando a los efectos de la reacción inflamatoria los de su acción expoliatriz.

Las diarreas en corderos son típicas en la Provincia de Buenos Aires en invierno y se asocian a gastroenteritis causadas principalmente por *Ostertagia* spp., *Teladorsagia* spp., *Trichostrongylus* spp. y *Cooperia* spp. Las "cascarrias" que se observan a fines de invierno se asocian a este tipo de infecciones gástricas o intestinales.

Finalmente, en el intestino grueso suelen hallarse cargas de varios cientos de *Trichuris ovis*, *Oesophagostomum* spp. cuya marcada patogenicidad las hace relativamente graves. La reacción de hipersensibilidad retardada en torno a los sitios de ubicación histotrófica de las larvas de *Oesophagostomum* spp. se traduce en un trastorno clínico sólo con infecciones importantes en las que los adultos también afectan la mucosa intestinal y ejercen su acción expoliatriz. Las cargas de *Chabertia ovina* no presentan grandes alteraciones, no porque el parásito no sea potencialmente agresivo sino porque las posibilidades de alcanzar altas cargas están limitadas. Los hallazgos de esta especie en áreas templadas son siempre en escasa cantidad.

Estudios de pérdidas en la región semiárida pampeana (4, 5, 6, 7), arrojaron diferencias de 3 a 4 kg en la ganancia de peso en recría de borregos, agravada por mortandades y otras alteraciones productivas en los picos de parasitismo. Por otro lado Castells y col. (8) demostraron también en el Uruguay pérdidas potenciales por mortandad en recría de hasta el 50 %, de un 23 % en el peso vivo de animales no tratados, más un 29 % en el peso del vellón, además de pérdidas en la calidad de lana.

BASES PARA LA COMPRESIÓN DE LA EPIDEMIOLOGÍA

La dinámica del parasitismo puede representarse por modelos conceptuales de la situación de campo que valoren la presencia, abundancia, distribución espacial (regional o dentro de un determinado nicho) y temporal (estacionalidad) de las principales especies. Estos parámetros están influidos por 4 grupos de factores (9).

1. Dependientes de los parásitos:

Los parásitos de ciclo directo habitan en dos ambientes durante su ciclo vital: el medio externo, donde evolucionan expuestos a condiciones climáticas variables y a los factores de dispersión; y el hospedador, en el que enfrentan la localización de su nicho de ubicación, la respuesta inmune, la competencia entre especies parasitarias y los tratamientos farmacológicos.

Los factores de adaptación son genéticos, predeterminados en cada especie o en cada cepa y de ellos depende el comportamiento individual o poblacional.

Entre esos factores los principales son: potencial biótico, rango de adaptación a factores climáticos, aptitud para la hipobiosis y resistencia a los medicamentos. Los tres primeros se analizarán seguidamente, dedicándose a la resistencia a los medicamentos un espacio más adelante.

Potencial biótico

Se denomina potencial biótico al potencial de multiplicación de una especie en función del tiempo. Su expresión matemática es una relación entre el tiempo de generación y la fecundidad (el valor de la fecundidad está condicionado al tipo de reproducción, sexual o asexual, la existencia de

hospedadores intermediarios y eventual multiplicación en ellos, etc.). La expresión de este potencial está muy influida por los factores ambientales y del hospedador. En la tabla 1 se muestran tres especies hipotéticas, de igual potencial biótico.

En especies con sexos separados, la probabilidad de nacimiento de hembras modificará estos valores (reducirá a la mitad en cada generación los individuos a multiplicar).

Las variaciones en la duración del período de postura y la supervivencia potencial de las formas infectantes en el medio ambiente, modificará tanto el valor de la fecundidad como el tiempo real de cada generación.

El potencial biótico representa el valor en situación ideal de adaptación al medio ambiente, y se modifica siempre reduciéndose según los ambientes y las circunstancias hasta el límite de la supervivencia de la especie en cada región.

Los que siguen son ejemplos de diferencias en la ovipostura diaria:

<i>Haemonchus</i> spp.	5.000 - 10.000
<i>Ostertagia</i> spp.	200 - 300
<i>Cooperia</i> spp.	100 - 2.000
<i>Trichostrongylus</i> spp.	100 - 200
<i>Nematodirus</i> spp.	< 100

Ejemplos de diferencia entre períodos prepatentes de nematodes gastrointestinales de rumiantes:

<i>Haemonchus placei</i>	26-28 días
<i>Ostertagia ostertagi</i>	18-23 "
<i>Trichostrongylus axei</i>	18-21 "
<i>Cooperia</i> spp.	11-14 "

Tabla 1. Especies hipotéticas de potencial biótico equivalente

Table 1. Biotic potential equivalence of different hypotetic species

Especie	Fecundidad (individuos totales de cada generación o producidos en una unidad de tiempo) -Producción sexual o asexual	Tiempo de generación (período entre el inicio de la vida de una generación y el inicio de la siguiente) días	Potencial biótico número de generaciones y de individuos posibles a los 40 días
a	100.000.000	40	1 generación: (100.000.000 ¹) (10 ⁸ individuos)
b	10	5	8 generaciones (10 ⁸) (10 ⁸ individuos)
c	10.000	10	4 generaciones (10.000 ⁴) (10 ⁸ individuos)

<i>Nematodirus helvetianus</i>	21-26 días
<i>Bunostomum phlebotomum</i>	52-56 "
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	35-41 "
<i>Strongyloides papillosus</i>	9 "

Rango de adaptación a condiciones ambientales:

Las diferentes temperaturas umbrales para iniciar o detener el desarrollo de las formas de vida libre o limitar su supervivencia, la humedad relativa del ambiente (HRA), y la cantidad de horas con temperatura adecuada, condicionan la distribución regional y la tendencia estacional del parasitismo por cada especie. Si bien *Haemonchus contortus* tiene un gran potencial biótico ve limitado su desarrollo con menos de 11 °C de temperatura media, y la sobrevivencia de las larvas se compromete severamente por temperaturas cercanas a los 0 °C. *Ostertagia*, y más aún *Nematodirus* (que evoluciona hasta L3 dentro del huevo) pueden evolucionar con temperaturas de apenas 6 °C, y sobrevivir cerca de los 0°C. A su vez las L3 de estas especies están menos adaptadas para soportar períodos calurosos prolongados especialmente si la HRA es baja (< 60 %). En general las vainas de las larvas 3 de los trichostrongilidos y los huevos (en *Trichuris-Toxocara*) protegen a las formas infectantes, pero la resistencia es diferente entre especies. *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Haemonchus* spp. y *Bunostomum* spp., tienden a desarrollarse y sobrevivir mejor en climas cálidos lo que les da mayor oportunidad y explica su distribución abundante en el Noreste del país, su estacionalidad en áreas templadas y su inexistencia en la Patagonia.

Entre los factores de dispersión desde la bosta hacia el pasto, con el que serán ingeridas por sus hospedadores, la lluvia es el más importante, (también el pisoteo, especialmente en sistemas de pastoreo intensivo) y, en algunas áreas, el riego. Una vez fuera del refugio que representa la bosta, las larvas están mucho más expuestas a la desecación.

Hipobiosis:

La hipobiosis en el estado de L4, dentro de la mucosa del tracto gastrointestinal, es determinada genéticamente y su presentación está condicionada por factores ambientales soportados fuera del hospedador (10). En la zona templada de la Argentina, y Uruguay con veranos calurosos y relativamente secos, la inhibición se produce durante la primavera-verano en el caso de *Ostertagia* spp. (11, 12) o en invierno para *Haemonchus contortus*, menos resistente a las condiciones frías

(13, 14). La posibilidad de atravesar períodos prolongados como larvas hipobióticas determina que sobrevivan a períodos desfavorables desde el punto de vista climático, y la reactivación masiva puede asociarse a trastornos clínicos severos, incluso en ovejas adultas cuando la desinhibición coincide con el parto en ovejas. Es muy importante el impacto sobre la infección temprana de los corderos que tienen estas poblaciones de helmintos adultos en las madres.

2. Dependientes del ambiente:

Condicionan la mayor o menor abundancia de parásitos en los sistemas. Se expresan en la variación de los períodos de incubación de huevos, tasas de eclosión y sobrevivencia de los estadios de vida libre, y aún en los niveles y época de hipobiosis de las L4 en los tejidos de hospedadores. El ambiente permite o no la instalación de poblaciones de diferente aptitud en distintas regiones, y condiciona su estacionalidad, además limita el potencial biótico con lo que determina diferentes niveles de riesgo para las poblaciones de hospedadores. Gordon en Australia y Levine en EE. UU. (21), entre otros, han contribuido a la comprensión de las relaciones del clima con la epidemiología. Mediante los bioclimatogramas han podido definir épocas de riesgo de enfermedad en función de las condiciones generales aptas para el desarrollo y traslación de formas infectantes en el suelo, determinando condiciones regionales y estacionales que explican y predicen la tendencia al establecimiento y abundancia de diferentes especies.

Los bioclimatogramas se construyen en un diagrama cartesiano donde las abscisas indican las precipitaciones mensuales y las ordenadas las temperaturas medias de una región dada. Se indican los puntos de ocurrencia de ambas variables para cada mes del año y se señalan los valores umbrales para el desarrollo de la fase exógena de las especies a analizar, considerando 50 mm de precipitaciones mensuales como suficientes para iniciar la dispersión de las larvas. Los meses encerrados entre los umbrales de ambas variables son epidemiológicamente aptos y tanto más cuanto más hacia la derecha y arriba del diagrama se encuentren. No obstante, sobre las variables afectadas regularmente por el ambiente influyen otras dependientes de las condiciones del clima en cada año, del suelo, la vegetación y, especialmente de situaciones de manejo, por lo que en el diagnóstico del riesgo dentro de cada explotación se requiere el monitoreo particular de cada lugar.

3. Dependientes de los hospedadores:

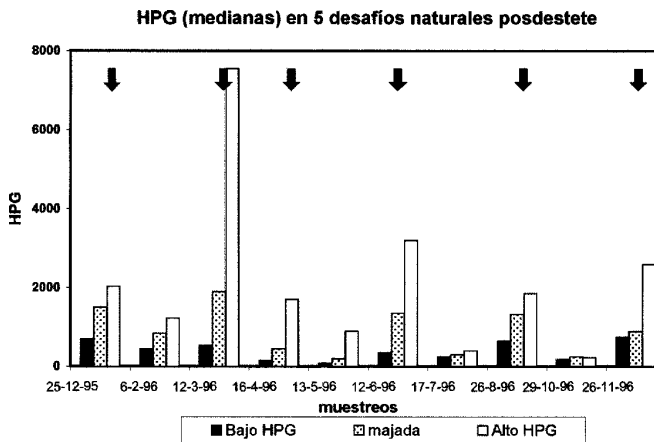
Un hecho relevante es que la mayor parte de los parásitos se encuentran en estado natural, en un número reducido de hospedadores más susceptibles. Por lo tanto éstos condicionan por su abundancia y nivel de susceptibilidad el desarrollo de las poblaciones de aquellos. El condicionamiento se expresa en la tasa de establecimiento de formas infectantes, sobrevivencia y prolificidad de los parásitos.

El primer ámbito de variabilidad en la susceptibilidad de los hospedadores es filogenético. La adaptación mutua a lo largo de la evolución, que ha hecho que las especies parásitas desarrollen "ajustes" con variables bioquímicas, anatómicas y fisiológicas de sus hospedadores. El segundo plano es de carácter inmunológico: los parásitos exponen antígenos estructurales o somáticos y funcionales en los distintos estados de su evolución ontogénica, que inician, reacciones inmunes en el hospedador. Las más caracterizadas son: a) la eliminación de L3 que intentan establecerse, por medio de reacciones de hipersensibilidad, gatillada por reacciones específicas mediadas por IgE que se fijan a los mastocitos y desencadenan la serie de eventos del fenómeno alérgico; b) la eliminación de estados parasitarios en diferente nivel de desarrollo y adultos, gatillado por mecanismos similares o de citotoxicidad mediada por diferentes células efectoras (linfocitos, eosinófilos, etc.); c) reacciones de hipersensibilidad retardada o producción de complejos de anticuerpos con antígenos funcionales parasitarios en áreas expuestas de los parásitos que neutralicen o condicionen el desarrollo, las migraciones, la cópula o hasta el ritmo de oviposición de las hembras. La capacidad de respuesta inmune evoluciona con la edad y las experiencias de parasitismo y los individuos adultos alcanzan un elevado nivel de resistencia.

Los niveles de susceptibilidad individual varían genéticamente entre individuos de igual categoría y a los fines prácticos se estudian desde dos puntos de vista: la tolerancia, que es la capacidad de algunos hospedadores de albergar gran cantidad de parásitos sin sufrir sus efectos en la producción o la salud, y de resistencia que es la aptitud de algunos hospedadores para interrumpir total o parcialmente el ciclo y la reproducción de las poblaciones parásitas a que es expuesto (15). Estos dos factores incrementan aún más la heterogeneidad de la distribución de parásitos dentro de la majada (16). En la figura 1 se expresan diferentes niveles de resistencia de animales expuestos desde el destete a igual nivel de infección con

trichostrongilidos y observados por su eliminación de huevos (HPG) en varios períodos de desafío natural (17).

Figura 1. Diferentes niveles de resistencia en animales de recría de raza Polward tomados al azar
Figure 1. Different levels of resistance in Polward animals in randomized samples.



La correlación entre los recuentos de huevos en la materia fecal y la carga de nematodos adultos en animales de necropsia de líneas de ovinos resistentes y no resistentes es elevada. Se ha demostrado una mayor infiltración de eosinófilos en la mucosa gastrointestinal en animales resistentes, lo que junto con otras evidencias inmunológicas fundamentan esa mejor reacción. El pastoreo separado de poblaciones más resistentes determina una menor contaminación y menor desafío ulterior que en el equivalente de poblaciones susceptibles. La heredabilidad de la resistencia, estimada en distintos trabajos está entre 0,26 y 0,30. En ambos subgrupos pueden existir individuos que soporten las cargas parasitarias con buenos niveles de producción en comparación con otros que se resientan, la selección por tolerancia ha sido muy discutida por ser aparentemente de menor heredabilidad que la de la resistencia y más difícil de evaluar. Uno de los primeros parámetros estudiados en el fenotipo de estos animales fue la capacidad de mantener elevado hematocrito frente a infecciones por *H. contortus*. Se encontró en diferentes trabajos una heredabilidad extremadamente baja de este carácter (0,09). En cambio cuando se evaluó mediante un test de progenie a campo, en el cual las crías fueron tratadas sólo por evolución de parámetros clínicos, los indicadores como edad al primer tratamiento, frecuencia o número de tratamientos en un tiempo dado; y productivos como ganancia de peso hasta el destete o en un período dado, ha resultado de gran expectativa y justifica el man-

tenimiento de programas de investigación en Nueva Zelanda (18). No existe correlación entre la selección por resistencia y selección realizada por resiliencia o tolerancia, por lo que programas simultáneos o secuenciados de selección no deberían interferir entre sí ni con la evolución de la selección por parámetros productivos.

Los animales adultos son más resistentes que los jóvenes pero ese estado de mayor resistencia puede variar en diferentes estados reproductivos. El "alza de la lactancia" en la eliminación de huevos en ovejas desde proximidades del parto y hasta el destete, ha sido observado y descrito por gran cantidad de autores y es de cotidiano conocimiento de los productores. Este aumento en la susceptibilidad del lanar tiene que ver con los cambios inmunológicos (especialmente en la actividad mitótica de los linfocitos) influidos por las concentraciones elevadas de glucocorticoides y de prolactina). En la tabla 2 se presentan las diferencias en los valores de HPG de ovejas paridas y secas igualmente expuestas a infección natural en la Provincia de Corrientes.

Las diferencias en resistencia genética observada en corderas jóvenes se expresa también en estado adulto frente a la relajación inmune del periparto.

Tabla 2. HPG en ovejas de raza Polward a 15-30 días de paridas y secas, igualmente expuestas a infección natural.

Table 2. Fecal egg count (FEC) in Polward ewes at 15-30 days postpartum and dry, with the same exposition to natural infection.

	hpg ovejas	
	<i>secas</i>	<i>paridas</i>
Mediana	0	1500
Promedio	58	1664
Valores extremos	0-200	150-7950

4. Dependientes del sistema

Las características emergentes de los sistemas no son sólo sumatoria de los factores presentes, sino que resultan de la interacción de los mismos, por lo tanto el manejo y desenvolvimiento de otras variables no estrictamente parasitológicas contribuyen a determinar las tasas de infección y su efecto sobre la producción, los tratamientos antihelmínticos, los cambios de potrero y los niveles de alimentación a que están sometidos los animales (19). La variación en la suscepti-

bilidad de los ovinos expuestos, y el pastoreo simultáneo o alternado con especies no susceptibles, afectan la dinámica y diversidad natural de las poblaciones. Las cargas elevadas en sistemas intensivos generan altas tasas de contaminación aún con niveles iniciales bajos de eliminación de huevos, lo que se traduce en una elevada traslación e infección posterior en los animales.

EPIDEMIOLOGÍA EN DISTINTAS REGIONES.

Un modelo de tendencias en la contaminación de pasturas.

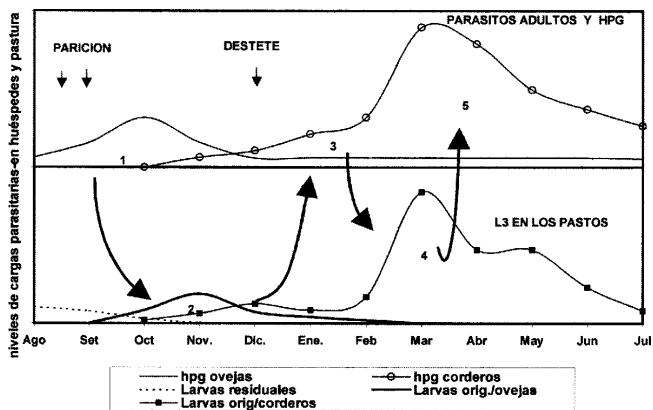
En la figura 2 se describe un modelo de infección mixta predominantemente otoño-invernal de áreas templadas (20) comparable lo que ocurriría, por ejemplo, en nuestra Pampa húmeda con una majada de parición de primavera.

Durante la lactancia la oveja se convierte en una multiplicadora del pie de infección encontrado. Cuando la parición coincide con el período de desinhibición de larvas de *Haemonchus contortus* (primavera) y con abundancia de larvas de otras especies en el pasto, la oveja lactante produce la primera multiplicación que funda la población de la temporada siguiente que encontrará en los corderos al pie y luego del destete los hospedadores susceptibles necesarios. Cuando la parición ocurre en el pico de condiciones favorables al ciclo externo de *Haemonchus contortus* (otoño) la infección en las madres tiende a ser elevada e incluso producir mortandad.

En nuestro medio no han sido agotados los estudios epidemiológicos por lo que el análisis debe basarse (por lo menos por ahora) en información fehaciente obtenida en algunas regiones y en datos más o menos atomizados y observaciones no sistematizadas en otras áreas. Plantearemos a modo de hipótesis las tendencias en la contaminación de las pasturas y las épocas de riesgo para cada región y principales géneros parasitarios y trataremos de confrontarla con la información disponible. Para la obtención de esa información, el trabajo fundacional fue probablemente el relevamiento y consideraciones sobre las parasitosis ovinas de la Patagonia, llevado a cabo por Johnstone y col. (1), aunque definió la problemática de una región cuyo análisis no es objeto del presente. La mayoría de las infecciones son subclínicas pero merecen interés los estudios puntuales en cada región. Encierran algún riesgo epidemiológico las concentraciones de animales en los mallines durante el verano. Estudios posteriores demuestran que los sistemas de explotación

Figura 2. Modelo de infección de pasturas de zonas templadas ocupadas en forma permanente por lanares (adaptado de Mc Ewan 1994).

Figure 2. Pasture-animal infection model, in permanent sheep occupation systems of temperate areas. (adapted from Mc Ewan 1994)



Al final de la preñez y durante la lactancia se produce el "alza de lactancia" (1), lo que genera un aumento en la oferta de larvas en poco tiempo (2). Esa población renovada es la fuente principal de infección para los corderos, hacia fines de la lactancia y especialmente a partir del destete si se produce en el mismo ambiente(3). Los corderos jóvenes son altamente susceptibles y los parásitos tienen una elevada producción de huevos que genera una mayor contaminación de los pastos (4) la que, dependiendo de las condiciones ambientales y del potencial biótico de las especies dominantes, producen en una o dos generaciones una elevada oferta de larvas infectantes que es responsable de las mayores cargas parasitarias de los animales (5).

"Peripartum race" is coming on (1) later in pregnancy and in milking time and increase L3 disponibility in short time (2). This renovated larva population is source of lamb infection, later in lactation and after weaning (3). Young lambs are highly susceptible and the egg output is increasing (4). This, develops a high L3 disponibility after one or two generations, in depending on environment conditions and predominant species and led to major parasitic burdens in animals (5).

intensivos, o bajo riego, pueden aumentar los niveles de riesgo.

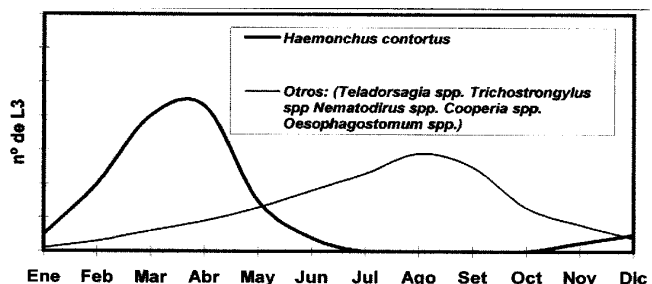
Rosa y col. (21), estudiaron el parasitismo gastrointestinal (PGI) en el Sudeste de la provincia de Buenos Aires, aunque no ofrecieron precisiones señalaron que entre los meses entre junio y octubre el predominio es de *Trichostrongylus* spp., *Nematodirus* spp., y *Cooperia* spp., siendo regular la abundancia de *Ostertagia* spp. en todo el año.

Nuestra experiencia de estudios no sistemáticos coloca a *Haemonchus contortus* como la especie prevalente desde mediados de verano y hasta bien entrado el otoño, y como responsable de los mayores trastornos. Las especies de strongilidos de menor potencial biótico y mayor

adaptación invernal tienden a acumularse durante el otoño e invierno produciendo picos a fines de invierno en los que tienden a presentarse *Trichostrongylus* spp, *Cooperia* spp., *Nematodirus* spp. y en menor medida *Ostertagia* spp. y *Teladorsagia* spp.

Figura 3: Tendencia de la distribución de la carga parasitaria de larvas en las pasturas para la Pampa Húmeda

Figure 3: Parasitic burden distribution in Humid Pampa pastures



Haemonchus contortus adquiere su mayor proporción desde fin de verano y durante el otoño. Afecta a borregos de dientes de leche, y ovejas, especialmente cuando la parición es de abril-mayo. Con el correr de los meses, hacia fines de invierno y principios de primavera predominan en la composición de las cargas los géneros *Trichostrongylus*, *Nematodirus* y *Cooperia*, en mucho menor medida *Teladorsagia circumcincta* y *Ostertagia* spp. que constituyen fuente de infección de ovejas adultas de parición de primavera. Este patrón tiende a modificarse o atenuarse en explotaciones mixtas con menor relación ovinos/bovinos.

Haemonchus contortus frequency is highest later in summer and early autumn, affecting after-weaning lambs and pregnant sheep (autumn parturition). In later winter and early spring *Trichostrongylus* spp, *Nematodirus* spp and *Cooperia* spp. are dominants and low number of over *Teladorsagia circumcincta* and *Ostertagia* spp. are present. They are source of infection for adults sheep of spring parturition. Intensity of values in this pattern may change in farms with smaller ovine/bovine ratio.

(Figura 3).

Balbi (14) (en INTA Castelar) demostró que la evolución exógena de los huevos y larvas de *Haemonchus contortus* se interrumpe durante el invierno siendo también mínima la supervivencia de larvas y traslación en julio y agosto en la Provincia de Buenos Aires. En el Uruguay, Nari y col. (22), realizaron un estudio sobre dinámica del PGI. Ellos encontraron un pico de parasitismo por *Haemonchus contortus* en borregos y en ovejas entre los meses de febrero y mayo. En borregos «tracers» de 6 a 12 meses, describen sin embargo un pico entre junio y septiembre, demostrando para ese período la mayor tendencia a hipobiosis de este género. Aunque estos datos no son de la Argentina orientan el entendimiento de lo que ocurre en esa latitud.

