

ANALECTA VETERINARIA



Publicación de la
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
Volumen 30 nº 1 año 2010



Autoridades

Decano

Méd.Vet. Eduardo Rafael Pons

Vicedecano

Méd.Vet. Daniel Osvaldo Arias

Secretario de Asuntos Estudiantiles

Méd.Vet. Fernando Pedro Marino

Secretaria de Ciencia y Técnica

Dr. Adriana Massone

Secretario de Extensión

Méd.Vet. Guillermo Broglia

Secretario de Posgrado

Dr. Eduardo Carlos Mórtola

Prosecretario Académico de

Gestión Curricular

Méd.Vet. César Augusto Savignone

Prosecretario Académico de

Gestión en Enseñanza

Dr. Alejandro Palacios

Prosecretario de Bienestar Estudiantil

Méd.Vet. Hernán Javier Figueredo

Prosecretaria de Bienestar Estudiantil

Méd.Vet. María Eugenia Mangialavori

ANALECTA VETERINARIA

Director

Dr. Nestor Oscar Stanchi

Editor Responsable

Dr. Eduardo Marotta

Secretaría de Redacción

Dra. Yanina Corrada

Méd. Vet. Daniel O. Arias

Comité Editorial

(Facultad de Ciencias Veterinarias)

Dra. Liliana Lagrecca

Dr. Eduardo Gimeno

Bact. Carlos Gómez

Dr. Florestán Maliandi

Dra. Pilar Peral García

Méd.Vet. Enrique Pennimpede

Dr. Carlos Perfumo



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

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

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

ANALECTA

Pronunciación: «a-n&l-'ek-t&

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

ISSN 0365514-8 Versión Impresa

ISSN 1514-2590 Versión Electrónica

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

ISSN 1666295-4 Versión CD-ROM

Registro Propiedad Intelectual 77383

Dirección postal: CC 296 (B1900AVW)

La Plata, Buenos Aires, ARGENTINA

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

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

Acceso Electrónico a ANALECTA VETERINARIA

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

www.fcv.unlp.edu.ar/analecta/analecta.html

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

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

Revisión de estilo:

Per. Eleonora Rolleri

Diseño

Prof.Dr. Nestor Oscar Stanchi

Diseño de Tapa

Andrea López Osornio (DCV)

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

(www.latindex.unam.mx),

Ulrich's International Periodicals Directory

(www.ulrichsweb.com)

Zoological Records

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

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

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

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

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

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

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

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

Impresión

Evaluadores de trabajos de

ANALECTA VETERINARIA

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

Todos los trabajos publicados en

ANALECTA VETERINARIA son sometidos

a revisores externos.

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

All articles published in

ANALECTA VETERINARIA

are submitted to external

scientific reviewers.

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

Impreso en papel libre de ácido

Printed in acid-free paper

Impreso en Argentina

Printed in Argentina



ANALECTA VETERINARIA Vol 30 n° 1, 2010

Artículos de Investigación/Research articles

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

Comunicaciones breves/Short communications

- QUISTE DE INCLUSIÓN EPITELIAL CORNEAL EN UN CANINO.** CORNEAL EPITHELIAL INCLUSION CYST IN A DOG. Zapata GL 30-33
- EVIDENCIA SEROLÓGICA DE INFECCIÓN EN AVES COMERCIALES POR *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) EN LAS PROVINCIAS DE BUENOS AIRES Y ENTRE RÍOS (ARGENTINA).** SEROLOGICAL EVIDENCE OF INFECTION WITH *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) IN COMMERCIAL FLOCKS IN THE PROVINCES OF BUENOS AIRES AND ENTRE RIOS (ARGENTINA). Uriarte J, Corva S, Gornatti D, Origlia J, Pisco M, Cerda R, Herrero M, Marcantoni H, Unzaga MF, Marino F, Spinsantti E, Pecoraro M, Petruccelli M 34-36
- A MULTIDISCIPLINARY STUDY OF SWINE GASTROESOPHAGEAL ULCERS SYNDROME IN SLAUGHTER PIGS OF VENEZUELA.** ESTUDIO MULTIDISCIPLINARIO DE SÍNDROME GASTROESOFAGICO ULCEROSO SUINO EN MATADEROS EN VENEZUELA. Morales A, Bermúdez V, García F, Gomez M 37-38
- AISLAMIENTO DE PNEUMOCYSTIS CARINNI EN UNA COLONIA DE RATONES UTILIZANDO CENTINELAS DE LA CEPA CDA/XID.** ISOLATION OF PNEUMOCYSTIS CARINII IN A MICE COLONY BY USING CDA/XID STRAIN AS SENTINEL. Milocco S, Ayala M, Laborde J, Carriquiriborde M, Principi G, Maschi F, Cagliada P, Carbone C 39-41

Revisiones/Review

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

CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DE *Porichthys porosissimus* (PISCES: BATRACHOIDIFORMES) EN EL ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA, ARGENTINA

Galeano NA¹, Prat MI², Guagliardo SE¹, Schwerdt CB¹, Tanzola RD¹

¹Cátedra de Patología de Organismos Acuáticos. ²Cátedra de Inmunología.
Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur.

RESUMEN: Ciertos componentes de la sangre de los peces son afectados por factores intrínsecos y extrínsecos, así como por particularidades fisiológicas de cada tronco filogenético, por lo que adquieren relevancia tanto fisiológica, como ecológica y evolutiva. El sedimento del estuario de Bahía Blanca comprende un ambiente sometido a una creciente presión de contaminación urbana e industrial. Con el propósito de caracterizar desde el punto de vista hematológico a un pez residente del bentos estuarial, fueron muestreados 32 ejemplares de *P. porosissimus*. En ellos se determinaron variables hematológicas, que fueron comparadas con peces de similares hábitos, en otros ecosistemas. Los resultados obtenidos de ejemplares machos y hembras, respectivamente, fueron: recuento de eritrocitos $1,32 \pm 0,32 \times 10^6 / \mu\text{l}$; $1,050 \pm 0,260 \times 10^6 / \mu\text{l}$; recuento de leucocitos $3314,8 \pm 2058,8 / \mu\text{l}$; $3270,8 \pm 3171,9 / \mu\text{l}$; hemoglobina $8,13 \pm 1,18 \text{ g/dl}$; $5,04 \pm 1,14 \text{ g/dl}$; hematocrito $36,17 \pm 6,03 \%$; $21,77 \pm 3,33 \%$; volumen corpuscular medio (VCM) $295,14 \pm 90,02 \text{ fl}$, $220,83 \pm 69,16 \text{ fl}$; hemoglobina corpuscular media (HCM) $65,68 \pm 22,32 \text{ pg}$; $53,17 \pm 25,27 \text{ pg}$, y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) $23 \pm 4,92 \%$; $23,97 \pm 8,12 \%$. Los valores de proteínas plasmáticas en otoño, fueron $4,059 \pm 0,971 \text{ g/dl}$ en tanto los de albúmina $2,073 \pm 1,17 \text{ g/dl}$. Por su parte en primavera, descendieron a $2,477 \pm 0,369 \text{ g/dl}$ y $1,313 \pm 0,308 \text{ g/dl}$, respectivamente. Se describen seis tipos morfológicos celulares: eritrocitos, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, trombocitos y monocitos. Estos resultados permiten corroborar que *P. porosissimus* responde a las características hematológicas de los peces de hábitos bentónicos y sedentarios.

Palabras clave: *Porichthys porosissimus*, peces, variables hematológicas, proteínas plasmáticas.

HAEMATOLOGICAL FEATURES OF *Porichthys porosissimus* (PISCES: BATRACHOIDIFORMES) FROM THE BAHIA BLANCA ESTUARY, ARGENTINA

ABSTRACT: Certain components of the fish blood are affected by intrinsic and extrinsic factors, as well as by physiological particularities of each phylogenetic trunk. By this reason they acquire physiological relevance, as ecological and evolutionary as much. The sediment of the estuary of Bahía Blanca comprises an environment supporting an increasing pressure of urban and industrial pollution. In order to characterize from the haematological point of view a resident fish of the estuarial benthos, 32 specimens of *P. porosissimus* were sampled. In addition, the concentrations of total proteins and albumin in the plasma of females in autumn and spring, were assessed. This information was compared with another teleost species with similar habits. The results obtained of males and females, respectively, were: red blood cells $1.32 \pm 0.32 \times 10^6 / \mu\text{l}$; $1.05 \pm 0.26 \times 10^6 / \mu\text{l}$, leucocytes $3,314.8 \pm 2,058.8 / \mu\text{l}$; $3,270.8 \pm 3,171.9 / \mu\text{l}$, haemoglobin $8.13 \pm 1.18 \text{ g/dl}$; $5.04 \pm 1.14 \text{ g/dl}$, haematocrit (packed cell volume) $36.17 \pm 6.03 \%$; $21.77 \pm 3.33 \%$, mean corpuscular volume (MCV) $295.14 \pm 90.02 \text{ fl}$; $220.83 \pm 69.16 \text{ fl}$, mean corpuscular haemoglobin (MCH) $65.68 \pm 22.32 \text{ pg}$; $53.17 \pm 25.27 \text{ pg}$, mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) $23.0 \pm 4.92 \%$; $23.7 \pm 8.12 \%$. Plasma proteins were $4.059 \pm 0.971 \text{ g/dl}$ and albumin $2.073 \pm 1.17 \text{ g/dl}$, in autumn, and $2.477 \pm 0.369 \text{ g/dl}$ and $1.313 \pm 0.308 \text{ g/dl}$, in spring. Six morphologic cell types were identified: red blood cells, eosinophils, neutrophils, lymphocytes, trombocytes and monocytes. These results demonstrated that *P. porosissimus* fit well to the haematologic features of fishes with benthonic and sedentary habits.

Key words: *Porichthys porosissimus*, fishes, haematologic values, plasmatic proteins.

Fecha de recepción: 26/08/09

Fecha de aprobación: 03/10/10

Dirección para correspondencia: RD. Tanzola. Cátedra de Patología de Organismos Acuáticos de Interés Comercial. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670 (8000) Bahía Blanca. Argentina. **E-mail:** rtanzola@uns.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Los componentes fluidos y formes de la sangre de los peces suelen variar siguiendo patrones filogenéticos y ecológicos, en particular sus hábitos tróficos y modos de vida. En la práctica, la acuicultura intensiva requiere del control de situaciones de estrés y/o enfermedad, a fin de asegurar la salud de los peces. En este caso el estudio de las variables hematológicas asume importancia como medio auxiliar de diagnóstico (1). Por su parte, en poblaciones naturales de peces, el conocimiento de tales valores hace posible interpretar respuestas fisiológicas del organismo ante la degradación o el cambio ambiental (2, 3).

Hasta el presente, en poblaciones naturales de peces marinos de las costas argentinas no se han realizado estudios hematológicos. En virtud de que *Porichthys porosissimus* (Valenciennes, 1837) es un habitante residente del bentos de Bahía Blanca, donde soporta una permanente exposición a contaminantes de origen industrial y urbano, se ha considerado de interés tipificar su perfil hematológico, en procura de utilizar algunas de sus variables, como marcadores que ayuden a interpretar la situación ambiental del estuario.

El presente estudio tiene como objetivos determinar las variables hematológicas e índices hematimétricos, así como la concentración de proteínas plasmáticas y albúmina de *P. porosissimus* y compararlo con peces de similares hábitos bentónicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Peces y condiciones

El muestreo se realizó entre 2004 y 2007 en el estuario de Bahía Blanca (38° 45' S; 62° 15' O). Consistió de 32 ejemplares de *P. porosissimus*, de los cuales 18 machos y 14 hembras fueron empleados para el análisis de los parámetros hematológicos. Para determinar proteínas plasmáticas y albúmina se tomaron 32 ejemplares hembras, en dos estaciones del año diferentes, 22 en otoño y 10 en primavera. La captura se realizó mediante redes de enmalle. Los peces fueron narcotizados con benzocaína (1g/15 l de agua de clorinada). De cada ejemplar se registró la longitud total (mm), el peso total (gs) y el peso gonadal (gs). De cada parámetro se expresan los valores de media y desvío estándar, salvo otra indicación.

Parámetros bioquímicos y hematológicos:

Se extrajo 1 ml de sangre de cada ejemplar por punción de la vena caudal con ayuda de jeringas plásticas conteniendo EDTA (10 %). Una alícuota se destinó para realizar el conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos, así como para determinar la concentración de hemoglobina, el

porcentaje de hematocrito, el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Se confeccionaron extendidos sanguíneos que fueron teñidos con coloración de Giemsa y montados con bálsamo de Canadá sintético. Estos extendidos fueron usados para mediciones de algunos parámetros de los distintos tipos celulares bajo MO a 100x y con ocular micrométrico. Se tomaron datos del diámetro mayor y menor de eritrocitos y del núcleo del eritrocito, diámetro de: linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, monocitos y trombocitos. El resultado de las mediciones se expresa como la media aritmética en micrómetros (μm), junto al desvío estándar y el rango. El número de células medidas varió para cada tipo celular. Otros extendidos sanguíneos fueron utilizados para realizar la técnica de la bencidina de Washburn, y así poder demostrar la actividad de la enzima peroxidasa en los leucocitos.

El resto de la sangre obtenida se centrifugó a 75 G durante 10 minutos para la separación del plasma, el cual se utilizó para determinar la concentración de proteínas plasmáticas y albúmina. Las proteínas plasmáticas se determinaron por el método de biuret, y la albúmina por su capacidad de unirse al reactivo VBC (verde de bromocresol) utilizando reactivos GT- Lab y Wiener. Las mediciones se realizaron en espectrofotómetro Andali serie 3.

Análisis estadístico: Mediante estadística descriptiva se estimaron la media, desvío estándar y el rango de dispersión de los parámetros hematológicos, proteínas plasmáticas y albúmina. Los mismos fueron correlacionados con el peso, la talla y peso gonadal mediante el cálculo del índice de correlación por rangos de Spearman (4). Se analizaron diferencias debidas al sexo mediante el test no paramétrico de Mann Whitney (4).

RESULTADOS

Los machos examinados (N=18) poseían una longitud total de 258 (234 - 330) mm y un peso de 185,69 (131 - 368) g en tanto que las hembras (N=14) alcanzaron 202 (184 - 218) mm de longitud y 89,53 (65,8 - 111,1) g, respectivamente.

El peso gonadal de los machos fue $0,28 \pm 0,31$ g y el de las hembras $11,14 \pm 6,52$ g. La prueba no paramétrica U de Mann Whitney evidencia diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre hembras y machos en cuanto al peso ($U=9$, $p=0,000$), la longitud total ($U=7,5$, $p=0,000$) y el peso gonadal ($U=3,5$, $p=0,000$).

Los valores de proteínas plasmáticas y albúmina del plasma de las hembras tomadas en otoño, son $4,059 \pm 0,971$ g/dl y $2,073 \pm 1,17$ respectivamente, en tanto que para las hembras

de primavera, los valores son $2,477 \pm 0,369$ g/dL y $1,313 \pm 0,308$ g/dl, respectivamente. En la tabla 1 se muestran los valores medios \pm desvío estándar (DS) de los datos biológicos de los peces utilizados para dicha cuantificación.

El índice de correlación por rangos de Spearman evidenció para el peso y la talla de *P. porosissimus* una correlación positiva y altamente significativa tanto en machos ($r=0,88$, $p=0,000$) como en hembras ($r=0,91$, $p=0,000$). También

Tabla 1. Datos biológicos de *P. porosissimus*. Los valores son expresados como media \pm desvío estándar.

Table 1. Biological information of *P. porosissimus*. The values are expressed for mean \pm standard deviation.

| | Hembras (n=22) otoño | | Hembras (n=10) primavera | |
|----------------------------|-------------------------|-------------|-----------------------------|---------------|
| | Media \pm DS | Rango | Media \pm DS | Rango |
| Longitud total (mm) | 210,29 \pm 11,9 | 190 - 230,6 | 190,68 \pm 14,1 | 170,2 - 220,6 |
| Peso Total (g) | 94 \pm 21,38 | 66,1 - 57,7 | 84,17 \pm 9,57 | 52,6 - 104 |
| Peso Gonadal (g) | 1,68 \pm 1,55 | 0,1 - 6,6 | 4,48 \pm 2,77 | 1,5 - 10,7 |

DS: desvío estándar, mm: milímetros, g: gramos.

Tabla 2. Parámetros hematológicos de machos (N=18) y hembras (N=14) de *P. porosissimus*. Los valores son expresados como media \pm desvío estándar.

Tabla 2. Haematologic values of males (N=18) and females (N=14) of *P. Porosissimus*. The values are expressed for média \pm standard deviation.

| | Machos (n=18) | | Hembras (n=14) | |
|--|---------------------|----------------|---------------------|-----------------|
| | Media \pm DS | Rango | Media \pm DS | Rango |
| Eritrocitos(x10⁶/µl) | 1,32 \pm 0,32 | 0,11 - 1,89 | 1,05 \pm 0,26 | 0,64 - 1,42 |
| Leucocitos (µl) | 3314,8 \pm 2058,8 | 385,5 - 4843,8 | 3270,8 \pm 3171,9 | 281,2 - 12343,7 |
| Hemoglobina (g/dl) | 8,13 \pm 1,18 | 2,91 - 11,74 | 5,04 \pm 1,14 | 3,22 - 7,53 |
| Hematocrito (%) | 36,1 \pm 6,03 | 12 - 42,5 | 21,77 \pm 3,33 | 10 - 39,2 |
| VCM (fL) | 295,1 \pm 90,0 | 138,5 - 340,1 | 220,83 \pm 69,16 | 140,0 - 378,9 |
| HCM (pg) | 65,6 \pm 22,3 | 34,6 - 74,3 | 53,1 \pm 25,2 | 23,9 - 64,6 |
| CHCM % | 23 \pm 4,92 | 11,6 - 38,2 | 23,9 \pm 8,1 | 14,0 - 31,5 |

Referencias: µl: microlitro, fl: femtolitro, pg: picogramo, VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media.

muestra, en las hembras, una correlación positiva significativa entre las proteínas plasmáticas con el peso ($r=0,397$, $p=0,02$), pero no así con la talla ($r=0,328$, $p=0,067$).

El recuento de eritrocitos y leucocitos, la concentración de hemoglobina, el porcentaje de hematocrito y los índices hematimétricos: VCM, HCM, CHCM, de machos y hembras de *P. porosissimus* se presentan en la tabla 2.

De acuerdo a lo observado en los extendidos sanguíneos de *P. porosissimus*, se reconocen seis tipos morfológicos de células: eritrocitos, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, trombocitos y monocitos.

Los eritrocitos presentan forma elipsoidal con abundante citoplasma acidófilo de tono que varía entre gris a rosado. El núcleo es central de forma ovalada, basófilo y orientado según el eje mayor de la célula (Fig. 1).

Los linfocitos, las células más abundantes del linaje linfomieloide, tienen forma redondeada y un citoplasma escaso, basófilo, con un contorno irregular debido a la emisión de pseudópodos. El núcleo es grande de forma redondeada o le-

vemente reniforme y ocupa la mayor parte del citoplasma (Fig. 1).

Los eosinófilos presentan predominantemente forma redondeada, con citoplasma abundante y rico en granulaciones de color rosado brillante. El núcleo violáceo, excéntrico es poligonal o bilobulado (Fig. 2).

Los neutrófilos, células de forma redondeada y citoplasma débilmente basófilo y abundante. El núcleo es excéntrico intensamente basófilo, bilobulado o esférico en su mayoría. Sus gránulos demostraron tener actividad peroxidasa (Fig. 3 y 6).

Los trombocitos presentan forma predominantemente elíptica con núcleo elongado o fusiforme y su citoplasma escaso y débilmente basófilo (Fig. 4).

Los monocitos poseen un contorno irregular, más o menos redondeado, con citoplasma basófilo y vacuolado. El núcleo en general es excéntrico, elongado o esférico (Fig. 5).

Las dimensiones de los seis tipos celulares se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3: Valores morfométricos (en μm) de células sanguíneas en sangre periférica de *P. porosissimus*.Tabla 3: Morphometric values (in μm) of blood cells in peripheral blood of *P. porosissimus*.

| | Media \pm DS | Rango |
|-------------------------------|----------------------------------|--------------|
| Eritrocitos | n=90 | |
| Eje mayor | 13,83 \pm 1,05 | (11 – 17) |
| Eje menor | 9,05 \pm 0,99 | (5 – 11) |
| Núcleo del eritrocito | n=90 | |
| Eje mayor | 5,94 \pm 0,63 | (4,5 – 7) |
| Eje menor | 3,73 \pm 0,48 | (3 – 6) |
| Linfocitos (diámetro) | n=100 | |
| | 5,3 \pm 0,89 | (3-7) |
| Eosinófilos (diámetro) | n=90 | |
| | 8,81 \pm 1,44 | (6 – 12) |
| Neutrófilos (diámetro) | n=50 | |
| | 6,67 \pm 1,23 | (4 – 10) |
| Trombocitos | n=40 | |
| Eje mayor | 9,46 \pm 2,41 | (6 – 14) |
| Eje menor | 4,48 \pm 0,67 | (3 – 6) |
| Monocitos (diámetro) | n=29 | |
| | 11,77 \pm 0,94 | (10 – 12,5) |

DISCUSIÓN

La sangre de los peces puede ser caracterizada a través de variables, en particular hematocrito, concentración de hemoglobina, recuento de eritrocitos y leucocitos e índices hematimétricos (5, 6). Estas variables pueden ser afectadas por múltiples factores, tanto intrínsecos como extrínsecos, así como por las características fisiológicas particulares de los distintos grupos de peces, por lo que adquieren interés fisiológico y ecológico. Además permiten contribuir a clarificar la relación entre la fisiología, la filogenia, la actividad física, el hábitat y la adaptabilidad de los peces al ambiente (1, 6, 7). El examen de las proteínas del plasma en sangre periférica es una fuente válida de información de posibles alteraciones en actividades funcionales de órganos somáticos y de cambios metabólicos (8).

Hasta el presente no se conocen estudios hematológicos en peces del orden Batrachoidiformes.

Las células identificadas en los frotis sanguíneos de *P. porosissimus*, presentan características morfológicas similares a las descritas en *Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887 (Characiformes: Characidae) (9), *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) (10) y en *Cyprinus carpio* L. (Cypriniformes, Cyprinidae) (11).

Moura y col. (12) distinguieron tres tipos de granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y células reticulares) y tres agranulocitos (linfocitos, trombocitos y monocitos) en *Colossoma macropomum* y en *Hoplosternum littorale*. Al igual que ocurre en *P. porosissimus*, estos autores observaron que los pseudopodios estaban presentes en pocas célu-

las. En el presente trabajo no se hallaron células reticulares ni se observó núcleo trilobulado de los neutrófilos. Imagawa y col. (11) diferencian tres tipos de linfocitos en *C. carpio* L. de acuerdo al diámetro de las células, designándolas pequeñas, medianas y grandes. El tipo más abundante encontrado en *P. porosissimus* coincide con las formas pequeñas de Imagawa y col. (op.cit.). En menor proporción se hallaron linfocitos grandes. Ranzani-Paiva (13) afirma que la distinción entre linfocitos grandes y pequeños es arbitraria y probablemente representa diferentes estadios funcionales de una misma población celular y no a poblaciones diferentes.

Los eosinófilos y neutrófilos de *P. porosissimus* se corresponden con las características morfométricas, morfológicas y tintoriales de *C. carpio* (14). Ellis (15) describió en *Pleuronectes platessa* L. cuatro tipos de trombocitos (designados como “spiked” form, “spindle” cell, “ovoid” form y “lone-nucleus”), en *P. porosissimus* se encontraron trombocitos cuyas características corresponden al tipo “spindle” cell de Ellis (op.cit.).

La ausencia de basófilos podría deberse a un inadecuado procedimiento en la tinción como ha sido sugerido (16, 17). Así mismo, la presencia de basófilos en la sangre periférica de *Sparus aurata* (L.) sólo fue confirmada por microscopía electrónica (18).

El número de eritrocitos en los peces es relativamente bajo cuando se lo compara con los mamíferos. Según Wintrobe (19) y Tavares-Dias y Moraes (10), el tamaño y número refleja la posición de la especie en la escala evolutiva. Los vertebrados inferiores presentan eritrocitos

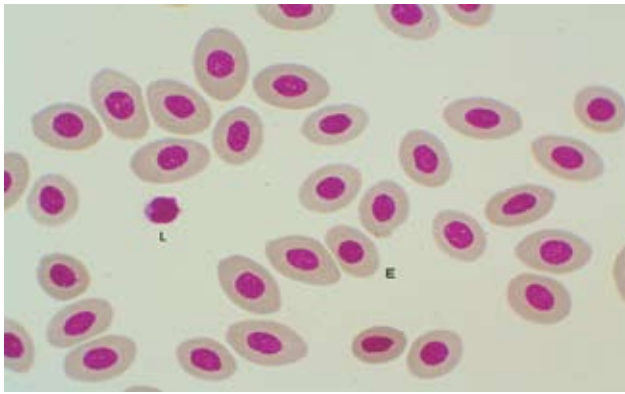


Figura 1. Linfocito (L), Eritrocitos (E). Coloracion Giemsa. (100x).

Figure 1: Lymphocyte (L), Erythrocyte (E). Giemsa stain. (100x).

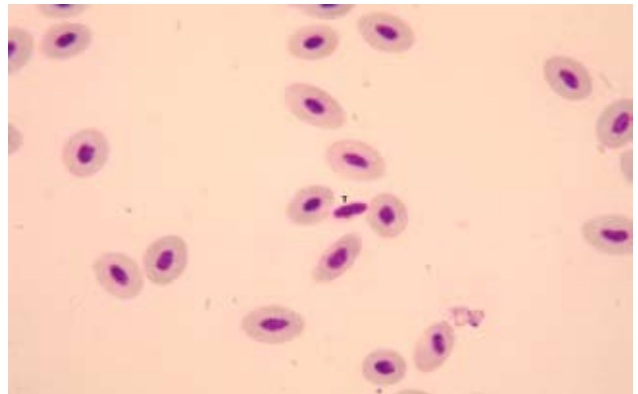


Figura 4. Trombocito (T). Coloracion Gernsa. (100x).

Figure 4. Thrombocyte (T). Giemsa stain. (100x).