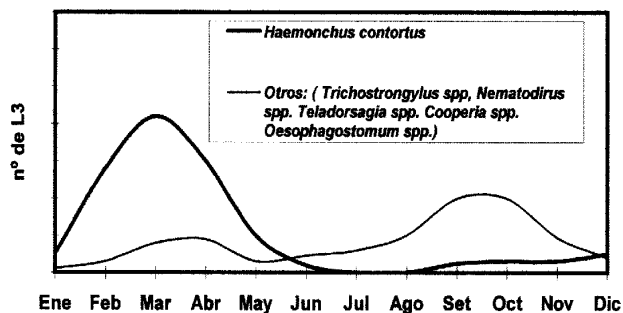
Los primeros trabajos sistemáticos se rea-

lizaron en La Pampa. En un conjunto de estudios detallados de seguimiento en ovejas y en cordeiros, describió la dinámica del PGI, en la Región Semiárida Pampeana (4, 5). De la necropsia de borregos *tracers* y naturalmente infectados surge a lo largo del año el predominio de *Haemonchus contortus* ente enero y junio. Más lenta es la acumulación de otros géneros (*Trichostrongylus*, *Nematodirus*), que hacen pico entre los meses de agosto y setiembre. En el caso de este último probablemente como consecuencia de la sobrevivencia de larvas durante el invierno, fenómeno este que también pudo ser observado en el Uruguay en corderos que pastorearon pasturas contaminadas por borregos durante el otoño (24). En La Pampa las lluvias son estacionales, secos los inviernos y primavera temprana, además desde fines de otoño no se dan las temperaturas suficientes para la evolución y mantenimiento de los estadios ambientales de *H. contortus*. En ovejas (7) se repite el mismo patrón con un pico a fines de primavera (asociado al parto). Las especies de *Ostertagia* no son prevalentes en las infecciones de esa región. El modelo de tendencias de disponibilidad de larvas puede resumirse gráficamente en la figura 4.

En la provincia de Corrientes Rosa y col. (25), indican una tendencia al aumento de la eliminación de huevos por parte de corderos entre noviem-

Figura 4. Tendencia de la distribución de la carga parasitaria de larvas en las pasturas para la región Semiárida.

Figure 4. Parasitic burden distribution in Humid Pampa pastures



Definida con mayor precisión, está muy influenciada por las lluvias estacionales de primavera a otoño, condicionando la evolución de *haemonchosis*. Durante la primavera las cargas predominantes son de *Trichostrongylus*, *Nematodirus* y en menor medida *Teladorsagia circumcincta*. Los inviernos secos separan marcadamente estos dos períodos y grupos de parásitos. Las ovejas de parición de primavera son fuente de infección de pasturas.

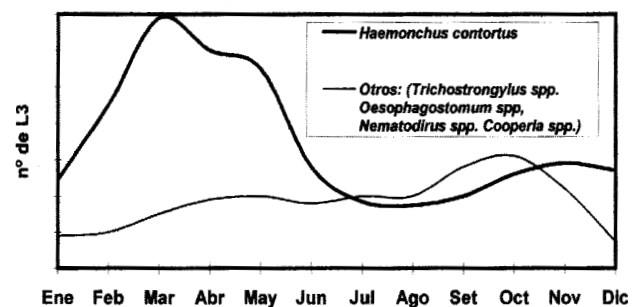
In this area *Haemonchus contortus* burdens are conditioned by seasonality of spring and autumnal rainfall. In spring, *Trichostrongylus* spp. and *Nematodirus* spp. are predominant, and *Teladorsagia* spp. is in low level. Dry winters divide this two periods and parasites groups. Spring lambing sheep are source of spring pasture infections.

bre y junio con predominio de *Haemonchus* spp., Desde fines de invierno la tendencia se revierte y para primavera se determina mayor prevalencia de *Trichostrongylus* spp.

Trabajos inéditos en Corrientes (Vasquez, com. pers) y nuestra experiencia en seguimiento de majadas de la región mesopotámica permiten detectar que la estacionalidad es menos marcada que en la Pampa Húmeda a medida que nos acercamos desde el sur hacia el centro de la provincia de Corrientes. Las temperaturas medias de invierno no son suficientemente frías como para impedir la sobrevida de *Haemonchus contortus*, que está presente todo el año en los recuentos de huevos y en las necropsias de animales de todas las edades, aunque manteniendo el predominio de fines de verano y principios de otoño. También las especies de *Trichostrongylus*, si bien resultan de lenta acumulación hasta fines de invierno y primavera, se encuentran todo el año y con menor proporción en verano. Durante la primavera aparecen otros géneros como: *Oesophagostomum*, *Nematodirus* y *Cooperia* (especialmente en corde-

Figura 5. Tendencia de la distribución de la carga parasitaria de larvas en las pasturas para el norte de la Mesopotamia.

Figure 5. Parasitic burden distribution in Humid Mesopotamic pastures



En el Nordeste, las temperaturas son más elevadas y el régimen pluviométrico mayor que en la región pampeana, especialmente desde mediados de verano y en otoño. Con ello los niveles potenciales de contaminación por *Haemonchus contortus* en las pasturas son máximos, y no puede esperarse una disminución importante ni aún en invierno. Entre las especies de menor potencial biótico, el *Trichostrongylus colubriformis* tiene mayor presencia hacia fines de invierno y durante la primavera. En general todo el año pueden encontrarse infecciones clínicamente importantes, mixtas o con predominio de *Haemonchus contortus*.

Temperatures and rainfall are higher in North East region than pampean area. Weather is humid specially in summer and autumn. *Haemonchus contortus* contamination in this two seasons is maximum, and it's reduction is not important not even in winter. *Trichostrongylus colubriformis* is important later in winter and during spring, and less abundant are *Nematodirus* spp. *Oesophagostomum* spp and *Cooperia* spp. Any time in the year, clinically high burdens with *Haemonchus contortus* predominance may occur.

ros). Resulta necesario contar con trabajos completos en la región mesopotámica y en la provincia de Buenos Aires, que resuman la dinámica del PGI, en función de mejorar los programas de control (Figura 5).

El elevado nivel de infección, la estacionalidad menos marcada en la distribución de la oferta de larvas y la mayor relación ovinos/bovinos en establecimientos correntinos, dificulta la comprensión del fenómeno por parte de los productores, que realizan estos tratamientos sin contemplar diferencias en la composición de la población de parásitos en cada época, en el espectro de las drogas utilizadas, o en la susceptibilidad de las diferentes categorías de hospedadores (hasta 6 y 7 tomas anuales en algunos casos).

RESISTENCIA A ANTIHELMÍNTICOS

Desde 1957, cuando se comunicó por primera vez la resistencia a la Fenotiazina en EE.UU., y luego en 1964 al Thiabendazole en *Haemonchus contortus*, las citas se han reproducido en todo el mundo (26). El manejo irracional de medicamentos (subdosificación por fallas en el instrumental, la estimación de peso de los animales o mala calidad de los productos), han conducido a la selección de cepas con resistencia a antihelmínticos (RA) como en otras partes del mundo. En nuestro medio se comunicó por primera vez la sospecha de un caso en 1988 (27), haciéndose la primera comprobación en 1993 (28), ambos casos en la Provincia de Buenos Aires. La aparición e intensidad de este fenómeno está en relación directa con la intensidad de los tratamientos. La RA es un factor limitante de la producción en los países donde la cría del lanar está más desarrollada. A nivel nacional en más del 60 % de las majadas se presenta resistencia a algún grupo químico (29, 30).

En la Mesopotamia (31) comprobaron que el 90 % de las majadas presenta resistencia a los bencimidazoles, en la mitad de los casos con eficacias inferiores al 50 %. El 73 % de los establecimientos presentan resistencia a dos o más grupos químicos. Los parásitos más frecuentemente involucradas fueron *Trichostrongylus* spp. y *Haemonchus* spp.

En Uruguay, donde los estudios de resistencia tienen más antigüedad el 92,5 % de los establecimientos presentan algún nivel de resistencia a alguno de los grupos. Se ha comprobado resistencia de *Haemonchus contortus* a todos los grupos de drogas de amplio espectro y, hasta 1996, se había informado resistencia a ivermectinas en

Trichostrongylus y *Ostertagia* (32).

El problema también es evidente en el sur de Brasil (33) donde la subdosificación de drogas durante muchos años tuvo origen, en parte, en las propias indicaciones de los laboratorios productores de medicamentos de aplicar por debajo de los niveles recomendados internacionalmente. En Paraguay la alta prevalencia de *Haemonchus contortus* durante casi todo el año genera alta frecuencia de tratamientos (34), lo que ha contribuido a seleccionar cepas resistentes a todos los grupos de amplio espectro.

Naturaleza de la resistencia a antihelmínticos

Los antihelmínticos se distribuyen en cinco grupos según sus mecanismos de acción: el grupo I, lo componen los bencimidazoles y probencimidazoles, incorporados al mercado en los años '60. Su mecanismo de acción se relaciona con la disrupción de los microtúbulos y husos mitóticos, fijándose a la tubulina. Su efectividad requiere de un prolongado tiempo de acción hasta que esa interferencia termine por matar al parásito, y eso es clave para los diferentes estadios de los helmintos particularmente para formas inhibidas. Se presentan para aplicación oral, intraruminal o subcutánea, tienen efectividad contra nematodos adultos y en dosis mayores contra larvas inhibidas.

El grupo II, reúne al Morantel, Pirantel y el Levamisol (cuyo efecto es limitado frente a formas inhibidas de *Ostertagia* spp.). Si bien no es claro el mecanismo exacto de acción se colocan juntos debido a la existencia de resistencia cruzada entre ellos. Estas drogas producen una parálisis espástica de los helmintos que no los mata en forma inmediata, pero facilita su expulsión.

El grupo III las Avermectinas y Milbemicinas (Moxidectin), Doramectina y Epiromectina. Varios mecanismos de acción se han descrito para estas drogas en relación a la interacción con receptores de los canales de cloro y con algunos transportadores de membrana. Estas drogas matan lentamente a los nematodos y no poseen poder ovicida.

El grupo IV está conformado por los organofosforados como el Triclorfón y el Naftalofós (cuyas dosis terapéuticas suelen tener efectividad limitada, y resultan tóxicos en forma aguda y crónica a veces en niveles de dosis cercanos a los indicados).

En el grupo V se encuentran, entre otros,

las Salicilanilidas entre las que son conocidas el Closantel y el Rafoxanide. El espectro de Closantel es limitado a nematodos hematófagos, pero tiene la propiedad de proteger contra la infección de *Haemonchus* spp. por más de 50 días si se lo usa en dosis elevadas (12 mg/kg peso vivo) ya que se mantiene ligado a proteínas plasmáticas.

Algunos individuos en las poblaciones de parásitos tienen aptitud para evitar que las drogas los maten (esos mecanismos son muy variados y no son igualmente frecuentes en cada especie).

Se ha demostrado la naturaleza genética de la resistencia y se han identificado en algunos casos con precisión las mutaciones del genoma de los helmintos resistentes respecto de los susceptibles a diferentes drogas (35). Por ejemplo, el efecto de los bencimidazoles (BZ) sobre los organismos es la interferencia en la fijación de tubulina en el ensamble de los microtúbulos. El genoma de *H. contortus* tiene un locus específico para el Isotipo 1 de β -tubulina con muchas variantes alélicas en poblaciones susceptibles a los bencimidazoles. El incremento en la frecuencia de uno de esos alelos tiene una fuerte correlación con el aumento en la resistencia de las cepas. Se han identificado cambios en aminoácidos en diferentes posiciones de la estructura de la β -tubulina (36); y se ha comprobado que las mutaciones son similares en la estructura de la β -tubulina de los microtúbulos de otros nematodos y hongos resistentes a bencimidazoles (37).

Si se repiten con frecuencia los tratamientos con el mismo grupo químico sobre la población de parásitos que contenga a esos individuos, en poco tiempo predominará la descendencia de los que han soportado al medicamento, su carácter genético habrá sido seleccionado y multiplicado. Generalmente cuando en una población se desarrolla la resistencia a una droga, la cepa resulta resistente a todo el grupo.

El diagnóstico clínico es evidente cuando el nivel de resistencia a las drogas es grave y la mayoría de los parásitos sobrevive a los tratamientos. Recién entonces el productor percibe la falla y generalmente cambia de grupo químico aunque sea por un tiempo. La repetición del proceso con el nuevo grupo tiende a seleccionar nuevamente individuos resistentes, en este caso al nuevo grupo. Cuando la resistencia es "cruzada" (a dos o más grupos), el problema se complica porque se reducen las alternativas de control. Debe destacarse que la reversión del proceso es muy poco probable

ya que no puede presionarse en forma inversa y una vez establecido el genotipo con elevada frecuencia en la población difícilmente se erradique. Se ha comunicado una reducción en los niveles de resistencia a Levamisol luego de interrumpir los tratamientos, pero en general son controvertidas las comunicaciones en ese sentido y en especial respecto a bencimidazoles no habiendo evidencias experimentales de tal regresión (26).

Si bien para que el proceso de selección de comienzo es necesaria la preexistencia de individuos resistentes, los contactos con dosis menores a las indicadas para cada producto pueden facilitar la selección de individuos portadores de genes relacionados con la resistencia, pero con expresión fenotípica de menor intensidad, contribuyendo a una mayor frecuencia posterior de dichos genes.

Subdosificación:

Surge por fallas en el cálculo del peso de los animales a tratar, defectuoso funcionamiento de los dosificadores y especialmente por fallas en la administración. Los productos inyectables deben aplicarse en áreas libres de lana (cara interna del muslo) ya que suele no penetrar correctamente la piel en individuos con abundante lana. Esto sucede cuando la aplicación la realiza personal no entrenado debidamente.

Con las dosificaciones orales el problema es diferente, la permanencia de las drogas en el tubo digestivo guarda correlación con el mantenimiento de niveles plasmáticos en el tiempo. Se ha demostrado que el nivel de llenado del rumen afecta la velocidad del pasaje de los productos y con ello la disponibilidad.

El ayuno de 12 horas previo a la dosificación oral permite una mayor retención de droga en el rumen y un lento pasaje del contenido ruminal con lo que la disponibilidad y absorción del producto resulta más lenta, y los niveles plasmáticos de concentración son más prolongados, permitiendo una exposición más prolongada de los parásitos (38). Las estimaciones de resistencia realizadas por el test de reducción de recuento de huevos varían si los tratamientos se realizan en condiciones de ayuno previo. Cuando los productos no tienen la concentración adecuada del elemento activo, o cuando la formulación no permite alcanzar correctamente su biodisponibilidad luego de aplicado, también se incurre en sub dosificación.

El comienzo del proceso de selección de pa-

rásitos resistentes en general es el descripto, pero en un campo también pueden ingresar las cepas resistentes: con el ingreso de animales provenientes de otros establecimientos, reproductores de cabaña, compra de núcleos, o liquidaciones de majadas, arrendamientos de pastoreos, etc. (eventos muy frecuentemente implicados en Sud Africa) (Van Wyk J.A. com. pers).

Población en refugio:

Cuando se aplica un tratamiento antiparasitario se afecta con él a la porción de la población que se encuentra en los animales. Según la situación epidemiológica en ese momento, es posible que un número mayor de individuos se encuentre en estado de huevo, o larva en el suelo y no se exponga a la presión del medicamento. Cuando los sistemas de manejo de tratamientos ejercen gran presión, por su frecuencia y por involucrar a todos las categorías de hospedadores, la población en refugio se ve reducida, y el impacto de dicha presión es mayor. Cuando ante la aparición de síntomas en algunos animales, los productores tratan toda la majada es posible que expongan a las drogas de amplio espectro a poblaciones de parásitos cuyo número no afectan la salud o la producción en todos los individuos. Incluso expone a especies que componen la fauna parasitaria pero que no requieren ser eliminadas. En estas especies puede aparecer resistencia sin que se hubiera justificado tratarlas. Existen sistemas estratégicos de control que, a pesar de ser racionales, pueden presionar la selección hacia la resistencia sólo por ser relativamente fijos (ver más adelante).

Un sistema de protección de población en refugio lo constituye el programa "FAMACHA" desarrollado en Sud Africa. Luego de evaluar por medio del entrenamiento de los operadores, la correlación entre el hematocrito y el grado de palidez de las conjuntivas de animales infectados con *Haemonchus* spp. se establecen rutinas de control visual en las cuales se decide la dosificación sólo de los individuos con mayores grados de anemia. Las apreciaciones se realizan frecuentemente (cada 15 días). Si bien supone pérdidas subclínicas y un gran esfuerzo del personal, es una propuesta interesante en áreas con altos niveles de resistencia como las que se encuentran en aquel país y, por ejemplo, en Paraguay resultando aplicable por lo menos en majadas chicas y la rutina pueden ejercerla campesinos sólo con el entrenamiento adecuado (39). Este método de control, que en realidad podría constituirse en una rutina para la selección de individuos tolerantes en áreas de predominio de *Haemonchus*, tiende a rea-

lizar sólo tratamientos selectivos a mantener elevada la población en refugio de los antiparasitarios.

Diagnóstico de estatus de resistencia en cada establecimiento:

La situación general sobre resistencia en cada región ofrece pocas variantes mientras las condiciones de manejo sean comparables entre establecimientos. Hoy en día las majadas deben someterse a tratamientos que sean efectivos, no sólo para evitar el efecto de los parásitos, sino para no complicar la disponibilidad de drogas eficaces.

Si bien para establecer con precisión los niveles de resistencia pueden realizarse pruebas que incluyan la necropsia de animales tratados, se han utilizado los ensayos de reducción del recuento de huevos en materia fecal de animales tratados con mucho éxito en encuestas regionales y en el monitoreo de establecimientos bajo control. Uno de ellos es el modelo de Presidente, descripto por Nari (40) y de aceptación generalizada, según el cual el día "0" se tratan 10-15 animales con cada droga o dosis a evaluar, tomándose muestras individuales de materia fecal de cada grupo y de un grupo control, y realizándose el recuento de huevos por gramo de materia fecal, y coprocultivo para estimar la composición genérica de la carga en cada grupo. El día 10 se vuelven a muestrear todos los individuos tratados y los del grupo control, para realizar nuevamente el estudio de huevos por gramo, coprocultivo. La estimación de la eficacia expresada como porcentaje de reducción del recuento de huevos (RRH%), se realiza con la fórmula:

$$RRH\% = \{1 - (T_2 / C_2) \times (C_1 / T_1)\} \times 100$$

donde C y T son las medias geométricas de los HPG de los grupos "control" y "tratados" respectivamente, representando los números 1 y 2 la correspondencia a los días "0" y "10" del ensayo.

Cuando el valor medio de reducción es menor al 95 %, o cuando el extremo inferior del intervalo de confianza (error $\mu < 5$ %) está por debajo del 90 % puede fundarse la sospecha de resistencia para ese grupo químico y dosis, y para ese género parasitario.

Con esta metodología se han realizado los relevamientos y elaborado estrategias de manejo en todo el mundo. Con un método de cálculo aún más simple (comparación de medias aritméticas) se evaluó la situación en el Cono Sur (Argentina, Uruguay, Brasil y Paraguay) utilizando un progra-

ma denominado RESO (anon.) elaborado por CSIRO en Australia.

En la zona mesopotámica de Argentina donde la frecuencia de resistencia más elevada se han obtenido los siguientes niveles de resistencia a los principales grupos en uso (bencimidazoles, Levamisol, Ivermectina) mediante el test de reducción del recuento de huevos (31) (Figuras 6, 7, 8 y 9).

Figura 6: Niveles de eficacia de Bencimidazoles en 22 establecimientos de la Mesopotamia -promedios e intervalo de confianza ($p < 0,05$).

Figure 6. Mean Bencimidazol efficacy in 22 farms

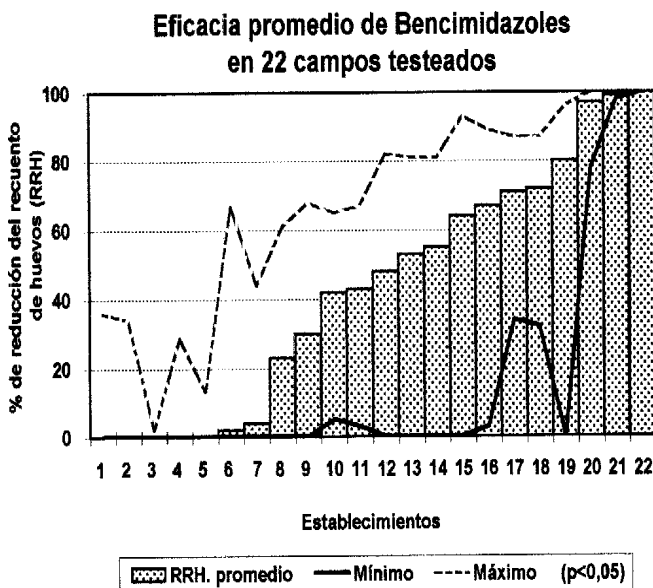


Figura 7. Niveles de eficacia de Levamisol en 22 establecimientos de la Mesopotamia -promedios e intervalo de confianza ($p < 0,05$).

Figure 7. Mean efficacy of Levamisol in 22 farms

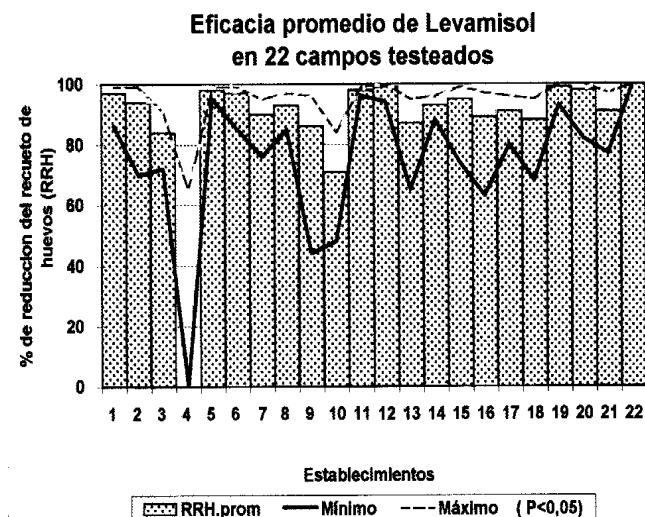
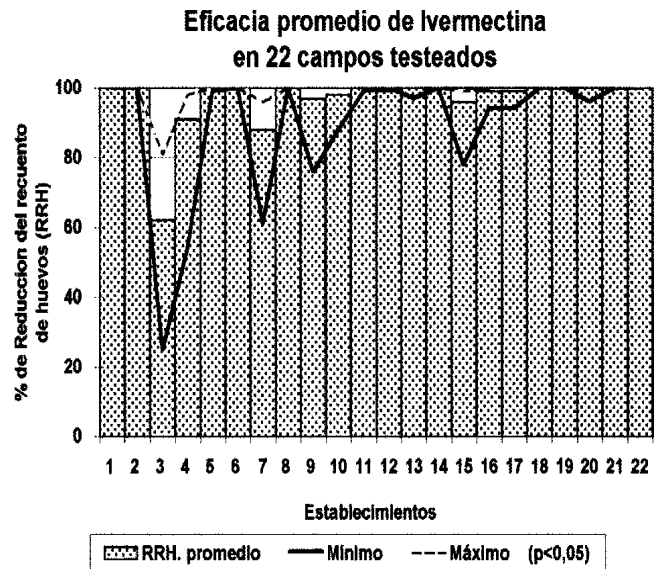


Figura 8. Niveles de eficacia de Ivermectina en 22 establecimientos de la Mesopotamia -promedios e intervalo de confianza ($p < 0,05$).

Figure 8. Mean efficacy of Ivermectina in 22 farms



En cada gráfico las barras representan el valor medio de la eficacia de cada grupo químico y las líneas los valores extremos del intervalo de confianza. In each graph the bars represent the half value of the effectiveness of each chemical group and the lines the extreme values of the interval of trust.

Rotación de grupos químicos:

El uso continuo de un mismo grupo químico facilita la selección y aumento de frecuencia de helmintos resistentes a ese grupo, tanto más si los tratamientos son rutinarios. Por ello se han propuesto distintos esquemas de rotación para dar la menor oportunidad de fijación de los alelos implicados en la resistencia.

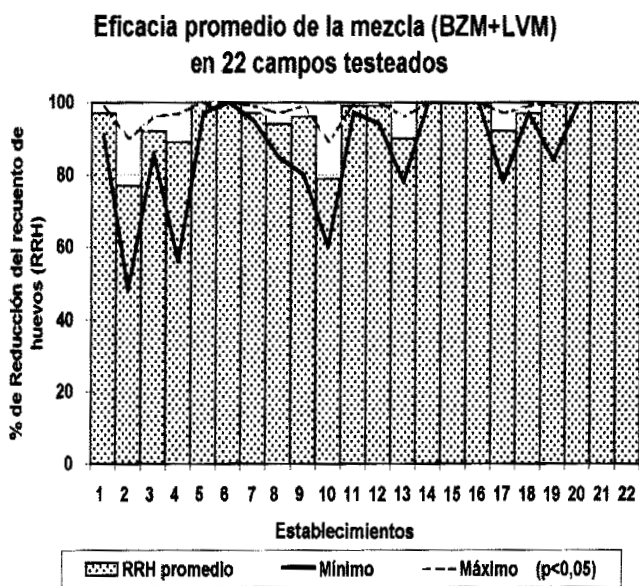
a) Rotación anual de las drogas de amplio espectro que en un test de reducción de recuento de huevos demostraran ser eficaces. En este modelo se supone que, dada la supervivencia potencial, prácticamente de un año de una generación de estrongilidos, es posible utilizar durante un año cada grupo químico sin ejercer una presión de selección mayor. A estas posiciones se ha opuesto que es posible que en un lapso menor se pueda exponer a la droga más de una generación de hijos de sobrevivientes a cada tratamiento.

b) Utilización simultánea de dos grupos químicos en la oportunidad de cada tratamiento. En los últimos años se ha promovido este sistema, según el cual la posibilidad de tener individuos sobrevivientes a un tratamiento es mínima dado que es muy poco probable que un eventual resistente a un grupo logre sobrevivir a una exposi-

ción simultánea a otro grupo químico. Esa expectativa es relativa cuando se enfrentan poblaciones donde la resistencia está ya establecida a cada una de las drogas. En la figura 9 puede observarse el cuadro de situación de Bencimidazoles y de Levamisol cuando se aplicaron en forma simultánea en los mismos establecimientos descriptos con anterioridad (31).

Figura 9. Niveles de eficacia de Bencimidazoles y Levamisol utilizados en forma simultánea, en 22 establecimientos de la Mesopotamia -promedios e intervalo de confianza ($p < 0,05$)

Figure 9. Mean efficacy of mix (BZM+LVM) in 22 farms



En estos casos era conocida la resistencia a cada uno de los grupos químicos y el cuadro de situación cambia sólo parcialmente. En la actualidad la propuesta de manejo simultáneo, se orienta al uso de drogas de conocida eficacia al iniciarse el programa. Modelos de simulación desarrollados en Australia (42) hacen suponer que la utilización simultánea de dos grupos químicos evoluciona más lentamente hacia la resistencia a cada uno de ellos que si se rotaran anualmente. No obstante la estabilidad de estos sistemas fijos de administración de medicamentos combinados no tiene aún validación experimental o de campo por lo que requeriría monitoreo permanente.

OTROS RECURSOS DE MANEJO

Programas estratégicos de dosificación

Durante muchos años en Australia y en otros lugares se promovieron sistemas de desparasitaciones de gran presión de tratamiento en el

inicio de cada temporada tratando de impedir la fundación de poblaciones parasitarias de tendencia estacional (especialmente *Haemonchus contortus*). Estos programas "Wormkill" o "Drenchplan" impuestos por el CSIRO (43, 44), con variantes según la región de aplicación, se basaron en el conocimiento previo de la dinámica de las especies parasitarias y buscaron el aprovechamiento racional del espectro de las drogas, como el Closantel, que aplicado en dosis elevadas cuenta con un período prolongado de acción sobre *Haemonchus* spp. Cada dosificación con Closantel (12 mg/kg) elimina la población de adultos en los animales y evita la reinfección por casi dos meses; con 3 a 4 semanas más de período prepatente, se interrumpe la siembra de huevos por prácticamente 3 meses. En regiones con prevalencia de este parásito a lo largo de todo el año, 4 tratamientos anuales tenderían teóricamente a erradicarlo. En zonas donde la tendencia sea marcadamente estacional pueden programarse otras rutinas que contemplen este uso de Closantel en momentos estratégicos. En cada tratamiento, el uso simultáneo o alternativo de otras drogas mejorará por un lado el efecto de la primera y se orientará al control de otras especies. Estos programas de tratamientos estratégicos han sido exitosos disminuyendo al mínimo la expresión poblacional de las especies implicadas, con un mínimo de dosificaciones. Esquemas de 4 tratamientos anuales han demostrado su eficacia en el manejo de poblaciones expuestas a *Haemonchus contortus* en Uruguay (45), pero se debe considerar que al dejar una muy reducida población "en refugio", y obviamente no lograr el exterminio de los parásitos, son proclives a seleccionar muy eficientemente cepas resistentes.

Pastoreo alterno con bovinos u otras especies.

Los lanares no comparten sus principales parásitos con los bovinos, *Haemonchus contortus* puede desarrollar en bovinos con dificultad, y *Ostertagia ostertagi* desarrolla con mucho menos eficiencia en el lanar. Las especies de *Cooperia* pueden ser compartidas y componer parte importante de la infección en corderos que pastorean potreros donde lo hicieron antes terneros (45). En regiones templadas se ha demostrado que la rotación programada puede disminuir la carga en los pastos de larvas de especies de riesgo en Uruguay (46). También en Uruguay Castells y col. (com. personal), estudiaron la evolución de peso y HPG de corderos a partir del destete y pastoreando en potreros que en primavera fueron utilizados por majada de cría, capones o novillos. Demostraron

en un informe preliminar que es posible que los HPG se mantengan en niveles entre 5 y 8 veces por debajo y las ganancias de peso fueran de un 15 y un 25 % mayores en lotes cuyo antecesor fueron novillos respecto de lotes que pastorearon parcelas en las que pastorearon antes majadas de cría o capones. Esta propuesta puede llevarse a cabo a campo.

Selección de individuos tolerantes y resistentes:

Se explicó el significado de esos términos. Ambas características son heredables y segregan en forma independiente. Puede emprenderse la selección por resistencia en base a la evaluación de niveles de recuentos de huevos tanto en machos como hembras de majada y evaluar ambas variables para machos del núcleo o cabaña. Para el manejo a campo la herramientas aún no están totalmente desarrolladas desde lo metodológico. Se mencionó el "FAMACHA" como método de control, la susceptibilidad de los animales puede medirse por el hematocrito en el caso de exposición a la haemonchosis.

Puede demostrarse en poblaciones no seleccionadas que el 25 % de los animales pueden generar más del 75 % de la contaminación con lo cual queda absolutamente justificada la segregación de estas poblaciones susceptibles.

Teniendo en cuenta que la resistencia y tolerancia a los parásitos son una fundamental variable de adaptación al ambiente, constituyen objetos de selección importantes además de los productivos.

Las rutinas de selección pueden variar en torno a la evaluación de los niveles de HPG entre tratamientos a partir del destete y en varios desafíos. En hembras de reposición podría ser suficiente para no retener susceptibles. La presión de selección en los núcleos de carneros puede ser mayor que en los de hembras, y la tolerancia puede evaluarse con un manejo individual de tratamientos y registrando parámetros como edad al primer tratamiento requerido, número de tratamientos recibidos, niveles de ganancia de peso (18). Presionando en la selección tanto de machos como de hembras en la reposición de la majada general y aplicando programas exigentes entre los individuos del núcleo puede obtenerse el mayor impacto que utilizando sólo carneros seleccionados, que por otra parte no se disponen en el país. (17).

MANEJO INTEGRADO Y CONCLUSIÓN

En general las comunidades dedicadas a la explotación de lanares comparten los problemas ligados al control de parásitos y todas han hallado en los medicamentos antiparasitarios el recurso de mayor impacto. La resistencia a drogas anti-helmínticas quita la herramienta de mayor poder. El enfoque integrado del manejo de las helmintiasis es la expresión con mayor presencia en los foros internacionales y su sola mención convoca un gran consenso. Sin embargo es en la práctica un punto crítico en la evolución de la profesión veterinaria. Los recursos alternativos no pueden incluirse sin un actor que los integre en un sistema de decisiones que minimice el impacto de los parásitos sin dependencia total de la industria farmacéutica.

Ese actor debe echar mano a todo el arsenal de recursos y procesos antes mencionados y combinarlos racionalmente según las circunstancias de cada majada y explotación. Los programas de extensión de organismos oficiales, y las comunicaciones de marketing de la industria no logran establecer los procesos necesarios al manejo integrado. Por otro lado esa integración debe incluir la consideración de selección de animales por caracteres productivos, manejo de otras enfermedades, manejo reproductivo, administración de intereses comerciales y, seguramente la asociación de explotación de lanares con otras especies.

Todos los recursos modernos son de complejidad creciente y sólo los provenientes de la industria se presentan acabados y listos para el uso por parte del productor. Los otros reclaman al profesional para su administración, y exigen otras estrategias de convencimiento:

- * Elección del ciclo reproductivo de la majada según conveniencia real de la explotación (fechas según interés de venta o mejor adaptación a la oferta forrajera, conveniencia de selección de melliceras, disponibilidad de suplementos, etc.). Al manejo productivo, se subordinará el control de todos los problemas sanitarios en general y el parasitario en particular, estableciendo épocas y situaciones de riesgo. Esa subordinación es sinónimo de integración.

- * Diagnóstico del estatus de resistencia y registro de drogas y espectros disponibles.

- * En explotaciones con un núcleo definido, establecimiento de un programa de selección que además de caracteres productivos, contemple la selección de individuos resistentes y, de ser posible, tolerantes a los parásitos en la medida que la variación interna de la población lo permita, es-

pecialmente segregación de individuos más susceptibles en cualquiera de los estados de evolución del programa.

* Diagnóstico parasitológico durante los períodos de mayor riesgo de infección y en las categorías susceptibles.

* Diseño de estrategias de desparasitación estratégicas tendientes a mantener reducido el riesgo de categorías muy susceptibles y la infectividad de las praderas y tácticos sobre la base de diagnóstico, para evitar la repetición innecesaria de dosificaciones masivas o en animales que no las necesitan.

* Consideración del pastoreo alterno con bovinos.

* Monitoreo de todos los subprogramas en función de no instituir sistemas que tiendan a seleccionar cepas resistentes a los medicamentos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Johnstone Ian L. Enfoque ecológico para el control de la parasitosis ovina. INTA. Agropecuaria 1971. 20: 113 páginas.
2. Lukovich R. Identificación de las formas adultas de los nematodos gastrointestinales y pulmonares de los rumiantes en la República Argentina. Publicación miscelánea de INTA, 1981 Buenos Aires.
3. Suárez MC. *Nematodirus oiratianus* (Raevskaia 1929) en la República Argentina (Primer hallazgo). Rev Inv Agr INTA, Bs.As. 1982; XVII (2): 169.
4. Suárez VH. Parasitosis gastrointestinal en ovinos Corriedale en la región semiárida pampeana (I) Resultados de los primeros 16 meses de observaciones. Rev Med Vet 1985; 66 (3): 140-149.
5. Suarez VH Parasitosis Gastrointestinal en ovinos Corriedale en la región semiárida pampeana. II resultados período 1981-1983. Rev Prod An. 1985; 5 (3-4): 243-55.
6. Bueno L, Honde Ch, Luffau G, Fioramonti J. Origin of the early digestive disturbances induced by *Haemonchus contortus* infection in lambs. Am J Vet Res 1982 43 (7): 194/99.
7. Suarez VH. Epizootiología de los parásitos gastrointestinales en ovejas en la región semiárida pampeana. Rev Med Vet. 1986; 67 (4); 190-202.
8. Castells D, Nari A, Rizzo E, Mármol E, Acosta D. Incidencia de los nematodos gastrointestinales en la producción de carne y lana. 3° encuentro de Veterinarios endoparasitólogos rioplatenses. Arapey, Uruguay 24 al 26 de mayo de 1994.
9. Kennedy CR. Ecological Animal Parasitology" Blackwell Scientific Publications. Oxford-London Edinburg- Melbourne. 1975
10. Michel JF, Lancaster MB, Hong C. Arrested development of *Ostertagia ostertagi*, and *Cooperia oncophora*. Effect of temperature at the living third stage. J Comph Path. 1975 85:133-138.
11. Fiel CA, Steffan PE, Vercesi HM, Ambrústolo RR, Catania P, Casaro AP, Entrocasso CM, Biondani CA. Variación estacional del parasitismo interno de bovinos en el sudeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina) con especial referencia al fenómeno de hipobiosis". Rev Med Vet (Bs.As.) 1988. 69 (1): 57-64.
12. Fernández AS, Fiel CA, . Estudio de Factores que inducen la hipobiosis de *Ostertagia ostertagi*, en bovinos. Premio R. Niec. Sociedad de Medicina Veterinaria, Buenos Aires. 1996.
13. Nari A, Petraccia C, Cardozo H. La inhibición del desarrollo larvario en nematodos gastrointestinales de ovinos con especial referencia a *Haemonchus contortus*. Veterinaria 1982. 18 (81): 78-88.
14. Balbi A. Ecología de la fase libre del ciclo de *Haemonchus contortus* del ovino en la Pampa Húmeda. En "Aportes a la Parasitología Veterinaria por Eddi y Caracostantógo 1993. (II). INTA CICV. Castelar.
15. Woolaston R, Greeff J. NEMESIS Merino Breeders Worm Control Network, recommendations for breeding Sheep for worm resistance Miscellaneous publication of CSIRO- UNE, WADA, y la Wool research and promotion Organization Australia, 1994.
16. Albers GA, Gray GD, Piper LR, Barker JSF, Le Jambre LF, Barger IA. The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young merino sheep. Int J for Parasitol 1987. 17 (7):1355-1363.
17. Romero J, Boero CA, Prando AJ, Baldo A, Griffin B, Silvestrini MP. Selection of trichostrongylid resistant sheep in argentine farms. 17th International conference of the World Association for the advancement of Veterinary Parasitology . Copenhagen 15-19 august 1999 Abst.f.304.
18. Morris CA, Bisset SA. Breeding Sheep which require minimal anthelmintic treatment: A review of the genetics of resistance and resilience of sheep to nematode parasites In Managing Anthelmintic Resistance in Endoparasites. Workshop held at the 16th International conference of de World Association for the advancement of Veterinary Parasitology Sun City 10-15 august. van Wyk. Schalkwyc ed. 1997: 21-28.
19. Coop RL, Kyriazakis I. Nutrition-parasite interaction. Vet Parasitol 199; 17 (7):187-204
20. McEwan J. Breeding sheep resistant o roundworm infection: Wormfec Beeder's Manual. edited by New Zealand Pastoral Agriculture Research Institute. 1994.
21. Rosa W, Lukovich R, Niec R. Parasitismo -gastrointestinal de los ovinos y bovinos en la zona sur de la Provincia de Buenos Aires (Tres Arroyos, Cnel. Pringles, y Cnel. Dorrego). Rev Inv Agrop INTA. Serie 4. Pat. An. 1971. VIII (3): 71-83.
22. Nari A, Cardozo H, Berdie J, Canábez F, Bawden R. Dinámica de población para nematodos gastrointestinales de ovinos en el Uruguay. Veterinaria 1977. 14 (66): 11-24.

23. Suarez VH, Larrea S, Buseti MR, Bedotti DO, Bulman GM, Ambrustolo RR. Nematodes Gastrointestinales de ovinos: Su control y efectos sobre los parámetros epizootiológicos y productivos en la región semiárida pampeana (Argentina). *Therios* 1990. 15 (73): 156-173.
24. Nari A, Cardozo H, Rizzo E, Solari MA, Petracchia C. Efecto del parasitismo gastrointestinal en la performance de corderos sometidos a diferentes planos de nutrición y edad de destete. *Veterinaria* 1983. 29 (85): 57-63
25. Rosa W, Niec R, Lukovich R, Dindart J, Barberan R. Etiología y variación estacional del parasitismo gastrointestinal de los ovinos y bovinos en la zona de Mercedes (Provincia de Corrientes). *Rev Inv Agrop INTA. Serie 4 Pat. An.* 1973; X (1): 25-40.
26. Borgsteede FHM, en Coles GC, Borgsteede FHM, Geerts S. Anthelmintic resistance in Nematodes of farm animals. Editing of Seminar in the European Commission of coordination for agricultural research, Brussels Belgium 8/9 November. 1993:1-16.
27. Entrocasso C, Lange R, Fernández Ripoll. Resistencia antiparasitaria al oxfendazole en ovinos en un establecimiento de la provincia de Buenos Aires. *Memorias del VI Congreso Arg de Ciencias Vet. Buenos Aires.* 1988. Com. libre 208.
28. Romero JR, Espinosa G, Valera AR, Demostración de Resistencia al Oxfendazole en *Trichostrongylidos* de ovinos de la Zona deprimida del Salado. *Rev de Med Vet.* 1992. 73 (2): 82-86.
29. Eddi C. Resistencia. *Memorias del VII Congreso Argentino de Cs. Veterinarias Buenos Aires 6-11 de Noviembre de 1994*
30. Eddi C, Caracostantogolo J, Peña M, Shapiro J, Marangunich L, Waller O, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in southern Latin America: Argentina." *Vet Parasitol* 1996. 62 : 89-197.
31. Romero J, Boero C, Vazquez R, Aristizábal MT, Baldo A. Estudio de resistencia a antihelmínticos en majadas de la Mesopotamia. *Rev Med Vet.* 1998; 79 (5): 342-346.
32. Nari A, Salles J, Gil A, Waller PJ, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Uruguay. *Veterinary Parasitology* 1996. 62: 213-222.
33. Echeverría F, Borba MFS, Pinheiro AC, Waller PJ, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. *Vet Parasitol* 1996. 62:199-206.
34. Maciel S, Gimenes AM, Gaona C, Waller P, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in southern Latin America: Paraguay *Vet Parasitol* 1996. 62: 207.212.
35. Roos MH. The role of drugs in the control of parasitic nematode infections: must we do without?". *Parasitology* 1997; 114: 137-144.
36. Kwa MSG, Veenstra JG, Roos MH. Molecular characterization of β -tubulin genes present in benzimidazole resistant populations of *Haemonchus contortus*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 1993. 60: 133-144.
37. Kwa MSG, Veenstra JG, Roos MH. Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in b-tubulin isotype 1. *Mol and Biochem parasitol* 1994. 63: 299-303.
38. Hennessy DR. The disposition of antiparasitic drugs in relation to the development of resistance by parasites of livestock *Acta Tropica* 1994. 56:125-141.
39. Van Wyk JA, Malan FS, Bath GF. Rampant anthelmintic resistance in sheep in South Africa - What are the options?. Workshop held at the 16th International conference of the World Association for the advancement of Veterinary Parasitology Sun City 10-15 august. van Wyk. Schalkwyc ed. 1996: 51-63.
40. Nari AH. Enfoque epidemiológico sobre el diagnóstico y control de resistencia a antihelmínticos en ovinos. Ed. Hemisferio Sur Montevideo Uruguay 1987 59 pág.
41. Waller P, Echevarría F, Eddi C, Maciel S, Nari A, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General overview. *Vet Parasitol.* 1996; 62: 181-187.
42. Hennessy DR. The impact of pharmacokinetic properties on development of resistance to antiparasitic compounds. 17th International conference of the World Association for the advancement of Veterinary Parasitology . Copenhagen 15-19 august 1999
43. Dash K, Waller P. Denchplan research-based worm control. *Rural Research* 1987. 135: 4-9.
44. Waller PJ. Resistance in nematode parasites of livestock to the benzimidazole antihelmintics. *Parasitology today* 1990; 6 (4): 127-129.
45. Nari A, Franchi M, Rizzo E, Marmol E, Mautone G. Evaluación de un programa de control de nematodos gastrointestinales en ovinos. Medidas para dilatar la aparición de resistencia antihelmíntica. XXV Jornadas de buiatría, Junio 18-22 1977. Paysandú Uruguay.
46. Quintana S. Manejo parasitario del cordero de destete en campo natural y pastoreo alterno con bovinos en un área de basalto superficial. *Veterinaria* 1987. 23 (97): 6-14.

***Gymnorhynchus gigas:* TAXONOMÍA, MORFOLOGÍA, BIOLOGÍA Y ASPECTOS SANITARIOS**

C. Vázquez-López, C. Armas-Serra, F. Rodríguez-Caabeiro

Departamento de Microbiología y Parasitología
Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá. España

Resumen: *En el presente trabajo se realiza una revisión exhaustiva de distintos aspectos que se conocen hasta el momento del cestodo *Gymnorhynchus gigas*, parásito de la palometa o japuta (*Brama raii*), uno de los peces de mayor consumo humano. La presente revisión recoge y analiza, todo lo que se sabe hasta el momento acerca de su taxonomía, morfología, biología e interés sanitario; haciendo especial hincapié en este último aspecto, ya que, en la actualidad, cada vez se cuestiona con mayor asiduidad la patogenicidad de este parásito que, en un principio, y dado que no es parásito humano, pudiera ser considerado inocuo, pero los resultados obtenidos en estudios posteriores, así como la aparición de gran número de individuos intolerantes al pescado nos hacen sospechar de su posible implicancia en el desarrollo de reacciones adversas.*

Palabras clave: *Brama raii, Gymnorhynchus gigas, plerocercoides*

***Gymnorhynchus gigas:* TAXONOMY, MORPHOLOGY, BIOLOGY AND SANITARY ASPECTS**

Abstract: *In the present paper we realized an extensive revision of the cestode *Gymnorhynchus gigas*, parasite of the Ray's Bream (*Black sea bream*), one of the fish with the most number of consumers. This work is about all unknown until this moment in reference a its taxonomy, morphology, biology and sanitary interest. We are specially attention in the last aspect, because in the actually is very studied the pathogenicity of this parasite which in the beginning was considerate innocuous, at not be human parasite, but posterior studies has determined its possible implication in adversus reactions.*

Key Words: *Brama raii, Gymnorhynchus gigas, plerocercoid*

Fecha de recepción: 30/11/00

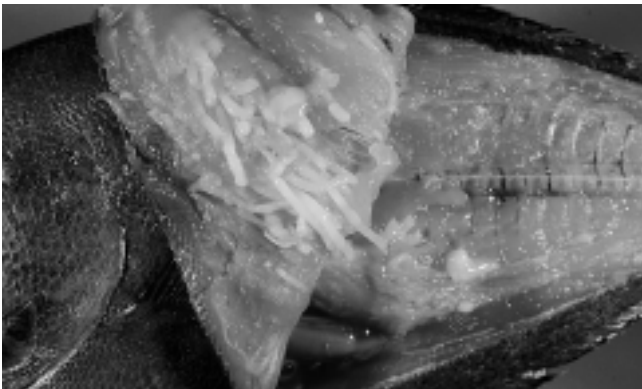
Fecha de aprobación: 20/08/01

Dirección para correspondencia: Vázquez López Celia, Departamento Microbiología y Parasitología. Universidad de Alcalá. Ctra. Madrid-Barcelona, Km 33600. Alcalá de Henares. Madrid 28871. ESPAÑA

E-mail: cvazquez@agemed.es

Introducción

Uno de los peces con un mayor índice de parasitación por *Gymnorhynchus gigas* es *Brama raii*, teleosteo conocido vulgarmente como palometa, castañola o japuta, y que es uno de los pescados de consumo humano más habitual en todo el mundo (1). Dicho pez, presenta frecuentemente su musculatura invadida por larvas plerocercoides del cestodo perteneciente al orden *Trypanorhyncha* denominado *Gymnorhynchus gigas* (2) (Fotografías I y II). Pero, lo más llamativo es que este parásito pese a su abundancia en la naturaleza, ha sido hasta la fecha muy poco estudiado ya que al no parasitar al hombre, no se cuestionaba su posible interés sanitario humano (3), no pareciendo acarrear ningún daño a sus consumidores. Recientemente se han analizado las posibles consecuencias sanitarias de su ingesta, determinándose que ésta no es tan inocua como cabía esperar, pudiendo ocasionar daños de diverso tipo lo que hace imprescindible un mayor conocimiento del parásito y, por lo tanto, un control del mismo.