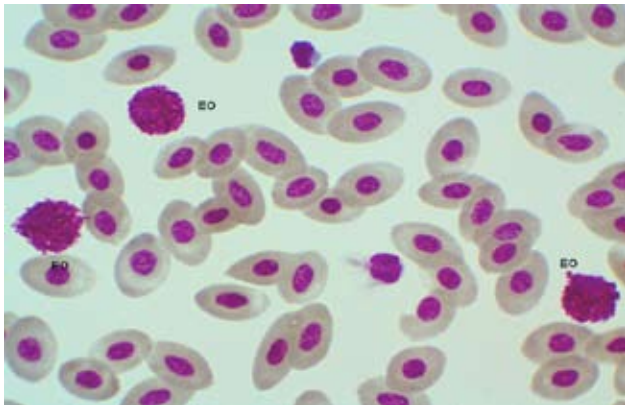


Figura 2. Eosinofilos (EO). Coloracion Giemsa (100x).

Figure 2: Eosinophil (EO). Giemsa stain. (100x).



Figura 5. Monocito (M). Coloracion Giemsa. (100x).

Figure 5. Monocyte (M). Giemsa stain. (100x).

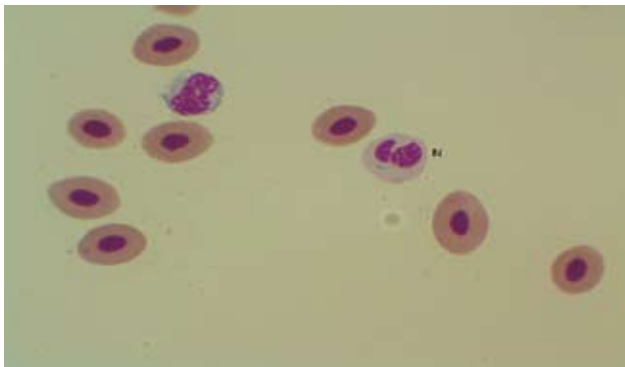


Figura 3. Neutrofilo (N). Coloracio Giemsa. (100x).

Figure 3. Neuthrophil (N). Giemsa stain. (100x).

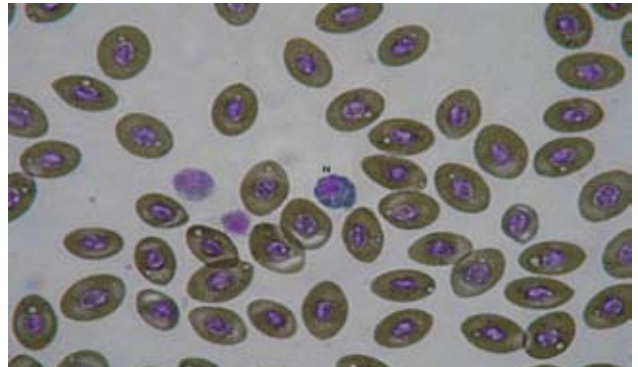


Figura 6. Neutrófilo con actividad peroxidasa positiva (N). (100x).

Figure 6. Peroxidase reactivity in neutrophil (N). (100x).

de mayor tamaño pero en menor número (20). En los frotis sanguíneos son las células más abundantes.

Existe una relación inversa entre el tamaño de los eritrocitos y la habilidad natatoria de los teleósteos marinos, con incidencia en la concentración de hemoglobina (6). Las especies que habitan ambientes lénticos, sedentarios y bentónicos poseen menor cantidad de eritrocitos, menor concentración de hemoglobina corpuscular media y mayor volumen celular. En tanto que

las especies marinas y pelágicas, más activas, por ejemplo la lisa, *Mugil platanus*, poseen mayor número de eritrocitos, mayor concentración de hemoglobina, mayor concentración de hemoglobina corpuscular media y menor volumen corpuscular medio (21, 10, 13), lo cual asegura mayor eficiencia en el transporte de oxígeno, en función de un aumento de la relación superficie/volumen (13). En el hipotético caso de que la situación anterior fuera extrapolable a todas las especies marinas, *P. porosissimus* se aproxima a

los valores estimados para las especies sedentarias, menos activas.

Las diferencias fisiológicas entre los sexos están relacionadas con las características sexuales primarias, secundarias y de sus adaptaciones, resultado de diferentes estrategias empleadas para el éxito reproductivo (10). La literatura sugiere una interacción entre el sexo y el estadio de desarrollo gonadal con las condiciones ecofisiológicas (22). En la especie estudiada en el presente trabajo, tanto el peso, la talla como el peso gonadal muestran diferencias muy altamente significativas entre ambos sexos. Los machos de *P. porosissimus* presentan valores mayores de hemoglobina y hematocrito que las hembras, al igual que los machos de *Tautogolabrus adspersus* y *Piaractus mesopotamicus* de ambientes naturales y no se observan diferencias entre los sexos para los índices hematimétricos (VCM, HCM, CHCM), en concordancia con otras especies estuariales como *Mugil platanus* y *Oncorhynchus mykiss* (13, 10).

Wintrobe (19) y Tavares-Dias y Moraes (10), comparando valores hematológicos de varios vertebrados observaron que las variaciones encontradas para HCM se corresponden para VCM; por consiguiente, células mayores poseen más hemoglobina. Por otro lado, las variaciones en el HCM son inversas a las del número de eritrocitos/ μl , de forma tal que la concentración de hemoglobina en la sangre varía muy poco. Estos resultados corroboran lo observado para *P. porosissimus*, en tanto que lo mismo fue observado por Ranzani-Paiva (13) en mugilidos de regiones estuariales.

Magnadóttir y col. (23, 24) han reportado un aumento en la concentración de proteínas plasmáticas en proporción al peso corporal del bacalao noruego, *Gadus morhua* L., como lo registrado en el presente trabajo. Al analizar la época del año en que fueron tomadas las muestras sanguíneas, los valores de proteínas en el plasma fueron mayores en otoño que en primavera, reflejando de tal modo, las mejores condiciones nutricionales del pez en otoño. Además, Magnadóttir y col. (op.cit.) han observado una correlación positiva con la talla del bacalao noruego, efecto que no ha sido observado en los individuos objeto del presente estudio. Según Rehulka y col. (8) las concentraciones de proteínas totales en el plasma sanguíneo son frecuentemente aceptadas como indicadoras de status nutricional.

De acuerdo a las variables hematológicas, tales como la baja cantidad de eritrocitos, la menor concentración de hemoglobina corpuscular media y el mayor volumen de los eritrocitos, podemos inferir que *P. porosissimus* se aproxima a las características citadas por diversos autores para un pez bentónico y sedentario.

No obstante debe tenerse en cuenta que las

variaciones que se pudieran encontrar en esta población con respecto a otras de la misma especie, pueden atribuirse a las condiciones ambientales como temperatura, pH, oxígeno, entre otros, que causan modificaciones fisiológicas en los niveles de algunos parámetros sanguíneos (25, 26). Sin dejar de lado otras variables de interés como fotoperíodo, estado nutricional y la metodología usada para su determinación (27).

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al Dr. Marcos Tavares-Dias de la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (EMBRAPA, Estado de Macapá, Brasil) y al Sr. Pablo Bustos, de la flota pesquera de Ing. White por la provisión de material vivo.

REFERENCIAS

1. Tavares-Dias M, Mataqueiro MI. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. ActaSciBiolSci 2004; 26 (2): 157-162.
2. Aguilar Ibarra, A. Los peces como indicadores de la calidad ecológica de agua. Revista Digital Universitaria 2005; 6 (8): 14 <http://www.revista.unam.mx/vol.6/num8/art78/int78.htm>
3. Jawad LA, Al-Mukhtar MA, Ahemed HK. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilisha* (Family Clupeidae). Anim. Biodivers. Conserv. 2004; 27(2): 47-52.
4. Siegel S, Castellan N. Estadística no Paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. Ed. Trillas. Mexico, 1998; 437 pp.
5. Centeno L, Silva-Acuña R, Barrios R, Salazar Lugo R, Matute C, Pérez JL. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. Zootecnia Trop. 2007; 25(4): 237-243.
6. Tavares-Dias M, Moraes FR. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. J. Fish Biol. 2007; 71: 383-388.
7. Cazenave J, Wunderlin DA, Hued AC, Bistoni MA. Haematological parameters in a neotropical fish, *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) (Pisces, Callichthyidae), captured from pristine and polluted water. Hydrobiologia 2005; 537: 25-33.
8. Rehulka J, Minarik B, Adamec V, Rehulkova E. Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research 2005; 36: 22-32.
9. Tavares-Dias M, Schalch SHC, Martins ML, Onaka EM, Moraes FR. Haematological characteristics of Brazilian Teleosts. III. Parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg x *Colossoma macropomum* Cuvier) (Osteichthyes, Characidae). Rev. Bras. de Zool. 2000; 17(4): 899 - 906.

10. Tavares-Dias M, Moraes FR. Hematología de Peixes Teleósteos. Ed Eletrônica e Arte Final. San Paulo (Brasil), 2004; p 144.
11. Imagawa T, Hashimoto Y, Kitagawa H, Kon Y, Kudo N, Sugimura M. Morphology of blood cells in Carp (*Cyprinus carpio* L.) Jpn J Vet Sci 1989; 51 (6):1163-1172.
12. Moura MAF, Farias IP, Val AL. Effects of temperature on leucocytes of *Colossoma macropomum* and *Hoplosternum littorale* (Pisces). Braz J. Med. Biol. Res. 1994; 27:1589-1598.
13. Ranzani-Paiva MJT. Características hematológicas de Tainha *Mugil platanus* Güther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia-SP. B. Inst. Pesca 1995; 22(1): 1-22.
14. Tripathi NK, Latimer KS, Burnley VV. Hematologic reference intervals for koi (*Cyprinus carpio*), including blood cell morphology, cytochemistry, and ultrastructure. Vet Clin Path 2004; 33 (2):74-83
15. Ellis AE. Leucocytes and related cells in the plaice *Pleuronectes platessa*. J Fish Biol 1976; 8: 143-156.
16. Barber DL, Westermann JEM. Morphological and histochemical studies on a PAS-positive granular leucocyte in blood and connective tissue of *Catostomus commersonnii* Lacépède (Teleostei:Pisces). Am J Anat 1975;142, 205-220.
17. Tavares-Dias M. Cytochemical method for staining fish basophils. J Fish Biol 2006; 69: 312-317
18. Messenger J, Esteban AM, Lopez Ruiz A, Bielek E. Ultrastructure of nonspecific cytotoxic cells in teleosts. I. Effector-tarjet cell binding in a marine and a freshwater species (seabream *Sparus aurata* L., and carp: *Cyprinus carpio* L. Anat. Rec. 1994; 239: 468-474
19. Wintrobe MM. Variation on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematol. 1934; 51: 32-49.
20. Kavamoto ET, Ranzani-Paiva MJT, Tokumaru M. Estudos hematológicos em “bagre” *Rhamdia hilarii* (Val. 1840), teleosteo, no estágio de desenvolvimento gonadal maduro. B. Inst Pesca 1983; 10:53-60
21. Larsson A, Johansson-Sjöbeck ML, Fänge R.. Comparative study of some haematological and biochemical blood parameters in fishes the Skagerrak. J Fish Biol 1976; 9: 425-440.
22. Luskova V. Factors affecting haematological indices in free-living fish populations. Acta Vet. Brno 1998; 67: 249-255.
23. Magnadóttir B, Jónsdóttir H, Helgason S, Björnsson B, Jørgensen T, Pilstrom L. Humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I. The effects of environmental temperature. Com Biochem Phys B 1999; 122: 173-180.
24. Magnadóttir B, Jónsdóttir H, Helgason S, Björnsson B, Jørgensen T, Pilstrom L. Humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II. The effects of size and gender under different environmental conditions. Com Biochem Phys B 1999; 122: 181-188.
25. Alvarado H. Efecto de tres concentraciones de calcio en el agua sobre algunos parámetros hematológicos de la trucha arco iris. Vet. Trop 1997; 22(1): 5-12
26. Valenzuela A, Alveal K, Tarifeño E. Respuesta hematológica de truchas (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) a estrés hipoxico agudo: Serie roja. Gayana 2002; 66(2):255-261.
27. De Pedro N, Guijarro A, López-Patiño MA, Martínez-Álvarez RM, Alonso-Bedate M, Delgado MJ. Parámetros hematológicos y bioquímicos en la Tenca (*Tinca tinca*): ritmos diarios y estacionales. Comunicación Científica CIVA 2004: 173-190.

METODOLOGÍA DE CATETERISMO YUGULAR EN LECHONES DE DESTETE

SORACI AL^{1,2}, AMANTO F⁴, PÉREZ DS^{1,2}, MARTÍNEZ G^{1,3}, DIEGUEZ SN¹, VEGA G¹, TAPIA MO^{1,2}

¹ Área Toxicología, Dpto. de Fisiopatología, Fac. Cs. Veterinarias, UNCPBA-Tandil

² CONICET, Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

³ CIC, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires

⁴ Área Producción Porcina, Dpto. Prod. Animal, Fac. Cs. Veterinarias, UNCPBA-Tandil

RESUMEN: Las técnicas convencionales para la extracción de sangre desde la vena yugular externa en cerdos no son adaptables a muestreos sanguíneos intensivos y repetitivos, ya que las maniobras de sujeción conducen a estrés en el animal, obteniéndose muestras hemolizadas y resultados erróneos. Aunque existen técnicas no quirúrgicas para la toma de sangre en cerdas, éstas no son fáciles de realizar en lechones de destete. Para este estudio se utilizaron doce lechones que fueron sedados, previo ayuno, para reducir el estrés durante la sujeción. Posteriormente, fueron colocados en decúbito dorsal sobre una tabla de madera en forma de V. Luego de desinfectar el cuello, se realizó una incisión en piel y subcutáneo con exposición de la vena yugular externa y seccionado de la misma para la introducción de una sonda nasogástrica desde la cual se tomaron muestras de sangre a tiempo y volumen fijo. Se obtuvieron plasmas no hemolizados que no interfirieron en los resultados de laboratorio. Durante y posteriormente al ensayo se evaluó el estado de salud, peso y consumo de los animales, sin observarse indicadores de estrés. La técnica propuesta demostró ser útil en muestreos repetitivos de sangre por tratarse de un método simple, rápido, económico, realizable a campo y en ausencia de manipuleo y sujeción que conducen al estrés.

PALABRAS CLAVES: lechón, cateterismo, toma de muestras

A METHOD FOR YUGULAR CATHETERIZATION IN WEANED PIGLETS

ABSTRACT: Conventional techniques for blood extraction from the external jugular vein in pigs are not adaptable to intensive and repetitive blood samplings because of the stress caused by the immobilization procedures, which lead to the obtention of hemolyzed samples and erroneous results. Although non surgical techniques for blood extraction exist, they are not easy to apply to weaning piglets. In this study, twelve piglets, which were sedated previous fasting to reduce the stress of immobilization, were used. Then, they were placed on a V wooden table in dorsal decubitus position. After neck disinfection, an incision involving the skin and subcutaneous tissue was performed to expose the external jugular vein. Then, the vein was cut off to introduce a nasogastric catheter for blood extractions at fixed times and volumes. Non hemolyzed plasma samples, which did not interfere with the laboratory tests, were obtained. Animal health state, weight and feed intake were evaluated during and after the experiment, and stress indicators were not detected. The proposed technique showed to be useful for repetitive blood samplings, since it is simple, fast, economical, feasible to use in the farm and it does not cause stress due to handling and immobilization.

KEY WORDS: piglets, catheterization, sampling

Fecha de recepción: 09/09/09

Fecha de aprobación: 07/06/10

Dirección para correspondencia: A L Soraci. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, CP 7000, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: alejandro@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La toma de sangre en la especie porcina es considerada complicada-difícil (1,2), dado que la vena yugular (yugular externa) discurre a través del cuello en una posición o plano relativamente más profundo que en otras especies, no exhibiendo externamente una gotera yugular visible. Ello se dificulta aún más en el cerdo cuando los animales presentan cierto grado de deposición grasa. La inciso-punción con aguja y jeringa o la utilización de sistemas Vacutainer® aparecen como una de las prácticas más comunes para la toma de sangre, tanto en objetivos de investigación como para condiciones de crianza y producción de cerdos (3, 4). Sin embargo, estas técnicas son poco adoptables cuando se necesita un muestreo sanguíneo intensivo y repetitivo en función del tiempo, provocando un importante estrés al animal como así también, la obtención de muestras de mala calidad (muestras hemolizadas) para la identificación - cuantificación de un analito determinado. Estudios realizados por diferentes investigadores (5, 6, 7), han demostrado que las maniobras de sujeción del cerdo para la realización de la inciso punción yugular conllevan a cambios metabólicos, bioquímicos, hematológicos y hormonales importantes desencadenados dentro de los 2 minutos de iniciadas las mismas.

Existen diferentes técnicas no quirúrgicas que han sido propuestas específicamente para la toma de sangre en cerdas, mediante la colocación de un catéter en la vena cava con ayuda de un trocar (12 g x 10 cm.), o en la vena auricular, pero dichas técnicas no son extrapolables al lechón de destete para muestreos seriales, dado el riesgo de seccionar la vena cava durante la maniobra de inmovilización o por el diámetro y la fragilidad de la venas auriculares (8, 9, 10).

La técnica que nosotros proponemos es una adaptación del método de cateterismo yugular propuesto por Matte en 1997 (11), el cual puede ser utilizado en diferentes tamaños de lechones con mínimos riegos para el animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron utilizados un total de 12 lechones de 40 días con un peso promedio de $15 \pm 2,0$ kg. Los animales, previo ayuno de sólidos de 6 h, fueron sometidos a un estado de sedación (para reducir el estrés durante la sujeción), mediante el uso combinado de diazepam-ketamina a razón de 2 mg/kg y 15 mg/kg, respectivamente, por la vía IM en la tabla del cuello o en los músculos glúteos (11). Luego de 20 min, aproximadamente, los animales fueron colocados en decúbito dorsal sobre una tabla de madera en forma de V, permitiendo que la cabeza quede libre sin apoyo. El cuello fue desinfectado con una solución comercial de yodo-povidona. Posteriormente, se realizó

una incisión de 1.5 cm. fue realizada a nivel de piel en la parte media del cuello, en un punto localizado entre la punta del esternón y la base del maxilar inferior y a 1 cm. en lateral de la traquea (Fig. 1). La incisión involucró sólo piel y tejido celular subcutáneo. Con la ayuda de una tijera punta roma se divulgó la zona, exponiéndose fácilmente la vena yugular externa.

El vaso sanguíneo fue expuesto a los labios de la herida y ligado en craneal con un nudo simple de hilo de lino (Leinen-Operationszwirn ET®, Nr.70) (Fig. 2). Un pequeño corte en la vena permitió la introducción de una sonda nasogástrica Elit® esterilizada SK-35 (450 x 1.4mm, A.N.M.A.T. PM-201). La sonda fue introducida unos 10 cm. en dirección al corazón y ligada a la pared del vaso con un nudo simple de hilo de lino (Leinen-Operationszwirn ET®, Nr.70) (Fig. 3). Su espacio muerto de 300 µl fue ocupado con una solución anticoagulante conteniendo 250 U de heparina y la sonda fue cerrada en su extremo con el tapón del adaptador. Un punto de sutura en U permitió el cierre de la herida. La porción libre de la sonda fue cubierta en 2 zonas y a espacios de 3 cm. entre las mismas con cinta hipoalérgica de 2.5 cm. x 5 cm. (ayuda a la inmovilización de la sonda) y fijada al cuello mediante un vendaje con cinta adhesiva de 9.5 cm. de ancho, procurando que el tapón de la sonda quede libre en dorsal del cuello (Fig. 4).

Los animales fueron colocados en jaulas de 1,20 m x 0,80 m, con piso plástico rejilla tipo Slats, bebedero anti-derrame, chupete de acero inoxidable, salida de agua regulable y comedero para lechos Kane KCF-9, con 2 compartimentos.

Una hora luego de realizados los cateterismos se procedió a la toma de muestras sanguíneas repetidas a los siguientes tiempos: 0, 5, 10, 15, 30 y 45 min, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12 y 24 h. (volumen por muestra 2,5 ml), mediante el uso de jeringa de 5 ml, desechando previamente 0,5 ml de la muestra correspondientes al espacio muerto de la sonda.

Terminados los muestreos se procedió a retirar los vendajes y las sondas por simple tracción, manteniendo durante unos minutos una leve compresión en la zona para evitar posibles sangrados.

Los animales fueron controlados clínicamente, pesados y el consumo de alimento fue evaluado una vez por día y durante una semana post cateterismos.

RESULTADOS

Las muestras de sangre repetitivas fueron realizadas sin inconvenientes en todos los animales durante las 24 h de muestreo. Los parámetros zootécnicos de ganancia de peso y consumo de alimento no fueron afectados por la técnica de

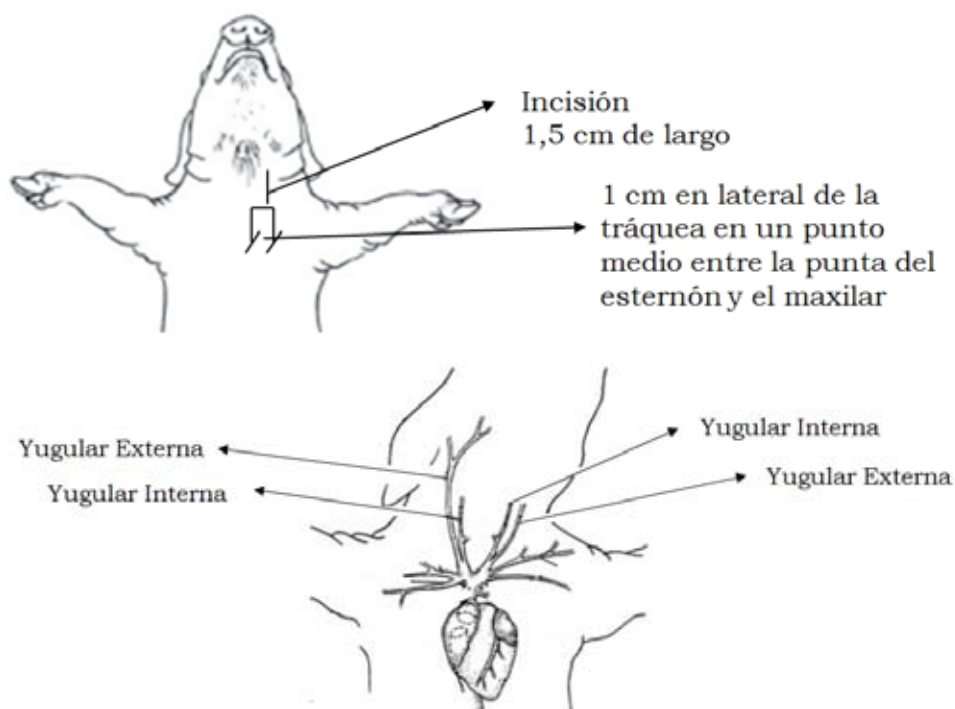


Figura 1: Sitio de incisión para el abordaje de la vena yugular externa en le lechón.
Figure 1: Incision site to approach the external jugular vein in piglets.



Figura 2: Vena yugular externa fijada en craneal.
Figure 2: External jugular vein fixed in craneal



Figura 3: Colocación de la sonda en vena yugular externa.
Figure 3: Catheter placement in the external jugular vein.

cateterismo una vez los animales restituidos a la granja. Todos los plasmas obtenidos mediante nuestra técnica no presentaron hemólisis (Fig. 5). La metodología de cateterismo desarrollada no afectó el consumo de agua y alimento durante las 24 h de muestreo y posteriormente al mismo.

DISCUSIÓN

Si bien es difícil interpretar los niveles de estrés en los cerdos (12), los animales no manifestaron quejidos y/o gritos relacionados con indicadores psicológicos de estrés o asociados con pérdida del bienestar (12, 13, 14).

Los plasmas obtenidos durante los muestreos seriados no presentaron hemólisis. Los plasmas hemolizados pueden interferir en los resultados de laboratorio, dando lugar a valores erróneos, siendo algunos de importancia en la práctica clínica, tales como urea, ferritina, magnesio, colesterol, fosfato, proteína, hierro, potasio, folato, creatina cinasa (CK), alanina aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALP), lactato deshidrogenasa (LDH) y aspartato aminotransferasa (AST) (15, 16, 17).

La técnica propuesta demostró ser simple y rápida, no requiere de materiales sofisticados,

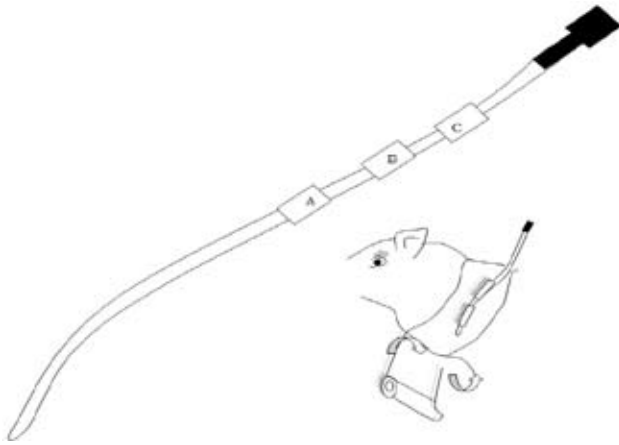


Figura 4. Disposición del catéter, A, B y C. Cinta hipoalérgica de 2.5 cm. x 5 cm. y vendaje de cuello.

Figure 4. Catheter arrangement, A, B and C. Hypoallergenic tape (2,5 cm. x 5 cm.) and neck dressing.

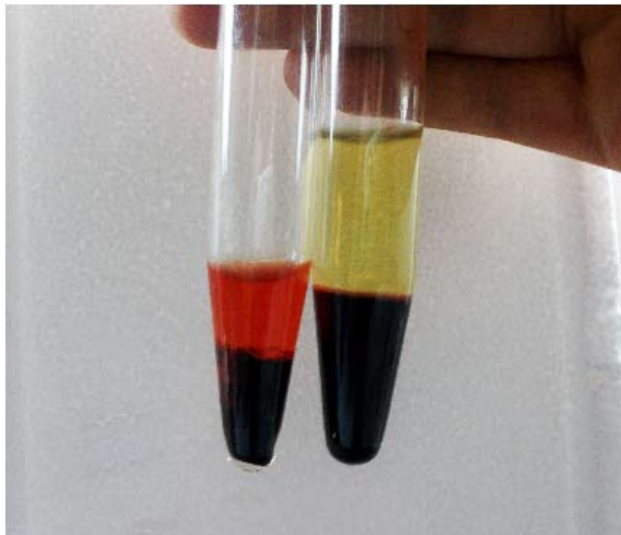


Figura 5: Comparación de muestras sanguíneas obtenidas mediante inciso punción con aguja y jeringa (A) y muestra obtenida por cateterismo (B) A: Muestra serial obtenida por inciso punción B: Muestra serial obtenida por cateterismo yugular

Figure 5: Comparison between blood samples obtained by puncture incision with syringe and needle (A) and sample obtained by catheterization (B). A: Serial sample obtained by puncture incision B: Serial sample obtained by jugular catheterization.

puede ser realiza en granja, evita el manipuleo e inmovilización repetida de los animales y permite obtener muestras de calidad analítica. Es de gran utilidad en muestreos repetitivos de sangre en función del tiempo, para estudios de productos con actividad biológica- nutricional, hormonal y farmacológicos entre otros.