Fotografía I: Larvas plerocercoides de *Gymnorhynchus gigas* en la musculatura de su principal hospedador intermedio *Brama raii*.

Larvas plerocercoides of *Gymnorhynchus gigas* in the musculature of their main intermediary host *Brama raii*.

Gymnorhynchus gigas: Historia y encuadramiento taxonómico

La primera vez que se nombró al parásito motivo de esta revisión fue por Rudolphi, en 1808, (4), denominándolo *Antocephalus reptans*. Posteriormente, en 1817, Cuvier lo describió como *Gymnorhynchus gigas* (4) denominación que ha perdurado hasta el momento. Este parásito pertenece al orden *Trypanorhyncha* (5) que, taxonómica-



Fotografía II: Larvas plerocercoides del cestodo parásito *Gymnorhynchus gigas*

Foto II: Larvas plerocercoides of the cestode parasite *Gymnorhynchus gigas*.

mente es un grupo muy complejo y es considerado el orden más caótico y confuso de todos los que constituyen el Phylum *Platyhelminthes* (6).

En un principio, el orden *Trypanorhyncha* era conocido como *Tetrahynchidea* (Claus) y fue reemplazado por Diesing, en 1863, por la denominación actual. Más tarde, Guiart (citado por 7), atendiendo a la subdivisión de Diesing los dividió en dos subórdenes: *Atheca* (= *Acystidea*) y *Thecaphora* (= *Cystidea*), dependiendo del tipo de armadura presente en los tentáculos y de la presencia o no de un blastoquiste que envuelve a la larva plerocercoides. De este modo, *G.gigas* quedó englobado en el suborden *Thecaphora*, ya que presenta armadura poeciloacanta y la larva plerocercoides se encuentra envuelta en un blastoquiste. Por otra parte, Dollfus, en 1942 (8), dependiendo de la isometría de los tentáculos armados que poseen los ejemplares del orden *Trypanorhyncha* reconoce tres superfamilias: *Homeacantos* (ganchos ordenados en espirales ascendentes), *Heteroacantos* (los ganchos son ordenados en medios círculos ascendentes) y *Poeciloacantos* (géneros con diferentes caracteres, filas extra de ganchos en la cara externa del tentáculo). Siguiendo esta clasificación, en una reciente reorganización de los *Poeciloacantos*, Beveridge y Campbell (1989) (9) transfieren el género *Molicola* (Dollfus 1935) y *Stragulorhynchus* (Beveridge y Campbell 1988) (10) desde la familia *Gymnorhynchidae* a la familia *Molicolidae* (Beveridge y Campbell 1989) (9), dejando sólo los géneros *Gymnorhynchus* y *Chimaerarhynchus* como válidos *Gymnorhynchidos*, proponiendo que el grupo podía estar caracterizado por la posesión de una vesícula seminal y un par de cadenas de dentículos, cada una de ellas con un solo ala lateral.

CAMBELL & BEVERIDGE (1994)

- Homeacanthoidea Dollfus, 1942
 - Tentaculariidae Poche, 1926
 - Paranybeliidae Schmidt, 1970
 - Hepatoxylidae Dollfus, 1940
 - Sphyriocephalidae Pintner, 1913
 - Tetrarhynchobothriidae Dollfus, 1969
- Heteracanthoidea Dollfus, 1942
 - Eutetrarhynchidae Guiart, 1927
 - Gilquiniidae Dollfus, 1942
 - Shirleyrhynchidae Cambell & Beveridge, 1994
- Otophthiidea Dollfus, 1942
 - Otophthiidae Dollfus, 1942
 - Rhinoptercolidae Carvajal & Campbell, 1975
 - Pterobothriidae Pintner, 1931
 - Grillotidae Dollfus, 1969
 - Molicolidae Beveridge & Campbell, 1989
- Poecilacanthoidea Dollfus, 1942
 - Lascistorhynchidae Guiart, 1927
 - Dasyrhynchidae Dollfus, 1935
 - Hornelliellidae Yamaguti, 1954
 - Mustelicolidae Dollfus, 1969
 - Mixodigmatidae Dailey & Vogelbein, 1982
 - Gymnorhynchidae Dollfus, 1935

Gymnorhynchus Rudolphi, 1814
Chimaerarhynchus B&C, 1989

Tabla I: Clasificación del orden *Trypanorhyncha* (Diesing 1963), propuesta por Campbell y Beveridge en 1994.

Table I: Classification of the order *Trypanorhyncha* (Diesing 1963), proposed by Campbell and Beveridge in 1994.

A medida que avanzaron los estudios, los cambios siguieron y, en 1994, estos mismos autores, Campbell y Beveridge (7), revisando nuevamente la clasificación de Dollfus (1942) (8) y dejando la estructura esencial, pero añadiendo el estudio de nuevos aspectos morfológicos a la taxonomía del orden (la forma del útero, la presencia de hendiduras sensoriales, botridios «pedicellate» y características del sistema genital: simple o doble, presencia del conducto hermafrodita y accesorio de la vesícula seminal), incluyeron nuevos géneros y familias. Así, el orden *Trypanorhyncha* quedó formado por cuatro superfamilias, incluyendo el género *Gymnorhynchus* dentro de la familia *Gymnorhynchidae* y de la super familia

PALM (1997)

- Tentacularioidea Palm, 1995
 - Tentaculariidae Poche, 1926
 - Sphyriocephalidae Pintner, 1913
 - Gilquiniidae Dollfus, 1942
 - Aporhynchidae Poche, 1926
 - Lacistorhynchidae Guiart, 1927
 - Pterobothriidae Pintner, 1931
(=Gymnorhynchidae de Palm, 1995)
- Otophthiidea Dollfus, 1942
 - Otophthiidae Dollfus, 1942
 - Paranybeliidae Schmidt, 1970
 - Pseudotophthiidae Palm, 1995
- Eutetrarhynchoidea Dollfus, 1969
 - Eutetrarhynchidae Guiart, 1927
 - Mixodigmatidae Dailey & Vogelbein, 1982
 - Shirleyrhynchidae Cambell & Beveridge, 1994

Gymnorhynchus Rudolphi, 1814
Chimaerarhynchus B&C, 1989
Molicola Dollfus, 1935
Pterobothrium Diesing, 1850
Rhinoptercola Carvajal&Campbell, 1975
Stagulorhynchus B&C, 1988

Tabla II: Clasificación del orden *Trypanorhyncha* (Diesing 1963), propuesta por Palm en 1997.

Table II: Classification of the order *Trypanorhyncha* (Diesing 1963), proposed by Palm in 1997.

Poecilacanthoidea, tal y como se muestra en la Tabla I.

Sin embargo, más recientemente, Palm (1997) (11) ha propuesto otra clasificación para este orden, basada en cuatro caracteres primarios:

1. Presencia o ausencia de blastoquiste
2. Presencia de fosos sensoriales
3. Presencia de órgano prebulbar
4. Posesión de dos a cuatro botridios

En este caso, menos importancia se le da a un quinto carácter: el diseño de la armadura ten-

SUBREINO	Metazoa
PHYLUM	Plathelminthes
CLASE	Cestoda
ORDEN	Trypanorhyncha
SUBORDEN	Thecaphora
SUPERFAMILIA	Tentacularioidea
FAMILIA	Gymnorhynchidae (Pterobothriidae, Pintner 1931)
GÉNERO	Gymnorhynchus
ESPECIE	<i>gigas</i>

Tabla III: Clasificación taxonómica de *G. gigas*.
Table III: Taxonomy of *G. gigas*

tacular, ya que este carácter es difícil de interpretar, y Palm (1997) (11) propone que solamente sea usado a nivel de familia. De esta forma, según la nueva clasificación de Palm (1997) (11), el género *Gymnorhynchus* se englobaría dentro de la superfamilia *Tentacularioidea* (Palm 1995), y de la familia *Pterobothriidae* (Pintner 1931, citado por 12), a la que Palm llama «Gymnorhynchidae of Palm» (11), debido a la presencia de blastoquiste, 4 botridios y órgano prebulbar y a la ausencia de órganos sensoriales. Así, en cuestión de tan solo tres años, la clasificación de los Trypanorhyncha se ha visto enormemente modificada quedando en la actualidad según lo expuesto en la tabla II.

Basándonos en todo esto, concluimos la historia y encuadramiento taxonómico de *G. gigas* con una tabla resumen (tabla III) de la clasificación taxonómica del parásito motivo de nuestro estudio.

Aspectos morfológicos

El orden Trypanorhyncha engloba a cestodos parásitos de peces con la característica morfológica común de poseer un aparato "rhyncheal" compuesto por cuatro probóscides espinadas y dos o cuatro botridios. Además, cada probóscide está envuelta en una vaina que puede ser reversible desde el escólex (7).

La mayoría de los trabajos referidos a la morfología de *G. gigas*, corresponden a la larva

plerocercoides, dado que es la fase del ciclo que aparece más frecuentemente (2, 4, 8 y 13). Esta larva parasita los músculos de varias especies de peces de la familia de los brámidos (2), principalmente la "japuta, palometa, castañola o pez tostón" (*Brama raii*, Bloch 1791), aunque también se ha determinado su existencia en otro tipo de peces, pero siempre pertenecientes al grupo de los teleósteos (14 y 15). Y todos los autores están de acuerdo en que el cuerpo de la larva plerocercoides de *G. gigas* consta de tres partes bien diferenciadas (2 y 16):

-La parte anterior o cefálica: en ella se encuentra el escólex que generalmente está invaginado, mide unos 11 x 1,9-2 mm. Como veremos más adelante se puede subdividir, pero en líneas generales podemos indicar que lo más característico es que posee cuatro botridios en el extremo apical y cuatro probóscides armadas de ganchos en la parte subapical.

-La parte media: formada por una vesícula ovoide, de unos 12 x 5,5-6,8 mm.

-La parte caudal: su longitud total y su anchura es muy variable, llegando a medir a veces hasta un metro de longitud.

No siempre es fácil extraer al parásito completo, porque suele romperse a causa de su longitud y de las intrincadas y numerosas vueltas que describe dentro de la masa muscular en que se aloja. Cuando es joven tiene un color blanco oscuro, casi transparente; y a medida que envejece se hace más voluminoso y su color se vuelve blanco amarillento y más opaco, no solo en su vesícula caudal, sino también en su parte anterior. Si el pescado que lo contiene es muy fresco, el verme aparece casi completamente inmóvil y en el que está algo pasado los movimientos son más manifiestos, haciéndose más vivos en el proceso de putrefacción, pero cuando éste está muy avanzado, el parásito va perdiendo movilidad y muere (16).

Recientemente Beveridge, Campbell y Palm (17) han realizado un exhaustivo trabajo, en el cual describen muchas características morfológicas, sobre todo referentes a la parte anterior, de un gran número de parásitos del orden *Trypanorhyncha*. Del género *Gymnorhynchus* indican que se trata de un Trypanorhyncha de gran tamaño, estando la parte anterior envuelta en un blastoquiste y con una larga extensión caudal. En cuanto a la morfología del escólex destacan que éste es acraspedote con cuatro largos y estrechos botridios, libres de márgenes posteriores y laterales, fusionados por la parte anterior al escólex. Los botridios están bien separados pero juntos a pares por "velum" en caras opuestas al escólex;

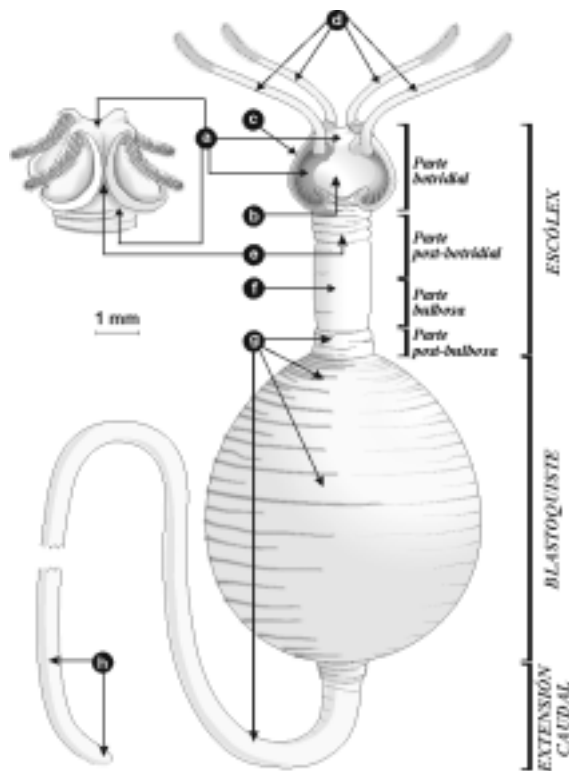


Figura I: Diagrama esquemático de la larva plerocercoid de *G. gigas*, en el cual se muestra la división del escólex en cuatro partes propuesta por Casado y col. (18).

Figure I: Schematic diagram of the larva plerocercoid of *G. gigas*, in which the division of the escolex is shown in four parts proposed for Married and cabbage (18).

los pares botridiales mucho más cortos que los pares vaginales; los márgenes botridiales son delgados; presenta tentáculos largos (más de 20-25 principales filas de ganchos), ausencia de bultos basales en el tentáculo y distintas armaduras basales, armadura metabasal heteromorfa y simétrica; presenta filas de ganchos divergentes, no presenta filas de ganchos intercaladas, ni ganchos satélites; tampoco macroganchos en la zona basal del tentáculo, base del tentáculo sin uñas de gancho, ganchos huecos, chainetes simples y con alas, y múltiples chainetes por fila principal. También presenta tentáculos externos sin armadura. Por último, destacan la ausencia de órgano prebulbar, bulbo corto, células glandulares ausentes de bulbo y parte postbulbosa prominente.

Recientemente se ha realizado la primera descripción ultraestructural de la larva plerocercoid de *G. gigas* al microscopio electrónico de barrido, (18) y ha supuesto un gran aporte al conocimiento de dicho parásito, ya que, hasta la fecha, solo se habían llevado a cabo estudios de este

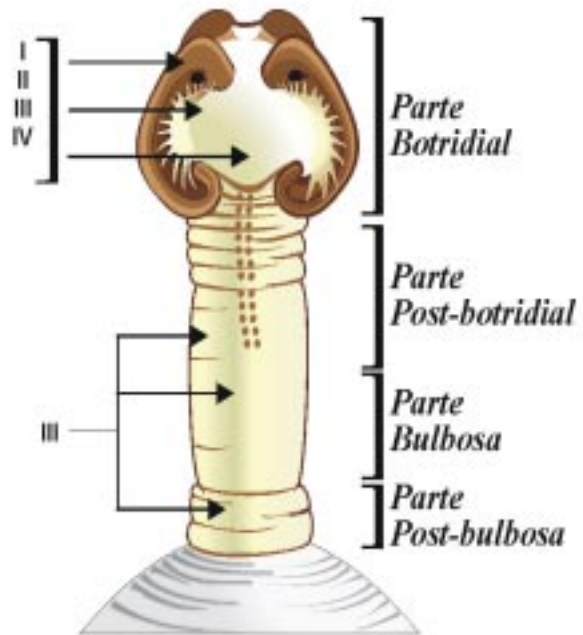


Figura II: Diagrama esquemático de la distribución de los cuatro tipos de receptores sensoriales (I-IV) localizados en el escólex de la larva plerocercoid de *G. gigas* propuesto por Casado y col. (20).

Figure II: Schematic diagram of the distribution of the four types of sensory receivers (I-IV) located in the escolex of the larva plerocercoid of *G. gigas* proposed for Married and cabbage (20).

tipo por Caira y Bardos (19), quienes describieron el escólex del adulto de *G. isuri*, pero no mostraron fotografías que demostrasen dicha estructura. Por el contrario, Casado y col. (18) proponen que el escólex de la larva plerocercoid de *G. gigas* está dividido en cuatro partes (Figura I), a) Parte botridial, b) Parte postbotridial c) Parte bulbosa y d) Parte postbulbosa, en contra de lo que opinan Campbell y Beveridge (7) que sugieren que el escólex sólo está dividido en tres partes, considerando la parte botridial y la parte postbotridial como una sola parte denominada parte vaginal.

En dicho artículo, Casado y col. (18) dividen la larva en tres partes, escólex, blastoquiste y región caudal, estudiando fundamentalmente la zona del escólex. Citan la presencia de cuatro largos botridios en la parte botridial situados un par en cada una de las caras, dorsal y ventral.

Los tentáculos emergen desde un orificio en el interior del botridio, y cuando el gusano es sacado por primera vez del huésped, éstos se en-

cuentran retraídos. Cada tentáculo consta de dos partes (proximal y distal). La parte proximal está encogida y no armada, su tegumento, posee delgadas y filiformes microtriquias orientadas en espiral. La parte distal, está invaginada y presenta ganchos en su cara interna. La armadura basal tiene 18 largos ganchos, dando éstos determinación taxonómica a la especie. La talla y forma de los ganchos es muy distinta dependiendo del nivel del tentáculo. La mitad de la cara interna posee ganchos ordenados en dobles chainetes característicos del género *Gymnorhynchus*. También determinan la presencia de ocho tipos de pares de microtriquias distintos, dependiendo la diferencia de las mismas, forma y densidad, de su localización en el cuerpo de la larva.

En trabajos posteriores, y siguiendo con la misma línea de investigación, Casado y col. (20) han determinado la existencia de cuatro tipos distintos de receptores sensoriales, tres de ellos ciliados y uno no, denominándolos tipo I, II, III y

IV respectivamente. Además indican que los receptores tipo I, están dispuestos en la cara adherente del botridio, en el tegumento entre el botridio y la parte post botridial, estando dicho receptor asociado a papilas. El tipo II, no está asociado a papilas, y se encuentra en el tegumento de los pliegues botridiales. El tipo III, no asociado a papilas, se localiza en el tegumento de la parte botridial, parte bulbosa y post-bulbosa. Y por último, los receptores tipo IV no ciliados y se localizan en el tegumento de la parte botridial interna, no estando en contacto con el exterior (figura II).

En cuanto a las formas adultas, hay muy pocos trabajos referidos al respecto, y los pocos existentes generalmente no van acompañados de descripciones o ilustraciones. En este aspecto hay que destacar los trabajos de Cairra y Bardos (19) quienes estudiando la morfología de las formas adultas de *G. isuri*, han concluido que todos los gusanos adultos poseían anillos maduros y grávidos. Resultados posteriormente corroborados por

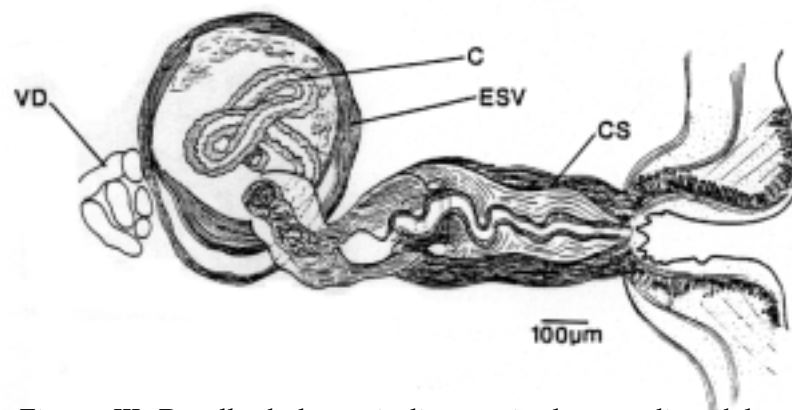


Figura III: Detalle de la genitalia terminal masculina del adulto de *G.isuri*

Figure III: Detail of the masculine terminal genitalia of the adult of *G.isuri*

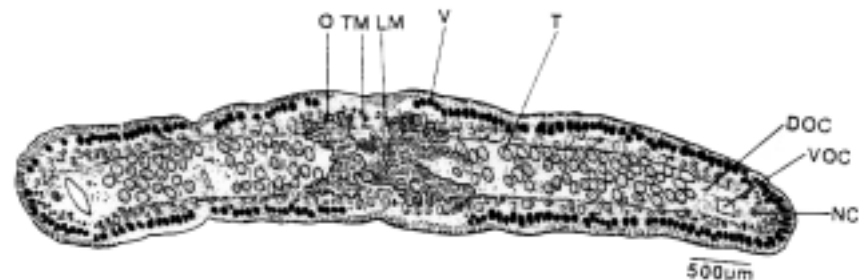


Figura IV: Sección transversal de un segmento maduro a nivel del ovario del adulto de *G.isuri*

Figure IV: Traverse section of a mature segment at level of the ovary of the adult of *G.isuri*

Abreviaturas Figuras III y IV: C: cirrus, CS: saco del cirro, DOC: cara dorsal osmoregulatoria del segmento, ESV: vesícula seminal externa, LM: músculo longitudinal, Nc: cuerda nerviosa, O: ovario, T: testículos, TM: músculo transversal, V: vitelaria, VD: vasos deferentes, VOC: canal ventral osmoregulatorio.

Reference Figure III and IV: C: Cirrus, CS: Cirrus sac, DOC: dorsal osmoregulatory canal, ESV: external seminal vesicle, LM: longitudinal muscle, NC: nerve cord, O: ovary, T: testis, TM: transverse muscle, V: vitellaria, VD: vas deferens, VOC: ventral osmoregulatory canal.

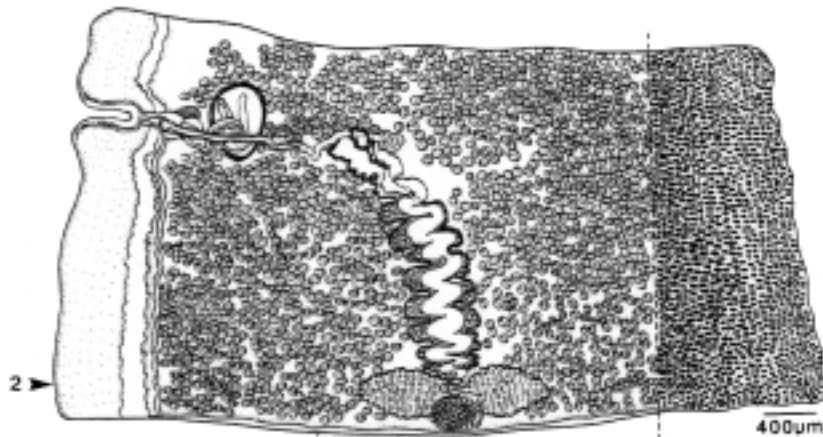


Figura V: Segmento maduro del adulto de *G. isuri*
 Figure V: The adult's *G. isuri* mature segment .

Beveridge y col. (17). Además, estos últimos autores, exponen numerosas características morfológicas comunes a un gran número de parásitos del orden *Trypanorhyncha*, entre las que cabe resaltar, 1) presencia de genitalia simple con útero preformado en el medio del segmento, sin pares posteriores de lóbulos y desviado anteriormente hacia el poro genital; 2) ausencia de poro uterino y conducto hermafrodita; 3) posesión de vesícula seminal externa y no interna, y ausencia de accesorio seminal; 4) poro genital ventrosubmarginal; 5) testículos exclusivamente preováricos; 6) ausencia de fosos sensoriales y de células Pintener. Todas estas características se muestran a continuación (Figuras III, IV y V), en los detalles morfológicos del adulto de *G. isuri* descrito por Cairá y Bardos (14) y que quizás sean idénticos o similares a los adultos de *G. gigas*.

Finalmente como veremos más adelante, se sospecha de la existencia de una larva procercoide, tal y como existe en otros *Trypanorhyncha*, hasta el momento, dicho estadio no ha sido descrito para el género *Gymnorhynchus*, y por lo tanto mucho menos para la especie, *G. gigas*.