BIBLIOGRAFÍA

1. Leforban Y, Vannier P. Five comparative methods of blood sampling in pigs, and their respective advantages and disadvantages in the chain of analysis. *Rec Med Vet* 1989; (165): 135-44.
2. Thomson JU. Blood collection techniques in swine. *Agr-Pract* 1991; (12): 46-52.

3. Brenner KV, Gurtler H. Further investigations on metabolic and hematological reactions of pigs to a fixation with maxillary sling. *Arch Exp Vet Med (Leipzig)* 1981; (35): 401-407.
4. Takahashi H. Long-term blood-sampling technique in piglets. *Lab Anim* 1986; (20): 206-209.
5. Baldi A, Verga M, Matti M, Canali E, Chiaraviglio D, Ferrari C. Effects of blood sampling procedures, grouping and adrenal stimulation on stress responses in the growing pig. *Repr, Nutr, Dev* 1989; (29): 95-103.
6. Smith CA, Ficken MD. Non-surgical cannulation of the vena cava for chronic blood collection in mature swine. *Lab Anim Sci* 1991, (41): 274-278.
7. Dubreuil P., Farmer C., Couture Y., Petitclerc D. Hematological and biochemical changes following an acute stress in control and somatostatin-immunized pigs. *Can J Anim Sci* 1993; (73): 241-252.
8. Prunier A, Serviére HM. Evaluation et prévention de la douleur induite par les interventions de convenance chez le porcelet. *J Rech Porc* 2002; (34): 257-268.
9. Farmer C, Dubreuil P, Couture Y, Brazeau P, Petitclerc D. Hormonal changes following an acute stress in control and somatostatin-immunized pigs. *Dom Anim Endocr* 1991; (8): 527-36.
10. Matte JJ. Développement d'une méthode rapide et non-invasive de cathétérisme jugulaire chez le porc: un outil de recherche accessible à l'industrie. *J Rech Porc en Fr* 1997; (29): 67-72.
11. Cruz JJ, Gonzalez A, Burzaco O. Avances en anestesia y analgesia del cerdo (*Sus scrofa domestica*). Disponible en: www.consultavet.org/pdf/anestesia-cerdo.pdf
12. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analysis. *Clin Chem* 1994; (40):1996-2005.
13. Sonntag O. Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; (24): 127-39.
14. García Aguilar GD, Pico Picos MA, Quintana Hidalgo L, Cabrera Argany A, Lorenzo Medina M, Aguilar Doreste JA. Utilidad de los índices séricos para la valoración de las interferencias causadas por la hemólisis y la bilirrubina en la medición de distintos constituyentes bioquímicos. *Quím Clín* 2007; 26 (4): 196-201.
15. McGlone JJ, Salak JL, Lumpkin EA, Nicholson RL, Gibson M. y Norman R.L. Shipping stress and social status effects on pig performance, plasma cortisol, natural killer cell activity and leukocyte numbers. *J Anim Sci* 1993; (71): 888
16. Warriss PD, Brown SN, Adams SJM. Relationship between subjective and objective assessment of stress at slaughter and meat quality in pigs. *Meat Sci* 1994; (38): 329-340.
17. White RG, DeShazer JA, Tressler CJ, Borchert GM, Davey S, Warninge A, Parkhurst AM, Milanuk MJ, Clems ET. Vocalizations and physiological response of pigs during castration with and without anesthetic. *J Anim Sci*, 1995; (73): 381-386.

EVALUACIÓN DEL USO DE CIPERMETRINA PARA EL CONTROL DE INSECTOS PREDADORES DE ALEVINES DE PECES EN CAVAS DE PRODUCCIÓN ACUÍCOLA

Plaul SE, García Romero N, Barbeito CG

Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Veterinarias,
UNLP. Calle 60 y 118 CP 1900. La Plata, Argentina.

RESÚMEN: Los emprendimientos acuícolas semi-intensivos de cría de peces ornamentales, basan su producción en la siembra de alevines en cavas fertilizadas para el desarrollo de grandes cantidades de zooplancton, alimento de los peces. Los piretroides como la cipermetrina, constituyen una opción económica para combatir distintos insectos que depredan a los alevines. Se utilizaron cuatro cavas las cuales fueron fertilizadas 10 días antes del tratamiento. En ellas, se dispusieron jaulas con alevines de *Carassius auratus* y se administraron dosis de 0,075; 0,15; 0,225 y 0,3 µg/L de cipermetrina al 25 %. Se tomaron muestras de plancton y de peces inmediatamente antes y cinco días después de aplicar el insecticida. Se realizó el recuento de insectos y zooplancton, y el estudio clínico y patológico de los peces. Con las menores concentraciones se controlaron los insectos sin generar lesiones en los peces, pero se observó una leve disminución del plancton. Con 0,225 µg/L se alteró la alimentación de los peces, además se observó hiperemia branquial y congestión esplénica. Con 0,3 µg/L se observó mortandad aguda con hemorragias y necrosis hepática y renal. El presente trabajo permite establecer concentraciones para el control de los depredadores sin generar daños en los peces ni en el plancton.

PALABRAS CLAVES: acuicultura, peces ornamentales, cipermetrina, *Carassius auratus*.

EVALUATION OF THE USE OF CYPERMETHRIN IN THE CONTROL OF PREDATORY INSECTS OF ALEVINS IN AQUACULTURE PONDS

ABSTRACT: Semi-intensive aquaculture systems of ornamental fish are based on the sowing of alevins in fertilized ponds. This procedure aims to produce a great amount of zooplankton, which constitutes the main fish food. Pyrethroid pesticides, such as cypermethrin, are widely used to control the activity of predatory insects of fish larvae. Four ponds filled and fertilized 10 days before pesticide application were monitored. Two cages with *Carassius auratus* alevins were placed in each pond. Dose of 0.075; 0.15; 0.225 and 0.3 µg/L of 25% cypermethrin were administered. Plankton and fish samples were taken before the application of the pesticide and 5 days afterwards. It was carried out a count of insects and zooplankton. Clinical and pathological (macro and microscopic) evaluation of the fish was performed. The lowest dose controlled insects partially and does not lead to changes in larvae, but it is responsible for a slight decrease of zooplankton mass. Feeding changes, gills hyperemia and spleen congestion were found in fish treated with 0.225µg/L. Acute death with massive haemorrhages, liver and kidney necrosis were observed with the highest dose. This work allows us to adjust the correct dose of cypermethrin to control depredators without modifying the conditions of fish and plankton.

KEY WORDS: aquaculture, ornamental fishes, cypermethrin, *Carassius auratus*.

Fecha de recepción: 12/11/09

Fecha de aprobación: 20/06/10

Dirección para correspondencia: S.E. Plaul, Cátedra de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

E-mail: splaul@fcnym.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la acuicultura, el cultivo de organismos acuáticos, comenzó a destacarse como disciplina científica y tecnológica. Hasta el momento, las investigaciones en este campo han estado dirigidas principalmente hacia el conocimiento y el control del medio ambiente en el que viven los organismos acuáticos y hacia aspectos fundamentales de su biología como la alimentación y la reproducción.

Los emprendimientos acuícolas semi-intensivos de cría de peces ornamentales basan su esquema de producción en la siembra de larvas en cavas fertilizadas para el desarrollo de grandes cantidades de fito y zooplancton que les servirá como alimento. Uno de los factores ambientales que influyen en la producción de alevines es la presencia de depredadores como larvas y adultos de insectos de los ordenes Odonata, Hemiptera y Coleóptera que pueden causar grandes pérdidas en la producción (1).

Para su control los productores suelen utilizar insecticidas, entre los cuales se hallan los piretroides, el uso de los mismos se amplió a medida que el empleo de los demás pesticidas (organoclorados, carbamatos y organofosforados) disminuyó debido a su alta residualidad, bioacumulación, y al efecto tóxico y carcinogénico para los organismos que no son objeto de control (2). Los piretroides no tienen éstas desventajas, además su costo es bajo y con pequeñas cantidades del producto se consigue eliminar a los insectos. Debido a estas características son considerados por los productores agropecuarios una de las principales armas en el control de artrópodos perjudiciales. Su mecanismo de acción, como el de casi todos los insecticidas, consiste en alterar la transmisión del impulso nervioso en el sistema nervioso central y periférico, específicamente los piretroides alteran la cinética de los canales de Na^+ (3).

Pese a que su toxicidad es menor que la de otros insecticidas, las concentraciones altas de cipermetrina en el agua son tóxicas e incluso letales para los peces. Dentro de los cambios encontrados en peces de agua dulce sometidos a concentraciones letales de cipermetrina se hallaron: aumento en el movimiento opercular, pérdida del equilibrio, cambios en la coloración, incremento de la secreción de mucus y actividad natatoria irregular (4). En los peces sometidos a concentraciones subletales del tóxico se halló un descenso significativo de proteínas en músculo y riñón (5) cerebro, hígado y branquias (6), modificaciones en el metabolismo lipídico de estos últimos órganos (7) y cambios en la actividad de las enzimas hidrolíticas del tracto gastrointestinal (8).

La abundancia de rotíferos, protozoos, bacterias y la concentración de clorofila de las algas

perifíticas y planctónicas se halla estrechamente relacionada con la concentración de cipermetrina en el medio acuático (9). Este piretroide produce una disminución de muchas especies de crustáceos zooplanctónicos, en los cuales se observa una alteración de la actividad metabólica, el desarrollo y la ecdisis (10), siendo los nauplios de los copépodos, los organismos más sensibles a éstos cambios (11). Debemos resaltar que estos organismos son fundamentales en el mantenimiento del equilibrio del ecosistema que constituyen la cava y las redes tróficas presentes en él.

A partir de éstos antecedentes se planificó un seguimiento en las tareas habituales de un productor de peces ornamentales para determinar los posibles efectos de la aplicación, a diferentes concentraciones, de cipermetrina sobre organismos planctónicos y sobre los peces bajo cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron cinco cavas de tierra de 100 m^3 , las cuales fueron preparadas según la rutina del productor de la siguiente manera:

1) Se arranca toda la vegetación del fondo y se quema.

2) Se extiende una capa de cal viva sobre el fondo, a razón de 150 kg/ha para esterilizar y mejorar la estructura del suelo.

3) Se agrega un fertilizante orgánico (5 tn/ha), con lo cual se asegura un buen crecimiento de los organismos que serán la alimentación de los alevines.

4) Se llenan las cavas y se dejan reposar durante 10 días.

En las mismas se dispusieron dos jaulas de 1 m^3 en donde se sembraron alevines de *C. auratus* en una densidad de 15 individuos/ m^3 .

Se utilizaron concentraciones de 0,075 $\mu\text{g/L}$; 0,15 $\mu\text{g/L}$; 0,225 $\mu\text{g/L}$ y 0,3 $\mu\text{g/L}$ de Cipermetrina al 25 % por cava. Las muestras de peces, plancton y de insectos se realizaron en tres sectores: en la entrada de agua, en el centro de la cava y en la salida de agua; éstas fueron tomadas previamente al tratamiento y 5 días después del mismo. Se relevaron las variables limnológicas de pH, conductividad, salinidad y temperatura.

En todas las cavas se extrajeron muestras de zooplancton en un perfil vertical, para su extracción se utilizó una red de 50 μm de abertura de malla por la que se filtró 50 litros de agua, luego se fijó con formol bufferado al 7%. La identificación y recuento de organismos se realizó con cámaras de Neubauer; con tamaños de celdas de 50mm x 20mm x 1mm, con un volumen de 1,0 ml; la observación se realizó con microscopio binocular. La abundancia relativa fue expresada en organismos por litro de agua, considerado de la siguiente manera:(-): sin organismos, (+): < 600 org./L, (++) : 600 - 1200 org./L y (+++) : >

1200 org./L. Las muestras de larvas de insectos fueron colectadas utilizando coladores durante una hora y media, realizándose ambos muestreos a la misma hora del día. La observación se realizó bajo lupa binocular, su abundancia se estableció de la siguiente manera: (-): sin organismos, (+): < 8, (++) : 8 - 20 y (+++) : > 20.

Los peces fueron sacrificados mediante punción lumbar, procediéndose luego a la necropsia de los mismos. Se tomaron muestras de branquias, bazo, hígado y riñón, que fueron fijadas en formol bufferado al 10%. Las muestras seleccionadas fueron tratadas según el protocolo habitual para la coloración con Hematoxilina - Eosina (H-E). Por lo que fueron deshidratadas en concentraciones crecientes de alcohol etílico (70°, 90° y 100°), luego aclaradas en xilol. Las muestras se incluyeron en parafina, confeccionándose un taco por cada una de ellas. Los cortes fueron coloreados con hematoxilina y eosina

RESULTADOS

En todas las cavas se logró controlar a los insectos. En las cavas que contenían dosis

de 0,075 µg/L y 0,15 µg/L no se consiguió la eliminación total de los insectos, pero si una gran disminución de los mismos sin alterar el estado de salud de los peces.

En el recuento de zooplancton de la cava control y de las cavas con 0,075 µg/L y 0,15 µg/L de cipermetrina, se hallaron integrantes del macrozooplancton como copépodos y sus estadios larvales, cladóceros, ostrácodos y rotíferos; también fueron observados ciliados y flagelados como componentes del microzooplancton. En ellas se encontró solamente una leve disminución en la cantidad de zooplancton, siendo los nauplios de los copépodos los más afectados. Estos organismos desaparecieron en su totalidad en las cavas que contenían 0,225 µg/L y 0,3 µg/L.

A una concentración de 0,225 µg/L se detectaron mortalidades subagudas en los peces, con cambios en la conducta de natación y alimentación. El estudio histopatológico de los peces sacrificados nos permitió determinar distintas lesiones. Las branquias se encontraban hiperémicas, con abundancia de eritrocitos en los capilares laminillares. En el riñón se detectó un

TABLA 1. Recuento de zooplancton e insectos y lesiones macroscópicas encontradas en los peces presentes en las cavas. Abundancia relativa de zooplancton: (-): sin organismos, (+): < 600 org./L, (++) : 600 - 1200 org./L, (+++) : > 1200 org./L. Abundancia de larvas de insectos: (-): sin organismos, (+): < 8, (++) : 8 - 20 y (+++) : > 20.

TABLE 1. Count of insects and zooplankton, macroscopic evaluation of the lesions fish. Relative abundance of zooplankton: (-): negative, (+): < 600 org./L, (++) : 600 - 1200 org./L, (+++) : >1200 org./L. Insects larvae abundance: (-): negative, (+): < 8, (++) : 8 - 20 y (+++) : > 20.

| Concentración de cipermetrina | Control | 0,075 µg/L | 0,15 µg/L | 0,225 µg/L | 0,3 µg/L |
|---------------------------------------|---------|----------------|----------------|---|---|
| Efecto sobre zooplancton | | | | | |
| Nauplios de Copépodos | +++ | ++ | + | - | - |
| Rotíferos | +++ | +++ | +++ | ++ | + |
| Cladóceros | +++ | +++ | ++ | + | - |
| Ostrácodos | +++ | +++ | ++ | + | - |
| Flagelados | +++ | +++ | ++ | + | + |
| Ciliados | +++ | +++ | ++ | + | + |
| Efecto sobre <i>C. auratus</i> | | Sin alteración | Sin alteración | Mortalidad subaguda, con cambios en la conducta de natación y alimentación. | Mortalidad aguda y total con hemorragias extendidas por todo el cuerpo. |
| Efecto sobre insectos | | | | | |
| Odonata | +++ | + | + | - | - |
| Hemíptera | +++ | + | + | - | - |
| Coleóptera | +++ | + | + | - | - |

material acidófilo homogéneo (probablemente de naturaleza proteica) en las células de los túbulos proximales, intermedios y distales, acompañado de dilatación de la luz y congestión de las nefronas. El bazo se encontró congestivo. En el hígado los hepatocitos presentaron degeneración hídrica.

Con una concentración de 0,3 µg/L la mortalidad fue aguda y total, observándose macroscópicamente hemorragias extendidas por todo el cuerpo del animal. Las alteraciones microscópicas fueron congestión e infiltrado mononuclear, con abundantes linfocitos en todos los órganos muestreados. A nivel de las laminillas branquiales se hallaron sectores con desprendimiento del revestimiento epitelial causados por procesos de edema lamelar. En algunas zonas las laminillas adyacentes se hallaban fusionadas debido a procesos hiperplásicos. Las células mucosas fueron las más afectadas, en ellas se encontró hiperplasia e hipertrofia. En el hígado se hizo evidente que a mayores dosis los daños son más marcados e incluyen cambios vasculares como dilatación de sinusoides y congestión, además de lesiones en el parénquima con zonas de necrosis focal rodeadas por infiltrado inflamatorio. En los cortes de riñón aparece congestión vascular intensa, infiltrado intersticial y necrosis del epitelio tubular acompañada de lesión glomerular.

DISCUSIÓN

Se conoce que la exposición a concentraciones altas de cipermetrina provoca una respuesta letal aguda en los peces durante los primeros días, además los animales que sobreviven muestran efectos subletales como pérdida de peso. Sin embargo, no han sido observadas alteraciones evidentes en los procesos de diferenciación sexual o desarrollo gonadal (12). Según Sprague (13) un factor que podría modificar la toxicidad de los contaminantes es la temperatura. Experimentos realizados con larvas de pejerrey expuestas a diferentes concentraciones de cipermetrina demuestran que hay una correlación negativa con la temperatura del agua (12, 14). Nuestras observaciones concuerdan con las realizadas por Wendt-Rasch (11) y Friberg-Jensen (9) ambos en 2003 quienes señalaron que la aplicación de éste piretroide a concentraciones de 0,13 µg/L y 0,04 - 0,17 µg/L respectivamente, afecta el desarrollo de los crustáceos zooplanctónicos y que los menos perjudicados son los rotíferos. Dentro de los crustáceos los más sensibles son los nauplios de los copépodos, que disminuyeron en número incluso a las concentraciones más bajas, 0,075 µg/L, esta observación coincide con los hallazgos de Wendt-Rasch en 2003 (11) quienes aplicaron dosis de 0,01 µg/L de cipermetrina y también encontraron una disminución de estos organismos. Cuando el tóxico se eliminó del medio, después

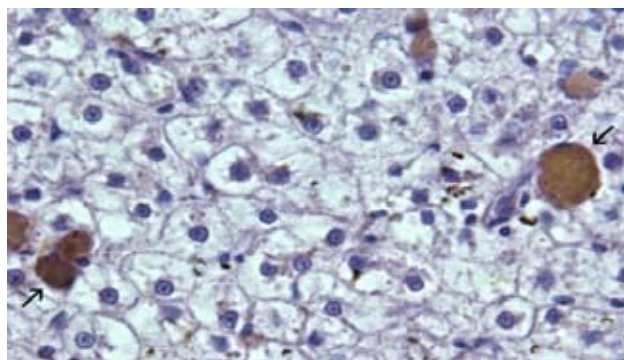


Figura 1: Hepatocitos con degeneración hídrica en hígado de *C. auratus* (0,225 µg/L de cipermetrina al 25%). Las flechas marcan los centros melanomacrofágicos. H-E 40X.

Figure 1: Vacuolar degeneration of hepatic cells in *C. auratus* (0.225 µg/L of 25% cypermethrin). H-E 40X. Arrows indicates melanin macrophages centers.

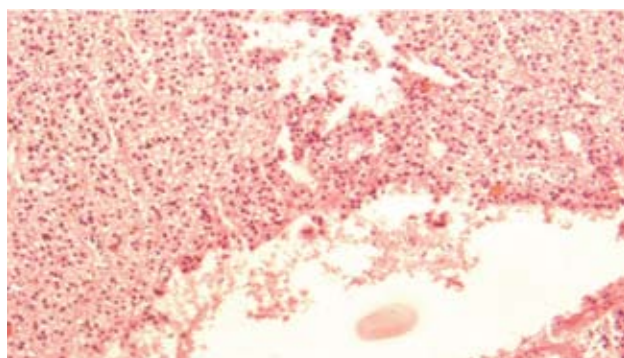


Figura 2: Necrosis hepática en *C. auratus* (0,3 µg/L de cipermetrina al 25%). H-E 20X.

Figure 2: Hepatic necrosis in *C. auratus* (0.3 µg/L of 25% cypermethrin). H-E 20X.

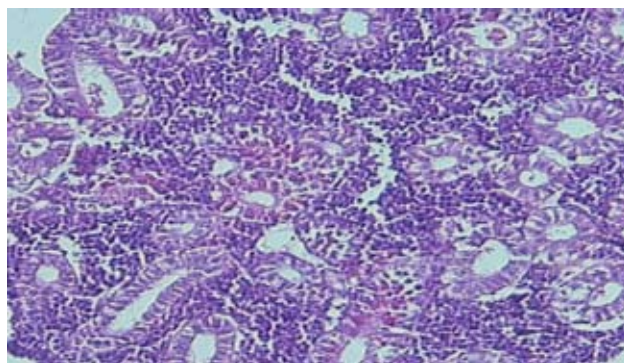


Figura 3: Porción caudal del riñón de *C. auratus* (0,3 µg/L de cipermetrina al 25%). Degeneración hialina de las células tubulares. Infiltrado celular linfocitario. H-E 20X.

Figure 3: Hyaline droplet degeneration of tubular epithelial cells of posterior kidney in *C. auratus* (0.3 µg/L of 25% cypermethrin). This change is accompanied by leucocyte infiltration. H-E 20X.

de 10 días, la abundancia de nauplios fue significativamente alta comparada con el control (15), esto sería una respuesta al estrés subletal, en la cual los organismos aumentan su tasa reproductiva o se produce un aumento en la eclosión de los copépodos que se hallaban en estado latente.

En nuestro caso no se pudo evaluar este efecto porque se tomó solamente una muestra.

Las concentraciones mayores de cipermetrina, en cambio, resultaron perjudiciales para todos los organismos acuáticos analizados. Por un lado afectaron de manera directa a los peces produciendo lesiones que los llevaron a la muerte y por otra parte disminuyeron la productividad de zooplancton de la cava y en consecuencia los costos de producción, ya que estos organismos son importantes para los peces debido a que constituyen un alimento natural durante el proceso de cría de los alevines. El zooplancton gracias a la fertilización orgánica se desarrolla activamente y su abundancia relativa varía con el tiempo, adquiriendo mayor importancia a medida que los alevines crecen.

Se conoce que los órganos más susceptibles, en los peces, a la acción de la cipermetrina son el hígado, los músculos y el riñón (16). En el hígado, en concordancia con las observaciones realizadas por Joshi en 2007 (17) y Singh y Singh en 2008 (18), los cambios más notables observados en nuestro trabajo, fueron la vacuolización de los hepatocitos a concentraciones de 0,225 µg/L. Mientras que a la mayor concentración, 0,3 µg/L, la necrosis fue evidente. Si bien no encontramos fibrosis en las regiones perivasculares, como describieron Joshi *et al.* (17) y Singh y Singh (18), esto es seguramente, debido a que los peces fueron sacrificados cinco días después del tratamiento, y para el desarrollo de un proceso fibrótico se requiere de cronicidad en la lesión. Los mencionados autores expusieron a *Heteropneustes fossilis* durante la etapa previa al desove a dosis subletales, 60 días y 45 días respectivamente, y observaron que los hepatocitos se hacían irregulares perdiendo su forma poligonal, se encontraban muy vacuolizados y picnóticos, con extensas áreas de necrosis e iniciación de fibrosis.

Las alteraciones observadas en el examen histopatológico de las branquias de los peces sacrificados coinciden con las lesiones halladas por Kumaraguru en 1982 (19) en *Salmo gairdneri* y por Domitrovic (2000) en *Cichlasoma dimerus*, cuando ambas especies fueron sometidas a concentraciones subletales. Por lo tanto, el efecto parece no depender de la especie estudiada. Los tóxicos, debido a su acción irritante, estimulan la proliferación de las células mucosas de los filamentos y las laminillas branquiales, participando de este modo en su protección (Kumaraguru *et al.*, 1982; Bradbury y Coats, 1989; Haya, 1989), esto se corresponde con la hiperplasia e hipertrofia de estas células observada en nuestro trabajo.

En la bibliografía seleccionada se menciona al riñón como órgano blanco (Lutnicka *et al.* 1999), pero no hemos encontrado datos sobre

los cambios histopatológicos hallados en el mismo, en nuestro trabajo las lesiones encontradas fueron muy evidentes en los peces expuestos a dosis de cipermetrina en comparación con los controles y consistieron en congestión vascular intensa, daño glomerular y dilatación de la luz de los túbulos, e inclusive necrosis del epitelio tubular en los animales expuestos a la concentración mayor.

Nuestros resultados demuestran que los insecticidas, como la cipermetrina, utilizados en las cavas de tierra para el control de insectos depredadores, pueden causar grandes pérdidas que perjudican la producción. Esto es debido a que este piretriode no solo elimina a los insectos perjudiciales sino también a los componentes del macro y microzooplancton que les sirven de alimento a los peces y, además, en altas concentraciones es lesivo para los mismos peces que se están cultivando. Al comparar nuestros resultados con los de otros autores encontramos que las lesiones son inespecíficas, ya que son semejantes en distintas especies de teleósteos. A partir de nuestros resultados consideramos fundamental diseñar un proceso de producción, que contemple cual es la concentración de cipermetrina adecuada para combatir los posibles predadores de los peces sin alterar de manera significativa al plancton ni generar lesiones en los vertebrados. Los resultados del presente trabajo aportan datos para mejorar las medidas de manejo habituales en los cultivos semi-intensivos de peces ornamentales.

BIBLIOGRAFÍA

1. FAO Colección: Capacitación. La carpa común. Parte 2. Producción masiva de alevines y jaramugos. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma (Italia), 1986; p. 85.
2. EPA. Reconocimiento y Manejo de los Envenenamientos por Pesticidas. 2006. <http://www.epa.gov/oppead1/safety/spanish/healthcare/handbook/Spch4.pdf>
3. Bloomquist JR. Neuroreceptor mechanisms in pyrethroid mode of action and resistance. *Rev. Pestic. Tox.* 1993; 2: 185 – 226.
4. Prashanth MS, David M, Mathed SG. Behavioural changes in freshwater fish, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to cypermethrin. *J. Environ. Biol.* 2005; 26(1): 141-144.
5. Begum G. Cypermethrin- induced biochemical perturbations in freshwater fish *Clarias batrachus* at sublethal exposure and after released into freshwater. *Drug. Chem. Toxicol.* 2007; 30(1): 55 – 65.
6. Reddy AT, Yellamma K. Cypermethrin induced changes in nitrogen metabolism of fish, *Tilapia mossambica*. *Biochem. Internat.* 1991; 23(4): 649 – 654.
7. Reddy AT, Ayyanna K, Yellamma K. Cypermethrin induced modulations in lipid metabolism of freshwater

- teleost, *Tilapia mossambica*. *Biochem. Internat.* 1991; 23(5): 963 –967.
8. Simon LM, Laszlo K, Kotorman M, Vertéis A, Bagi K, Nemcsok J. Effects of synthetic pyrethroids and methidation on activities of some digestive enzymes in carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Environ. Sci. Health B.* 1999; 34(5): 819 – 828.
9. Friberg- Jensen U, Wendt-Rasch L, Woin P, Christoffersen K. Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquat. Toxicol.* 2003, 63(4): 357 – 371.
10. Collins P, Cappello S. Cypermethrin toxicity to aquatic life: bioassays for the freshwater prawn *Palaeomonetes argentinus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2006; 51(1): 79 – 85.
11. Wendt-Rasch L, Friberg- Jensen U, Woin P, Christoffersen K. Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on a freshwater community studied under field conditions. II. Direct and indirect effects on the species composition. *Aquat. Toxicol.* 2003a; 63(4): 373 – 389.
12. Carriquiriborde P, Díaz J, López GC, Ronco AE, Somoza GM. Effects of cypermethrin chronic exposure and water temperature on survival, growth, sex differentiation, and gonadal developmental stages of *Odontesthes bonariensis* (Teleostei). *Chemosphere.* 2009; 76: 374 – 380.
13. Sprague JB. Factors that modify toxicity. En: Rand, G. M. (Ed.), *Fundamentals of aquatic toxicology: Effects, environmental fate and risk assessment*, 2nd ed. Taylor & Francis. London (Gran Bretaña). 1995; p. 1012 – 1051.
14. Haya K. Toxicity of pyrethroid insecticides to fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 1989; 8: 381 – 391.
15. Wendt-Rasch L, Pirzadeh P, Woin P. Effects of metsulfuron methyl and cypermethrin exposure on freshwater model ecosystems. *Aquat. Toxicol.* 2003b; 63(4): 373 – 389.
16. Lutnicka H, Bogacka T, Wolska L. Degradation of pyrethroids in an aquatic ecosystem model. *Wat. Res.* 1999; 33(16): 3441 – 3446.
17. Joshi N, Dharmalata, Sahu AP. Histopathological changes in liver of *Heteropneustes fossilis* exposed to cypermethrin. *J. Environ. Biol.* 2007; 28 (1): 35 – 37.
18. Singh PB, Singh V. Cypermethrin induced histological changes in gonadotrophic cells, liver, gonads, plasma levels of estradiol-17 β and 11-ketotestosterone, and sperm motility in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Chemosphere.* 2008; 72: 422 – 431.
19. Kumaraguru AK, Beamish FWH, Ferguson HW. Direct and circulatory paths of permethrin (NRDC – 143) causing histopathological changes in the gills of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 1982; 20: 87 – 91.
20. Domitrovic HA Toxicidad y respuesta histopatológica en *Cichlasoma dimerus* (Pisces, Cichlidae) expuestos a cipermetrina en ensayos de toxicidad aguda. *Com. Cient. Tecnol., UNNE, Corrientes, Argentina.* 2000. (on line V-047). www.unne.edu.ar/cyt/2000/cyt.htm
21. Bradbury SP, Coats JR. Comparative toxicology of the pyrethroid insecticides. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 1989; 108: 133 – 177.

PROLACTIN AND THYROID HORMONES IN DOGS

Castillo V, Lalia J, Scodelaro C, Bellini MJ, Gobello C

School Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, National University of Buenos Aires,
Animal Physiology, Faculty of Veterinary Medicine and INIBIOLP, National University of La Plata,

Abstract: *There is very scarce information concerning prolactin (PRL) serum concentrations under pathologic conditions in dogs. To describe the relationship between PRL and thyroid hormones serum concentrations forty-five cross- and pure-bred male and female dogs with clinical suspicious of hypothyroidism were blood sampled for PRL and thyrotropin (TSH), thyroxin (T4) and/or free T4 (FT4) serum determinations. Prolactin concentrations in hypothyroid and euthyroid dogs were compared by the Mann-Whitney test. For further description of data correlation analyses between PRL and TSH, FT4 or T4 were also tested. Percentage PRL change was calculated in the patient in which the TRH stimulation test was carried out. Overall serum PRL concentrations in hypothyroid (n= 34) and euthyroid (n= 11) dogs were 25.9±4.8 and 14.6±6.5 ng/ml, respectively (p >0.05). No significant correlation could be found between PRL and the different thyroid hormones in any group. The stimulated dog was classified as subclinical a hypothyroid (grade I). Prolactin increased 5 times (from 0.4 to 2.1 ng/ml) after TRH injection in this animal. Further work should be done to describe prolactinemia in canine hypothyroidism.*

Key words: prolactin, canine, thyroid gland, hypothyroidism

PROLACTINA Y HORMONAS TIROIDEAS EN CANINOS

Resumen: *Muy poco se conoce sobre la concentración sérica de prolactina (PRL) bajo condiciones patológicas en perros. Para describir la relación entre las concentraciones séricas de PRL y las hormonas tiroideas se usaron cuarenta y cinco perros machos y hembras de raza pura y mestizos con sospecha clínica de hipotiroidismo, de los cuales se tomaron muestras de sangre para determinaciones séricas de PRL y tirotrófina (TSH), tiroxina (T4) y/o T4 libre (T4L). Las concentraciones de PRL en perros hipotiroideos y eutiroideos se compararon con el test de Mann-Whitney. Para la descripción adicional de los datos se correlacionó la PRL y la TSH, T4L o T4. El porcentaje cambio de la PRL se calculó en los pacientes en los que se realizó la prueba de estimulación con TRH. La concentración sérica de PRL de la totalidad de los perros hipotiroideos (n= 34) y eutiroideos (n= 11) fue de 25.9±4.8 y 14.6±6.5 ng/ml, respectivamente (p >0.05). No se encontraron diferencias significativas entre la PRL y las diferentes hormonas tiroideas en ninguno de los grupos. El perro estimulado se clasificó como hipotiroideo subclínico (grado I). En ese animal la prolactina aumentó 5 veces (de 0.4 a 2.1 ng/ml) después de la inyección de TRH. Deben realizarse trabajos adicionales para describir la prolactinemia en caninos con hipotiroidismo.*

Palabras clave: prolactina, canino, glándula tiroidea, hipotiroidismo

Fecha de recepción: 01/03/10

Fecha de aprobación: 20/06/10

Dirección para correspondencia: C Gobello. Animal Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, 60 y 118, La Plata (1900). National University of La Plata. Argentina.

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

INTRODUCTION

Prolactin (PRL) is a peptide hormone produced and secreted by the lactotropic cells of the anterior pituitary. In mammals, PRL is essentially involved in the control of reproduction (1). Particularly, in the domestic dog this hormone regulates gonadal function, mammary development and reproductive behavior (2, 3). Prolactin secretion is regulated by a constant inhibitory tone of hypothalamic origin, whose main mediator is dopamine. Dopamine acts on D2 type dopamine receptors on the lactotropic cells. Prolactin secretion is further regulated by numerous neurotransmitters and peptide factors. They may have either an inhibitory or stimulatory effect. The latter are histamine, oxytocin, vasopressin, thyrotropin releasing hormone (TRH), estrogens, GnRH and opioids (1).

In human beings, pathologic hyperprolactinemia is a common condition that can result from a number of causes including use of medications (dopamine antagonists, estrogens), compression of the pituitary stalk by other pathology, hypothyroidism, renal failure, cirrhosis, or pituitary prolactinomas. Hyperprolactinemic patients can present with hypogonadism, infertility, galactorrhea (4).

There is very scarce information concerning PRL serum concentrations under pathologic conditions in dogs. This may be due to the lack of pituitary imaging techniques in most veterinary hospitals as well as to the fact that prolactinemia is not a routine determination in clinical practice. In this species, hyperprolactinemia has only been described in clinically overtly pseudopregnant bitches (5, 6, 7) and in one case of hypothyroidism (8). Knowing that primary hypothyroidism is the most prevalent endocrine disease in dogs it was of interest to describe the relationship between PRL and thyroid hormones serum concentrations in primary hypothyroid and euthyroid dogs.

MATERIALS AND METHODS

ANIMALS

Forty-five client-owned cross- and pure-bred male and female dogs, aged 5.9 ± 3.2 years, weighing 10 to 35 kg that were referred to us were included in this study. All the animals had a clinically strong suspicion of hypothyroidism. They were obese or presented either dermatologic or reproductive problems. None of them had galactorrhea. Primary hypothyroidism was defined as serum thyrotropin (TSH) > 0.4 ng/ml with low free thyroxin (FT4 < 0.7 ng/dl) or thyroxin (T4 < 1 µg/dl; 9).

BLOOD SAMPLING AND HORMONE ASSAYS

Blood samples for PRL and different thyroid hormone determinations were collected by direct

peripheral venipuncture (jugular/cephalic/saphenous). In one case, basal and 15 minutes after the iv administration of 10 µg/kg TRH (Threlea 200®, Elea, Argentina) samples were also taken. All the samples were centrifuged at 4,000 g for 15 minutes, serum obtained and stored at 20° C until hormone assay.

Serum PRL was measured by a homologous endpoint enzyme immunometric assay (Milenia, DPC®, Bad Nauheim, Germany). The intraassay and interassay coefficients of variation (CV) of the kit were 5.3 and 8.7, respectively. The lowest limit of detection at 95 % binding (sensitivity) was 0.4 ng/ml.

Canine thyrotropin (cTSH) was determined by a solid phase canine immunoradiometric assay (IRMA, DPC®, Los Angeles, CA, USA), sensitivity was 0.03 ng/ml. The intraassay and interassay CV were 3% and 4.3%, respectively. Canine T4 was carried out by solid phase radioimmunoassay (RIA), sensitivity was 0.16 µg/dl (DPC®, Los Angeles, CA, USA). Free T4 was measured by a solid phase human RIA (DPC®, Los Angeles, CA, USA). The intraassay and interassay CV were 2% and 3.5%, respectively while sensitivity was 0.05 ng/dl.

DATA ANALYSIS

Descriptive statistics (mean \pm SEM) was carried out for PRL serum concentrations in hypothyroid and euthyroid dogs. Prolactin concentrations in hypothyroid and euthyroid dogs were also compared by the Mann-Whitney test. For further description of data, correlation analyses between PRL and TSH, FT4 or T4 were also tested. The level of significance was set at 0.05. Percentage PRL change was calculated in the patient in which the TRH stimulation test was carried out.

RESULTS

Overall serum PRL concentrations in hypothyroid (n= 34) and euthyroid (n= 11) dogs were 25.9 ± 4.8 and 14.6 ± 6.5 ng/ml, respectively ($p > 0.05$). No significant correlation could be found between PRL and the different thyroid hormones in any group. The stimulated dog was classified as subclinical hypothyroid (grade I; 10). Serum PRL increased 5 times (from 0.4 to 2.1 ng/ml) after TRH injection in this animal.

DISCUSSION

In euthyroid dogs PRL serum concentrations were within the range previously reported for this species using the same homologous assay (6, 11, 12). Although no statistically significant difference could be found for PRL serum concentrations between hypothyroid and euthyroid dogs, a tendency to higher values could be observed

in the hypothyroid animals. It may be the case that in a larger population significant differences appeared. Hyperprolactinemia is believed to develop following thyroid hormone deficiency - induced increase in TRH secretion which, in turn, stimulates PRL production in hypothyroid patients (13).

Although the authors have observed previous cases of galactorrhea associated with hypothyroidism none of the animals of this study presented galactorrhea. Galactorrhea has been associated with primary hypothyroidism in several species including dogs (8,13,14). It seems that the appearance of this clinical sign requires facilitating factors such as an entire state and previous endocrine mammary stimulation (13). In a human study, galactorrhea has been found in only 24% of cases of severe hyperprolactinemia (15).

In the present study neither hypothyroid nor euthyroid dogs showed a significant correlation between PRL and thyroid hormones. Similar results were found in several human studies where no correlation was found between TSH and PRL concentrations (16, 17, 18).

In human medicine, stimulatory TRH test was devised to determine the etiology of hyperprolactinemia. Patients with prolactinomas have a diminished PRL response to exogenous TRH, although this test is not specific as the response may not be consistent (1). In this hypothyroid dog, PRL markedly increased after TRH stimulation demonstrating an exaggerated lactotropic cell response to exogenous TRH. Similarly, in men post stimulation PRL concentrations were significantly higher in primary hypothyroid than in controls (16, 17).

It is concluded that these hypothyroid dogs had a tendency to present higher PRL serum concentrations, although further work should be done to describe prolactinemia in hypothyroidism and other pathological conditions in this species.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank Dr R Goya for permitting the use of part of his laboratory equipment.

REFERENCES

1. Thorner MO, Vance ML, Horvath E, Kovath K, The Anterior Pituitary. In: Wilson JD, Foster DW (eds.), Williams Textbook of Endocrinology 8th ed. WB Saunders, Philadelphia, 1992; p. 221-310.
2. Shafik A, Prolactin injection, a new contraceptive method: experimental study. *Contraception*, 1994; 50: 191-199.
3. Jochle W, Prolactin in canine and feline reproduction. *Reprod Dom Anim*, 1997; 32: 183-193.
4. Lech MM. The diagnosis of hyperprolactinemia in

clinical practice. *Ginekol Pol*, 2005; 76: 1008-1013.

5. Okkens, AC, Dieleman, S; Kooistra, HS, Bevers, M, Plasma concentrations of prolactin in overtly pseudo-pregnant Afghan hounds and the effect of metergoline. *J Reprod Fertil*, 1997; 51: 295-301.

6. Gobello C, Colombani M, Scaglia H, De La Sota RL, Goya RG, Heterogeneity of circulating prolactin in the bitch. *Reprod Nutr Dev*, 2001; 41: 505-511.

7. Tsutsui T, Kirihara N, Hori T, Concannon PW, Plasma progesterone and prolactin concentrations in overtly pseudopregnant bitches: a clinical study. *Theriogenology*, 2007; 67: 1032-1038.

8. Cortese L, Oliva G, Verstegen J, Ciaramella P, Persechino A, Hyperprolactinaemia and galactorrhea associated with primary hypothyroidism in a bitch. *J Small Anim Pract*, 1997; 38: 572-575.

9. Feldman EC, Nelson RW, Hypothyroidism. In: Canine and feline endocrinology and reproduction 2nd ed. WB Saunders, Philadelphia, 1996; p. 68-117.

10. Castillo V, Rodriguez MS, Lalia J, Estimulación con TRH y evaluación de la respuesta de la TSH en perros. Su importancia en el diagnóstico de enfermedad tiroidea subclínica (hipotiroidismo subclínico y tiroiditis autoinmune eutiroides). *Revista Científica* 2001; 11: 23-27.

11. Corrada Y, Rimoldi I, Arreseigor S, Marecco G, Gobello C, Prolactin reference range and pulsatility in male dogs. *Theriogenology*, 2006; 66: 1599-1602.

12. Ortega-Pacheco A, Segura-Correa JC, Bolio-Gonzalez ME, Jimenez-Coello M, Linde Forsberg C, Reproductive patterns of male stray dogs in the tropics *Theriogenology*, 2006; 66: 2084-2090.

13. Chastain CB, Schmidt B, Galactorrhea associated with hypothyroidism in intact bitches. *J Am Anim Hosp Assoc*, 1980; 16 851- XX.

14. Larsen, PR, Inbar, SH, The Thyroid Gland. In: Wilson J, Foster D (eds) Williams Textbook of Endocrinology 8th. DW Saunders, Philadelphia, 1992; p. 357-487.

15. Bayrak A, Saadat P, Mor E, Chong L, Paulson RJ, Sokol RZ, Pituitary imaging is indicated for the evaluation of hyperprolactinemia. *Fertil Steril*, 2005; 84: 181-185.

16. Van Gaal L, Abs R, De Leeuw I, Bekaert J, Hypothyroidism and prolactin. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1981; 12: 315-321.

17. Trejbal D, Petrasova D, Macejova A, Lazurova I, Wagnerova H, Trejbalova L, Prolactin levels before and after stimulation with thyroliberin in primary hypothyroidism. *Vnitr Lek*, 2002; 48: 96-99.

18. Ludwig M, Banz C, Katalinic A, Jacobeit JW, Epe M, Muhlen AV, Schulte HM, The usefulness of a thyrotropin-releasing hormone stimulation test in subfertile female patients. *Gynecol Endocrinol*, 2007; 23: 226-230.

SENSIBILIDAD IN VITRO DE *Paenibacillus larvae* FRENTE A LOS ANTIBIÓTICOS OXITETRACICLINA, TILOSINA, TILMICOSINA Y LINCOMICINA

Reynaldi FJ^{*,1,2}, Rule R^{3,4}, Arauz S⁵, Alippi AM^{1,4}

¹Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI), Universidad Nacional de La Plata.

²CONICET, Argentina.

³Cátedra de Farmacología Aplicada, Fac. Cs. Médicas. Universidad Nacional de La Plata.

⁴CICPBA, Argentina.

⁵Laboratorio Central. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata.

RESUMEN: La Loque Americana es una enfermedad causada por la bacteria Gram positiva *Paenibacillus larvae* que ataca a las larvas y pupas de las abejas melíferas. El objetivo del presente trabajo fue determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), la Concentración Bactericida Mínima (CBM), la relación CBM/CIM y calcular las curvas de muerte para los antibióticos tilosina, tilmicosina, lincomicina y clorhidrato de oxitetraciclina frente a 6 cepas de *P. larvae*. Los resultados obtenidos de la relación CBM/CIM demostraron que las cepas presentaron un comportamiento variable según el antibiótico probado, con excepción de la cepa ATCC 9535 que resultó susceptible por CIM, con efecto bacteriostático por CBM y tolerante por CBM/CIM frente a todos los antibióticos. En términos generales oxitetraciclina y tilosina presentaron un mayor efecto bactericida y tilmicosina y lincomicina un mayor efecto bacteriostático. No obstante, la tilosina presentó la mejor actividad in vitro para el control de *Paenibacillus larvae*, dado por los menores valores de CIM, CBM, relación CBM/CIM y el mejor efecto bactericida observado en las curvas de muerte.

PALABRAS CLAVES: Antibióticos, Concentración Bactericida Mínima, Curvas de Muertes, *Paenibacillus larvae*

IN VITRO SUSCEPTIBILITY OF *Paenibacillus larvae* AGAINST OXYTETRACYCLINE, TYLOSIN, TILMICOSIN AND LINCOMYCIN

ABSTRACT: American foulbrood caused by the Gram positive spore-forming bacterium *Paenibacillus larvae* is one of the most virulent diseases affecting the larval and pupal stages of honey bees. The aim of this study was to determine the Minimal inhibitory concentration (MIC), the minimal bactericidal concentration (MBC), the relationships between MBC / MIC and killing curves of the antibiotics tylosin, tilmicosin, lincomycin and oxytetracycline to 6 *P. larvae* strains. Results obtained from MBC/MIC showed variable results according to the strain tested with the exception to ATCC 9535 that was susceptible by MIC, bacteriostatic by MBC and presented tolerant effect by MBC/MIC to all the antibiotics. In general terms, OTC and tylosin showed a bactericidal effect while tilmicosin and lincomycin resulted in a bacteriostatic effect. Nevertheless, tylosin showed the best in vitro activity for the inhibition of *P. larvae* according to their MIC, MBC and MBC/MIC values.

KEY WORDS: Antibiotics, Minimal Bactericide Concentration, Killing Curves, *Paenibacillus larvae*

Fecha de recepción: 10/12/09

Fecha de aprobación: 20/06/10

Dirección para correspondencia: F. Reynaldi. Fac. Cs. Agr. y Ftiles, UNLP. Calle 60 y 119 s/n. La Plata (1900), Prov. Buenos Aires, Argentina.

E-mail: freynaldi@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

La Loque Americana (LA) es una enfermedad que ataca a las larvas y pupas de las abejas melíferas (*Apis mellifera* L.) ocasionando la muerte larval por una septicemia irreversible (1, 2). Su agente etiológico es *Paenibacillus larvae* (3), una bacteria Gram positiva con capacidad de formar esporas que permanecen infectivas y viables por largos períodos (más de 35 años) y sobreviven frente a condiciones adversas (4). La LA ocasiona importantes pérdidas económicas en la industria apícola de todo el mundo y, desde su introducción en Argentina en el año 1989, se ha diseminado en todas las áreas productoras del país (6).

Durante décadas, el antibiótico de elección para el control de esta enfermedad ha sido el clorhidrato de oxitetraciclina lo que generó la aparición de cepas resistentes en Argentina, EUA y Canadá (6, 7, 9), por lo cual resulta necesario el estudio de fármacos alternativos para el control de esta enfermedad. Numerosos antimicrobianos han sido estudiados por pruebas clásicas *in vitro* (8) y algunos de ellos como la tilosina, tilmicosina y lincomicina (10, 11, 12) también han demostrado su efectividad para el control de la enfermedad a campo. Sin embargo, poco se conoce sobre su comportamiento frente a las diversas pruebas *in vitro* que se emplean para determinar pautas terapéuticas contra la enfermedad, habida cuenta que la correcta estimación de la potencia bactericida es un parámetro fundamental para la seguridad y el correcto uso de los antimicrobianos (13).

Por esta razón, los objetivos del presente trabajo fueron determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), la Concentración Bactericida Mínima (CBM), la relación CBM/CIM y las Curvas de Muerte bacteriana, para los antibióticos tilosina, tilmicosina, lincomicina y clorhidrato de oxitetraciclina frente a 6 cepas de *P. larvae* con diferentes perfiles de sensibilidad a tetraciclina de acuerdo con lo determinado por estudios previos mediante CIM y difusión en disco (7).

MATERIALES Y MÉTODOS

ANTIBIÓTICOS

Los antibióticos usados fueron: tilosina (SIGMA®), lincomicina (SIGMA®), clorhidrato de oxitetraciclina (SIGMA®) y tilmicosina (Micotil®, ELANCO).

CEPAS BACTERIANAS

Se seleccionaron 6 cepas de *P. larvae* que presentaron diferentes patrones de sensibilidad frente a tetraciclina de acuerdo con los resultados obtenidos en estudios previos (7). Las cepas elegidas y sus correspondientes valores de CIM (en µg/ml) fueron PL15 = 0,25; ATCC 9545 = 0,125 (susceptibles); PL3= 8 (intermedia) y PL42= 16, PL295 = 64 y PL373= 128 (resistentes). Las

cepas PL 3 y PL 15 fueron aisladas de larvas con signos clínicos de LA provenientes de Argentina, la PL 42 de larvas infectadas provenientes de Italia, las PL 295 y PL 373 de mieles comerciales provenientes de E.U.A. (7) y, la ATCC 9545 de la American Type Culture Collection.

CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM)

Se definió la CIM como la menor concentración de antibiótico que previno el desarrollo visible de *P. larvae* en un test de susceptibilidad en agar (14). Los valores de CIM de los antibióticos tilosina, tilmicosina, clorhidrato de oxitetraciclina y lincomicina se obtuvieron de acuerdo con las metodologías previamente propuestas por Alippi y col (7, 10) pero empleando MYPGP caldo como medio base.

CONCENTRACIÓN BACTERICIDA MÍNIMA (CBM)

La CBM, reconocida como la prueba estándar cuantitativa para indicar la potencia bactericida (14, 15) permite estimar la actividad antimicrobiana del compuesto y su interacción en el tiempo (16). La CBM se definió como la concentración mínima de antibiótico que elimina el 99,9 % de las bacterias viables. Se efectuó después de realizar la CIM, donde se subcultivaron en MYPGP caldo 100 µl de todos los pocillos que no presentaron turbidez así como el último con crecimiento, se dejó reposar 15 minutos para evitar el efecto de "carry over" y luego se rastrilló con espátula de Drigalsky estéril sobre una placa con MYPGP agar. En todos los ensayos se realizaron controles de esterilidad y controles de inóculo (18). La última placa que presentó crecimiento menor o igual al 0,01 % con respecto al inóculo inicial se consideró como CBM.

CÁLCULO DE LA RELACIÓN CBM/MIC

Con el objeto de determinar el efecto antibacteriano de los antibióticos se calculó el valor de la relación CBM/CIM y se comparó con valores standard (16). Se consideró efecto bactericida cuando el valor de CBM/CIM fue ≤ 2 , efecto bacteriostático cuando el valor de CBM/CIM resultó ≥ 4 y < 32 y efecto tolerancia cuando el valor CBM/CIM fue ≥ 32 .

CURVAS DE MUERTE

Las curvas de muerte proveen una figura dinámica de la acción antimicrobiana en función del tiempo. Se determinan a través de la exposición de cultivos de microorganismos a diferentes concentraciones de antibióticos, tomando muestras a diferentes tiempos durante un período de 24 horas y determinando la cantidad de bacterias viables en cada muestra (16).

Se realizaron suspensiones bacterianas de

cultivos de 48 h de cada una de las cepas de *P. larvae* incorporándose a una concentración final del orden de 10^7 UFC/ml (14) a tubos con 4 ml de MYPGP con una concentración predeterminada de antibiótico. La concentración de antibiótico de cada tubo fue el valor del punto de corte que separa cepas susceptibles de resistentes (CIM) X 4 (16) Los valores de puntos de corte para cada antibiótico se obtuvieron de estudios previos (7, 8, 10, 11, 12). Por ejemplo si el valor del punto de corte para tilosina fue de 8 µg/ml, la concentración para tilosina será de $8 \times 4 = 32$ µg/ml de tilmicosina final por tubo. Entonces las concentraciones finales de antibiótico evaluadas fueron de: tubo a: 32 µg/ml de tilosina, tubo b): 32 µg/ml de tilmicosina, tubo c: 32 µg/ml de lincomicina, tubo d: 16µg/ml de clorhidrato de oxitetraciclina y tubo e: control sin antibiótico, respectivamente.