Mantenimiento del parásito en la naturaleza: aspectos epidemiológicos y biológicos

El 93,3 % de las palometas están parasitadas por larvas plerocercoides de *G. gigas*, encontrándose el 72 % de los gusanos en la musculatura, zona destinada al consumo (2) y calculándose que la carga parasitaria constituye la décima parte de la carne consumida (21). Además, se ha comprobado que los pescados hembra (mayores en

tamaño y peso, y por lo tanto más requeridos por el consumidor) se encuentran más parasitados por *G. gigas* que los ejemplares machos (22) .

En la actualidad se desconoce el ciclo biológico y epidemiológico de *G. gigas* por completo, pero basándonos en lo establecido para otros *Trypanorhynchus*, y los datos obtenidos hasta el momento, podemos indicar que tal y como ocurre con otros ejemplares de este orden, los estadios adultos de *G. gigas* habitan en el aparato gastrointestinal de peces elasmobranquios (19, 22, 23, 24, 25) y que los estadios juveniles (larva procercoide y plerocercoides) se encuentran en la musculatura de distintos teleósteos de consumo habitual en la dieta humana (2, 14, 15, 16, 23, 26, 27); así como de una gran variedad de invertebrados marinos, incluso zooplacton (2, 7, 25). Además, datos muy recientes indican que posiblemente exista otra fase en el desarrollo de *G. gigas*, el coracidio, el cual pudiera nadar libremente o encontrarse en otro hospedador intermediario, animal acuático que forme parte de la cadena alimenticia del hombre (7).

Por todo ello, suponemos, que el ciclo biológico de este parásito, es el mismo que el de otros *Trypanorhyncha*, aunque hoy en día todavía no se ha encontrado el primer hospedador intermediario. Todo apunta a que el portador de la larva procercoide es un crustáceo, un molusco, pequeños clupeidos o escómbridos, ya que todos ellos constituyen la dieta de los hospedadores intermediarios (teleósteos) del parásito (2). Aunque no debemos olvidar un trabajo realizado por Pellegrini y col. (28) en el que postulan que la larva procercoide puede penetrar en su hospedador interme-

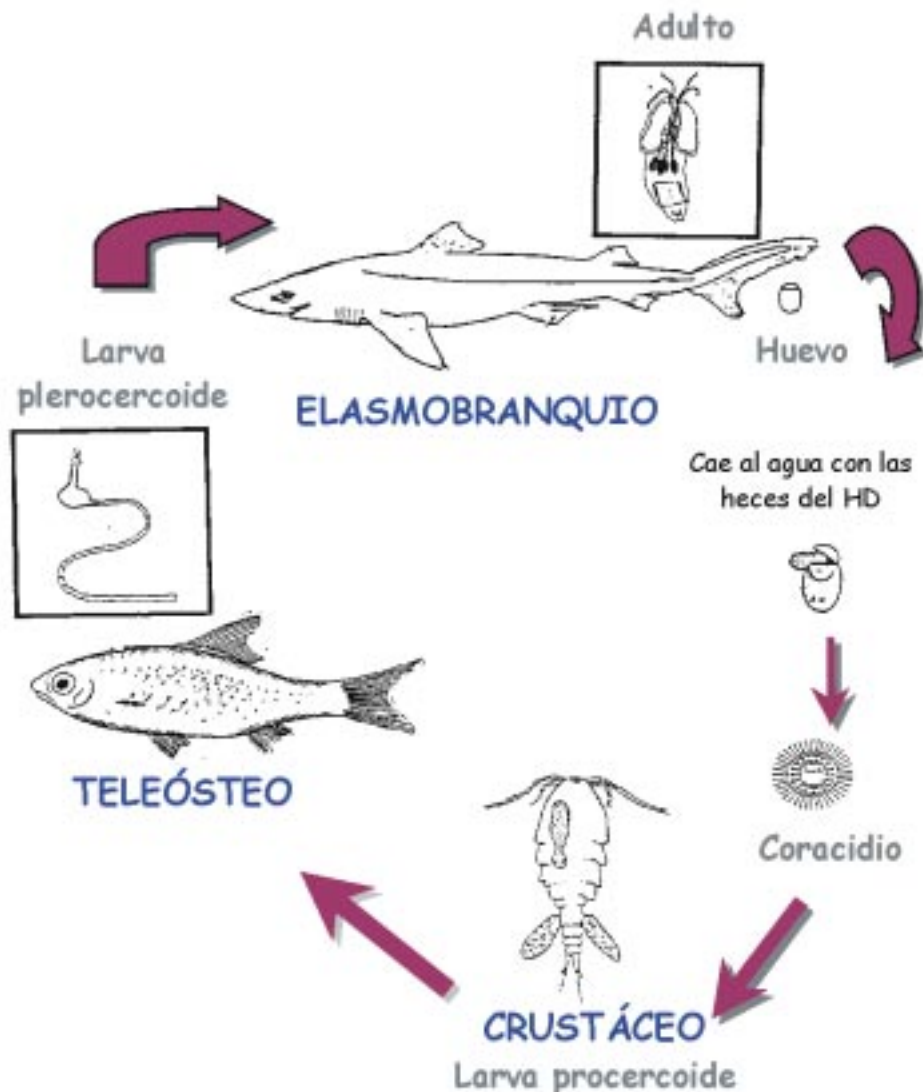


Figura VI: Hipótesis del ciclo de vida de *G. gigas*.

Figure VI: Hypothesis of the life cycle of *G. gigas*

diario (*Brama raii*) por vía subcutánea, llegando a esta conclusión mediante estudios histopatológicos del músculo de la palometa.

Postulamos que *G. gigas* tiene un ciclo de vida acuático del tipo (Figura VI):

En el aparato gastrointestinal del tiburón (u otro elasmobranquio que actúe como hospedador definitivo), se encuentran los adultos que copulan y realizan la puesta de huevos, saliendo éstos al exterior con las heces del hospedador. Una vez en el agua, el huevo embriona y eclosiona o no, sale el coracidio que, gracias a los cilios, puede ir nadando por el agua. El coracidio o el huevo, es ingerido por un crustáceo, molusco, clupeido o escómbrido. En el tracto digestivo de éste el embrióforo se rompe y sale el embrión. Este embrión tiene tres pares de ganchos que utiliza para

atravesar la pared intestinal del primer hospedador intermediario y caer en la cavidad abdominal. Una vez allí, el embrión pasa a larva procercoide. Cuando un teleosteo, ingiere al crustáceo, molusco, clupeido o escómbrido que contiene la larva procercoide, en el tracto digestivo del pez queda libre la larva que, supera la barrera hepática y vía sanguínea accede a la musculatura del pez, donde se desarrolla y muda a larva plerocercoide. Si un elasmobranquio se alimenta de un teleosteo infestado, en el estómago queda libre la larva plerocercoide, pasa al intestino, se fija en la mucosa y comienza la muda a adulto, cerrándose de esta manera el ciclo biológico del parásito en estudio. Dada las diferentes dimensiones existentes entre larva plerocercoide y adulto, todo parece indicar que la muda comprende además de un proceso de estrobilación y la madurez de los órganos sexuales, la pérdida de la vesícula y parte caudal de la

larva y en este sentido van encaminados algunos de los trabajos que se están realizando en estos últimos años en el Laboratorio de Parasitología de la Universidad de Alcalá. En la actualidad en dicho laboratorio, se realizan diversos estudios encaminados a aportar nuevos datos a la biología de este parásito. Así, han estudiado las enzimas proteolíticas de la larva pleroceroide (29), moléculas fundamentales en la vida de todos los organismos vivos, purificando una de ellas, correspondiente a una colagenasa, de potente actividad colagenasa en las condiciones que el parásito encuentra en el tracto digestivo de los elasmobranchios. La naturaleza cisteíno-metaloproteasa, su localización en el parénquima y zona de las microtriquias de la región anterior de la larva principalmente y su ausencia en los productos de excreción-secreción, reflejan la implicancia de esta proteína mayoritaria en los procesos de transformación a adulto de *G. gigas* (30).

Aspectos sanitarios

Son muy pocos los trabajos existentes sobre *G. gigas* que nos revelen algo sobre su posible interés sanitario y, además, existe bastante controversia sobre ella ya que si bien en un principio todo parecía indicar que su consumo no suponía ningún riesgo sanitario, los trabajos más actuales y de mayor rigor y consistencia científica, parecen revelar todo lo contrario.

La cita más antigua referente a la importancia sanitaria de la larva pleroceroide de *G. gigas*, se remonta al año 1955, donde Laureano Saiz Moreno (31), veterinario de Ciudad Real y especialista en Parasitología, ya se cuestiona este aspecto, y dice: "en general, estas larvas pleroceroideas son consideradas como inocuas y, por lo tanto, comestibles los peces que las albergan. Ahora bien, el hecho de desconocer convenientemente su ciclo evolutivo completo, hace necesario tomar esta rotunda afirmación con ciertas reservas". También considera, que aún admitiendo en parte esta inocuidad, "cuando el número de parásitos es muy grande, cosa bastante frecuente, se debe proceder al decomiso, toda vez que los peces que los albergan, presentan una desagradable consistencia muscular, debido a una intensa hidrohemia acompañada de degeneración turbia". Así mismo, considera de relevante importancia sanitaria el hecho de que este cestodo pueda ser confundido con *Diphyllobotrium latum*, conocido como la tenia del pescado y causante de la Diphylobothriosis humana. Posteriormente, en 1960, Emilio Díaz Díaz (16), publica en la Revista Ibérica de Parasitología una nota parasitológica titulada: «Antocefalosis o vermes de la Castañola» en la que

defiende la inocuidad de *G. gigas*, basándose en estudios realizados por otros autores. Así, indica que Condorelli observó que tras la inoculación subcutánea, intraperitoneal e intravenosa del jugo de este parásito triturado a anfibios, reptiles, aves y mamíferos, no producía ningún trastorno, sin especificar cuáles fueron los parámetros analizados; y por otra parte, dice que Trull y Echeverría en trabajos similares, apuntan que la ingesta de vermes de castañola por perros y gatos no supuso ninguna alteración en éstos, sin especificar nada más. Mención a este autor, sobre el artículo ya señalado, también lo encontramos en la Enciclopedia de la Inspección Veterinaria y Análisis de Alimentos (21), indicando además que la norma que ha de seguir el inspector al analizar pescados con *G. gigas* ha de ser de absoluta tolerancia, ya que así lo dispone la Real Orden de febrero de 1920, según la cual la existencia de parásitos en la especie de pescado, denominado vulgarmente castañola o japuta, no puede ser causa por sí sola de que se prohíba su venta.

García-Gimeno y Sánchez-Segarra (32) citan en un artículo referente a riesgos sanitarios del pescado y marisco, que *G. gigas* no supone riesgo sanitario para el hombre, pero no se apoyan en ningún hecho ni referencia para avalar esta afirmación. Estos dos autores, además, engloban al parásito en estudio dentro de los nematodos, concretamente dicen que se trata de un acantocéfalo, cuando una de las pocas cosas que está estudiada y clarificada de *G. gigas* es su sistemática, estando incluido, como ya se ha revisado, en el orden *Trypanorhyncha*, dentro del gran grupo de los cestodos, hecho que nos hace dudar acerca de la validez del trabajo, así como de las conclusiones a las que llegan. Otro de los aspectos estudiados por algunos autores es analizar la calidad del pescado parasitado, pudiendo el parásito alterar la composición del pescado, haciéndolo tóxico para el consumo o rebajando sus cualidades nutritivas. Hay pocas publicaciones conocidas (33) referentes al estudio de la totalidad de nutrientes del contenido del músculo de los peces infectados.

En el caso de parasitación por *G. gigas*, Radhakrishnan y col. (27) realizaron un estudio sobre el contenido del músculo e hígado de peces parasitados y no parasitados. Los resultados que obtuvieron, demuestran que la carne parasitada posee aumentada la cantidad de nitrógeno, siendo el consumo de ésta mucho más perjudicial, recordando que la presencia de nitrógeno en el pescado es indicio de descomposición del mismo. Por otro lado, también encuentran aumentada la can-

tividad de agua, disminuyendo considerablemente la cantidad de glucógeno, con lo que el aporte energético de esa carne se encontraría muy disminuido.

Más recientemente, Minniti y col. (34) considerando que quizás pudiera ser la histamina la responsable principal de alguno de los síntomas que aparecen en animales de experimentación cuando han sido inoculados con extracto de cestodos (síntomas agudos, subagudos o crónicos manifestados por enfermedades entéricas, hipotensión, congestión, progresiva pérdida de peso), y de las múltiples reacciones alérgicas que aparecen en el hombre tras el consumo del pescado, realizaron un estudio sobre la presencia de histamina en *G. gigas* y también en el nematodo *Anisakis simplex*, no encontrando histamina en ninguno de los dos parásitos indicados, concluyendo que la presencia de estos parásitos en la musculatura de los peces no constituye un potencial riesgo para los consumidores desde este punto de vista. No existe sin embargo ningún estudio sobre la posible presencia de la histamina en el hospedador intermediario, siendo ésta posiblemente estimulada por la presencia de dichos parásitos.

Pero de todos los trabajos llevados hasta el momento en cuanto a la importancia sanitaria que pueda tener el consumo de *G. gigas* resaltamos los más recientes, en los que se estudian con gran detalle distintos parámetros bioquímicos, inmunológicos y fisiológicos.

Rodero y Cuéllar (35) en la Universidad Complutense de Madrid (1999) determinan que las larvas plerocercoides del parásito en estudio poseen componentes antigénicos capaces de provocar episodios anafilácticos, y que los productos somáticos liberados por las larvas de *G. gigas* podrían inducir el desarrollo de una respuesta inmunitaria humoral capaz de causar desordenes alérgicos.

Por otra parte, Vázquez-López y col. (36) realizan diversos estudios en la Universidad de Alcalá encaminados a comprobar la patogenicidad de este parásito, obteniendo resultados muy prometedores que demuestran que tras la ingesta del extracto crudo del parásito empleando rata y ratón como animales de experimentación, aparecen una serie de cambios bioquímicos, inmunológicos y fisiológicos indicadores de daños o alteraciones tisulares. Como parámetros bioquímicos estudiaron las proteínas de estrés (HSPs). Para ello emplearon ratas como animales de experimentación

y analizaron los niveles de HSP60 y HSP70 en el aparato digestivo (estómago e intestino delgado) y principales órganos productores de anticuerpos (bazo y ganglios linfáticos mesentéricos) tras haber ingerido el extracto del parásito. Los resultados revelan un aumento significativo en los niveles de HSPs en intestino delgado y bazo (3). En cuanto al estudio de la respuesta inmunitaria humoral, analizaron la tasa de inmunoglobulinas G, M y A en suero, mucosa intestinal y heces y de inmunoglobulinas E en suero después de la inoculación oral del extracto crudo del parásito a ratones NMRI como animales de experimentación y el aumento de eosinófilos en el peritoneo tras la inoculación intraperitoneal del extracto. Vázquez-López y col. (36), concluyen que tras el análisis de los resultados y su extrapolación al ámbito humano, la ingesta de dicho parásito puede ser la causa de algunas de las reacciones adversas que aparecen tras la ingesta de algunos pescados y/o mariscos, ya que su inoculación oral a animales de experimentación provoca un aumento significativo de la tasa de inmunoglobulinas G, M y A en suero, mucosa intestinal y heces a los 15 y 20 días postingesta, respuesta inmunitaria que corresponde con los cambios determinados en las HSPs. Así mismo, afirman que *G. gigas* posee un importante componente alérgico, ya que a los 20 días postingesta aparece un aumento significativo de las inmunoglobulinas E séricas y a las 14 y 48 horas postinoculación intraperitoneal un acúmulo significativo de eosinófilos.

Por último, realizaron una serie de estudios *in vitro* empleando el íleon de rata como modelo experimental, analizándose el efecto del extracto sobre una serie de parámetros fisiológicos: tono, amplitud y frecuencia de las contracciones intestinales, así como la estimulación colinérgica, por ser todos ellos parámetros que se ven fuertemente alterados en las reacciones alérgicas, de intolerancia e hipersensibilidad. Los resultados demuestran que la ingesta de *G. gigas* puede producir una modulación de la actividad colinérgica, originando importantes alteraciones de la motilidad y del tránsito intestinal (37).

Discusión

Desde el origen de la humanidad, los peces y otros animales acuáticos, tienen una gran importancia en la alimentación. La participación de la pesca en la alimentación total de los distintos países es muy variable dependiendo de las características geográficas respectivas. Así, mientras en las zonas no marítimas, el consumo del pescado, aporta por término medio el 12 % de la proteína animal ingerida; en las zonas costeras, esta cifra

llega a ser del 70 % (38). No es por lo tanto de extrañar la importancia sanitaria que tiene la realización de una buena inspección de los peces de consumo humano como posibles sujetos y/o fuentes de enfermedad. Las enfermedades de los peces pueden ser de origen bacteriano, micótico, vírico, medioambiental y, por supuesto parasitario, siendo este último el tema que nos ocupa (32).

Aunque se han descrito multitud de parásitos que afectan a los peces, son muy pocas las especies capaces de infectar al ser humano (39). No obstante, estos parásitos no tienen por que hacer daño al hombre sólo por el hecho de poder llegar a parasitarle, sino por el hecho de poder ser capaces de producir o poseer alguna toxina que provoque algún tipo de reacción adversa. Uno de los parásitos más frecuentes en el pescado de consumo humano es *G. gigas* (1), cestodo que pese a su frecuencia en la naturaleza está muy poco estudiado debido a su posible inocuidad. Pues bien, en la actualidad se cuestiona y se estudia, cada día con mayor asiduidad, la posible patogenicidad de este parásito pudiendo ser causante de determinadas intolerancias al pescado que presentan algunos individuos. Por todo ello, es de gran importancia un perfecto conocimiento tanto de todo lo que se ha estudiado de este parásito hasta la actualidad, estudios que se han visto limitados fundamentalmente a su encuadramiento taxonómico, características morfológicas, biológicas y epidemiológicas, aspectos estos dos últimos que han de conocerse a la perfección a la hora de establecer un buen control de los parásitos, y de los que aún hoy en día existen muchas incógnitas.

En cuanto a su taxonomía, se sabe que es compleja, como complejo es el encuadramiento taxonómico de todos los gusanos pertenecientes a su mismo orden, el orden *Trypanorhyncha*, que como ya hemos mencionado es considerado como uno de los órdenes más caótico y confuso de los grupos de gusanos planos. Y en cuanto a su biología, el enigma es más grande todavía, desconociéndose hasta la fecha su ciclo biológico completo. Por último, indicar que por una parte son prometedores tanto los estudios ultraestructurales realizados y que se están realizando con este parásito, así como aquellos referentes a su biología, pretendiendo con éstos saber un poco más de la vida de *G. gigas* y poder llegar a establecer buenas medidas de control y prevención y por otra parte, todo parece indicar que la ingesta de *G. gigas* puede provocar alteraciones de diversa índole y pueden ser la causa de algunos de los trastornos que aparecen en muchos individuos tras el consumo de pescados y mariscos que cada día se

denuncian con mayor asiduidad.

Agradecimientos

La realización de este trabajo ha sido posible gracias a la concesión de los proyectos E045/2000 y E045/2001 concedidos por la Universidad de Alcalá, y al proyecto CAL00-011-C2-01 concedido por el INIA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lotina-Benguria R, Marmachea-Bamiña M, Landa Axpe C. Peces de mar y de río. Ed. Urmo S.A, 1975. Tomos II y VI.
2. Seyda S. On a case of a mass invasion of cestode *Gymnorhynchus (Gymnorhynchus) gigas* (Cuvier 1817) larvae in muscles of *Brama raii* (Bloch 1791). Acta Ichthyologica Piscatoria 1976; 6: 59-65.
3. Vázquez-López C, De Armas-Serra C, Bernadina E.w, Rodríguez-Caabeiro F. Oral inoculation with *Gymnorhynchus gigas* induces anti-parasite anaphylactic antibody production in both mice and rats and adverse reactions in challenge mice. Int J of Food Microbiology 2000b; 64: 307-315.
4. Cuvier G. Le Regne animal Distribue d' Apres son organisation . 4 Vols. Paris
5. Diesing K. M. 1863. Revision der Cephalocotyleen. Abteilung: Paramecocotyleen Sitzungsberichten der Akademie der Wissenschaften in Wien. Mathematik-Naturwissenschaften Klasse 1817; 48: 200-345.
6. Wardle A, Mcleod JA. The zoology of tape worms. University of Minnesota Press. Minneapolis 1952.
7. Campbell Ra, Beveridge I. Order *Trypanorhyncha* Diesing 1863. Keys to the cestode parasites of vertebrates. De. Cab. International 1994; 51-149.
8. Dollfus RP. Etudes critiques sur les Tétrarhynques du Muséum de Paris. Archives du Muséum National d'histoire Naturelle Paris 1942; 19: 1-466.
9. Beveridge I, Campbell RA. *Chimaerarhynchus* n. g. and *Patellobothrium* n. g. two new genera of Trypanorhynch cestodes with unique poeciloacanthous armatures and a reorganization of the poeciloacanthous Trypanorhynch families. Systematic Parasitology 1989; 14: 209-225.
10. Beveridge I, Campbell RA. *Cetorhynchicola* n. g. *Shirleyrhynchus* n. g. and *Stragolorhynchus* n. g. three new genera of *Trypanorhynch* cestodes from elasmobranchs in Australian waters. Systematic Parasitology 1998; 12: 47-60.
11. Palm HW. Trypanorhynch Cestodes of Commercial Fishes from Northeast Brazilian Coastal Waters. Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de Janeiro 1997; 92 (1): 69-79.
12. Campbell Ra, Beveridge I. Revision of the Family Pterobothriidae Pintner 1931 (*Cestoda: Trypanorhyncha*). Invertebrate Taxonomy 1996; 10: 617-662
13. Brain A. Di un raro cestode trovato nei muscoli del pesce *Brama rayi* Schneid proveniente dal mercato di Genova (*Gymnorhynchus gigas* Cuvier). Annali del

- Museo Civico di Storia Naturale "Giacomo Doria". Supplemento Doriana 1952; 1: 3-70.
14. Mehl JAP. Two flesh parasites of barracouta (Teleostei: Gempylidae) from eastern cook strait. Freshwat.Res 1969; 3(4): 241-247.
 15. Panebianco F. *Lepidopus caudatus*. Biologia caratteri morfologici strutturali metodi di pesca parassitosi linea di condotta nella i.c. Progresso Veterinario 1953; 8:65-68.
 16. Díaz- Díaz E. Antocefalosis o vermes de la castañola. Rev. Iber. Parasit. 1960; 20: 54-55.
 17. Beveridge I, Campbell Ra, Palm HW. Preliminary cladistic analysis of genera of the cestode order *Trypanorhyncha* Diesing 1863. Systematic Parasitology 1999; 42: 29-49.
 18. Casado N, Urrea MA, Moreno MJ, Rodríguez-caabeiro F. Tegumental topography of the plerocercoid of *Gymnorhynchus gigas* (Cestoda: *Gymnorhynchidae*). Parasitol Res 1999a; 85: 124-130.
 19. Caira Jn, Bardos T. Further Information on *Gymnorhynchus isuri* (*Trypanorhyncha: Gymnorhynchidae*) from the Shortfin Mako Shark. J Helminthol Soc Wash. 1996; 63 (2): 188-192.
 20. Casado N, Moreno MJ, Urrea MA, Rodríguez-caabeiro F. Ultrastructural study of the papillae and presumed sensory receptors in the scolex of the *Gymnorhynchus plerocercoid* (Cestoda: *Trypanorhyncha*). Parasitol. Res. 1999b; 85: 964-973.
 21. Agenjo-Cecilia C. Enciclopedia de la inspección veterinaria y análisis de alimentos Ed. Espasa-Calpe (España) 1979; pp. 818-820.
 22. Carmona De Sao Clemente S, Correa-gomes D. Description of the adult form of *Nybelinia* (Syngenes) *rougetcampanae* DOLLFUS 1960 and some new data on *N. (N) bisulcata* (LINTON 1889) (*Trypanorhyncha: Tentaculariidae*). Mem Inst Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro 1992; 87 (1): 251-255.
 23. Lopez-Neira CR. Helmintos de los vertebrados ibéricos. Imprenta Urania. Granada 1947
 24. Heinz MI, Dailey MD. The *Trypanorhyncha* (Cestoda) of elasmobranch fishes from Southern California and Northern Mexico. Proceeding of the Helminthological Society of Washington. 1974; 41: 161-169.
 25. Mackenzie K. Cestode parasites as biological tags for mackerel (*Scomber scombrus*) in the Northeast Atlantic. J. Cons. int. Explor. Mer. 1990; 46:155-166
 26. Robinson ES. Same new Cestodes from New Zealand Marine fishers. Transaction of the Royal Society of New Zealand 86 Royal Society of new Zealand Victoria University Wellington. 1959.
 27. Radhakrishnan S, Nair NB, Balasubramanian NK. *Gymnorhynchus gigas* plerocercoid (Cestoda: *Gymnorhynchidae*) infection of the liver of *Diodon hystrix* (Pisces: *Diodontidae*). Acta Ichthyologica et piscatoria. vol XIII. Fasc. 1985; 2:141-147.
 28. Pellegrini N, Taccini E, Macri B, Panebianco A, Gori S. Infezione da *Gymnorhynchus gigas* in bramidi (*Brama raji*). Reperti anatomo-istopatologici e considerazioni patogenetiche. Estratto dagli Annali della Facoltà di Medicina veterinaria 1984; XXXVII:191-196.
 29. Vázquez-López C, De Armas-Serra C, Giménez-Pardo C, Rodríguez-Caabeiro F. Proteolytic activity of the *Gymnorhynchus gigas* plerocercoid: purification and properties of a collagenase from the crude extract. Parasitol Res. 1999; 85: 64-70.
 30. Vázquez-López C, De Armas-Serra C, Pérez-Serrano J, Giménez-Pardo C, Rodríguez-Caabeiro F. Localización of a 24-kDa collagenase in the *Gymnorhynchus gigas* plerocercoid. J of Helminthology. 2000a ; 74:183-187
 31. Saiz Moreno L. Control parasitológico en la inspección de algunos peces y moluscos. Libro jubilar Profesor Sanz. Engaña Altamira Madrid 1956.
 32. Garcia-Gimeno RM, Sánchez-Segarra PJ. Riesgos Sanitarios del pescado y Marisco. II. Enfermedades parasitarias micóticas virales y por contaminantes químicos. Alimentaria. 1997; 35(293): 97-101
 33. Meyer-Waarden Pf, Mann H. Beitrage zur Epidemiologie und Physiologie parasitischen Copepoden *Mytilicola intestinalis*. Arch. Fischereiwiss. 1950; 2: 120-134.
 34. Minniti A, Micali G, Lanuzza F, Panebianco A. Determination of Histamine in common sea fish parasites: *Anisakis simplex* and *Gymnorhynchus gigas*. Ital. J. Food.Sci. 1995; 3:305-310.
 35. Rodero M, Cuéllar C. Humoral responses induced by *Gymnorhynchus gigas* extracts in BALB/c mice. J. of Helminthology 1999; 73:239-273.
 36. Vázquez-López C, De Armas-Serra C, Rodríguez-Caabeiro F. Evaluación de la capacidad inmunógena de *Gymnorhynchus gigas* en animales de experimentación. Análisis clínicos 2000c; 25(3): 107-113.
 37. Vázquez-López C, De Armas-Serra C, Rivera L, De La Villa P, Rodríguez-Caabeiro F.. Effect of *Gymnorhynchus gigas* plerocercoid crude extract homogenate on the rat ileum motility *in vitro*. Int. J. of Food Microbiology 2000d (En prensa).
 38. Fehlhaber K, Janetschke P. Higiene y veterinaria de los Alimentos. Ed. Acribia.S.A. 1995.
 39. Adams Am, Murrel Kd, Cross JH.. Parasites of fish and risks to public health. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 1997; 16: 652-660.