A las 0, 4, 8 y 24 horas de iniciado el ensayo, se extrajo de cada tubo un volumen de 100 µl y se diluyó en PBS. Finalmente, 100 µl de las diluciones (10-2, 10-3 y 10-4) se depositaron en un costado de las placas con MYPGP, dejando en reposo durante 15 minutos y para luego se la rastrillar con espátula de Drigalsky estéril para disminuir el efecto de "carry over". Después de una incubación de 24 horas en aerobiosis se procedió al recuento de microorganismos viables. Para el estudio de las curvas de muerte se realizó un ANOVA, entre las diferentes cepas para cada uno de los cuatro antibióticos estudiados, con un valor significativo de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Los valores de CIM y CBM y la relación CBM/CIM para todos los antibióticos estudiados se detallan en la Tabla 1.

Para el caso de clorhidrato de oxitetraciclina, la relación CBM/CIM mostró un efecto bactericida sobre las cepas PL15, PL42, PL295 y PL373, efecto bacteriostático sobre la cepa PL3 y efecto tolerante para la cepa ATCC 9545. En el caso de lincomicina se observó efecto bacteriostático para las cepas PL3, PL15, PL42 y PL295 y

efecto tolerante en las cepas ATCC 9545 y PL373. Tilosina presentó efecto bactericida para las cepas PL15, PL42, PL295, efecto bacteriostático para la cepa PL3 y PL373, y efecto tolerante para la cepa ATCC 9545, mientras que con tilmicosina hubo un efecto bactericida para las cepas PL3 y PL15, efecto bacteriostático para las cepas PL42 y PL295 y efecto tolerante en las cepas PL373 y ATCC 9545.

Los resultados de las curvas de muerte bacteriana se graficaron en la Figura 1. El ANOVA mostró que cuatro de las seis cepas en estudio (PL3, ATCC 9545, PL295 y PL373) presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los antibióticos y el posterior test de medias separó a la tilosina del resto de los tratamientos.

DISCUSIÓN

Las cepas de *P. larvae* estudiadas en nuestro ensayo fueron sensibles para tilosina, tilmicosina y lincomicina, observándose valores de CIM más bajos para tilosina. Estos resultados coinciden con datos previos obtenidos por otros autores (6, 7, 8, 10, 11) donde se observaron valores de CIM muy bajos para tilosina, tilmicosina y lincomicina en las poblaciones de *P. larvae* analizadas (19).

Para antimicrobianos bactericidas la CBM coincide con la CIM o difiere en 1 o 2 diluciones por encima de la CIM, mientras que para los bacteriostáticos la CBM está muy alejada del valor de la CIM. La relación CBM/CIM es un parámetro que permite conocer si un antibiótico tiene efecto bactericida, bacteriostático o de tolerancia frente a un microorganismo dado. El efecto tolerante ocurre cuando un microorganismo evade la acción bactericida del antibiótico, sin presentar cambios en el valor de la CIM. Existen dos tipos de tolerancia, fenotípica y genotípica (16).

Los resultados obtenidos de la relación CBM/CIM demostraron que las cepas presentaron diferente comportamiento según el antibiótico probado. Con excepción de la cepa ATCC que resultó susceptible por CIM, con efecto bacterios-

Tabla 1: Valores de CIM ,CBM y CBM/CIM de clorhidrato de oxitetraciclina, tilosina, tilmicosina y lincomicina a cepas de *P. larvae* (n=6).

Table 1: MIC, MBC, and CBM/MIC values for chlortetracycline, tylosin, tilmicosin and lincomycin against *P. larvae* (n=6).

| Cepas | Clorhidrato de oxitetraciclina (µg/ml) | | | Tilosina (µg/ml) | | | Tilmicosina (µg/ml) | | | Lincomicina (µg/ml) | | |
|-----------|--|-----|---------|------------------|--------|---------|---------------------|------|---------|---------------------|-----|---------|
| | CIM | CBM | CBM/CIM | CIM | CBM | CBM/CIM | CIM | CBM | CBM/CIM | CIM | CBM | CBM/CIM |
| PL 3 | 4 | 64 | 16 | 0,0625 | 0,25 | 4 | 0,5 | 1 | 2 | 0,5 | 4 | 8 |
| PL 15 | 0,25 | 0,5 | 2 | 0,0625 | 0,0625 | 1 | 0,25 | 0,5 | 2 | 0,5 | 4 | 8 |
| PL 42 | 16 | 32 | 2 | 0,125 | 0,125 | 1 | 0,0625 | 0,25 | 4 | 0,25 | 4 | 16 |
| ATCC 9545 | 0,125 | 128 | 1024 | 0,125 | 4 | 32 | 0,125 | 4 | 32 | 0,125 | 16 | 128 |
| PL 295 | 64 | 128 | 2 | 0,125 | 0,125 | 1 | 0,0625 | 0,5 | 8 | 1 | 8 | 8 |
| PL 373 | 128 | 256 | 2 | 0,125 | 2 | 16 | 0,0625 | 2 | 32 | 0,5 | 16 | 32 |

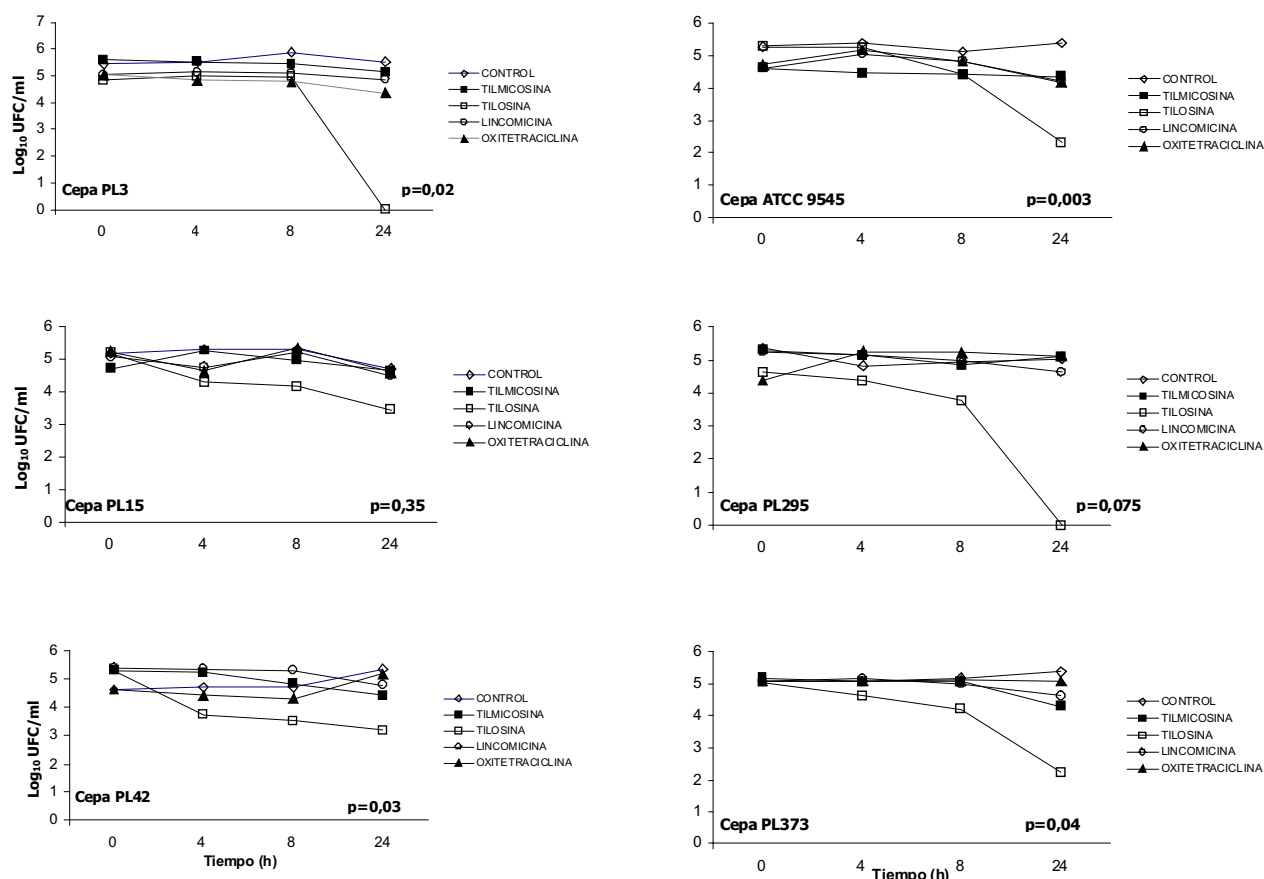


Figura 1: Curvas de muerte bacterianas de 6 cepas de *P. larvae* para los antibióticos tilosina, tilmicosina, lincomicina y clorhidrato de oxitetraciclina comparadas con un control sin antibiótico.
 Figure 1: Killing curves corresponding to 6 strains of *P. larvae* against tylosin, tilmicosin, lincomycin and chlortetracycline in comparison with a control without antibiotic.

tático por CBM y tolerante por CBM/CIM frente a todos los antibióticos, el resto presentó un comportamiento variable. En términos generales la tilosina presentó un mayor efecto bactericida en tanto que la lincomicina presentó efecto bacteriostático en todas las cepas probadas.

El análisis de las curvas de muerte indicaría que la tilosina tiene un mayor efecto bactericida que el resto de los antibióticos sobre todas las cepas con excepción de la PL 15 y la PL 42, mientras que para OTC, lincomicina y tilmicosina no hubo diferencias con respecto al inóculo inicial para ninguna de las cepas probadas que resultaron tolerantes o indiferentes.

Los resultados obtenidos con respecto a los valores de CIM fueron coincidentes a los encontrados por otros autores para los antibióticos en estudio (6, 7, 8, 10, 11, 19). No existen datos previos sobre valores de CBM ni curvas de muerte en *P. larvae* por lo que sería interesante ampliar estas determinaciones sobre un mayor número de cepas bacterianas correlacionando los resultados con características fenotípicas o genotípicas diferenciales. Por otro lado, el efecto de tolerancia en contraposición con los bajos valores de CIM

obtenidos en la cepa ATCC 9545 para los 4 antibióticos ensayados abre la posibilidad al estudio de nuevos factores que podrían relacionarse con un posible cambio en la sensibilidad según la cepa de *P. larvae* que podría correlacionarse con diferentes tiempos de esporulación u otros factores intrínsecos que le permitirían a ciertas cepas evadir la acción del antibiótico.

La tilosina fue el antibiótico que presentó la mayor actividad in vitro para el control de *Paenibacillus larvae*, dado por los menores valores de CIM, CBM, relación CBM/CIM y mejor efecto bactericida en curvas de muerte.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue parcialmente financiada por la ANPCyT. FJR es miembro de la Carrera del Investigador Científico del CONICET; A.M.A. y R.R. son miembros de la Carrera del Investigador Científico de la CIC y S.A. es docente de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bailey L, Ball BV. (Eds.). Honey Bee Pathology, Second Edition, Academic Press, London. 1991.

2. Alippi, AM. Bacterial Diseases, pp. 31-59. In: Bee Disease Diagnosis. (Eds. Colin, M.E.; Ball, B.V. , and Kilani, M.). Options Méditerranéennes, Serie B: Etudes et Recherches. No. 25. CIHEAM Publications, Zaragoza. España, 182 pp. 1999.
3. Genersch E, Forsgren E, Pentikäinen J, Ashiraliev, A, Rauch S, Kilwinski J & Fries I. Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvificiens* and *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006; 56: 501-511.
4. Morse RA, Nowogrodzki R (Eds.) Honey bee pests, predators and diseases. Second Ed., 1990. Cornell University Press, 474pp.
5. Alippi AM. Characterization of *Bacillus larvae* White, the causative agent of AFB of honey bees. First record of its occurrence in Argentina. *Revista Argentina de Microrbiología.* 1992; 24:67-72.
6. Evans JD. Diverse origins of tetracycline resistance en the honey bee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 2003; 83, 46-50.
7. Alippi AM, López AC, Reynaldi FJ, Grasso, DH & Aguilar OM. Evidence for plasmid-mediated tetracycline resistance in *Paenibacillus larvae*, the causal agent of a honey bee larval disease. *Veterinary Microbiology* 2007; 125: 290-303.
8. Kochansky J & Pettis J. Screening additions antibiotics for efficacy against American Foulbrood. *Journal of Apicultural Research*, 2005; 44 (1): 24-28.
9. Colter D. Antibiotic Resistant American Foulbrood. *Alberta Bee News* 2000. February 4.
10. Alippi AM, Albo GN, Reynaldi FJ & De Giusti MR. In vitro and in vivo susceptibility of the honeybee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* to the antibiotic tylosin. *Veterinary Microbiology* 2005; 109: 47-55.
11. Reynaldi FJ, Albo GN & Allipi AM. Effectiveness of tilmicosin against *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American Foulbrood disease of honeybees. *Veterinary Microbiology* 2008; 132: 119-128.
12. Pettis JS & Feldlaufer MF. Efficacy of tylosin and lincomicina in controlling American Foulbrood in honeybee colonies. *Journal of Apicultural Research.* 2005; 44, 106-108.
13. Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H & Drusano L. Standarization of pharmacodynamics (PK/PD) terminology for anti-infective drugs. *Journal of Antimicrobial Agents*, 2002; 19: 355-358.
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. Approved Standard, 2nd ed. NCCLS document M31-A2. Wayne, PA. 2002.
15. Liu QY, Zhang YZ & Gao PJ. Novel concentration-killing curve method for estimation of bactericidal potency of antibiotics in an *in vitro* Dynamic Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004; 48(10): 3884-3891.
16. Krogstad DJ & Moellering RC. "Antimicrobial Combinations" IN "Antibiotics in Laboratory Medicine". Ed. Lorian, V. Baltimore: Williams & Wilkins, Cap. 15, pp 537-595. 1985.
17. Cafini F, González N, Torrico M, Echeverría O, Sevillano D, Alou L, Giménez MJ, Aguilar L & Gómez-Lus ML. Influencia del desplazamiento de la unión a proteínas por ibuprofeno en la actividad de una cefalosporina de tercera generación frente a *Streptococcus pneumoniae*. *Revista Española de Quimioterapia* 2006. 19 (4): 332-336.
18. Moredo FA, Landoni MF & Perfumo CJ. Concentración Inhibitoria Mínima de Tilmicosina y Eritromicina frente a cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* aisladas en la República Argentina. *Analecta Veterinaria* 2001, 21 (2): 6-11.
19. Okayama A, Sakogawa T, Nakajima C & Hayama T. Biological Properties and Antibiotic Susceptibility of *Bacillus larvae* Originated from American Foulbrood of Honeybee in Japan. *Journal of Veterinary Medicine Science* 1996, 58 (5): 439-441.

QUISTE DE INCLUSIÓN EPITELIAL CORNEAL EN UN CANINO

Zapata GL

Hospital de clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Resumen: El quiste de córnea es una enfermedad corneal de baja frecuencia en caninos. Una canino, mestizo, macho se 12 años fue presentado a consulta a causa de la presencia de una masa en su ojo izquierdo, la cual aumentaba de tamaño, con una evolución de 5 meses sin respuesta positiva a diferentes protocolos terapéuticos. El examen oftalmológico reveló una deformación en la estructura corneal, sin signos de dolor y no se observó alteraciones en otras estructuras oculares. Se realizó la resección completa por medio de una queratectomía laminar. Asociando el examen oftalmológico y el resultado de la citología se arribó al diagnóstico de quiste corneal. El paciente evolucionó favorablemente.

Palabras claves: quiste de inclusión, córnea, canino.

CORNEAL EPITHELIAL INCLUSION CYST IN A DOG

Abstract: Cornea cyst is a low frequency corneous disease in canine. One canine patient, half-caste, male 12 years old presented a mass in the left eye, which was increasing of size, with 5 month-evolution and without positive response to different therapeutic protocols. The ophthalmological examination revealed a deformation in the corneous structure, without signs of pain and it did not present any alteration in others ocular structures. The complete resection was performed by lamellar keratoplasty. Using the ophthalmological examination and the cytology result it was possible to diagnostic a corneous cyst. Patient evolution was favourably.

Key Words: inclusion cyst, cornea, dog.

Fecha de recepción: 17/07/09

Fecha de aprobación: 20/07/10

Dirección para correspondencia: MV Gustavo L. Zapata. Hospital de clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Calle 60 y 118 (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina,
E-mail: zapatagu@fcv.unlp.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones en la región del limbo esclerocorneal pueden ser causa de un proceso inflamatorio, infeccioso, neoplásico o desconocido, clínicamente estas afecciones presentan similitudes (1). El examen histopatológico o citológico posee un rol esencial para arribar al diagnóstico final. Debido a su escaso diagnóstico, no se conoce predisposición sexual, etaria ni racial del quiste de inclusión epitelial corneal (2, 3), como así también se desconoce la causa de su origen (4). En humanos y en otros mamíferos el quiste de inclusión epitelial puede desarrollarse como consecuencia de un trauma, de cirugías previas o puede tener un origen congénito (5, 6, 7). El tratamiento quirúrgico es de elección (8).

En este trabajo se presenta la signología clínica, metodología diagnóstica y resolución de un caso de una masa en región del limbo corneal en un canino con un diagnóstico final de quiste de inclusión epitelial corneal.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

HISTORIA Y EXAMEN OFTALMOLÓGICO

Un canino, mestizo, macho de 12 años fue presentado a consulta debido a la presencia de una masa en su ojo izquierdo, la cual aumentaba de tamaño, con una evolución de 5 meses. El propietario relató que el ojo no presentó previamente lesiones, trauma ni signos de disconfort como blefarospasmo o epifora. El tratamiento que informa el propietario que se instauró para dicha masa fue antibiótico tópico cada 8 h durante 7 días, el cual no reveló ningún tipo de cambio.

La evaluación neuro-oftalmológica incluyó reflejo de amenaza, palpebral, oculo-cefálico y reflejo foto pupilar directo y consensuado, encontrándose todas las respuestas dentro de parámetros normales. En el examen se observó una masa de 3 mm de diámetro sobre elevada en 2 mm de la superficie corneal. Se situaba en la región nasal de la córnea contactando con el limbo corneoescleral; de superficie lisa, bordes netos, color blanco amarillenta, observándose la presencia de dos neovasos desde la conjuntiva adyacente y un halo periférico color grisáceo (foto 1). No se observó signos de disconfort tales como epifora, blefarospasmo y fotofobia. El valor obtenido del test de Schirmer (Schering-Plough Animal Health) fue de 15 mm/min. La colocación de Fluoresceína (Alcon) y Rosa de Bengala (Alcon) no reveló resultados positivos. El examen con magnificación (lupa 4X) de la cara bulbar de los párpados y la membrana nictitante no reveló alteraciones. No se observó, por oftalmoscopia directa (NEITZ Bx-β) e indirecta (Keller, All Pupil; Lupa Volk 20 D), otras alteraciones tanto en el segmento anterior como el posterior del ojo afectado como así también del contralateral. El ganglio regional a exploración se encontró clíni-

camente normal.

En base a los datos obtenidos, a la ausencia de enfermedad ocular previa y de dolor y al examen oftalmológico se consideró el quiste de inclusión epitelial corneal como principal diagnóstico presuntivo, pero se evaluó la posibilidad de absceso corneal, dermoide despigmentado, fasciitis nodular, epiescleritis y diferentes tipos de neoplasias tales como melanoma limbal, carcinoma de células escamosas, papilomas, hemangiomas, entre otros y pseudotumores tal es el caso del histiocitoma fibroso.

Para arribar al diagnóstico se consideró realizar la escisión quirúrgica de la masa corneal. Previamente a la cirugía se instauró una terapia tópica con Tobramicina (Gotabiotic, Poen) cada 6 h, durante 2 días.

PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO

El canino fue sedado, inducido con Propofol e intubado. La anestesia fue mantenida con Isoflurano. Una vez anestesiado se irrigó la superficie del ojo con solución de Iodopovidona al 1% como antiséptico. La masa fue removida; bajo magnificación (15 X); por medio de una queratectomía laminar para la cual se utilizó espátula de córnea y tijera corneal. Con el contenido se realizó un extendido sobre un portaobjetos a causa de su textura cremosa para su posterior tinción y evaluación citológica. Debido que la masa en profundidad no sobrepasaba la porción media del estroma y la característica macroscópica del contenido, se consideró no realizar un recubrimiento conjuntival.

Los cuidados postoperatorios se basaron en colocar un collar Isabelino, continuar con el protocolo de antibiótico cada 6 h durante 10 días momento en el cual el observó un resultado negativo con la tinción de Fluoresceína. Se asoció atropina (Isopto Atropina, Richet) cada 12 h las primeras 48 h.

EXAMEN CITOLÓGICO

En la muestra del contenido de la masa se observó una población predominante de células medianas a grandes, citoplasma abundante celeste pálido. La relación núcleo citoplasma era de 1:1 a 1:4 en las mayores. Se interpretó este hallazgo como una proliferación de células epiteliales corneales de revestimiento, muchas de ellas escamosas, de aspecto normal, sin ningún cambio anaplásico. Además, se observó una población escasa de células inflamatorias, mixta, compuesta por una cantidad de histiocitos y linfocitos prácticamente despreciable.

EVOLUCIÓN CLÍNICA POSTQUIRÚRGICA

Dos días post tratamiento quirúrgico el paciente no presentó signos de disconfort ocular y se observó un aumento tanto en la neovasculari-

zación corneal como en el espesor de la córnea. El control a los 10 días de realizada la cirugía reveló resultado negativo de la tinción con fluoresceína y la córnea presentaba un espesor normal en dicha región la cual mantenía opacidad y neovascularización debida al proceso cicatrizal (foto 2). A los 2 meses post cirugía la córnea no presentó neovascularización ni secuelas del proceso cicatrizal, recuperando su transparencia (foto 3).

DISCUSIÓN

La presencia de masas o neoplasias en la región del limbo corneoescleral es de muy baja frecuencia en oftalmología veterinaria.

Entre los diagnósticos diferenciales para masas de neoformación corneales (abscesos, histiocitoma fibroso, fascitis nodular, Carcinoma de Células Escamosas (CCE), papilomas, hemangiomas, melanomas, quistes de inclusión epitelial, entre otros) algunos pudieron ser descartados debido al aspecto o estructura de origen, otros debido a su aspecto microscópico (1, 9). Entre éstos, la fascitis nodular, los hemangiomas y los melanomas que afectan a la córnea tienen origen límbico pero y la imagen citológica no era compatible. Entre las masas primariamente corneales, su superficie lisa, color y hallazgos citológicos permitieron descartar a las neoplasias del epitelio corneal (CCE y papiloma). Basándonos en la edad de aparición y su aspecto macroscópico pudimos descartar el dermoide corneal. Finalmente, el absceso corneal y el histiocitoma fibroso pudieron ser descartados claramente ya que, en el primer caso, en el cuadro citológico hubieran predominado los neutrófilos (en distintos estadios de degeneración) y, en el segundo, una población mixta pleomórfica de histiocitos y fibrocitos abundantes, células plasmáticas y ocasionales linfocitos, sin proliferación de células epiteliales normales.

Una gran cantidad de protocolos terapéuticos se han descrito en medicina humana para el quiste de inclusión epitelial. Estos incluyen aspiración y drenaje, escisión de la pared del quiste, cauterización eléctrica y química, crioterapia y queratoplastia no penetrante (10, 11).

En función de la localización, el aspecto macroscópico de esta masa (solitaria, unilateral, sésil, circunscrita, amarillenta, de superficie lisa) y las características celulares de su contenido, fue posible arribar al diagnóstico definitivo de quiste de inclusión epitelial. El paciente pasado 5 meses de la cirugía presenta la córnea transparente sin medicación.

BIBLIOGRAFIA

1- Whitley R. and Gilger B. Disease of the canine cornea and sclera. In: Veterinary Ophthalmology 3° edn. (ed Gelatt K.) Lippincott/Williams & Wilkins, Baltimore 1999; 635-673.



Foto 1: Nótese la masa en la región nasal de la cornea izquierda. Obsérvese la neovascularización corneal.

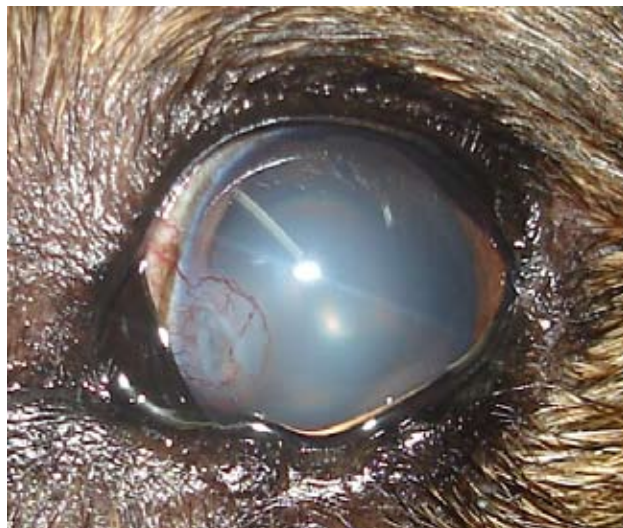


Foto 2: Aspecto del paciente 10 días posquirúrgicos, nótese la neovascularización como ingresa al centro de la lesión corneal, proceso de cicatrización.



Foto 3: Aspecto del ojo con una evolución de un mes luego de la cirugía, nótese la recuperación de la transparencia corneal.

- 2- Cullen C. and Grahn B. Diagnostic ophthalmology. Epithelial inclusion cyst of the right cornea. Canadian Veterinary Journal. 2001; 42: 230-231.
- 3- Bedford PGC, Grierson I, McKechnie NM. Corneal epithelial inclusion cyst in the dog. Journal of Small Animal Practice 1990; 31: 64-68.
- 4- Rao SK, Fogla R, Biswas J. Corneoscleral epithelial cysts: evidence of developmental etiology. Cornea 1998; 17: 446-450.
- 5- Pirie C., Pizzirani S. and Parry N. Corneal epithelial inclusion cyst in a Llama. Vet Ophthalmol. 2008. 11 (2): 111-113.
- 6- Al-Towerki AE, Binali G. Traumatic epithelial inclusion cyst of the anterior corneal stroma. Cornea. 2008. 27 (3):368-9.
- 7- Koch SA, Langloss JM, Schmidt G. Corneal epithelial inclusion cysts in four dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association 1974; 164: 1190-1191.
- 8- Sano Y, Okamoto S, Nishida K. Peripheral lamellar keratoplasty for corneoscleral cyst: three case reports. Cornea 1999; 18: 233-236.
- 9- Barnett K., Sansom J. and Heinrich C. Oftalmología Canina. Ed Inter-médica, Buenos Aires 2001; 85-98.
- 10- Chan MY, Liao HR, Cheng FJ. Traumatic intra-corneal cyst. Annals of Ophthalmology 1989; 21: 303-305.
- 11- Sano Y, Okamoto S, Nishida K. Peripheral lamellar keratoplasty for corneoscleral cyst: three case reports. Cornea 1999; 18: 233-236.