ULTRASONOGRAFÍA REPRODUCTIVA EN PRODUCCIÓN PORCINA

S Williams, P Piñeyro, RL de la Sota

Instituto de Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

RESUMEN: La productividad de una explotación porcina depende en gran medida de la eficiencia reproductiva. La detección temprana de cerdas no gestantes tiene un importante efecto sobre esta última al disminuir los días no productivos (DNP) por cerda y por año. Además del control del no retorno a los 21 ± 3 días post-servicio o inseminación artificial, existen otros métodos para confirmar la preñez, que se basan en el uso del ultrasonido, como el efecto Doppler o la ultrasonografía tipo A y B. Los dos primeros son métodos más accesibles económicamente, pero con baja efectividad en sus diagnósticos y sólo pueden realizarse a partir de los 30-35 días de gestación. En contraste, con el ultrasonido tipo B, ultrasonografía en tiempo real (UTR) o ecógrafo de pantalla, se obtiene un diagnóstico de gestación certero y precoz (21 ± 3 días post-servicio) y permite decidir inmediatamente sobre el destino de las cerdas vacías: inducción del celo o descarte. La UTR reproductiva en la cerda puede realizarse por la vía transabdominal o transrectal y se utiliza para: 1) el diagnóstico de gestación; 2) la detección de patologías uterinas y 3) determinar la actividad o inactividad del ovario y posibles patologías; contribuyendo todo ello a poder realizar un diagnóstico de situación de una explotación porcina y mejorar sus índices reproductivos.

Palabras clave: diagnóstico de gestación, ultrasonografía, reproducción porcina

REPRODUCTIVE ULTRASOUND IN PIG PRODUCTION

ABSTRACT: Early and accurate diagnosis of nonpregnant sows and gilts have the potential to increase reproductive efficiency in pig production by reducing nonproductive days (NPD) per sow and per year. Besides the absence of heat (non-return to oestrus) 21 ± 3 days postmating/artificial insemination, several other methods have been used for pregnancy diagnosis. Such methods include the use of Doppler and A or B-mode ultrasound. With Doppler or A-mode ultrasound, although the initial investment of purchasing the equipment is low, more «false positive» or «false negative» diagnosis are obtain and hence cannot be used before 30-35 days of gestation. In contrast, with B-mode ultrasound or real time ultrasonography (RTU), pregnancy diagnosis has more sensitivity and specificity and it can be done much earlier, around 18 to 22 days postmating, so can decide immediately of the future of nonpregnant sows: oestrus induction or culling. Gynecology B-mode ultrasonography is a useful tool in swine production for: 1) pregnancy diagnosis; 2) identification of uterine pathologies and 3) assessment of ovarian status and the presence of ovarian cysts. B-mode ultrasonography is an early and accurate pregnancy diagnosis that allows to make an early decision of the future of open sows: oestrus induction or culling and therefore to decrease the nonproductive days per sow per year in order to obtain better reproductive performance in swine herds.

Key words: pregnancy diagnosis, ultrasound, pig reproduction

Fecha de recepción: 15/04/01

Fecha de aprobación: 20/12/01

Dirección para correspondencia: S.Williams, CC 296 (B1900AVW) La Plata, ARGENTINA.

E-mail: swilliams@fcv.medvet.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La productividad de una explotación porcina depende en gran medida de la eficiencia reproductiva, donde el número de lechones destetados, las camadas por cerda por año y la cantidad de días no productivos (DNP) influyen considerablemente. La detección temprana de cerdas vacías permite disminuir los DNP y por lo tanto mejorar la eficiencia reproductiva.

En forma rutinaria, la preñez se diagnostica con la ausencia de celo (no retorno) a los 21 ± 3 días post servicio o inseminación artificial. En varias especies animales, el diagnóstico de gestación puede realizarse por medio de una maniobra semiológica como es la palpación rectal, a través del reconocimiento de estructuras ováricas y uterinas asociadas a la gestación. En la cerda, la estrechez del canal rectal, la longitud de los cuernos uterinos y el desplazamiento que va sufriendo el aparato genital en las sucesivas gestaciones, hacen que sólo pueda palparse el frémito y tamaño de la arteria uterina media y la consistencia y textura del cuello uterino.

En producción porcina cada vez es más frecuente el uso de otros métodos para la confirmación de la preñez, con el propósito de identificar de una manera precoz y certera las hembras no preñadas, ya que la no identificación de cerdas vacías disminuye considerablemente la eficiencia reproductiva.

Los métodos más utilizados son los basados en el ultrasonido, como el efecto Doppler y la ultrasonografía tipo A, ambos accesibles económicamente, pero con mayor margen de error, ya sea por dar resultados «falsos positivos» (cerdas diagnosticadas como gestantes y que no paren) o bien «falsos negativos» (cerdas diagnosticadas como vacías y que están preñadas).

El método basado en el efecto Doppler, capta sonidos reflejados por cualquier líquido en movimiento y, así, los indicativos de gestación son el flujo de la arteria uterina media, el flujo de los vasos umbilicales y los latidos cardíacos del feto. El ultrasonido tipo A, detecta la diferencia de densidad acústica ante la presencia de líquidos o no en la cavidad abdominal; el indicativo de gestación es la detección de líquido amniótico, aunque la presencia de orina en la vejiga o la acumulación de material purulento en el útero pueden dar resultados «falsos positivos».

A pesar de su bajo costo y su fácil realización, ambos métodos poseen dos importantes li-

mitantes: 1) la baja eficiencia de los resultados, fundamentalmente dado por la baja especificidad, por obtenerse un alto número de resultados «falsos positivos» (1, 2), y 2) que los diagnósticos pueden realizarse recién a los 30-35 días post servicio, momento a partir del cual los mencionados métodos son capaces de diagnosticar gestación (3).

En contraste, el ultrasonido tipo B, ultrasonografía en tiempo real (UTR) o ecógrafo de pantalla es un método para el diagnóstico de gestación con un alto índice de sensibilidad y especificidad que permite obtener resultados ya a partir de los 21 ± 3 días post servicio (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). Este diagnóstico precoz de gestación, permite decidir inmediatamente sobre el destino de las hembras vacías (inducción a celo o descarte) y, así, reducir el número de días no productivos por cerda y año. Además la visualización de estructuras ováricas posee numerosas aplicaciones en producción porcina. La determinación del tiempo de ovulación permite una mayor precisión en el momento de inseminación artificial, que posibilitaría el aumento de la tasa de parición y del tamaño de camada. También la UTR permite la detección de animales infértiles, causado por anomalías ováricas y uterinas (8, 11).

La UTR ha sido utilizada para evaluar la temperatura trans rectal como indicador del momento óptimo de inseminación artificial. Por medio de la UTR se pudo monitorear el momento de ovulación y determinar que el aumento de la temperatura trans rectal no era un indicador preciso del momento de ovulación en la cerda. Otros métodos que se compararon con la UTR fueron determinaciones hormonales en heces, como la presencia de progesterona (PG) entre los días 20-25 post cubrición con una sensibilidad del 97,6 % (12) y la de estrona a los 26-32 días de preñez, con una sensibilidad del 96,5 % (13)

Reseña anatómica

El aparato genital de la cerda es una estructura tubular y las partes que lo componen de craneal a caudal son los oviductos, los cuernos, el cuerpo y el cuello uterino, la vagina, el vestíbulo y la vulva. Este sistema tubular, tiene asociada una glándula de función exócrina y endócrina, que es el ovario. El aparato genital puede dividirse en una porción fija situada en la cavidad pelviana y compuesta por el vestíbulo, la vagina y el cuello del útero. El cuerpo y cuernos uterinos, los oviductos y los ovarios componen la porción móvil, dado por la laxitud y el largo del aparato suspensor y ubicada en la cavidad abdominal (14).

Para poder obtener los mejores resultados durante el diagnóstico de gestación, no sólo se deben conocer las estructuras que componen al aparato genital, sino además sus áreas de proyección y relaciones. La porción del aparato genital que se explora está proyectada sobre la región del hipo y mesogastrio. Dentro de la primera, en las sub regiones inguinal y pre pubiana se localizan los cuernos con una gestación temprana; mientras que en el mesogastrio, en la sub región del flanco, se proyectan el útero con gestación avanzada (más de 7 semanas) y los ovarios.

Los órganos más importantes con los que se va a relacionar el aparato genital en la cavidad abdominal, son el estómago y el intestino. El primero se ubica normalmente en la sub región abdominal craneal, sin embargo, cuando está moderadamente lleno se desplaza hacia caudal, contactando con la pared abdominal izquierda. Caudal al estómago, el intestino adopta una disposición característica que se denomina «colon espiral» y que también contacta con la pared abdominal izquierda. Por estos motivos, los diagnósticos trans abdominales se prefieren realizar sobre la pared abdominal derecha.

PRINCIPIOS DE LA ULTRASONOGRAFÍA

El ultrasonido se basa en la emisión de ondas de sonido cuya frecuencia supera el nivel audible. Estas ondas de ultrasonido se desplazan en forma longitudinal, y al chocar con un elemento reflectante (interfase o tejidos) generan un eco que vuelve al lugar de origen, este eco es recibido y representado en forma de imagen o de registro.

Que el sonido sea o no audible va a depender de la frecuencia. Esta es la cantidad de vibraciones que puede realizar una partícula por segundo. La unidad establecida para la medición de la frecuencia es el Hertz (Hz), el cual mide el número de ciclos por segundo. Un ciclo es el trayecto que hace una partícula para recorrer una onda independientemente de su longitud, es decir, es la oscilación que hace la partícula en un segundo. El rango audible humano va desde los 16.000 hasta los 20.000 Hz, por encima de esta frecuencia se está en presencia del ultrasonido.

Las ondas de sonido que se utilizan en ultrasonografía van desde los 3.5 hasta los 10 Mhz (1 Mhz= 1.000.000 de Hz). Estas son emitidas por una sonda o transductor que contiene cristales piezoeléctricos en su interior. Estos cristales son excitados por medio de impulsos eléctricos. Una vez producido ésto, las ondas de sonido son emitidas y van a viajar por los tejidos, al chocar con

una interfase se genera un eco, que va a ser captado nuevamente por el transductor. Estas ondas son graficadas en una pantalla a través de una escala de grises, que utiliza aproximadamente 256 tonos. La tonalidad de estos puntos está en relación a la densidad de los tejidos que atraviesa y a la profundidad a la que llega la onda sonora. Así, estructuras de menor densidad se reflejan de color negro (imágenes anecogénicas o anecoicas) tales como folículos ováricos, vesículas embrionarias y la vejiga urinaria (ésta se tiene como punto de referencia para visualizar el aparato reproductor.) Por el contrario, tejidos densos tienen mayor capacidad de reflejar las ondas sonoras (ecogénicas), y se muestran de color blanco en la pantalla (imágenes hiperecogénicas o hiperecoicas), tal como los huesos pélvicos.

Existen distintos tipos de sondas o transductores: sectoriales (convex o micro-convex) o lineales, y con diferente frecuencia: de 3.5; 5; 7.5 o 10 Mhz. Los transductores de alta frecuencia (7.5 o 10 Mhz) producen ondas menos penetrantes, pero de mayor resolución y son útiles para estructuras relativamente pequeñas, como los folículos ováricos o las vesículas embrionarias desde distancia no mayores a 5 a 8 cm. Las ondas de los transductores de 3.5 o 5 Mhz penetran más profundamente, pero son de menor poder de resolución, con lo cual son útiles para estructuras más grandes, como fetos o gestaciones avanzadas que se encuentren a distancias superiores a 10 cm.

Los transductores sectoriales o convex, reflejan una imagen sobre la pantalla en forma de «porción de torta», mientras que los lineales muestran una imagen rectangular.

APLICACIÓN DE LA ULTRASONOGRAFÍA REPRODUCTIVA EN PRODUCCIÓN PORCINA

La ultrasonografía reproductiva puede realizarse a través de la pared abdominal o por vía trans rectal, para lo cual será necesario tener al animal inmovilizado, preferiblemente en una jaula.

Para las ecografías trans abdominales, la sonda debe ubicarse sobre la pared abdominal derecha, a unos 5 cm sobre los dos últimos pares de mamas. Es necesario colocar gel obstétrico sobre la superficie de la sonda para una mayor transmisión y captación de las ondas a través de la piel. Ubicado el transductor en esa posición, las ondas sonoras reflejan imágenes perpendiculares de la cavidad abdominal.

Para los diagnósticos ecográficos trans rectales, la sonda deberá colocarse en una guía realizada de material no irritante (i.e. tubo de plástico de 5 cm de diámetro). Antes de introducir la sonda, puede ser necesario vaciar de heces el contenido del recto. La sonda se introduce por vía rectal, penetrando unos 30-40 cm.

Ovarios

Las estructuras ováricas se visualizan más fácilmente con la ecografía trans rectal. En forma práctica, la identificación del ovario se utiliza para: 1) controlar el desarrollo folicular en el período peri ovulatorio (15), y 2) fundamentalmente, para determinar la actividad o inactividad ovárica en casos individuales de baja performance reproductiva. Sin embargo, la capacidad de diagnóstico de la actividad cíclica o de patologías en el ovario, está relacionada con el tipo de ecógrafo empleado y la experiencia del profesional (10).

Los folículos ováricos se ven como estructuras anecoicas, de contorno redondeado y de un diámetro de 1 a 6 mm, pudiendo aumentar a 8-11 mm en períodos cercanos a la ovulación (Foto N°1).

Foto N°1: Folículos ováricos.
Photo N°1: Ovary follicles.



génicas, diferenciados débilmente del resto del estroma ovárico.

Con la ecografía de pantalla se puede diagnosticar la presencia de quistes ováricos y folículos luteinizados (11). Estos se visualizan como estructuras hipo o anecoicas y con un diámetro de 12 a 50 mm. La incidencia de quistes ováricos puede llegar a ser de 5 al 14 % (16, 17) y su importancia está relacionada con el número y la frecuencia de dichos quistes. Un solo quiste ovárico

no produciría desórdenes reproductivos, pero si su número es mayor o bien las cerdas presentan repeticiones causadas por la presencia frecuente de quistes ováricos, se aconseja la eliminación de estos animales con antecedentes de infertilidad.

Útero

Útero no grávido. Ante la presencia de un útero no grávido, las imágenes muestran secciones transversales de los cuernos uterinos, que podrían confundirse con asas intestinales.

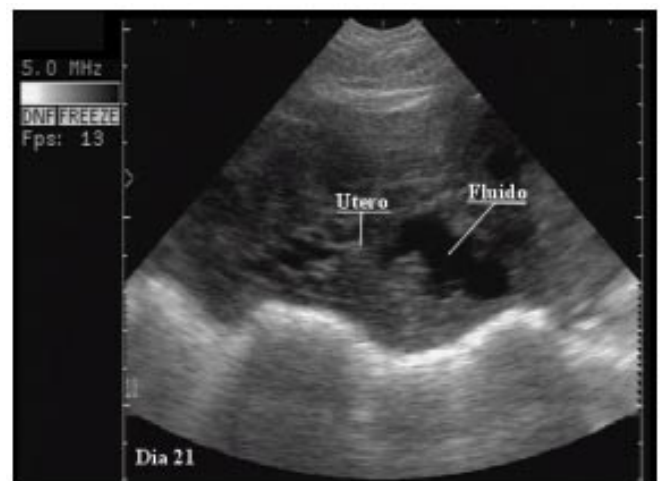
Diagnóstico de gestación

Entre los días 12 a 13 de gestación, el blastocisto comienza su fijación que se completa en toda la superficie trofoblástica entre los días 18 a 24. El día 20 post servicio, aumenta el volumen de la vesícula embrionaria y la diferenciación de las envolturas (18).

La presencia de vesículas embrionarias en los cuernos uterinos, es un indicativo de preñez en la cerda. Estas estructuras son difíciles de distinguir antes del día 20 post servicio, cuando es muy frecuente dar un falso diagnóstico.

Sin embargo, hacia el fin de la tercer semana de gestación, las vesículas embrionarias tienen un diámetro de 10 a 20 mm, con lo cual es fácil identificar su imagen anecogénica, por la presencia de líquido amniótico, dentro de la cual se distingue una imagen ecogénica, que representa al embrión (Foto N°2).

Foto N°2: Diagnóstico de gestación, 21 días post-servicio.
Photo N°2: Pregnancy diagnosis, 21 days postmating



Existen varios métodos para evaluar la edad gestacional, aunque durante las primeras tres semanas es una tarea de difícil realización.

A medida que avanza la gestación, las imágenes indicativas de preñez son más inequívocas, debido al aumento en el tamaño de las vesículas embrionarias y de los embriones (Foto N°3), haciendo que el diagnóstico de gestación por UTR luego del día 28 de gestación sea un método con el 100 % de eficiencia. Alrededor del día 30 de gestación, el contorno del embrión se vuelve evidente (19).

Foto N°3: Diagnóstico de gestación, 36 días post-servicio.

Photo N°3: Pregnancy diagnosis, 36 days postmating



En las semanas siguientes, varios de los órganos internos en desarrollo pueden ser visualizados: a partir de la 6ª o 7ª semana, ecográficamente se pueden distinguir los latidos cardíacos y el estómago, cuya cavidad se hace visible a partir de esa fecha, correspondiendo a un feto de aproximadamente 50 a 60 mm. La parrilla costal se podría evaluar en fetos de 75-80 mm y con una edad gestacional de 7 a 8 semanas. La órbita, el estómago y los latidos cardíacos se individualizan como imágenes hipoeoicas y las vértebras, costillas y huesos largos se observan hiperecoicas (19).

Además del uso como método precoz de gestación entre los 18 a 22 días post servicio, la ecografía es útil en la re confirmación de la preñez, la confirmación de la vitalidad fetal (por la observación de los latidos cardíacos) y el cálculo del crecimiento de los fetos, con la medición de la cavidad del estómago y su relación con la edad gestacional (Fotos N° 4 y 5). Todo esto se realiza a partir de la 6ª semana (entre 45 y 55 días de gestación), fundamentalmente en explotaciones con antece-

denes de fallas reproductivas, cerdas con repeticiones de celo acíclicas o que llegan vacías al parto.

Foto N°4: Diagnóstico de gestación, 50 días post-servicio, con medición de la cavidad del estómago.

Photo N°4: Pregnancy diagnosis, 50 days postmating with the measurement of the stomach cavity



Foto N°5: Diagnóstico de gestación, 51 días post-servicio, indicando las cavidades correspondientes al corazón y estómago fetales.

Photo N°5: Pregnancy diagnosis, 51 days postmating, showing the heart and stomach cavities of the fetus.



Patologías uterinas

El ultrasonido tipo B es útil en la identificación de patologías uterinas, como es la presencia de material purulento o piómetra, pudiéndose ver imágenes ecogénicas y heterogéneas, con la pared del útero a veces engrosada (11).

Estas patologías uterinas son difíciles de diagnosticar utilizando el Doppler o el ultrasonido tipo A, ya que darían un resultado positivo, al igual que con la preñez.

Por lo tanto, la ecografía tiene la ventaja de poder diferenciar cerdas con presencia de piómetra y descartarlas de inmediato.

CONCLUSIONES

El uso de la ultrasonografía reproductiva en producción porcina es de gran utilidad para el diagnóstico de gestación ya a partir de los 18 a 22 días, convirtiéndose en un método precoz, que unido a su alta sensibilidad y especificidad permite rápidamente decidir sobre el destino de las cerdas vacías y así, disminuir los días no productivos.