EVIDENCIA SEROLÓGICA DE INFECCIÓN EN AVES COMERCIALES POR *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) EN LAS PROVINCIAS DE BUENOS AIRES Y ENTRE RÍOS (ARGENTINA)

Uriarte J¹, Corva S², Gornatti D¹, Origlia J¹, Píscopo M¹, Cerda R¹,
Herrero M¹, Marcantoni H³, Unzaga MF¹, Marino F¹, Spinsantti E¹,
Pecoraro M⁴, Petruccelli M¹

¹ Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de las Aves y los Pilíferos.

² Cátedra de Bioestadística, ³ Cátedra de Producción Avícola,

⁴ Cátedra de Virología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata

Resumen: Se realizó un relevamiento serológico en aves comerciales de las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos mediante la técnica de ELISA. La evidencia serológica de la infección con ORT se determinó procesando 739 sueros provenientes de pollos parrilleros y gallinas reproductoras, desde el mes de marzo del año 2007 al mes de octubre del año 2008, de los cuales 345 fueron positivos. Estos resultados fueron analizados mediante métodos estadísticos arribando a la conclusión de que existe mayor probabilidad de obtener aves seropositivas en la categoría de reproductores que en la de pollos parrilleros.

Palabras Clave: ORT, ELISA, pollo parrillero, reproductores, Argentina.

SEROLOGICAL EVIDENCE OF INFECTION WITH *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) IN COMMERCIAL FLOCKS IN THE PROVINCES OF BUENOS AIRES AND ENTRE RIOS (ARGENTINA)

Abstract: A serological investigation was made in commercial flocks of Buenos Aires and Entre Rios provinces by ELISA technique. The serological evidence of ORT infection was determined by testing 729 serum samples from broilers flocks and broiler-breeders between March of 2007 and October of 2008. 345 of these samples were positives. The result of this study was analyzed by statistics methods. The conclusion shows a better possibility to obtain positive results in broiler-breeders than in broilers flocks.

Key Word: ORT, ELISA, broilers flocks, broiler-breeders, Argentina

Fecha de recepción: 01/09/09

Fecha de aprobación: 20/07/10

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

INTRODUCCIÓN

Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) es una bacteria gram negativa, cocobacilar, pleomórfica que afecta tanto a pollos, gallinas y pavos como a aves silvestres. Fue aislado por primera vez en el año 1991, describiéndoselo como un organismo similar a *Pasteurella* (*Pasteurella*-like). Finalmente en el año 1994 Vandamme *et al.* le asignaron el género y nombre *Ornithobacterium rhinotracheale* (1, 2, 3, 4). Esta bacteria ha sido aislada en varios países del mundo como Holanda, Alemania, Hungría, Francia y en América Latina en México, Perú, Brasil y Argentina (5). Existen 18 serotipos (A a R) de los cuales el más común en gallinas es el serotipo A con un 97 % al igual que en pavos con un 61 % (6,7). Los signos clínicos abarcan desde trastornos respiratorios leves con estornudos a una grave disnea, acompañado de un incremento en la mortalidad y disminución en los parámetros productivos, como ser ganancia diaria de peso o postura de huevos. En el examen post-mortem podemos encontrar en los sacos aéreos un exudado caseoso similar al yogurt (yogurt-like), predominantemente en el saco aéreo abdominal, también es posible encontrar neumonía y traqueítis entre las lesiones más comunes (12, 13, 14, 15).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se procesaron 739 sueros provenientes del Servicio de Diagnóstico del Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades de las Aves y los Píliferos (LaDEAP), entre el mes de Marzo del año 2007 y el mes de Octubre del año 2008. Los mismos fueron clasificados por: tipo de explotación y localidad (Ver tabla 1). Los sueros fueron analizados mediante la técnica de ELISA utilizando el "Kit para la detección de anticuerpos frente a *Ornithobacterium rhinotracheale* – Flock Check – IDEXX Laboratories", siguiendo las instrucciones recomendadas por el fabricante. La concentración relativa de anticuerpos en la muestra se determinó a través del cálculo del cociente de la absorbancia de la muestra con respecto a la del control positivo, M/P. Los sueros fueron diluidos en una relación 1:500. Los controles fueron utilizados como los provee el fabricante. Las muestras de suero que tuvieron cocientes M/P inferiores o iguales a 0,4 se consideraron negativos. Los que obtuvieron coeficientes superiores a 0,4 se consideraron positivos e indican que ha habido algún tipo de exposición al ORT. Para el análisis se aplicó el modelo lineal generalizado (GLM), de tipo binomial que permitiera estimar un indicador de riesgo (odds ratio, OR), y los respectivos intervalos de confianza (IC 95 %), de acuerdo al tipo de explotación (reproductores y parrilleros), no siendo posible la evaluación por localidad debido al desbalance de la procedencia. Se utilizó

el módulo GLM del paquete estadístico R (Free Software Foundation) (11).

RESULTADOS

De los 739 sueros analizados mediante la técnica de ELISA se identificaron en total 345 sueros positivos a ORT, de los cuales 138 corresponden a sueros pertenecientes a pollos parrilleros y 207 corresponden a los sueros extraídos de los reproductores. En relación al total de sueros por destino comercial, 343 parrilleros y 396 reproductores, se puede calcular un prevalencia aparente de 40 % y 52 % respectivamente.

El valor de OR=1,62 (IC 95% 1,21 – 2,17) indica una mayor probabilidad de identificar sueros positivos a ORT en explotaciones de reproductores.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio demostraron que existe 2,62 veces más probabilidades de encontrar aves con títulos serológicos positivos en la categoría de los reproductores que en los parrilleros. Esto se corresponde con lo expuesto por Hafez & Sting, en el año 1996, en el cual obtuvieron como resultado de su relevamiento serológico que el 79 % de las reproductoras y el 26 % de los pollos parrilleros tenían anticuerpos contra ORT, y por lo publicado por Refai *et al.* en el año 2005 en el que solo el 20 % de los pollos parrilleros analizados poseían anticuerpos contra la enfermedad mientras que el 84,6 % de las reproductoras dieron reacción positiva (8, 9, 10). Estos trabajos presentados con anterioridad y los datos obtenidos en nuestro informe confirman lo expuesto en la bibliografía, en donde a pesar de que todas las edades son susceptibles a la enfermedad, suele ser más patógena en aves adultas, ratificando los resultados anteriormente mencionados.

Los sueros utilizados en este estudio no pertenecían exclusivamente a aves con signología respiratoria sino que fueron tomados al azar de las muestras enviadas al laboratorio para diagnóstico, por lo que suponemos que si se hubiesen elegido para este estudio muestras de aves con signos respiratorios exclusivamente, el porcentaje de resultado positivos hubiese sido aun mayor al encontrado.

El presente trabajo intenta determinar por primera vez la evidencia serológica de esta enfermedad en la Republica Argentina aunque el desconocimiento del número total de individuos que integraban el lote impide estimar la prevalencia poblacional, pero se establece un parámetro de importancia para el diseño y cálculo del tamaño muestral para futuros muestreos.

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

| Provincia | Localidad | Reproductores | | Parrilleros | |
|--------------|------------------------|---------------|------------|-------------|------------|
| | | Positivos | Negativos | Positivos | Negativos |
| Buenos Aires | Alsina | 40 | 5 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Azul | S/D | S/D | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Baradero | S/D | S/D | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Brandsen | 19 | 57 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Cañuelas | 12 | 24 | 5 | 13 |
| Entre Ríos | Concepción del Uruguay | S/D | S/D | 46 | 134 |
| Santa Fé | Figheras | 0 | 16 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | General Rodríguez | 28 | 30 | S/D | S/D |
| | Desconocido | S/D | S/D | 2 | 18 |
| Buenos Aires | Las Heras | S/D | S/D | S/D | S/D |
| Buenos Aires | La Plata | S/D | S/D | 2 | 1 |
| Buenos Aires | Luján | 3 | 2 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Mar del Plata | 22 | 1 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Moreno | 3 | 2 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Pilar | 15 | 0 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Plomers | 18 | 19 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Saladillo | 1 | 4 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Salto | 2 | 3 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | San Andrés de Giles | 1 | 11 | 49 | 16 |
| Buenos Aires | San Vicente | 28 | 15 | S/D | S/D |
| Buenos Aires | Tres Arroyos | S/D | S/D | 34 | 23 |
| Buenos Aires | 25 de Mayo | 15 | 0 | S/D | S/D |
| Total | | 207 | 189 | 138 | 205 |

BIBLIOGRAFÍA

- Vandamme P, Segers P, Vancanneyt M, Van Hove K, Mutters R, Hommez J, Dewhirst F, Paster B, Kersters K, Falsen E, Devriese LA, Bisgaard M, Hinz KH, Manneheim W. *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov., sp. nov., isolated from the avian respiratory tract. Int. J. Syst. Bacteriol. 1994; 44: 24-37.
- Van Veen L, Van Empel P, Fabria T. ORT, a primary pathogen in broilers. Avian Dis., 2000; 44: 896-900.
- Turan N, Ak S. Investigation of the presence of *Ornithobacterium rhinotracheale* in chickens in turkey and determination of the seroprevalance of the infection using the ELISA. Avian Dis. 2002; 46: 442-446.
- Sakai E, Tckuyama Y, Nomaka F, Ohishi S, Ishikawa Y, Tanaka M, Taneno A. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in Japan: Preliminary investigations. Vet. Rec. 2000. 146, 502-503.
- Hafez HM. Current status on the role of *Ornithobacterium rhinotracheale* in respiratory disease complexes in poultry. Arch. Geflügelk, 61 (2), (1996): 208-211.
- van Empel PCM, van den Bosch H, Loeffen P, Storm P. Identification and serotyping of *Ornithobacterium rhinotracheale*. Journal of Clinical Microbiology, 1997. 35, 418-421.
- Hafez HM, Sting R. Investigations on Different *Ornithobacterium rhinotracheale* "ORT" Isolates. Avian Dis. 1999. 34: 1-7.
- Hafez HM, Sting R. Serologic surveillance on *Ornithobacterium rhinotracheale* in poultry flocks using self-made ELISA. In *Proceedings of the 45th Western Poultry Disease Conference, Cancun*, pp. 1996. 163-164.
- Refai M, El-Gohary A, Attia SA, Khalifa RA Diagnosis of *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in chickens by ELISA. Egypt J Immunol. 2005;12(1):87-93.
- Hafez HM, Mazaherli A, Sting R. Efficacy of ELISA for detection of antibodies against several *Ornithobacterium rhinotracheale*. Dtsch, trierarztl. Wschr. 2000. 107, 133-172.
- Thrusfield M. Veterinary Epidemiology, 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, UK, 280 pp. Free Software Foundation. The R project <http://www.r-project.org/> 1995.
- Van Veen L, Gruys E, Frik K, van Empel P. Increased condemnation of broilers associated with *Ornithobacterium rhinotracheale*. Vet. Rec. 2000. 147: 422- 423.
- Van Empel P, Hafez HM. *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. Avian Pathology 1999. 28: 217-227.
- Van Empel P, van den Bosch H, Goovaerts D, Storm P. Experimental infection in turkeys and chickens with *Ornithobacterium rhinotracheale*. Avian Diseases, 1996. 40: 858-864.
- Van Empel P. *Ornithobacterium rhinotracheale*: Isolation, identification and experimental infection results. Paper given at Poultry Veterinarian Study group of the EU held in Amsterdam 11th November, 1994.

A MULTIDISCIPLINARY STUDY OF SWINE GASTROESOPHAGEAL ULCERS SYNDROME IN SLAUGHTER PIGS OF VENEZUELA

Morales A, Bermúdez V, García F, Gomez M.

Department of Veterinary Pathology Faculty of Veterinary Science Central University of Venezuela Maracay, Aragua State-Venezuela

ABSTRACT: We studied the stomach of 250 slaughter pigs (*Sus scrofa*), were from the slaughterhouse Turmero Frigorific, Aragua State Venezuela. None of these swine had shown any preceding clinical symptoms of gastrointestinal disease. From each stomach and esophagus, two sections of gastric tissue were taken from the cardial regions and a further two from the glandular mucosa (fundic regions); one of each type in 100 % ethanol and the others were fixed in 10 % formalin. The tissue samples fixed in formalin were processed by conventional histological techniques. Additionally, the special staining procedure of Wharthing-Starry was also carried out. Ureasa Test: the rapid ureasa test (commercial kit) were perform of gastric tissue. At necropsy the only an 87/250 ulcer crater involving the entire pars esophageal contains partially digested blood and gastric mucus. The stomach gastric distension caused by accumulated intragastric blood and mucus, 110/250 gastric ulceration and 53/250 gastritis. In the histopathological studies we found 87/250 esophageal erosions and inflammation 110/250 gastric ulceration, 53/250 gastritis and 40/250 atrophic gastritis and intestinal metaplasia. All samples studied presented lymphoid follicular hyperplasia and reactivity. Using the Wharthing Starry special stain, spiral shaped bacteria were found in 35/250 esophageal erosions, 22/250 gastric ulceration and 110/250 gastritis. Lymphocytic inflammatory infiltrates in the lamina propria of the accompanied follicles. The ulcers beds were devoid of epithelial cells and conceited of granulation tissue and hemorrhage. The nonglandular epithelium and inflammatory cell infiltrates and were distended by serous fluid accumulations. Urease activity was then demonstrated in these swine.

KEYWORD: gastritis, ulcers, swine, gastroesophageal.

ESTUDIO MULTIDISCIPLINARIO DE SÍNDROME GASTROESOFAGICO ULCEROSO SUINO EN MATADEROS EN VENEZUELA

RESUMEN: Se estudió el estómago de 250 cerdos masacre (*Sus scrofa*), fueron desde el matadero Turmero frigoríficos, estado Aragua, Venezuela. Ninguno de estos cerdos mostraron ningún síntoma clínico previo de enfermedad gastrointestinal. De cada estómago y el esófago, dos secciones de tejido gástrico se tomaron de las regiones cardial y otras dos de las regiones glandulares mucosa fúndica, uno de cada tipo en el 100% de etanol y los otros fueron fijadas en formol al 10%. Las muestras de tejido fijado en formol, fueron procesados por las técnicas convencionales de histología. Además, el procedimiento especial de tinción Wharthing-Starry también se realizó. Ureasa prueba: la prueba de la ureasa (kit comercial) se realizan de tejido gástrico. En la necropsia sólo un cráter de la úlcera esofágica 87/250 participación de la pars entero contiene parcialmente digeridos sangre y moco gástrico. El estómago distensión gástrica causada por la sangre acumulada intragástrico y el moco, 110/250 úlceras gástricas y gastritis 53/250. En los estudios histopatológicos encontramos 87/250 erosiones del esófago y la inflamación 110/250 úlceras gástricas, gastritis y 53/250 40/250 gastritis autoinmune atrófica y metaplasia intestinal. Todas las muestras estudiadas presentaron hiperplasia linfoide folicular y reactividad. Uso de la Wharthing estrellada tinción especial, las bacterias en forma de espiral se 35/250 en erosiones del esófago, úlceras gástricas y 22/250 110/250 gastritis. Linfocítica infiltrados inflamatorios en la lámina propia acompañada de los folículos. Las camas úlceras carecían de las células epiteliales y de tejido de granulación y la hemorragia. El epitelio glandular e infiltrados inflamatorios de células y fuera dilatado por la acumulación de fluidos serosos. La actividad de la ureasa se demostró en estos cerdos.

KEYWORD: gastritis, úlceras gastroesofágica, porcino.

Fecha de recepción: 08/09/09

Fecha de aprobación: 08/06/10

Dirección para correspondencia: Morales A ,Department of Veterinary Pathology Faculty of Veterinary Science Central University of Venezuela Maracay, Aragua State-Venezuela

E-mail: aamorales13@gmail.com

INTRODUCTION

Swine Gastroesophageal Ulcers Syndrome (GEUS) includes gastritis, erosions, ulcers and sudden death, is a common a serious problem in swine production; economic losses are substantial.

The factors of risk they are classified in: Infectious: Coronavirus, in systemic disease such salmonellosis (*Salmonella* spp. and Pestivirus). *Helicobacter* species and *Helicobacter heilmannii*; *Helicobacter* species, Candidatus *Helicobacter suis* (*Gastropirillum suis*) (1,2), *Candida* sp., immunosuppressive diseases (PCV2, PRRS and mycotoxins like aflatoxins specifically deoxynivalenol is commonly known as vomitoxin), parasites (*Hyostrongylus rubidus*, *Syphacia srivastari* and *Ascaris sum*). Dietary predisposing factors: cooper sulphate, iron, unsaturated fatty acids, carbohydrates. Low protein and fibers levels in the diet. Keratinization abnormal (diskeratosis or parakeratosis esophageal) by zinc deficiency. Foods of less of 3mm, stress-related. The objective of this multidisciplinary study of gastric ulcers was an approach to evaluate the prevalence Gastroesophageal ulcers in swine of Venezuela.

MATERIALS & METHODS

We studied the stomach of 250 slaughter pigs (*Sus scrofa*), were from the slaughterhouse Turmero Frigorific, Aragua State Venezuela. None of these swine had shown any preceding clinical symptoms of gastrointestinal disease. From each stomach and esophagus, two sections of gastric tissue were taken from the cardial regions and a further two from the glandular mucosa (fundic regions); one of each type in 100 % ethanol and the others were fixed in 10 % formalin.

The tissue samples fixed in formalin were processed by conventional histological techniques. Additionally, the special staining procedure of Wharthing-Starry was also carried out.

Ureasa Test: the rapid ureasa test (commercial kit) were perform of gastric tissue.

RESULTS

At necropsy the only an 87/250 ulcer crater involving the entire pars esophageal contains partially digested blood and gastric mucus. The stomach gastric distension caused by accumulated intragastric blood and mucus, 110/250 gastric ulceration and 53/250 gastritis. In the histopathological studies we found 87/250 esophageal erosions and inflammation 110/250 gastric ulceration, 53/250 gastritis and 40/250 atrophic gastritis and intestinal metaplasia. All samples studied presented lymphoid follicular hyperplasia and reactivity. Using the Wharthing Starry special stain, spiral shaped bacteria were found in 35/250 esophageal erosions, 22/250

gastric ulceration and 110/250 gastritis. Lymphocytic inflammatory infiltrates in the lamina propria of the accompanied follicles. The ulcers beds were devoid of epithelial cells and concited of granulation tissue and hemorrhage. The nonglandular epithelium and inflammatory cell infiltrates and were distended by serous fluid accumulations.

Urease activity was then demonstrated in these swine.

DISCUSSION

In this study, were observed 79 % severed ulceration of the pars esophageal and gastric mucosa. All samples studied presented urease activity and lymphoid follicular hyperplasia and reactivity. Were positive Wharthing Starry special stain 67% in the samples studied. Many factors including feeding, management, infectious, parasitic, toxic, and stress allow increased production of these stomach acids that act synergistically to produce gastric ulcers (1, 2, 3). In conclusion, we reported GEUS in slaughter pigs from Venezuela. Future studies GEUS should be special focus at evaluating multidisciplinary (nutrition, management, infectious, parasitic, toxic, and stress) and hazard analysis and critical control point in the management in the pig farm.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded by the PG 11-00-6631-06 CDCH Central University of Venezuela.

REFERENCES

1. Krakowka S, Ringler S, Floresb J, Eato K and Ellis J. Isolation and preliminary characterization of a novel *Helicobacter* species from swine. American Journal of Veterinary Research Vol. 66, Nro 6, Pages 94, 938'944, June 2005.
2. Krakowka S, and Ellis J. Reproduction of severed gastroesophageal ulcers (GEU) in Gnotobiotic swine infected with porcine *Helicobacter pylori*-like bacteria. Vet Pathol 43: 956-962 (2006).
3. Morales A, Bermudez V, Escalona M, Garcia F. Gastric polyposis in a swine report of a case. Rev Soc Med Quir Emerg Perez de Leon 2007; 38 (Suppl 2).

AISLAMIENTO DE PNEUMOCYSTIS CARINII EN UNA COLONIA DE RATONES UTILIZANDO CENTINELAS DE LA CEPA CDA/XID

Milocco S, Ayala M, Laborde J, Carriquiriborde M, Principi G, Maschi F, Cagliada P, Carbone C

Cátedra de Animales de Laboratorio y Bioterio
Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Resumen: La producción de ratones inmunodeficientes constituye una de las herramientas más importantes para la investigación biomédica. La cepas más utilizadas, son N:NIH(S)-Foxlnu y CBA/N-Xid/Uni (Xid) como modelos animales de elección para estudios de inmunodeficiencia humana, VIH, neumocistosis, terapia génica y trasplantes de tumores humano.

La neumocistosis es una infección producida por *Pneumocystis carinii*; que causa neumonía intersticial en diversas especies de mamíferos, tales como ratas, ratones y humanos. El ciclo biológico de *P. carinii* no está bien definido. La infección se produce por vía inhalatoria provocando neumonitis intersticial. Se identifica en forma directa a través de la observación de los quistes con tinción de Giemsa. El objetivo del presente trabajo fue aislar *Pneumocystis carinii* de una colonia de ratones convencionales inmunocompetentes. Se utilizaron 80 ratones machos y hembras de 4 a 6 semanas de edad libres de patógenos específicos (SPF), incluido el *Pneumocystis carinii*, de la cepa CBA/N-Xid/Uni (Xid). Sesenta y siete animales mostraron signos respiratorios y se observaron los quistes con la tinción. Se concluyó que la cepa de ratones CBA/N-Xid/Uni (Xid) es sensible al *Pneumocystis* y se la puede utilizar como centinelas en colonias donde se sospecha la presencia de este agente patógeno.

Palabras clave: *Pneumocystis carinii*, ratones inmunodeficientes, modelos animales, neumonía intersticial

ISOLATION OF PNEUMOCYSTIS CARINII IN A MICE COLONY BY USING CDA/XID STRAIN AS SENTINEL

Abstract: Immunodeficient mice production is one of the most important tools used in biomedical research. N:NIH(S)-Foxlnu and CBA/N-Xid/Uni (Xid).strains are frequently used as animal models to perform studies on HIV, pneumonia due to pneumocystis, gene therapy and tumor transplantation. *Pneumocystis carinii* infection leads to an interstitial pneumonia in several mammal species as rats, mice and also in humans. The biology of this microorganism is not well defined. It is transmitted by oral route producing pneumonia with an inflammatory process. This agent is identified directly by the observation of cysts in samples stained with Giemsa. The objective of this study was to isolate *Pneumocystis carinii* from an immunocompetent conventional mice colony. Eighty CBA/N-Xid/Uni (Xid) SPF mice, 4-6 weeks old, males and females were used, 67 of them showed respiratory disease and cysts were observed in all these animals. It was concluded that *Pneumocystis carinii* can infect CBA/N-Xid/Uni mice therefore this strain could be used as sentinel animals in colonies were this pathogen is suspected.

Key Words: *Pneumocystis carinii*, immunodeficient mice, animal models, neumonía

Fecha de recepción: 17/11/09

Fecha de aprobación: 16/06/10

Dirección para correspondencia: Silvana Milocco, Cátedra de Animales de Laboratorio y Bioterio. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

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

INTRODUCCIÓN

Uno de los temas de actualidad dentro de la ciencia de los animales de laboratorio es el desarrollo de modelos animales capaces de reproducir enfermedades humanas, y que por lo tanto sirvan para realizar los estudios e investigaciones correspondientes al desarrollo de la enfermedad, sus características, prevención y tratamiento (1). La producción de ratones inmunodeficientes constituye uno de los hallazgos más importantes para la investigación biomédica. Estos tienen la capacidad de recibir trasplantes de tumores de otras especies sin que se produzcan rechazos, posibilitando así el estudio del tumor *in vivo* incluyendo las posibles terapias para su tratamiento. Uno de los más utilizados, es el ratón N:NIH(S)-Foxl nu, que surge por una mutación espontánea y recesiva asociada a la ausencia de pelo, disgenesia gonadal y aplasia del timo (2, 3). Esta última característica produce numerosos defectos del sistema inmunológico debido a deficiencias cuantitativas y funcionales de los linfocitos T (4). Otro modelo animal de elección para estudios de inmunodeficiencia humana, VIH, neumocistosis, terapia génica y trasplantes de tumores humanos, es el ratón inmunodeficiente CBA/N-Xid/Uni (Xid), el cual se originó a partir de la subcepa CBA/Hn y presenta una mutación recesiva y ligada al sexo en el gen de la tirosin-kinasa de Bruton (btk), (Xid: X-linked immunodeficiency). Si bien presentan defectos en la maduración de los linfocitos B, pueden producir cantidades normales de anticuerpos en respuesta a algunas proteínas antigénicas. Tienen niveles bajos de IgM e IgG3 y un número reducido de linfocitos B (5).

El control microbiológico de las cepas de ratones inmunodeficientes contempla el diagnóstico de otros microorganismos entre los que se encuentra *Pneumocystis carinii* (6).

La neumocistosis es una infección producida por *P. carinii*, este microorganismo fue descubierto en 1911 por Carlos Chagas. Afecta principalmente la pared de los alvéolos pulmonares produciendo neumonía intersticial de células plasmáticas en diversas especies de mamíferos, entre ellos ratas, ratones, hurones, equinos y humanos (7, 8). Durante mucho tiempo se lo clasificó taxonómicamente como un protozoario, debido a su morfología, la imposibilidad de cultivarlo *in vitro* y su respuesta a los fármacos antiparasitarios, y no a las drogas antifúngicas. Sin embargo, estudios moleculares más recientes han permitido incorporarlo en el reino Fungi, existiendo similitud entre el ciclo biológico de este microorganismo y el de algunos integrantes de la clase Ascomycotina, como *Schizosaracchomyces pombe*, con el que está estrechamente relacionado desde el punto de vista genético. Las razones de la inclusión de *P. carinii* dentro del reino Fungi son

varias: el ARN ribosomal presenta una secuencia característica de los hongos; la pared celular incluye polisacáridos del tipo b 1-3 glucano, sus genes son codificadores de proteínas correspondientes a b tubulina, y el ADN mitocondrial es similar al observado en los hongos. La resistencia a las drogas antifúngicas se debe a la ausencia de ergosterol en la membrana plasmática del *P. carinii* (7, 8, 9).

El ciclo biológico de *P. carinii* no está bien definido. El mecanismo de infección es por vía inhalatoria, reproduciéndose en la luz y paredes alveolares por fisión binaria y conjugación. Cuando la forma infectante del *P. carinii* se adhiere a las células alveolares, comienza un proceso inflamatorio, produciendo neumonitis intersticial. Histológicamente, se observa un exudado proteináceo, ligeramente eosinófilo en la luz alveolar, con proliferación de células alveolares, engrosamiento de los tabiques interalveolares, con un infiltrado inflamatorio agudo, presencia de células mononucleares y con preponderancia de plasmocitos. Otras lesiones se localizan en hígado, bazo, pleura, médula ósea y ojos, todos ellos órganos ricos en sistema monocítico-histiocitario (9, 10).

Debido a la falta de desarrollo *in vitro* del agente, el diagnóstico se realiza preferentemente mediante la visualización microscópica del *Pneumocystis*. Si bien existen métodos más sofisticados, como los que emplean técnicas moleculares para detectar la presencia de ácidos nucleicos de *P. carinii* en las muestras, estas pruebas no se hallan aún disponibles para su aplicación en laboratorios de baja complejidad (11, 12).

Su identificación se realiza en forma directa a través de la observación de los quistes con la tinción de Giemsa, los cuales miden 4 a 6 μm de diámetro, de color pardo, paredes gruesas y con 4 a 8 esporozoítos en su interior. Con la coloración de hematoxilina/eosina los quistes no se tiñen y adquieren un aspecto de exudado rosado muy característico. La técnica de Giemsa es útil para la visualización de las formas tróficas, y la inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales facilita la detección de todos los estadios evolutivos. En los extendidos de secreciones respiratorias pueden utilizarse además de las coloraciones mencionadas, las de azul de toluidina y de Gram Weigert (12, 13).

El objetivo del presente trabajo fue investigar la presencia de *Pneumocystis carinii* de una colonia de ratones convencionales inmunocompetentes utilizando a los ratones inmunodeficientes CBA/N-Xid/Uni (Xid) como centinelas.

MATERIALES Y MÉTODOS

ANIMALES

Se utilizaron 80 ratones machos y hembras de 4 a 6 semanas de edad libres de patógenos

específicos (SPF), incluyendo al *Pneumocystis carinii*, de la cepa CBA/N-Xid/Uni (Xid) provenientes del Bioterio de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata. Los animales se llevaron a un bioterio de experimentación de ratones convencionales distribuyendo 20 animales por sala, con macro y microambiente controlados: temperatura media 24 °C, humedad relativa 55 %, 15 a 20 recambios de aire totales por hora y con un fotoperíodo de 12/12 horas luz/oscuridad. Cada grupo de 20 ratones se dividió a su vez en 5 grupos que se alojaron con cama de viruta usada de los animales de la sala, en cajas de 30 x 20 x 14 cm autoclavables, de policarbonato, con reja superior de acero inoxidable y tolva para colocar el alimento comercial (Cooperación®) y agua de bebida en botellas *ad limitum*, ambos autoclavados.

EUTANASIA

Los animales con signología clínica se sacrificaron con una mezcla de 70 % CO₂ y 30 % O₂ de acuerdo con las recomendaciones internacionales.

NECROPSIA

Se realizó la necropsia de todos los animales sacrificados. Se realizaron los lavados bronquiales y traqueales para su posterior tinción.

TINCIÓN

La identificación del *Pneumocystis carinii* se realizó en forma directa a través de la observación de los quistes, con la tinción de Giemsa. Se realizó a cada uno de los animales un lavado traqueal y lavado bronquial con 0,5 mL de solución fisiológica, los lavados se recolectaron en Eppendorf, los cuales se dejaron a temperatura ambiente durante 15 minutos y se centrifugaron a 2000 RPM por 15 minutos. Se descartó el sobrenadante y se colocó el sedimento en portaobjetos. Cada portaobjetos fue secado y fijado con metanol al 100 % y se los dejó secar durante 30 min. Para la tinción se preparó el colorante Giemsa (Biopur®) agregando 15 gotas del mismo en 10 mL de agua destilada. Se agregaron 3 mL de esta solución a cada portaobjetos, se dejó durante 30 min, se secó al aire y se observó al microscopio óptico.

RESULTADOS

De los 80 animales que se colocaron en la colonia a ratones convencionales de experimentación, 67 mostraron disnea, lordosis, pelo hirsuto, letargia y anorexia. El resto de los ratones no presentaron signos clínicos.

De los lavados traqueales y bronquiales teñidos con Giemsa se observaron quistes en los animales con signos clínicos, mientras que en los ratones asintomáticos no se demostró la presencia del microorganismo.

DISCUSIÓN

La cepa de ratones CBA/N xid/Uni (Xid) demostró ser sensible para la infestación con *Pneumocystis carinii*. Por lo que los ratones de esta cepa se pueden utilizar como centinelas en colonias donde se sospecha la presencia de este agente patógeno. Se concluye además que la demostración del microorganismo en el material obtenido por lavado broncoalveolar y teñido con la coloración de Giemsa, tiene valor diagnóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Benavides FJ, Guénet JL. Manual de Genética de Roedores de Laboratorio, principios básicos y aplicaciones. Universidad de Alcalá. SECAL. Laboratory Animals Ltd 2003
2. Dooley TP, Stamp-Cole M, Ouding R. Evaluation of a Nude Mouse Tumor Model Using β -Galactosidase-expressing Melanoma Cells. Lab Anim Sci 1993; 43 (1): 48-57.
3. Carbone C, Maschi F. El ratón nude (nu/nu) como modelo animal de inmunodeficiencia. Revista QuímicaViva 2006; Número 1, año 5.
4. MacDonald HR, Blanc C, Lees RK, Sordat B. Abnormal distribution of T-cell subsets in athymic mice. J. Immunol 1986; 136: 4337-4339.
5. Hansen CT. The nude gene and its effects. The Nude Mouse in Experimental and Clinical Research, J. Fogh and B. Giovanella, eds. New York: Academic Press 1978; p 1-35.
6. Estudio de la interferencia producida por *Clostridium piliforme* en ratones N:NHI(S)-nu transplantados con la línea tumoral A 549. Analecta Vet 2006; 26 (1): 16-18.
7. Decker C, Mansur H. *Pneumocystis carinii*. In: Yu, V, Morigan Th, Barriere St. Antimicrobial Therapy and Vaccines. Williams & Williams. 1999. Baltimore. Philadelphia. Pp. 1128-1136.
8. Miller RF. *Pneumocystis carinii* infection in non-AIDS patients. Current opinion in Infectious Diseases 1999. 12: 371-377.
9. Dei-Cas. *Pneumocystis* infections: the iceberg? Medical Mycology. 2000. 38 (Suppl. 1): 23-32.
10. Kwon-Chung KJ, Bennett JE. Medical Mycology. Lea & Febiger. 1992. Philadelphia, London
11. Sarosi G, Davies A. Fungal Diseases of the Lung. 2nd Edition. Raven Press, 1993. New York
12. Negroni R. Avances en el diagnóstico de laboratorio de las micosis profundas. Rev Argent Micol. 1994. 17 (1): 3-13.
13. Arechavala AI, Robles AM, Negroni R, Bianchi M, Taborda A. Valor de los métodos directos e indirectos de diagnóstico en las micosis sistémicas asociadas al SIDA. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 1993. 35 (2): 163-169

USO ESTRATÉGICO DE ADITIVOS: IMPACTO SOBRE EL EQUILIBRIO Y SALUD GASTROINTESTINAL DEL LECHÓN

SORACI AL^{1,2}, AMANTO F⁴, HARKES R⁵, PÉREZ DS^{1,2}, MARTÍNEZ G^{1,3},
DIEGUEZ SN^{1,3}, TAPIA MO^{1,2}

¹ Área Toxicología, Dpto. de Fisiopatología, Fac. Cs. Veterinarias, UNCPBA-Tandil

² CONICET, Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

³ CIC, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires

⁴ Área Producción Porcina, Dpto. Prod. Animal, Fac. Cs. Veterinarias, UNCPBA-Tandil

⁵ Director Técnico Laboratorio Bedson S.A

RESUMEN: Durante mucho tiempo se pensó que el rol del intestino se limitaba solamente a la digestión de los alimentos y a la absorción de nutrientes. Numerosos trabajos de investigación han demostrado la contribución del intestino al plano metabólico e inmunológico general del animal. En consecuencia, suministrar un alimento de excelente calidad, balanceado en su composición para una categoría de animal determinada, no garantiza el buen desarrollo de parámetros zootécnicos. El tubo digestivo debe encontrarse en condiciones fisiológicas óptimas para metabolizar los nutrientes aportados, como así también afrontar la continua e importante entrada de antígenos orales. El correcto equilibrio de las funciones intestinales representa la clave para el logro de una buena "performance" productiva. Los aditivos son incorporados a los alimentos con el objetivo de prevenir y/o tratar diferentes situaciones fisiopatológicas que atentan contra la salud y equilibrio gastrointestinal. El conocimiento de las acciones y efectos de los aditivos es esencial para el uso racional de los mismos.

PALABRAS CLAVES: salud gastrointestinal, lechón, aditivos

STRATEGIC USE OF ADDITIVES: IMPACT ON GASTRO-INTESTINAL EQUILIBRIUM -HEALTH IN PIGLETS

ABSTRACT: For a long time, it was considered that the role of the intestine was limited to food digestion and absorption of nutrients. Numerous scientific works have demonstrated the intestine contribution to the overall metabolic and immunological status of the animal. Administering a well-balanced excellent-quality diet for an animal's category does not guarantee a good development of zootechnic parameters. The digestive tube must be under optimal physiological conditions in order to metabolize the administered nutrients as well as to face the continuous and important income of oral antigens. The proper balance of the intestinal functions represents the key to achieve a good productive performance. Additives are incorporated to feed with the purpose of preventing and/or treating different physio-pathological conditions that adversely affect the gastro-intestinal equilibrium and health. The knowledge of additive's actions and effects is essential for the rational use of them.

KEY WORDS: gastrointestinal health, piglets, additives

Fecha de recepción: 09/09/09

Fecha de aprobación: 07/06/10

Dirección para correspondencia: A L Soraci. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, CP 7000, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: alejandro@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCIÓN

INTESTINO DEL CERDO: ALGUNOS ASPECTOS MORFO-FISIOLÓGICOS DE IMPORTANCIA

El intestino del cerdo es sin lugar a dudas uno de los órganos que experimenta una extraordinaria transformación en un periodo de tiempo muy corto (1). Dentro de los mamíferos, el cerdo ocupa el segundo lugar, luego de la rata, en desarrollar dichas transformaciones. El lechón al nacimiento posee en promedio un largo y diámetro intestinal de 2.15 y 0.65 cm, respectivamente (1, 2). En menos de 50 días estos valores se cuadruplican (2).

El intestino de un cerdo en crecimiento consume alrededor de 20-25 % del oxígeno del organismo (2). La renovación de proteínas es muy rápida, llegando a reemplazar el 50% de su contenido proteico por día (3). Entre las proteínas sintetizadas por el intestino, un elevado porcentaje es secretado hacia la luz intestinal bajo la forma mucina y células de descamación, mientras que sólo un 10 % de la proteína total sintetizada por el tracto gastrointestinal se acumula como masa tisular (3, 4).

MUCOSA INTESTINAL

La mucosa intestinal es una estructura que participa en los procesos de digestión - absorción de nutrientes y provee una barrera fisicoquímica, metabólica e inmunológica contra la entrada de compuestos xenobióticos y toxinas, macromoléculas y microorganismos (bacterias, virus, hongos) al organismo. La mucosa intestinal del cerdo tiene una superficie aproximada de 300 m² (superficie equivalente a una cancha de tenis) (1,2, 5, 6).

EPITELIO INTESTINAL

Las células intestinales (enterocitos) se disponen en forma de monoestrato y en relación con células endocrinas, inmunes y células globulares o caliciformes (goblet cells) productoras de mucus (5, 6). La morfología epitelial cambia a lo largo del tracto intestinal, pero en esencia consiste en una región de criptas donde se encuentran la

células madres y de Paneth que participan en funciones de defensa y una región apical (vellosidad) donde las células se encuentran en diferente grado de diferenciación y función (6). Las células epiteliales que alcanzan un determinado grado de diferenciación-maduración mueren y son liberadas a la luz del intestino (extrusado). La velocidad de recambio de las células del epitelio intestinal del lechón es muy rápida, oscilando entre 2-5 días (5, 6).

MUCUS INTESTINAL

El mucus intestinal es una biocapa de cobertura de la mucosa producida por secreción de las células caliciformes (goblet cell) (7). El mucus constituye una barrera de defensa contra microorganismos y agentes fisico-químicos (7, 8). A su vez, cumple funciones de lubricación y transporte entre el contenido presente en la luz intestinal y la superficie del epitelio (9). Desde el punto de vista químico se trata de un gel compuesto en un 95% de agua y electrolitos, carbohidratos, aminoácidos, proteínas y lípidos. Sus propiedades bio-elásticas responden a subunidades de mucina, proteína unida a largas cadenas de carbohidratos que contienen un azúcar neutral de hexosamina (9). Los carbohidratos poseen en sus cadenas terminales grupos sulfatos libres unidos a Ac. Siálico (9, 10).

La producción de mucus es un proceso dinámico y equilibrado de síntesis, secreción y utilización luminal (procesos de reparación de mucosa en sinergia con péptidos epiteliales y/o erosión en el lumen intestinal). Una buena protección mucosal depende de un balance en cantidad de mucus (espesor de la capa de mucus) y calidad (composición de los azúcares de los carbohidratos) (7, 11).

Uno de los mecanismos de defensa del mucus contra microorganismos, se relaciona con la capacidad que tiene la mucina de establecer uniones a través de sus carbohidratos terminales con receptores presentes en la superficie de determinadas bacterias. Dicha interacción impide la fijación a las células epiteliales y su posterior destrucción o invasión intracelular (11, 12, 13, 14).

Tabla I. Se presentan los valores promedio de largo, diámetro, volumen y peso total de intestino en porcentaje de peso vivo, en función de los días post nacimiento y el peso corporal.

| Días Post Nacimiento | Peso Corporal | Largo de intestino | Diámetro de intestino | Volumen | Peso % P.V |
|----------------------|---------------|--------------------|-----------------------|---------|------------|
| 0 | 1,05 | 2,15 | 0,65 | 72 | 0,89 |
| 1 | 1,17 | 3,05 | 0,72 | 130 | 0,93 |
| 6 | 2,07 | 3,85 | 0,78 | 183 | 0,95 |
| 12 | 2,65 | 4,5 | 0,8 | 226 | 0,97 |
| 35 | 8 | 6,55 | 1,62 | 662 | 1,04 |
| 60 | 16 | 9 | 2,4 | 3110 | 1,15 |
| 130 | 50 | 13 | 3,2 | 9744 | 1,23 |
| 215 | 100 | 16,5 | 4,2 | 19182 | 1,23 |

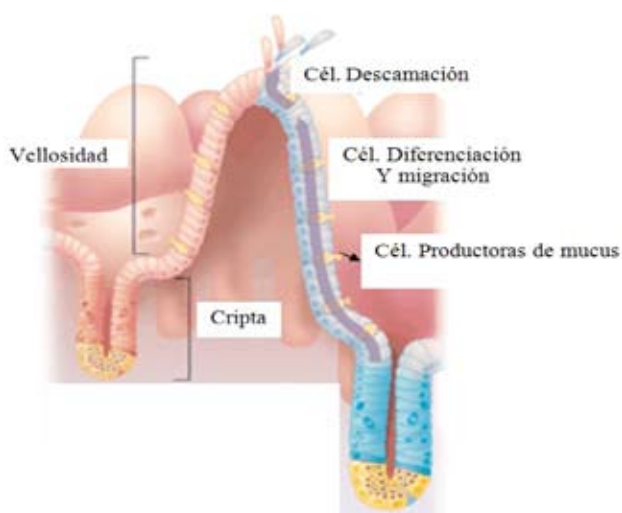


Figura 1. Epitelio Intestinal. En la cripta se encuentran células madres y de Paneth. Las células de la vellosidad son células en diferentes estadios de diferenciación y maduración con funciones digestivas, secretoras (cél. productoras de mucus) y de absorción (región apical de la vellosidad).
 Figure 1. Intestinal Epithelium. Stem and Paneth cells are present in the crypt. Cells of the intestinal villi are cells in different stages of differentiation and maturation, with digestive, secretory (mucous cells) and absorbent (apical region of the villi) functions.

INTESTINO E INMUNIDAD

El sistema inmune mucosal desempeña una doble función. Por una parte, debe identificar nutrientes inocuos y suprimir cualquier respuesta inmune sistémica que se pudiera generar contra ellos. Por otra parte, debe reaccionar para excluir cualquier invasión por virus, bacterias, parásitos y hongos (15).

El sistema inmune intestinal del cerdo depende de una inmunidad no específica a cargo de células Killer, mast cell, APC: Cél. Presentadoras de antígenos, Cél. T-helper, macrófagos y neutrófilos, que actúan a través de mecanismos quimiotácticos y de mecanismos de respuesta inmune a cargo del tejido linfoide asociado al intestino (GALT gut associated lymphoid tissue) (16, 17, 18). El tejido linfoide representa un 30% de la masa intestinal y el 50 % del tejido linfoide del organismo. Se estima que en el cerdo existen alrededor de 10^{10} células productoras de anticuerpos/m de intestino. El mismo se encuentra a nivel intestinal formado por 2 partes (17, 18).

1. Organizado en placas (placas de Peyer) y nódulos linfáticos intestinales
2. Células inmunes diseminadas en forma difusa a lo largo del tracto intestinal (lámina propia y células intra-epiteliales).

Las placas de Peyer están formadas por múltiples folículos (células B) rodeadas por zonas interfoliculares (Células T). En la lámina propia,

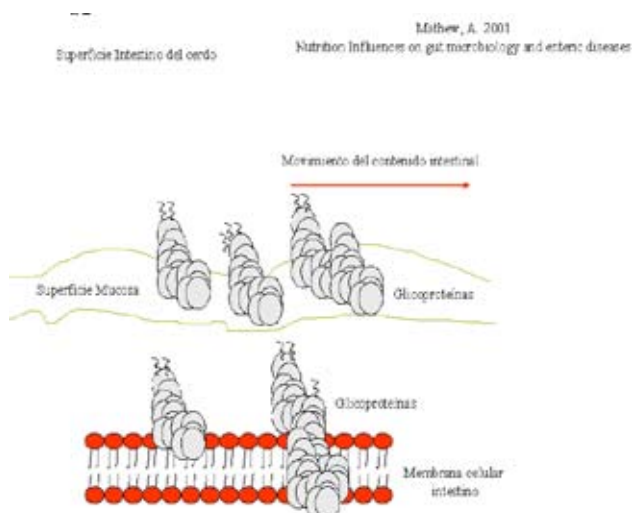


Figura 2. El mucus posee glicoproteínas que actúan como receptores de fijación de bacterias, especialmente *E. coli* (receptor K 88), similares a las glicoproteínas de membrana de los enterocitos. Por otro lado, el mucus es pobremente digerido en el intestino delgado alcanzando el intestino grueso, donde sirve de sustrato de fermentación bacteriana.
 Figure 2. Mucus glycoprotein receptors are similar to enterocytes proteins. That allows bacteria to join, specially, *E. Coli* (K 88 receptor), and prevent their fixation and cellular invasion. Additionally, the mucus is probably digested in the small intestine, reaching the large intestine, where it serves as substrate for bacterial fermentation.

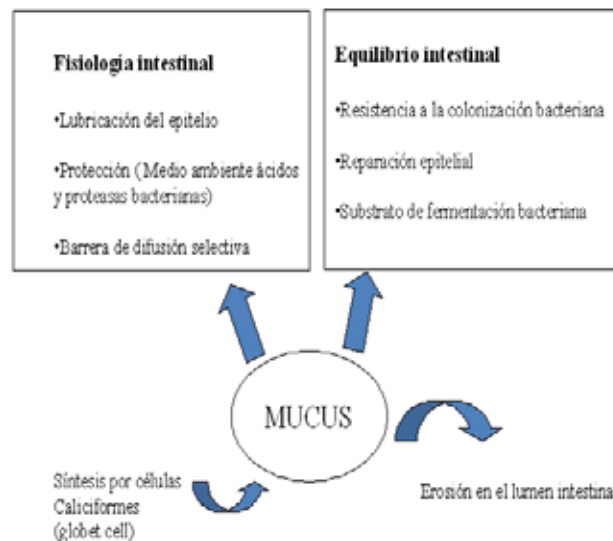


Figura 3. Funciones y propiedades del mucus intestinal.
 Figure 3. Functions and properties of the intestinal mucus.

las células plasmáticas (células B maduras) se encuentran situadas en las criptas, mientras que las células T (CD4+ y CD8+) se encuentran en la vellosidad (7, 18).

El sistema inmune específico participa a través de una respuesta humoral (normalmente dirigida a bacterias) y una respuesta celular (dirigida a células infectadas por virus) (18, 19).

INMUNOGLOBULINAS

IgA e IgM: Representan la barrera inmunológica secretoria principal en el cerdo (IgM, particularmente en animales jóvenes). La IgA es sintetizada por los linfocitos B de las placas de Peyer. La IgA brinda protección al prevenir la adherencia de bacterias y toxinas a las células epiteliales, proceso conocido como exclusión inmune (18, 19).

IgE: Se encuentra asociada a las células cebadas y a la lámina propia. Su importancia radica en la protección contra infecciones parasitarias y en la regulación y ampliación de la respuesta inmune local (18, 20).

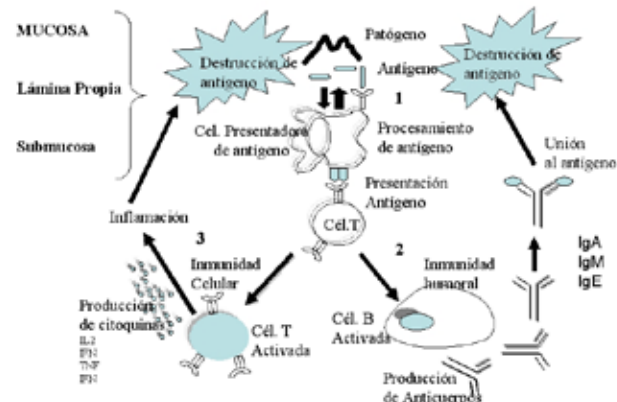


Figura 4. Esquema de la respuesta inmunitaria a nivel intestinal.
Figure 4. Intestinal immune response diagram.

MICROBIOTA

El tracto gastrointestinal del cerdo contiene 10^{14} microorganismos procariontes y eucariontes, valor que resulta 10 veces más alto que el número de las células del cuerpo. La microflora de un cerdo puede albergar a más de 400 especies de bacterias. Esos microorganismos que colonizan el intestino se distribuyen en comunidades extremadamente diferentes y ejercen un marcado efecto en la fisiología intestinal, a nivel morfológico, secreción de mucus, digestión de nutrientes, metabolismo y función inmune. Aunque la microbiota intestinal representa un sistema complejo de interacciones, el rol más estudiado tiene que ver con el efecto protector de determinadas especies de bacterias (*Lactobacillus* y *Bifidobacterias*), contra infecciones entéricas. El mecanismo involucrado se relaciona con una interacción simbiótica con el epitelio intestinal y el sistema inmune mucosal (20, 21, 22).

Funciones de la microbiota

La flora intestinal del cerdo cumple con las siguientes funciones:

1. Participar en la manutención del equilibrio e integración del epitelio intestinal.

2. Barrera protectora competitiva y química (bacteriocinas, fermentación ácida que mantiene un pH relativamente bajo) frente a la invasión de microorganismos.
3. Incrementar la absorción de nutrientes, particularmente mineral (Ca^{++}).
4. Participar en la síntesis metabólica de vitaminas (grupo B y C) y de ácidos grasos volátiles de cadena corta (acético, propiónico y butírico).
5. Estimular el desarrollo de respuesta inmune (a través de comunicaciones cruzadas o *cross-talk* o “negociaciones” entre la microbiota intestinal y el huésped).
6. Metabolismo de urea, sales biliares y ácidos grasos (22).

CRONOLOGÍA DE IMPLANTACIÓN Y COLONIZACIÓN DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DEL LECHÓN

Al nacimiento el tracto digestivo del lechón es estéril. Luego del nacimiento y a lo largo de las primeras semanas de vida la sucesiva colonización del intestino es realmente remarcable. Así, transcurrido unas horas del parto se puede encontrar en el intestino del lechón colonias de bacterias procedentes de la madre, por contaminación a través del canal del parto, de heces en la sala de parto y/o durante la lactación. La cronología de colonización de la microbiota muestra en sus inicios, coliformes y estreptococos y bifidobacterias. La flora anaeróbica obligatoria aparece más tarde. Los clostridios están presentes durante un corto período. A medida que el lechón consume leche, la microflora comienza a estabilizarse. Luego del destete, la introducción de alimento sólido y complejo, provoca cambios cuali y cuantitativos sobre la flora con la aparición de otros tipos de bacterias, *Ruminococcus*, *Enterobacter*, entre otras. Estos perfiles bacterianos devienen con la edad del animal, más complejos y más estables (19, 22, 23, 24).

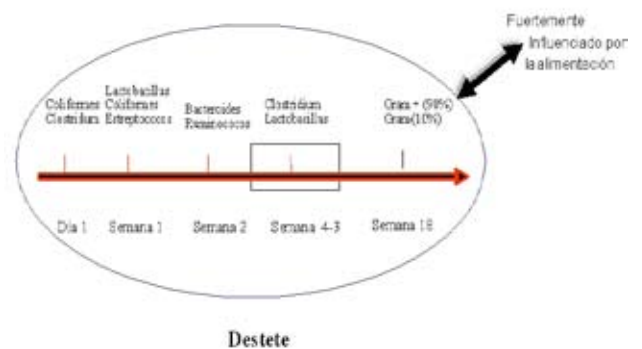


Figura 5. Sucesión temporal de géneros de bacterias en materia fecal de cerdo.
Figure 5. Temporal succession of bacterial genera in pig’s feces.

El equilibrio de la microbiota intestinal depende de la interacción de varios factores a saber:



Figura 6. Factores que intervienen en el equilibrio de la microbiota intestinal.

Figure 6. Factors that take part in the equilibrium of the intestinal microbiota.

ESTRÉS DEL DESTETE: PRINCIPAL PERIODO CRITICO DE AMENAZA AL EQUILIBRIO Y SALUD INTESTINAL

El destete es considerado como el periodo más crítico durante la producción del cerdo. Éste se caracteriza por una baja transitoria del apetito, llevando a un estado de subnutrición, que afecta diversos aspectos de la “salud intestinal”, particularmente el equilibrio anatómo-fisiológico, microbiológico e inmunológico del tracto gastro-intestinal (23).