Asimismo, este método posibilita el diagnóstico de patologías reproductivas, tales como la presencia de quistes ováricos o colectas uterinas (metritis). Debido a que en el examen ginecológico por ultrasonografía se requiere la interpretación fisiológica y/o patológica de las imágenes anatómicas que brinda el sistema, es necesario contar con un profesional veterinario con experiencia

Las desventajas en el uso de los ecógrafos, hasta el momento, se deben al tamaño considerable de algunos aparatos que dificultan las tareas en una granja y al elevado costo de los mismos. Sin embargo, como ocurre con la mayoría de las nuevas tecnologías, en la medida que aumente su utilización disminuirá sensiblemente su costo, lo cual permitirá difundir esta metodología y aprovechar sus incuestionables ventajas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Flowers WL, Armstrong JD, White SL, Woodard TO, Almond GW. Real-time ultrasonography and pregnancy diagnosis in swine. Proceedings of the American Society of Animal Science, 1999; Indianapolis, Indiana, USA: 1-9.
2. Williams S, Piñeyro P, de la Sota RL. Efficiency of pregnancy diagnosis using real-time ultrasonography and Doppler Echo⁺. Proceedings of the 32th Annual Meeting of the American Association of Swine Veterinarians (AASV), 2001, 24 al 27 de febrero, Nashville (Tennessee) USA,; 2001, p. 545-547.
3. Williams S, Piñeyro P, de la Sota RL. Estudio comparativo de dos métodos ultrasonográficos para el diagnóstico de gestación en cerdas. Memorias del Congreso Mercosur de Producción Porcina, 2000; 22-25 de octubre Buenos Aires, Argentina, 2000, R3
4. Inaba T, Nakazima N, Matsui N, Imori T. Early pregnancy diagnosis in sows by ultrasonic linear electronic scanning. Theriogenology 1983; 20 (1): 97-191.
5. Botero O, Martinat-Bottè F, Bariteau F. Use of ultrasound scanning in swine for detection of pregnancy and some pathological conditions. Theriogenology 1986; 26 (3): 267-278.
6. Kauffold J, Ritcher A. Two years of ultrasonography in swine gynaecology - experiences. Reprod Dom Anim, 1997; 32 (1-2), S 115 (Abstr.)
7. Kauffold J, Richter A, Sobiraj A. Ergebnisse und Erfahrungen einer zweijährigen untersuchungstätigkeit im rahmen der sonographischen Trächtigkeit-Kontrolle Bein sauen zu unterschiedlichen graviditätstagen. Tierärzte Prax.; 1997; 25: 429-437.
8. Kauffold J, Ritcher A, Sobiraj A. Ultrasonography in swine gynaecology - Applications and perspectives. Proc of Intern Conf on Pig Production, 1998; Beijing: 647-651.
9. Waberski D, Wietze KF. Sonographic diagnosis of reproductive failures in the pig - New aspects. Prakt Tierarzt, 1998; 41-44.
10. Waberski D, Kunzschmidt A, Wagnerrietschel H, Kerzel I, Weitze KF. Ultrasonography in swine gynecology - Possibilities and limits. Prakt Tierarzt, 1998; 79: 257-262
11. Knox RV, Althouse GC. Visualizing the reproductive tract of the female pig using real-time ultrasonography. Swine Health Prod. 1999; 7 (5): 207-215.
12. Moriyoshi M, Nozoki K, Ohtaki T, Nakada K, Nakao T. Early pregnancy diagnosis in the sow by fecal gestagen measurement using a bovine milk progesterone qualitative test EIA kit. Journal of Reproduction and Development, 1997; 43 (4): 345-350
13. Vos EA, Van Oord R, Taverne MAM, Kruip TAM. Pregnancy diagnosis in sows: direct ELISA for estrone in feces and its prospects for an on-farm test, in comparison to ultrasonography. Theriogenology 1999; 51: 829-840.
14. Sisson y Grosman. Anatomía de los animales domésticos. Quinta Ed. Salvat Editores, S.A., 1982
15. Soede NM, Hazeleger W, Broos J, Kemp B. Vaginal temperature is not related to the time of ovulation in sows. Anim Reprod Sci, 1997; 47: 245-252.
16. Nalbandov AV. Anatomic and endocrine causes of sterility in female swine. Fertil. Steril; 1952; 3: 100-114.
17. Wrathall AE. Ovarian disorders in the sow. The

Veterinary Bulletin, 1980; 50: 253-272.

18. Patten BM. The process of cleavage and the formation and early differentiation of the germ layers. En: The embryology of the pig. Second Ed. Copyright, 1931, chapter IV, pp 37-59

19. Kähn W. Ultrasonography in the pig. En: Veterinary Reproductive ultrasonography. Mosby-Wolfe Ed. London (United Kingdom), 1994, pp. 213-226

ACROMEGALIA DEL DIESTRO EN LA PERRA

Y Corrada; C Gobello

Cátedra de Reproducción Animal e Instituto de Teriogenología.
Área de Pequeños Animales. Facultad de Ciencias Veterinarias
INIBIOLP Histología "B" Facultad de Medicina.

Resumen: La acromegalia o hipersomatotrofismo canino se caracteriza por una hipersecreción crónica de hormona del crecimiento (GH). Dicha hipersecreción de GH es inducida por la elevada progesteronemia que caracteriza a la fase lútea del ciclo estral canino, como así también, por tratamientos con progestágenos utilizados corrientemente para suprimir el ciclo estral. Las manifestaciones clínicas se traducen por el crecimiento excesivo del tejido muscular, óseo y visceral y, usualmente, desarrollo de intolerancia a la glucosa. Signos clínicos de hipotiroidismo y/o hipercorticismismo están eventualmente asociados. Debido a la hiperproducción de GH, el riesgo de desarrollar neoplasias mamarias como así también el complejo de hiperplasia endometrial quística- piómetra se ve incrementado a medida que transcurren los sucesivos ciclos estrales durante la vida del animal. Debido a esto, la castración temprana constituye el mejor método de prevención y/o tratamiento de la acromegalia canina. El entendimiento de los trastornos asociados a las variaciones de la secreción de la GH relacionadas con el ciclo estral canino permiten prevenir la instalación de posibles desórdenes endócrinos permanentes.

Palabras claves: diestro- hormona de crecimiento- acromegalia- perra

CANINE DIESTROUS ACROMEGALY

Abstract: Canine acromegaly or hypsomatotrophism is characterized by a chronic hypersecretion of growth hormone (GH). GH hypersecretion is induced by high plasmatic progesterone concentrations which characterize luteal phase of canine estrous cycle. This endocrine disorder is also caused by administration of exogenous progestins frequently used for estrous cycle suppression. Clinical signs of acromegaly consist of excessive muscular, bone and visceral growth and glucose intolerance. Affected bitches usually develop hypothyroidism and hyperadrenocorticism. Also, in successive estrous cycles, the risk of developing mammary neoplasia and cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex increases. Early spaying constitutes the best method for prevention and/or treatment of canine acromegaly. Full understanding of the alterations of GH secretion associated to estrous cycle will prevent permanent endocrine disorders in the bitch.

Key words: diestrous- growth hormone- acromegaly- bitch

Fecha de recepción: 19/07/01

Fecha de aprobación: 14/03/02

Dirección para correspondencia: Yanina Corrada. Cátedra de Reproducción Animal. Instituto de Teriogenología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata (B1900AVW). Buenos Aires. Argentina **E-mail:** gcorrada@netverk.com.ar

Introducción

La acromegalia en la perra es el resultado de la hipersecreción crónica de hormona de crecimiento (GH) que se traduce por el crecimiento exagerado del tejido muscular, óseo y visceral, como así también por disturbios del metabolismo glucídico (1, 2, 3).

La primera indicación de que la acromegalia podía ocurrir en los caninos fue descripta por Groen y col. en 1964 (4), en una perra con diabetes mellitus y resistencia a la insulina desarrollada durante el diestro. El animal, debido al exceso de GH, presentaba ensanchamiento de la cara, patas y espacios interdigitales, presentando el conjunto una apariencia tosca. Al realizar su autopsia, no se halló un tumor pituitario y la causa de la acromegalia permaneció incierta. Años más tarde, se comprobó que la administración de progestágenos ocasiona elevación reversible de los niveles plasmáticos de GH circulante (5, 6).

La acromegalia canina es observada generalmente en hembras no castradas, enteras de una edad frecuentemente superior a los 8 años. Sin embargo, también puede ser diagnosticada en hembras de menor edad (4-5 años) (7, 8).

Los signos clínicos de la acromegalia sobrevienen luego de la exposición prolongada a la alta progesteronemia, lo cual explica que esta patología se encuentre en hembras seniles ya que los sucesivos ciclos estrales, caracterizados por fases lúteas con elevados niveles de progesterona (P₄) y de larga duración (aún en ausencia de gestación), incrementa el riesgo de padecer dicha afección.

En este trabajo de revisión se describen las características clínicas, diagnósticas y terapéuticas más relevantes de la acromegalia de la hembra canina, cuya etiología se identifica con la hiperprogesteronemia del diestro a la que se podría sumar tratamientos consistentes en la administración exógena de P₄.

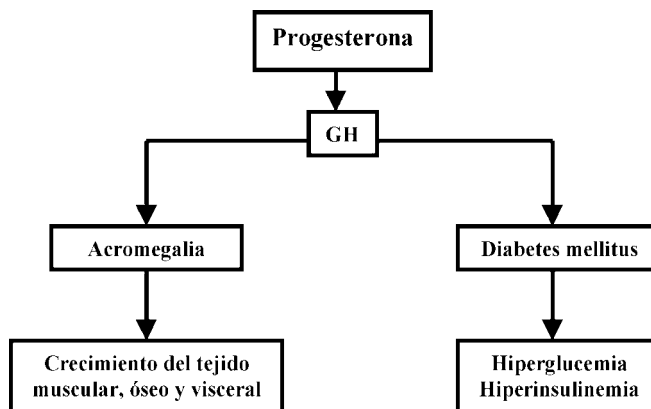
Etiopatogenia

Inicialmente se atribuyó un origen pituitario de la acromegalia inducida por la P₄, siendo esta hipótesis posteriormente descartada al realizar la hipofisectomía en perras con elevada concentración de GH plasmática y observar que dichos niveles no descendían luego de la intervención (6). El análisis del contenido de GH en homogenatos de diversos tejidos del organismo revelaron alta concentración de GH inmunoreactiva en extractos de glándula mamaria, concluyéndose por

lo tanto, en el origen mamario de la producción de GH inducida por la P₄ (9). Diversos autores establecieron el efecto estimulador de los progestágenos sobre la secreción de GH en la perra (10, 11) (Figura I).

Figura I: Patogenia de la acromegalia (adaptado de Senecat 2000)

Figure I: Pathogenesis of acromegalia (adapted from Senecat 2000).



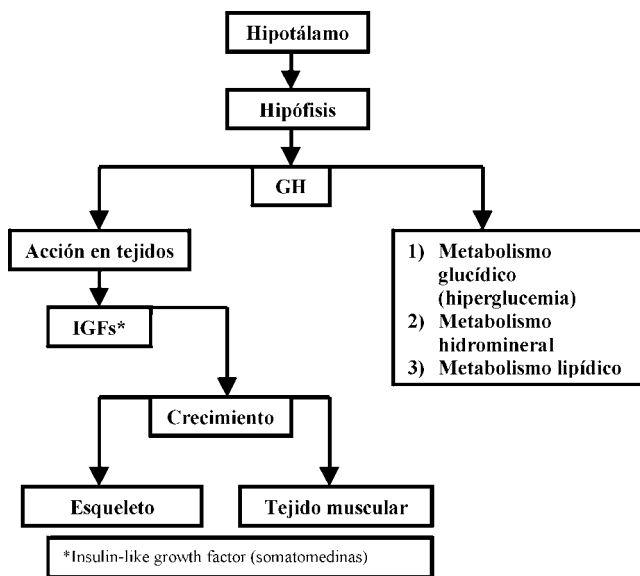
La GH inducida por la P₄ es responsable, en parte, de estimular la proliferación del epitelio mamario en cada ciclo estral, lo cual podría conducir a su posterior transformación tumoral. Esto último podría explicar la frecuencia elevada de nódulos mamaros observados en perras acromégicas (9, 12). En un estudio se demostró que la mastectomía de glándulas tumorales en la perra ocasiona una brusca disminución de la concentración plasmática de GH a sus valores basales normales (13), lo cual sugiere que la producción de GH se produce asimismo en las glándulas mamaras tumorales. La expresión del gen de GH en la mama se halla restringida a áreas focales de hiperplasia del epitelio mamario, predominantemente en las células epiteliales ubicadas entre el lumen y el mioepitelio (9, 14). La acromegalia secundaria a tumor hipofisiario secretor en la especie canina es anecdótica (15).

La GH tiene efectos directos en los tejidos o indirectos a través de factores de crecimiento insulino-miméticos: las somatomedinas o IGFs (*insulin-like-growth factor*), estimulando la síntesis hepática (Figura II).

La GH es una hormona diabetogénica y, por lo tanto, ocasiona hiperglucemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina. El exceso de GH ocasiona una disminución del número de recep-

Figura II: Acción de la GH (adaptado de Senecat 2000)

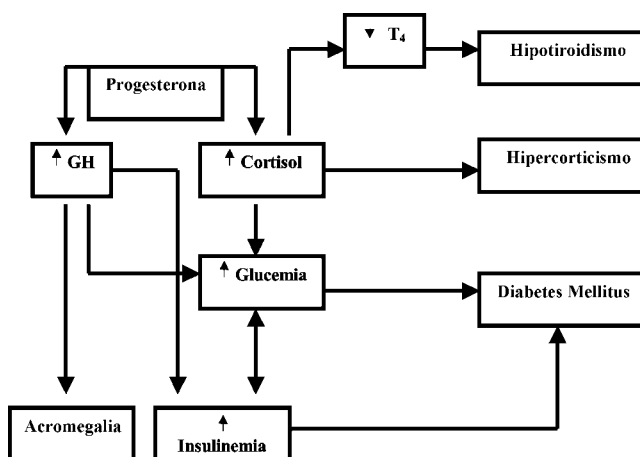
Figure II: Effects of GH (adapted from Senecat 2000)



tores de insulina, una alteración en la etapa post receptor, y una alteración del metabolismo intracelular de la insulina. El hypersomatotrofismo eventualmente se asocia a una hipereactividad córticosuprarrenal y a hipotiroidismo (11) (Figura III).

Figura III: Patogenia de los desórdenes endócrinos resultantes de la hiperprogesteronemia ligada al ciclo estral (adaptado de Senecat 2000)

Figure III: Pathogenesis of endocrine disorders associated with oestrus cycle high progesterone concentrations (adapted from Senecat 2000)



La hiperprogesteronemia induce, entre otras cosas, hipercorticismo a consecuencia de la competición de los sitios de fijación de las proteínas de transportes comunes (*cortisol binding globulin*) (12, 16). Sin embargo, en raras ocasiones puede

desencadenar hipocorticismo, por bloqueo del retrocontrol ejercido por el cortisol sobre la producción de ACTH. El hipotiroidismo secundario puede sobrevenir a consecuencia de la acción inhibitoria que ejercen los corticoides sobre la función tiroidea (17).

La diabetes mellitus puede ser el resultado tanto del hypersomatotrofismo, como de la hipercortisolemia, o de la acción glucocorticoide de los progestágenos (16). Estos desequilibrios hormonales pueden asimismo ocasionar perturbaciones de la actividad gonadal (18). Del mismo modo, y debido a la presencia de receptores de GH en las células epiteliales del útero de la perra, la elevación de los niveles plasmáticos de GH inducido por la alta progesteronemia predispone a padecer el complejo de hiperplasia endometrial quística-piódmetra (HEQ-P) (10).

Signos clínicos

Las manifestaciones clínicas generalmente reflejan las acciones catabólicas o anabólicas de la GH. Los signos clínicos de la hipersecreción de GH tienden a un desarrollo lento y se caracterizan, inicialmente, por un incremento del tejido blando de la cara y el abdomen. La gradual proliferación del tejido óseo y conectivo ocasiona aumento del tamaño corporal, manifestándose principalmente por el agrandamiento de los miembros, dedos, cabeza y abdomen. El desarrollo del hueso mandibular produce prognatismo con incremento de los espacios interdentes (19, 20). La acumulación dérmica de hialuronidasa conduce a mixedema. También puede presentarse hipertricotosis (20).

En algunos perros la severa hipertrofia de los tejidos blandos de la boca, lengua y faringe ocasiona ronquidos con disnea inspiratoria. Esto conduce a un paulatino deterioro respiratorio con intolerancia al ejercicio, fatiga y jadeo frecuente. La cardiomiopatía puede ser una secuela de la acromegalia, y cuando se presenta también se acompaña de signos respiratorios (21).

El hypersomatotrofismo crónico genera intolerancia a la glucosa y eventualmente diabetes mellitus no insulino dependiente e insulino resistente (8, 22). Algunas perras presentan solamente (en función de la evolución) una etapa "pre-diabética" subclínica, con hiperinsulinemia y glucemia normal o levemente aumentada (3, 23). En otra perras acromegálicas se instala una diabetes no insulino dependiente, caracterizada por hiperinsulinemia, hiperglucemia moderada y síndrome poliuria/polidipsia (PU/PD). En ausencia de tra-

tamiento es posible que aparezca una diabetes insulino dependiente debido a que la insulino resistencia prolongada ocasiona la estimulación permanente de las células β del páncreas produciendo finalmente el agotamiento de las células pancreáticas productoras de insulina (23, 24). El resultado es una hipoinsulinemia e hiperglucemia franca que se traduce en PU/PD y posteriormente polifagia (25). Sin embargo, la PU/PD puede observarse en la mayoría de las hembras acromegálicas, aún en ausencia de diabetes mellitus. La PU en estos casos es atribuida a la presencia de una diabetes insípida transitoria, ocasionada por la influencia directa o no de la GH sobre la secreción del sistema arginina-vasopresina (11).

Los signos clínicos de hipotiroidismo y/o hipercorticismismo están eventualmente asociados (17, 26). El hipotiroidismo concomitante ocasiona un estado de letargia, mientras que el hipercorticismismo, cuando se presenta, contribuye a la PU/PD, polifagia, distensión abdominal y hepatomegalia.

Entre las anomalías de la función reproductiva y del aparato reproductor se encuentran la galactorrea, el desarrollo de nódulos mamaros, y la piómetra (9, 12, 27, 28).

Diagnóstico

El diagnóstico presuntivo se basa en la relación temporal entre los signos clínicos presentes y el ciclo estral o la administración repetida de progestágenos. Los principales signos de aparición de la acromegalia son PU/PD y sobrepeso ponderal. La repetitividad de los síntomas en el curso del período post-estro es particularmente evocativa (8).

El diagnóstico diferencial engloba las otras causas de PU/PD, en particular la diabetes mellitus y el hipercorticismismo. La diabetes mellitus puede ser también secundaria a otros desórdenes endócrinos (26).

Exámenes complementarios de orientación

Ciertos exámenes complementarios permiten confirmar la sospecha clínica de acromegalia.

* Radiología: evidencia aumento de volumen del tejido muscular (región lingual y faringolaríngea) y más raramente anomalías óseas: hipertrofias y periostosis metacarpianas, metatarsianas, y calcificación de articulaciones condrocostales (8).

* Parámetros bioquímicos (7):

* Glucemia normal o aumentada
* Fosfatasa alcalina aumentada
* Hipercolesteronemia generalmente presente
* Perturbaciones del metabolismo fosfo-cálcico: puede haber hiperfosfatemia, hipercalciuria, hipermagnesemia.

* Valores de insulina generalmente superiores a los normales

* Progesteronemia elevada, pero dentro de los valores de perras sanas en diestro

* Posibles anomalías hematológicas: algunos autores informan la existencia de anemia normocítica, normocrómica moderada (1)

* Las lesiones cutáneas son menos específicas: la histopatología cutánea revela una hiperqueratosis ortoqueratótica, hipergranulosis e hiperplasia de la epidermis, así como también aumento del número de fibras colágenas y de fibroblastos, lo cual le confiere a la dermis un aspecto denso y compacto (17).

Diagnóstico definitivo: exploración del eje somatotropo

Dosaje de GH: el diagnóstico definitivo de acromegalia se basa en la evidencia de la elevación de GH plasmática. Según un estudio realizado en nuestro país, el rango de referencia normal de la GH plasmática oscila entre 1,8 y 6,4 ng/ml (29). En el hipersomatotrofismo, el valor de GH puede ser superior a 20 ng/ml, hasta valores de 80-150 ng/ml. El dosaje se realiza con métodos radioinmunológicos (2, 30).

Determinación de la concentración sérica de IGF-I: permite apreciar indirectamente la concentración de GH. La medición de IGF-I constituye un buen marcador de acromegalia en medicina humana. En medicina veterinaria, los valores de IGF-I están sometidos a variaciones raciales con una correlación positiva entre el peso y la concentración plasmática de IGF-I. La interpretación de los resultados es delicada y depende de los valores establecidos por cada laboratorio (8).

Exploración dinámica del eje somatotropo: la exploración estática de la secreción de GH presenta sus limitaciones debidas al patrón de secreción pulsátil de la misma, como así también a las variaciones debidas a la edad, tamaño corporal y raza de los animales (26, 30).

Diversas pruebas funcionales pueden ser empleadas, como por ejemplo, la hipoglucemia inducida por la insulina, la prueba de tolerancia a la arginina, la prueba de tolerancia a la L-Dopa, métodos de estimulación con clonidina o xilazina

y la prueba de supresión con somatostatina. De las pruebas mencionadas, la utilizada con mayor frecuencia es la prueba de estimulación con xilazina (1, 8). La misma consiste en tomar muestras sanguíneas a los 0, 15, 30, 45, 60 y 90 minutos luego de administrar clorhidrato de xilazina (200 mg/kg EV). Los animales normales presentan un incremento sustancial de GH (5-10 veces en promedio) respecto de los niveles basales entre los 15 y 45 minutos luego de la administración de la xilazina. Las perras acromegálicas no responden a esta prueba de estimulación (21, 26, 29).

Tratamiento

El objetivo del tratamiento de la acromegalia canina se orienta a disminuir la hiperprogesteronemia. Esto se logra a través de la ovariectomía o de la interrupción del tratamiento con progestágenos de síntesis. La ovariectomía de perras acromegálicas asegura generalmente la normalización de las secreciones hormonales y la regresión clínica de la acromegalia. La regresión de los signos clínicos puede ocurrir en semanas o meses, aunque las modificaciones del esqueleto en ocasiones pueden ser persistentes (1,8). Watson y col. (31) realizaron el tratamiento médico de la hiperprogesteronemia mediante la administración de un antiprogestágeno de síntesis (RU 486) con resultados alentadores (31). Esta opción terapéutica puede resultar interesante en aquellas perras en las que no se desea realizar la castración.

Ante la presencia de una diabetes no insulino dependiente la castración de la perra debe practicarse inmediatamente.

Si el estado general es malo (cetósico) debido a una diabetes insulino dependiente, es necesario instaurar un tratamiento insulínico clásico en conjunto con la ovariectomía. Al comienzo de la insulino terapia, generalmente son necesarias altas dosis de insulina debido a la insulino resistencia. Con la ovariectomía se reduce la insulino resistencia y entonces es posible reducir progresivamente la dosis de insulina exógena (25).

Pronóstico

En las perras con exceso de GH inducida por progestágenos el pronóstico es muy favorable en tanto se elimine la fuente de éstos. Las manifestaciones clínicas, excepto la diabetes mellitus hipoinsulinémica, son generalmente reversibles luego del tratamiento adecuado.

Discusión y Conclusiones

La acromegalia es un desorden endócrino generalmente asociado a la fase lútea del ciclo estral canino. En ausencia de tratamiento puede originar graves alteraciones en la homeostasis del organismo que en ocasiones conduce a trastornos orgánicos permanentes.

La hipersecreción de GH inducida por la elevada y sostenida progesteronemia del diestro juega un importante rol en la patogenia de entidades propias de este momento del ciclo estral. La influencia de la GH en el complejo HEQ-P (10) y la proliferación y diferenciación de la glándula mamaria es conocida (10). El papel exacto de esta hormona en la aparición de la pseudo preñez clínica no ha sido aún descripto (32).

Debe considerarse siempre la acromegalia como enfermedad de base en síndromes PU/PD de aparición durante el diestro de la perra. Sólo el conocimiento e identificación de los trastornos asociados a las variaciones de la secreción de GH permitirán el tratamiento de las múltiples disendocrinopatías que esta ocasiona.

La castración de la perra joven constituye el mejor método de prevención y/o tratamiento de estas afecciones derivadas del exceso de GH inducida por la P4 (11). No obstante, esta solución puede resultar impracticable en perras reproductoras. Ciertas perspectivas terapéuticas apuntan a protocolos terapéuticos con antiprogestágenos, sin embargo es necesario contar con un mayor número de estudios para determinar la eficacia de dichos tratamientos (11).

La posibilidad de dosar en nuestro medio la GH abre un panorama alentador en el diagnóstico de las alteraciones relacionadas con esta hormona en la especie canina. Cabe mencionar la importancia de que cada laboratorio establezca su propio rango de referencia normal, como así también que estandarice las correspondientes pruebas funcionales, a fin de poder realizar la correcta interpretación de los resultados obtenidos (29).

Bibliografía

1. Eigenmann JE. Acromegaly in the dog. *Small Anim Pract* 1984; 14 (4):827-836
2. Garnier F, Gaguere E. Diagnostic des troubles de la sécrétion de GH. *Prat Méd Chir Anim Comp. Les indispensables de l'animal de compagnie-dermatologie* 1991; p.187-192
3. Siliart B, Chetbpul V, Poirier C. Polydysendocrinie associée au cycle oestral dans l'espèce canine: étude

rétrospective de 270 cas. *Rec Méd Vét* 1995; 171(8/9):505-512

4. Groen JJ, Frenfel HS, Offerhaus L. Observations on a case of spontaneous diabetes mellitus in a dog. *Diabetes* 1964; 13 :492-499

5. Eigenmann JE, Venker-Van Haagen AJ. Progesterone-induced and spontaneous canine acromegaly due to reverse growth hormone overproduction: clinical picture and pathogenesis. *J Am Anim Hosp Assoc* 1981; 17: 813-822

6. Rijnberk A, Mol JA. Progesterin-induced hypersecretion of growth hormone: an introduction review. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl* 1997; 5: 335-338

7. Eigenmann JE, Patterson DF, Froesch ER. Body size parallels insulin-like growth factor I levels but not growth hormone secretory capacity. *Acta Endocrinol* 1984; 106:448-53

8. Rijnberk A. Acromegaly. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Medicine*. WB. Saunders Company. 5th Edition 2000; 17:1370-1374

9. Mol JA, Van Garderen E, Selman P, Wolfswinkel J, Rijnberk AD, Rutteman G. Growth hormone mRNA in mammary gland tumors of dogs and cats. *J Clin Invest* 1995; p.2028

10. Kooistra HS, Okkens AC, Mol JA, Van Garderen E, Kirpensteijn J, Rijnberk A. Lack of association of progesterin-induced cystic endometrial hyperplasia with GH gene expression in the canine uterus. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl* 2000; 51:355-361

11. Senecat O. L'acromégalie et la polydysendocrinie liée au cycle oestral chez la chienne. *Le Point Vétérinaire* 2000; 31(209):35-42

12. Selman PJ, Mol JS, Rutteman GR. Progesterin-induced growth hormone excess originates in the mammary gland. *Endocrinology* 1994; 134 (1):287-292

13. Corrada Y, Gobello C, Castex G, Goya RG. Growth hormone levels in bitches with spontaneous mammary tumors before and after mastectomy. *EVSSAR Anual Symposium*. Fiera, Milano (Italia) 2001: p. 131.

14. Mol JA, Van Garderen, E., Rutteman, G.R., Rijnberk, A. New insights in the molecular mechanism of progesterin-induced proliferation of mammary epithelium: induction of the local biosynthesis of growth hormone (GH) in the mammary gland of dogs, cats and humans. *Molec Biol* 1996; 57(12):67-71

15. Van Keulen L.. Diabetes mellitus in a dog with a growth hormone-producing acidophilic adenoma of the adenohypophysis. *Vet Pathol* 1996; 33: p. 451

16. Hess RS, Ward CR. Concurrent canine hyperadrenocorticism and diabetes mellitus: diagnosis and treatment. *Comp Cont Educ Pract Vet* 1998; 20(6):701-717

17. Scott-Moncrieff JCR, Guphill-Yoran L. Hypothyroidism. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Medicine*. WB. Saunders Company. 5th Edition 2000; 152:1428-1429

18. Schefers-Okkens AC. Estrous cycle and breeding

management of the healthy bitch. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Medicine*. WB. Saunders Company. 5th Edition 2000; 157:1510-1519

19. Eigenmann JE, Eigenmann RY, Rijnberk A, Van Der Gaag I, Zapf J, Froesch ER. Progesterone-controlled growth hormone overproduction and naturally occurring diabetes and acromegaly. *Acta Endocrinol* 1983; 98:599-602

20. Rijnberk A, Eigenmann JE, Belshae BE. Acromegaly associated with transient overproduction of growth hormone in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 177: 534-537

21. Rijnberk A. Growth hormone: its clinical relevance. *The Vet Quart* 1995; 17(1): 17-19

22. Schwedes CS. Transient diabetes insipidus in a dog with acromegaly. *J Small Anim Pract* 1999; 40:392-396

23. Poirier C. Contribution à l'étude de la dysendocrinie associée à l'acromégalie et à l'hyperprogestéronémie lutéale de la chienne (étude de 170 cas). *Thèse Méd. Vét. Nantes* 1994; p. 37-48

24. Hoenig M. Pathogenesis of canine diabetes. *Small Anim Pract* 25 (3): 553-561

25. Peterson ME. Diagnosis and management of insulin resistance in dogs and cats with diabetes mellitus. *Small Anim. Pract* 1995; 25 (3): 691-713

26. Feldman EC. Hyperadrenocorticism. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of Veterinary Medicine*. WB Saunders Company. 5th Edition. 2000; p. 1460-1485

27. Concannon P, Altzuler N, Hampshire J. Growth hormone, prolactin and cortisol in dogs with developing mammary nodules and an acromegaly-like appearance during treatment with medroxyprogesterone acetate. *Endocrinology* 1980; 106:1173-1177

28. Van Garderen E, De Wit M, Voorhout WF, Rutteman GR, Mol JA, Nederbragt H, Misdorp W. Expression of growth hormone in canine mammary tissue and mammary tumors. *Am J Pathol* 1997; 150(3): 1037-1047

29. Corrada Y, Gobello C, Aprea A, Goya R. Growth hormone reference range and stimulation tests in intact dogs. *XXI Congresso Brasileiro de Clinicos Veterinarios de Pequenos Animais*. Rio de Janeiro (Brasil) 2000; p.81

30. Corrada Y, Goya R, Castex G, De La Sota L, Piscopo M, Gobello C. Estudio del patrón de secreción de hormona de crecimiento en perros enteros y hembras en anestro. *4 Simposio Internacional de Reproduccion Animal*. Huerta Grande, Córdoba (Argentina) 2001; p.318

31. Watson AD, Rutteman GR, Rijnberk A, Mol JA. Effect of somatostatin analogue SMS 201-995 and antiprogesterin agent RU 486 in canine acromegaly. *Front Horm Res* 1987; 17:193-198

32. Gobello C, De La Sota RL, Goya RG. A review on canine pseudocyesis. *Reprod Dom Anim*. Blackwell Science (ed). Neustadt, Germany 2001; 36:283-288

EMERGENCIA A LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN CEPAS DE *Campylobacter jejuni* AISLADAS DE CARNE DE POLLO

GI Giacoboni¹, R Cerdá², C López³

¹Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas. Facultad de Ciencias Veterinarias.

²Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. ³ Cátedra de Salud Pública.

Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de Buenos Aires

RESUMEN: Se estudió la resistencia de *Campylobacter jejuni* a 2 de los antimicrobianos más utilizados para la terapia humana y animal (eritromicina y norfloxacina) a partir de cepas aisladas de carcasas y menudencias de pollo. En 42 (35 %) de las 120 muestras procesadas se aisló la especie *Campylobacter jejuni* biotipo II de Lior. Se seleccionaron 28 cepas por su resistencia al ácido nalidíxico (disco de 30 µg) para probar la susceptibilidad a la norfloxacina y eritromicina. El 71,4 % (20) de las cepas resistentes al ácido nalidíxico lo fue además para la eritromicina con una CIM₅₀ de 64 µg/ml y CIM₉₀ 128 µg/ml. Todas las cepas mostraron resistencia a la norfloxacina (discos de 10 µg) y el valor de la CIM₅₀ y CIM₉₀ fue 64 µg/ml. Se concluye que la alta resistencia registrada para ambas drogas en carne de pollo aumenta el riesgo de transferir *Campylobacter* con estas características al humano, dificulta la identificación del agente etiológico y el éxito en la terapia antibacteriana.

Palabras clave: emergencia antibiótica, *Campylobacter*, carne de pollo.

EMERGENCY TO RESISTANCE STRAINS OF *Campylobacter jejuni* ISOLATES FROM RAW RETAIL POULTRY PARTS

ABSTRACT: The antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* strains obtained from carcasses and raw retail poultry parts were study in order to know their sensitivity from erythromycin and norfloxacin. Forty-two strains of *Campylobacter* biotype II of Lior were identified from 120 isolates (35%). Twenty-eight of these were screened for nalidixic acid resistance (30 mg disc). 71,4% of these selected strains were also erythromycin resistant by using disc diffusion method (13 mm) and MIC₅₀ 64 µg/ml, MIC₉₀ 128 µg/ml. All of them showed norfloxacin resistance by using both dilution agar MIC₅₀ 64 µg/ml, MIC₉₀ 64 µg/ml and diffusion agar method (10 µg disc). It was concluded that the high resistance of *Campylobacter* to erythromycin and norfloxacin registered from poultry products may be an important source of infection for human being to these emergent bacteria as well as their implications for the identifications of campylobacter, therapeutic and public health.

Key words: antibiotic emergency, *Campylobacter*, raw poultry.

Fecha de recepción: 23/02/01

Fecha de aprobación: 23/11/01

Dirección para correspondencia: Gabriela Isabel Giacoboni CC 296. La Plata (B1900AVW) Buenos Aires, ARGENTINA Tel/Fax: +54-221-4257980
E-mail: giacoboni@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Campylobacter jejuni es uno de los agentes bacterianos causales de diarrea tanto en países desarrollados (1) como en vías de desarrollo (2). La campylobacteriosis es una zoonosis ampliamente distribuida con diferentes fuentes de infección (3). Los alimentos de origen animal, particularmente la carne de pollo, juegan un rol importante en la cadena epidemiológica de la enfermedad (4). La gastroenteritis causada por esta bacteria generalmente se autolimita. Sin embargo, cuando se indica el tratamiento, la eritromicina y las fluoroquinolonas son los antibióticos de elección (5). El incremento de la resistencia de *Campylobacter* termotolerantes a diferentes antibióticos es una emergencia que se está registrando en diferentes partes del mundo, tanto en cepas aisladas de deposiciones humanas (6) como en muestras obtenidas de animales y de sus subproductos (7).

El objetivo de este trabajo fue comunicar la sensibilidad a la norfloxacin y eritromicina de cepas de *Campylobacter jejuni* seleccionadas por su resistencia al ácido nalidíxico, cuyo origen fueron carcasas y menudencias de pollos dispuestos para consumo humano en lugares de expendio de la ciudad de La Plata, República Argentina (8)

MATERIAL Y MÉTODOS

El procesamiento de las 120 muestras de menudencias y carcasas de pollos para consumo humano así como el método de aislamiento e identificación bacteriana fue el descrito por Giacoboni y col. (8). A las 42 cepas de *Campylobacter jejuni* biotipo II de Lior aisladas (9), se les determinó la susceptibilidad o resistencia al ácido nalidíxico por medio del método del disco de 30 µg de potencia, como prueba fenotípica (10), teniendo como referencia la cepa *Campylobacter jejuni* ATCC 29428. Las cepas resistentes fueron seleccionadas para determinar la sensibilidad a la eritromicina y norfloxacin mediante difusión y doble dilución en agar.

La técnica de difusión en agar se realizó según lo establecido por Bauer y col. (11). El inóculo fue un cultivo puro de cada cepa en caldo brucella, en una concentración similar a un patrón de Mc Farland N°1, sembrado en placas de agar con el agregado de 5 % de sangre ovina e incubado a 37 °C por 48 horas en atmósfera microaerófila. Los discos de antimicrobianos utilizados fueron de 15 µg de eritromicina y de 10 µg de norfloxacin (Vetanco S.A). Las zonas de inhibición para el método de difusión de disco se interpretaron de acuerdo a los parámetros mencionados por la NCCLS (12).

La técnica de doble dilución en agar se realizó para obtener las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de los antibióticos evaluados por el método de difusión en disco. La preparación del inóculo, la atmósfera y temperatura de incubación fueron las descritas anteriormente para la técnica de difusión.

Las siembras se realizaron con multi-inoculador, en placas de agar Müller Hinton sin sangre, adicionadas con las concentraciones seriadas de los antibióticos a evaluar, eritromicina y norfloxacin, expresadas en mg/ml (1 µg/ml a 128 µg/ml). La CIM se definió como la más baja concentración de antibiótico que inhibió el crecimiento bacteriano. Como control, se utilizaron las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

RESULTADOS

Veintiocho (66 %) de las cepas de *Campylobacter jejuni* biotipo II aisladas de las 120 muestras procesadas fueron resistentes a la prueba del disco de 30 µg de ácido nalidíxico. Los resultados obtenidos por el método de difusión con discos de 15 µg de eritromicina y 10 µg de norfloxacin y los valores de la CIM para ambas drogas se expresan en los tablas 1 y 2 respectivamente.

Tabla 1 : Resultados de la prueba de difusión en disco para la eritromicina y norfloxacin de 28 cepas de *Campylobacter jejuni*

Table 1: Results of disk diffusion methods of 28 *Campylobacter jejuni* strains to norfloxacin and erythromycin

Eritromicina (15 µg)		Norfloxacin (10 µg)	
Cantidad de cepas	Diámetro de halo	Cantidad de cepas	Diámetro de halo
20 (71,4 %)	≤ 13 mm	27 (96,4 %)	Sin halo
2 (7,1 %)	14-22 mm	1 (3,6 %)	7 mm
6 (21,4 %)	≥ 23 mm		
Total= 28 (100 %)		Total=28 (100 %)	

Tabla 2: Valores de concentración inhibitoria mínima de la eritromicina y norfloxacin hallados en 28 cepas de *Campylobacter jejuni* expresados como CIM₅₀ y CIM₉₀

Table 2: Values obtained with erythromycin and norfloxacin from 28 *Campylobacter jejuni* strains. Range, MIC₅₀ and MIC₉₀

Droga	Rango	CIM ₅₀	CIM ₉₀
Eritromicina	1-128 µg/ml	64 µg/ml	128 µg/ml
Norfloxacin	32-128 µg/ml	64 µg/ml	64 µg/ml

El 71,4 % de las cepas resistentes al ácido nalidíxico lo fue también para la eritromicina por el método de difusión (≤ 13 mm), y 7,1% mostraron valores intermedios entre 14 y 22 mm. El punto de corte para el método de dilución fue ≤ 8 mg/ml y se registraron CIM₅₀ y CIM₉₀ de 64 mg/ml y 128 µg/ml respectivamente.

Para la norfloxacin, con el método de difusión en agar (discos de 10 µg) todas las cepas fueron resistentes. Ninguno de los valores de la CIM registrados fueron inferiores a 32 µg/ml, reflejando la resistencia que las cepas ofrecieron a este antimicrobiano.

DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo mostraron una alta resistencia de *Campylobacter jejuni* a dos de los antibióticos más utilizados para el tratamiento de la campylobacteriosis. Para la eritromicina, las cepas estudiadas, mostraron una alta resistencia tanto en el método de difusión (71,4 %) como en el de dilución (53,5 %), existiendo correlación entre ambos métodos. En contraste a estos valores, en Portugal, solo en una de 4 granjas de pollos estudiadas se encontró un 5,6 % de cepas resistentes utilizando el método de disco (13). Los estudios de susceptibilidad antimicrobiana realizados por Svedhem y col. en Suecia de *C. jejuni* aislados de pollos y humanos revelaron que no hubo diferencias en el comportamiento de las bacterias obtenidas de ambas especies frente a la eritromicina y si bien las cepas aisladas fueron especialmente sensibles a varios antibióticos y entre ellos la eritromicina, solo el 17 % de ellas fueron resistentes a la prueba de microdilución en placa (14). Investigaciones similares en Bélgica que comparan cepas humanas y de otras especies animales, entre ellas pollos, establecen una resistencia del 4,2 % y 8,4 % respectivamente (15). Los demás datos se registraron a partir de cepas de origen humano de pacientes que padecían diarrea. Entre ellos, Huymans y col. en Australia (16) a partir de 79 cepas de *Campylobacter jejuni* aisladas, no hallaron resistencia a este macrólido como así tampo-

co Gaudreau y col. en Canadá (17) en las 291 cepas estudiadas entre 1985 y 1993.

En el presente trabajo, el 100 % de las cepas resistentes al ácido nalidíxico (66 % de 120 muestras) lo fueron por el método de difusión con discos de 20 µg a la norfloxacin.

La sensibilidad al ácido nalidíxico para *Campylobacter jejuni/coli* se puede tomar como un marcador de sensibilidad a la ciprofloxacina ya que las cepas que son sensibles al ácido nalidíxico lo son a la ciprofloxacina mientras que las resistentes lo son también para esta quinolona de segunda generación (18). El surgimiento de cepas ácido nalidíxico resistentes, plantea un problema en el laboratorio de microbiología para la identificación de las especies de *Campylobacter jejuni/coli* que son naturalmente sensibles, así como para la elección del antimicrobiano para el tratamiento, debido a la resistencia cruzada con otras quinolonas. Así lo expresan Endtz y col. (7), quienes encontraron un incremento de la resistencia a la ciprofloxacina (CIM 4- 32 µg/ml) de un 0 % a un 14 % en pollos y sus subproductos y de un 0 % a un 11 % en humanos entre 1982 y 1989.

La resistencia a las quinolonas resulta de la mutación cromosomal en el gen *gyrA* que codifica para la subunidad A de la enzima ADN girasa, enzima requerida para la replicación bacteriana (19). Los resultados de la investigación de Gootz (20) para caracterizar la alta resistencia de *Campylobacter jejuni* a las quinolonas concluye que la mutación del citado gen puede ocurrir en un solo paso "in vitro" y producir niveles relevantes de resistencia a las quinolonas en la práctica clínica.

Varios son los registros que acusan el incremento a la resistencia de estas drogas para *Campylobacter* y su relación con su uso excesivo en medicina veterinaria (7, 21). Estas hipótesis estarían respaldadas por las medidas de seguridad tomadas por la *Food and Drug Administration* (FDA) en las que prohíben el uso de fluoroquinolonas y

glicopéptidos en los animales de producción entre otras razones para reducir la tasa de emergencia a la resistencia antimicrobiana, ya que las zoonosis de microorganismos entéricos pueden ser transmitidos al hombre a través del contacto con animales de granja, consumo de sus productos y el medio ambiente (22). Estudios realizados en Europa documentan el desarrollo a la resistencia a las fluoroquinolonas seguida a la introducción de éstas en el uso tanto humano como de alimentos de origen animal (23).

La masiva administración de drogas en medicina vegetal, animal y humana hace a una amplia diseminación de microorganismos resistentes que pueden pasar de un hospedador a otro (24). Así, Gaunt y col. (25), en su estudio epidemiológico y de laboratorio de *Campylobacter* resistentes a la ciprofloxacina, concluyeron que el uso veterinario de las quinolonas y en especial la enrofloxacin ejercería una presión selectiva para la resistencia a la ciprofloxacina en aislamientos de *Campylobacter* en humanos.

Los altos porcentajes de resistencia de las drogas utilizadas en este estudio de carne de pollo indican, por lo anteriormente expuesto, que su consumo y manipulación aumentan el riesgo de transferir *Campylobacter* con estas características al humano, como así también dificulta la identificación del agente etiológico y el éxito de la terapia.

Siendo las aves, y en especial los pollos, reservorios de campylobacterias (4, 26) debería ejercerse vigilancia de la resistencia antibiótica en estos animales que ocupan un rol predominante en la cadena epidemiológica de esta zoonosis y, como consecuencia, en la salud pública.

BIBLIOGRAFÍA

1. Blaser M, Taylor R, Felman R. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. *Epidemiol Rev.* 1983; 5: 157-175.
2. Fernández H, Thermotolerant *Campylobacter* species associated with human diarrhea in Latin America. *J Braz Ass Adv Sc.* 1992; 44:39-43.
3. Altekruse S, Swerdlow L, Stern N. *Campylobacter jejuni*. *Microbial food borne pathogens.* 1998. 14:31-40
4. Harris N, Weiss N, Nolan C. The role of poultry and meats in the etiology of *Campylobacter jejuni/coli* enteritis. *Am J Public Health.* 1986; 76, 407-411
5. Murray E, Baron MA, Pfaller FC, Tenover R, Tenover H. *Manual of Clinical microbiology*, (ed), 5th In P. R. ed. American Society for Microbiology (Washington) 1995 p-483-49.

6. Huysmans B, Turnidge J. Disc susceptibility testing for Thermophilic *Campylobacters*. *Pathology.* 1997; 29: 209-216.
7. Endtz H, Ruijs G, van Klingeren B, Jansen T, van der Reyden T, Mouton P. Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *J antimicrob Chemother.* 1991. 27: 199-208.
8. Giacoboni G, Puchuri C, Cerdá R. *Campylobacter* termotolerantes en menudos y carcasas de pollos provenientes de diferentes comercios de la ciudad de La Plata (Argentina). *Analecta Vet.* 1999; 19,1/2, 51-54.
9. Lior H. New extended biotyping scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter laridis*. *J Clin Microbiol.* 20: 636-640.
10. Vandamme P, Deley J. Proposal for a new family, *Campylobacteraceae*. *Int J Syst Bacteriol.* 1991; 41: 451-455.
11. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Bruck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. 1966. *Am J Clin Pathol.* 45: 493-496.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1993. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 3rd ed. Approved standard. NCCLS publication no. M7-A3. NCCLS, Villanova, Pa.
13. Gomes C, Santos A, Soqui M, Cabrita J. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in an industrial poultry unit (from production to slaughter) in Portugal. ' . Proceedings of eighth international workshop on *Campylobacters*, *Helicobacters*, and related organism. 1995. p301
14. Svedhem A, Kaijser B, Sjogren E. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter jejuni* isolated from humans with diarrhoea and from healthy chickens. *J. Antimicrob Chemother.* 1981; 7, 301-305.
15. Vanhoof R., Goossens Coignau H, Stas G, Butzler J. Susceptibility pattern of *Campylobacter jejuni* from human and animal origins to different antimicrobial agents. *Antimicrob. Ag. Chemotherapy.* 1992. 21: 990-992.
16. Huymans H, Turnidge J. Disc susceptibility testing for termophilic *Campylobacters*. *Pathology.* 1997. 29: 209-216.
17. Gaundreau Ch., Gilbert H. Antimicrobial resistance of Clinical strains of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* isolated from 1985 to 1997 in Quebec, Canadá *Antimicrob. Ag. Chemother.* 1998;42, 2106-2108.
18. Rautelin H, Renkonen O, Kosunen T. Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in subjects from Finland. *Antimicrob Ag Chemother.* 1991; 35: 2065-2069.
19. Taylor D, Lai-King N, Lior H. Susceptibility of *Campylobacter* species to nalidixic acid, enoxacin and other DNA gyrase inhibitors. *Antimicrob Ag Chemother.* 1985, 28:708-710.

20. Gootz T, Martin B. Characterization of high level quinolone resistance in *Campylobacter jejuni*. Antimicrob Ag Chemother. 1991; 35:840-845.
21. Jabobs-Reitsma C, Kan C, Bolder N. The induction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. Letters in Applied Microbiology. 1994; 19:228-231.
22. Federal Register. Department of health and human services. Food and Drug Administration. 1997. 62: 277944-27947
23. Enatz HP, Mouton RP, van der Reyden T, Ruijs GJ, Biever M, van Klingeven B. Fluoroquinolone resistance in *Campylobacter* spp. Isolated from human stools and poultry products. Lancet. 1990; 335: 787-791.
24. Levy S. Emergence of antibiotic-resistant bacteria in the intestinal flora of farm inhabitants. J infec diseases. 1978; 137:688-690.
25. Gaunt P, Piddock L. Ciprofloxacin resistant *Campylobacter* spp. in humans: an epidemiological and laboratory study. J Antimicrob Chemother. 1996; 37: 747-757.
26. Wempe J, Genigiorgis C, Farver T, Yufusu H. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in two California chicken processing plants. Appl Environ Microbiol. 1983; 45: 355-359.

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). Una traducción de estos requerimientos pueden ser recuperada en INTERNET en la dirección electrónica:

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

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 disquete (MS-Word 2000® o Word Perfect 8.0®); 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 repro-

ducción, podrán enviarse fotografías o gráficos en formato TIF, CRD, JPG, GIF o BMP. El costo de cada artículo será de \$ 50 hasta 7 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. 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 en español las 200 palabras y las 400 en inglés.

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

Nº o gráfico Nº o foto Nº. 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.

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
Web: www.fcv.unlp.edu.ar