PLANO ANATOMOFISIOLÓGICO:

Recientes trabajos de investigación han demostrado que la anorexia post destete sería el factor etiológico primario de las alteraciones intestinales y de las reacciones alérgicas a los alimentos que se desarrollan secundariamente (23, 24).

Durante el estadio de destete se desarrolla una reducción transitoria en los procesos intestinales de absorción, con reducción neta de los flujos de iones (Na^+ , Cl^- , HCO_3^- , etc.), a través de la mucosa y con un estado hipersecretorio transitorio del intestino proximal y del colon entre 2-4 días post destete. La capacidad secretoria del intestino en respuesta a secretagogos bacterianos (toxinas) o endógenos (moléculas del huésped implicadas en esas respuestas) disminuyen hacia los primeros 5 días luego del destete. La permeabilidad paracelular del epitelio intestinal aumenta de 2-4 días post destete (23, 25).

El estrés post destete y la disminución de la estimulación enteral comprometen la integridad de la mucosa intestinal, atrofiando las vellosidades, aumentando la profundidad de las criptas y reduciendo la concentración de enzimas digestivas. Este fenómeno se desarrolla principalmente hacia el día 2-5 del destete (23, 26).

El mucus intestinal también es afectado durante el destete. Los estudios realizados so-

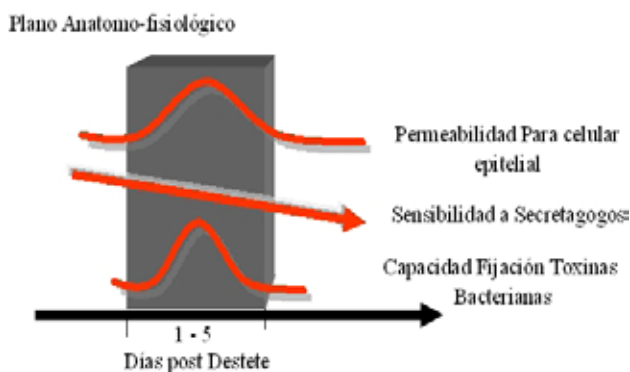


Figura 7. Modificación fisiológicas de la mucosa intestinal durante el post destete.

Figure 7 Physiological modifications of the intestinal mucosa during the post weaning period.

bre el mucus del intestino delgado del lechón demuestran una disminución transitoria de la densidad de las células productoras de mucus de las vellosidades. El mucus es afectado en calidad (disminuye la mucina sulfatada y residuos glicosados que sirven de fijación de bacterias) y cantidad (23).

| | Días post Destete (valor % obs pre destete) | | |
|-----------------------------|--|-----|-----|
| | Días 1-2 | 8 | 15 |
| Intestino Delgado | | | |
| ◊Peso del tejido | -13 | +14 | +15 |
| ◊Peso de la mucosa | -30 | +5 | +36 |
| Duodeno | | | |
| ◊Altura de las Vellosidades | -40 | -38 | +23 |
| ◊Profundidad de Criptas | -2 | +41 | +43 |

El diagrama muestra una 'Vellosidad' y una 'Cripta' con células epiteliales. Una etiqueta indica 'Renovación cel. Epiteliales 2-4 días'.

Figura 8. Cambios en peso, altura de vellosidades y profundidad de criptas de la mucosa intestinal, en función de los días post destete. Los valores en porcentaje negativo y positivo se refieren a los valores observados antes del destete.

Figure 8. Changes in the weight, villi height and depth of the crypt as a function of days post-weaning. The positive and negative percentages refer to those observed before weaning.

PLANO MICROBIOLÓGICO

El brusco reemplazo de la leche materna con un alimento sólido, más complejo de digerir y/o metabolizar, debido a la inmadurez digestiva del lechón, hace que la flora intestinal cambie en forma cuali y cuantitativa. Estos cambios favorecen a la colonización de bacterias patógenas que bajo diferentes situaciones, dependientes de la salud del tubo digestivo y del estado general del animal, pueden desarrollar diarreas (23, 27, 28).

PLANO INMUNOLÓGICO

La respuesta inmunológica de los lechones al destete es relativamente aberrante, relacionada con la pobre tolerancia a los antígenos alimentarios y a un interactivo y complejo reconocimiento inmunológico entre las células epiteliales y una nueva microbiota cohabitada por comensales y patógenos. Esto hace que el sistema inmunitario a nivel intestinal libere citoquinas pro-inflamatorias que mantienen al intestino en un delicado estado de compromiso inflamatorio permanente (23).

ESTRATEGIAS PARA ACTUAR SOBRE LA SALUD Y EQUILIBRIO INTESTINAL

La producción porcina utiliza una gran variedad de compuestos incorporados en los alimentos definidos bajo el rótulo de “Aditivos”, que impactan directa o indirectamente sobre la salud y el equilibrio intestinal. Sin embargo, muchos de ellos son administrados en forma empírica sin atender a:

- Una dosis determinada en función del peso o consumo de alimento del animal
- Un plan posológico racional
- Las consecuencias medio ambientales
- La salud pública (potenciales futuros consumidores)

A las acciones/efectos concretos sobre la especie “blanco”, sino extrapolando efectos benéficos en otras especies animales incluida el hombre.

Dentro de los aditivos más frecuentemente utilizados en producción porcina consideraremos:

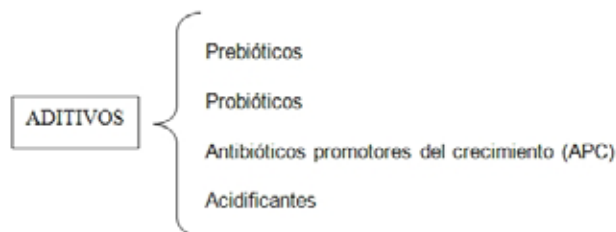


Figura 9. Aditivos más frecuentes utilizados en producción porcina.

Figure 9. Aditives most frequently used in porcine production

PREBIÓTICOS:

Definición: Compuestos de naturaleza carbohidratada, parcialmente digeribles o no digeribles, que poseen propiedades benéficas para la “salud intestinal”, estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de determinados microorganismos que componen la flora intestinal colónica normal (16, 29).

Existe una gran variedad de compuestos prebióticos, los cuales pueden ser clasificados en:

Prebióticos: Clasificación

➤Polisacáridos no almidón:
Compuestos constituidos por cientos de monosacáridos

➤Oligosacáridos:
Fructooligosacáridos (FOS) Manano oligosacáridos (MOS)
Xilooligosacáridos (XOS)

➤Almidón resistente

➤Lignina: compuestos polifenólicos

Figura 10. Clasificación de los prebióticos.
Figure 10. Prebiotics classification.

Los oligosacáridos son los principales prebióticos utilizados en producción porcina como aditivos (16, 29, 30).

Son compuestos de bajo peso molecular, con uniones químicas (variables según su grado de polimerización), resistentes a las enzimas de mamíferos. Sirven de plataforma o sustrato fermentativo para determinadas poblaciones bacterianas benéficas (particularmente: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Eubacterium*) del colon del cerdo. Los productos metabólicos de los procesos fermentativos de dichas bacterias ejercen un impacto directo sobre el sistema inmune, la morfología intestinal, la población microbiana, el pH intestinal, la absorción de minerales y la resistencia a enfermedades intestinales. Entre otras acciones, reducen el efecto tóxico sobre la microvellosidades intestinales y el costo energético mucosal de la utilización del NH₃, producto de la fermentación proteica, como así también, la disminución de producción de metano (contribuyendo con el medio ambiente) (30, 31).

Los ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV) (acético, butírico y propiónico) y la modulación en la producción de Ac. Láctico, representan a los productos metabólicos bacterianos más importantes. Estos ácidos permiten mantener un pH del contenido cecal bajo que impide el crecimiento y desarrollo de bacterias potencialmente patógenas (*E. coli*, *Clostridium*, *Salmonella*). Así también, los AGV inducen la secreción luminal de HCO₃⁻, que ejerce un importante efecto buffer sobre la regulación del pH luminal y estimulan la absorción mucosal de sodio (aproximadamente 5 veces más que los animales controles) y agua. El ácido butírico es metabolizado por los colonocitos aportando cerca de 70 % del total de la energía consumida por el colon y mejorando la absorción de sodio. El acetato estimula el flujo de sangre y la oxigenación de la masa tisular colónica, y la motilidad (acción sobre sistema nervioso autónomo SNA). El ácido propiónico es rápidamente

absorbido y transformado en el hígado vía neoglucogénica (10, 30, 31, 32).

La producción de AGV, el desarrollo de microbiota competitiva de sitios de fijación mucosal, producción de ciertas bacteriocinas y de enzimas extracelulares son importantes ya que contribuyen a la resistencia de colonización del colon, a la secreción de mucus, a la producción de IgA local y a la disminución de citoquinas proinflamatorias (8, 10, 15).

Se sugiere que los oligosacáridos pueden mimetizar a los sitios de fijación de la pared luminal, haciendo que las bacterias patógenas se fijen a los mismos e impidiendo en consecuencia, la invasión de la mucosa intestinal. Azúcares de manano-oligosacáridos a través de mecanismos poco conocidos, pueden interactuar con células de la mucosa intestinal, estimulando el sistema inmune no específico (30).

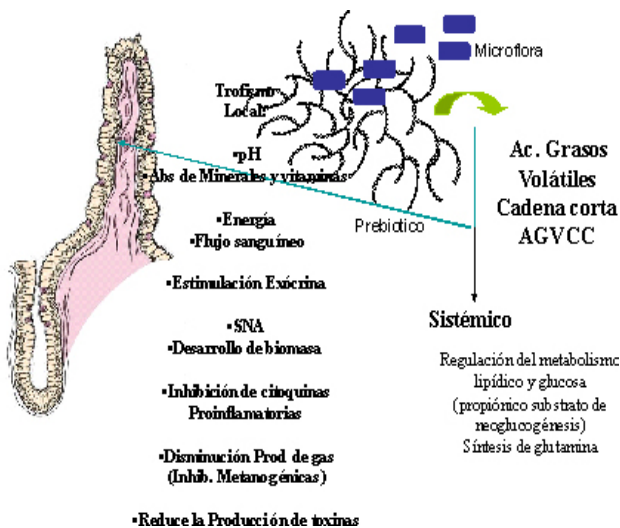


Figura 11. Efecto local y sistémico de los AGV producidos por fermentación bacteriana del prebiótico.

Figure 11. Local and systemic effects of AGV's produced by prebiotic bacterial fermentation.

PROBIÓTICOS:

Definición: Son microorganismos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas ejercen una influencia benéfica en la salud intestinal del huésped (34).

Los efectos aditivos probióticos más estudiados son aquellos que se observan luego de la administración de *Lactobacillus* y *Bacillus*. El uso práctico de los mismos incluye aspectos principales tales como:

Mejoramiento de la digestibilidad de nutrientes.

Exclusión competitiva de patógenos (competencias por sitios de unión, productos metabólicos).

Mejoramiento inespecífico del status inmunológico (31, 32).

Otros mecanismos en los cuales pondrían

estar involucradas las bacterias probióticas fueron descritos en el ítem prebióticos.

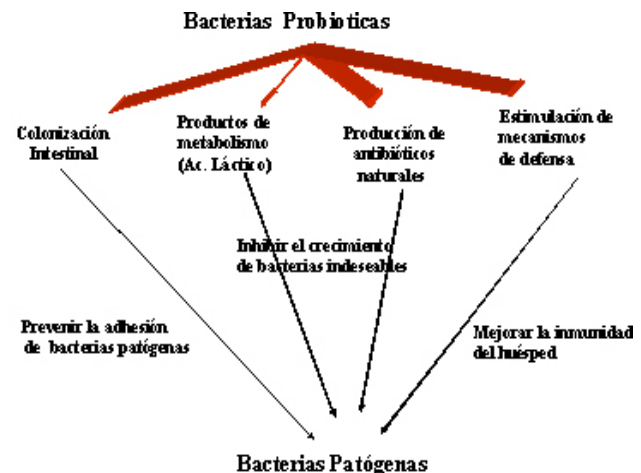


Figura 12. Acciones y efectos generales de bacterias probióticas.

Figure 12. Actions and general effects of the probiotic bacterias.

Estudios en lechones de destete han determinado que cepas de *Lactobacillus* y/ o sus metabolitos pueden establecer competencias con receptores de *E. coli* K88 por las glicoproteínas del mucus y del epitelio intestinal de la mucosa intestinal (26, 33).

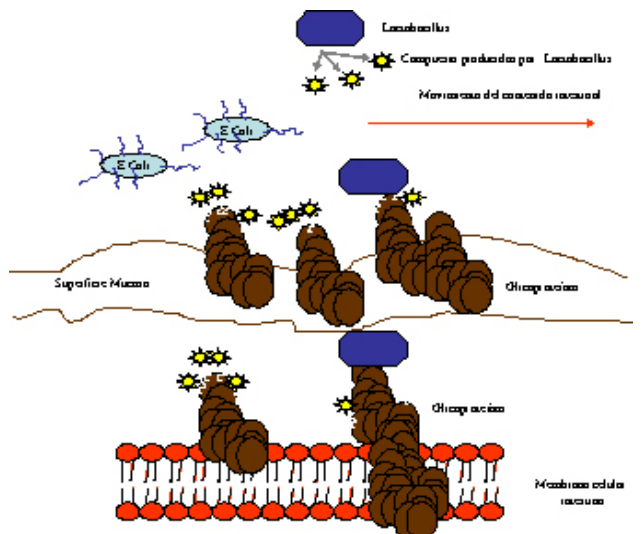


Figura 13. Mecanismo de acción de *Lactobacillus* sobre mucosa intestinal de lechones infectados con *E. coli* (K88). Adaptado de Mathew, A. 2001. Nutrition Influences on gut microbiology and enteric diseases.

Figure 13. Mechanism of action of *Lactobacillus* on intestinal mucosa of piglets infected with *E. coli* (K88) Adapted from Mathew, A. 2001. Nutrition Influences on gut microbiology and enteric diseases.

ADITIVOS ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DEL CRECIMIENTO (APC)

La incorporación al alimento de antibióticos a bajas dosis es una práctica muy común para mejorar la producción en cerdos y otros animales

de engorde (35). El término “Antibiótico Promotor del Crecimiento” (APC) es usado para describir cualquier agente con actividad antimicrobiana, administrado a dosis subterapéuticas, en el orden de parte por millón (ppm), que es consumido durante un largo periodo de tiempo. El uso de APC se ha incrementado con la intensificación de la cría de animales y son uno de los aditivos que más se han utilizado en la alimentación animal (23, 35, 36).

MECANISMO Y EFECTO ZOTÉCNICO DE LA ADMINISTRACIÓN DE APC

Los mecanismos de acción propuestos implican particularmente a la flora intestinal reduciendo el efecto nutricional negativo de ésta sobre el animal. Dicho mecanismo se basa fundamentalmente en que los APC carecen de efecto si se los administra a animales axénicos es decir desprovisto de gérmenes (23).

Los APC inhiben fuertemente el catabolismo de la urea y de ácidos aminados (inhibición de ureasas, desaminasas y decarboxilasas) por parte de las bacterias generando para el organismo, un ahorro energético importante (23, 37). Las ureasas bacterianas liberan en el intestino amoníaco, compuesto tóxico para las células de la mucosa intestinal (aumenta fuertemente la tasa de renovación de células). De esta manera, el organismo debe poner en marcha mecanismos de síntesis de proteína intestinal y de metabolismo hepático, para detoxificar (mediante síntesis de urea), el amoníaco absorbido. Este ciclo metabólico es altamente demandante y costoso en energía por parte del animal. Por otro, el mecanismo inhibitorio de decarboxilasa y desaminasa sobre los aminoácidos intestinales, permite una mayor biodisponibilidad de los mismos por el huésped) (23, 37, 38). Al modificar cuantitativa y cualitativamente la flora microbiana intestinal, provocan una disminución de los microorganismos causantes de enfermedades subclínicas (23, 36).

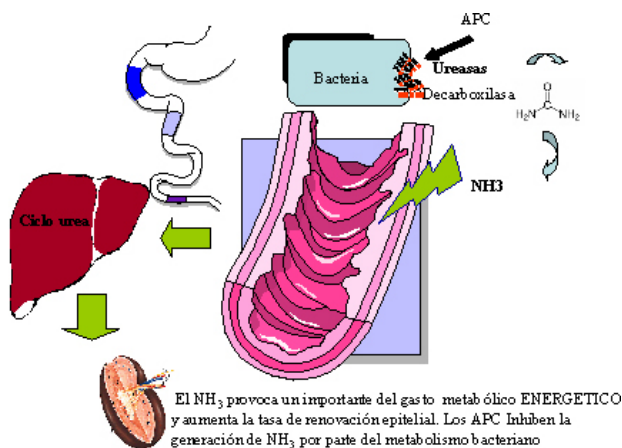


Figura 14. Mecanismo de acción de APC y su repercusión sobre el metabolismo energético. Figure 14. Mechanism of action of AGP and their repercussion on the energetic metabolism.

Inhibición Desaminación y Decarboxilación de AA

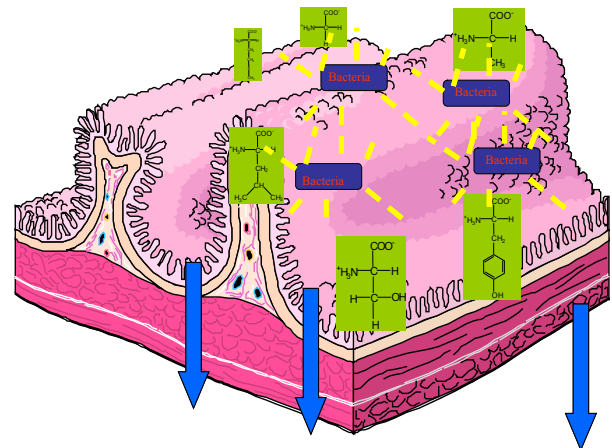


Figura 15. Mecanismo de acción de APC sobre el metabolismo de aminoácidos bacterianos mediante la inhibición de la desaminación y/o decarboxilación de los mismos.

Figure 15. Mechanism of action of AGP on bacterial aminoacids metabolism by deamination inhibition and/or their decarboxilation.

Finalmente los mecanismos de los APC descritos se traducen en aumentos de la eficiencia de utilización de los alimentos, en mejoras significativas de la ganancia de peso y en la reducción de las cantidad de N₂ en los efluentes de las granjas (23, 36).

Recientemente se han demostrado que los APC incrementan las concentraciones séricas de IGF-I y IGF-II (Insulin-Like Growth Factors I-II). IGF-I y IGF-II son péptidos, estructuralmente emparentados con la insulina y relaxina, que poseen un potente efecto anabólico y anti-apoptótico, estimulando la proliferación y diferenciación de funciones celulares en diferentes órganos y tejidos (39). Elevada capacidad de síntesis de IGF I y IGF-II mRNA ha sido demostrada en hígado, músculo esquelético y cardiaco, tejido adiposo, glándula mamaria, útero, ovario e intestino de cerdo. Tanto IGF I como IGF-II se encuentran asociadas a proteínas de unión (binding) conocidas como IGFBP 1 y 2 (*Insulin-Like Growth Factor Binding Proteins*). Estas proteínas prolongarían la vida media plasmática y tisular de IGF's y participarían en la localización tisular específica de las mismas en los tejidos (40).

El mecanismo de liberación de IGF's de plasma y tejidos y su interacción con receptores específicos dependería de una positiva incorporación de nutrientes (facilitada por los APC), lo que permitiría la liberación de proteasas específicas encargadas de actuar sobre IGFBP, con la consiguiente liberación de IGF's. Situaciones de estrés, anorexia o restricción de alimentos reducirían la liberación de IGF's al plasma y tejidos del organismo (38, 40, 41).

El calostro de cerda posee una elevada concentración de IGF's y cumple con un impor-

tantísimo rol fisiológico en el intestino del neonato. Algunos autores consideran a IGF's como el arranque del crecimiento y desarrollo intestinal del lechón (42,43, 44).

IGF-I y IGF-II: Insulin-Like Growth Factors

Péptidos: Factor endógenos reguladores de procesos metabólicos relacionadas con el Crecimiento

Importante actividad Anabólica, mitogénia y anti apoptótica

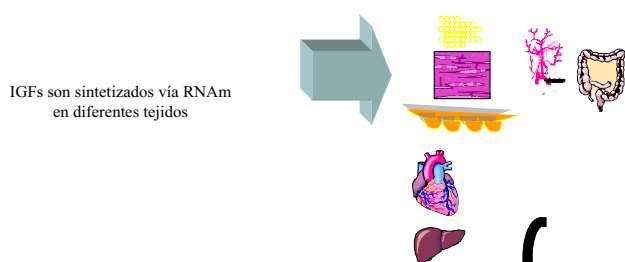


Figura 16. Insulin-Like Growth Factors I-II, sitios de síntesis en diferentes órganos y tejidos.

Figure 16. Insulin-Like Growth Factors I-II, sites of synthesis in different organs and tissues.

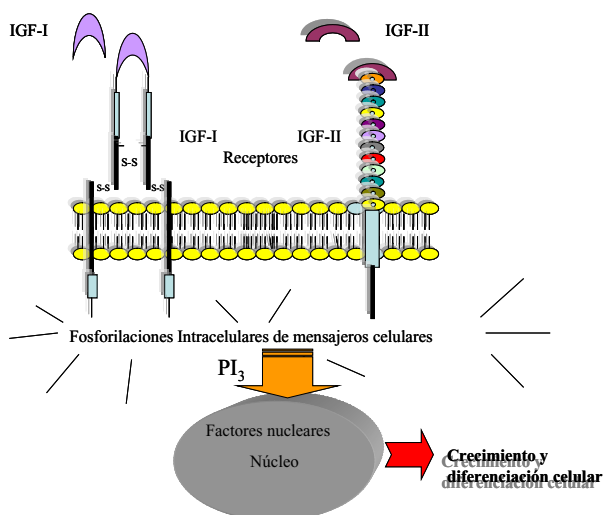


Figura 17. Receptores específicos para IGF-I y IGF-II y respuesta celular.

Figure 17. IGF-I and IGF-II specific receptors and cellular response.

Los antibióticos que han sido utilizados como promotores del crecimiento en animales son: avoparcina, tilosina, espiramicina, virginiamicina, avilamicina, bacitracina, flavofosfolipol, monensina y salinomina, aunque la lista ha ido cambiando con los años. En EEUU se agregan la penicilina, clortetraciclina, eritromicina, estreptomina y espectinomina (23).

Los efectos beneficiosos del uso de APC durante la crianza animal son bien conocidos. Sin embargo, como consecuencia de su utilización también puede surgir una flora bacteriana comensal del animal resistente al antibiótico la cual es potencialmente transferible a los hu-

manos, agravando así el problema de la diseminación de la resistencia y del tratamiento de infecciones por microorganismos resistentes (35). Los cuatro tipos de bacterias más comúnmente asociadas con resistencia debido al uso de APC son *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* y *Enterococcus* (23, 35).

ADITIVOS ACIDIFICANTES

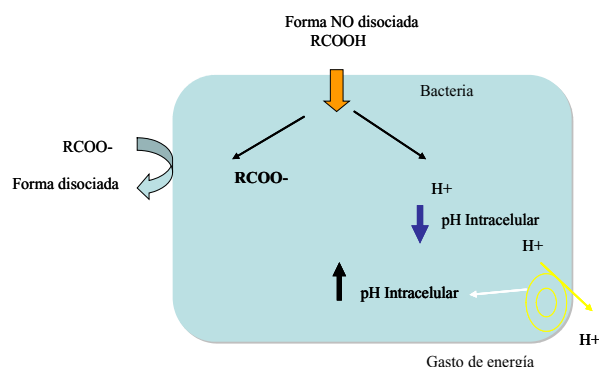
Los ácidos orgánicos representan una alternativa viable y eficaz al uso de aditivos antibióticos promotores del crecimiento (APC). Ellos son principalmente utilizados en el lechón durante la fase del destete y en la Unión Europea se los emplea en concentraciones importantes durante la fase de terminación (45, 46).

Existen diferentes ácidos orgánicos utilizados en producción porcina los cuales se detallan en la Tabla II.

MECANISMO DE ACCIÓN Y EFECTOS ZOTÉCNICOS DE LOS ACIDIFICANTES

Se estima que alrededor del 6% de la energía neta de la dieta del cerdo es perdida por acción de metabolismo fermentativo microbiano en el intestino delgado y que en función del tipo de alimento, un 16% de la energía total que obtiene el cerdo, proviene de la fermentación microbiana del intestino grueso. Los ácidos orgánicos actuarían modulando el número de bacterias intestinales en detrimento de aquellas patógenas (46, 47, 48).

Los ácidos orgánicos poseen sólo acción antimicrobiana significativa si se encuentran bajo la forma no disociada (no-ionizada). Dicha forma le otorga la capacidad de difundir pasivamente a través de las paredes celulares de las bacterias, encontrando al interior de las mismas un pH superior a sus constantes de disociación, lo que provoca un atrapamiento del ácido y una brusca caída de pH en su interior celular (49). La bac-



Cada ácido tiene comportamientos diferentes según tipo de Bacteria: pH/ Pka- estado de disociación – concentración gradiente Transmembrana : E.coli, Salmonella, L. Monocytogenes, C. Perfringens

Figura 18. Acción antimicrobiana de los ácidos orgánicos bajo su forma no-ionizada.

Figure 18. Antimicrobial action of organic acids in their unionized form.

Tabla II. Se presenta los ácidos orgánicos de mayor uso en producción porcina.

**Formula, características físicas y químicas de los ácidos orgánicos utilizados
en alimentos para animales (adaptado de Foegeding & Busta) (1991)**

| Acide | Formula | MM (g/mol) | Densidad (g/ml) | pKa |
|------------|--|------------|-----------------|------|
| Fórmico | HCOOH | 46.03 | 1.220 líquido | 3.75 |
| Acético | CH ₃ COOH | 60.05 | 1.049 líquido | 4.76 |
| Propiónico | CH ₃ CH ₂ COOH | 74.08 | 0.993 líquido | 4.88 |
| Butírico | CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH | 88.12 | 0.958 líquido | 4.82 |
| Láctico | CH ₃ CH(OH)COOH | 90.08 | 1.206 líquido | 3.83 |
| Sórbico | CH ₃ CH :CHCH :CHCOOH | 112.14 | 1.204 sólido | 4.76 |
| Fumárico | COOHCH :CHCOOH | 116.07 | 1.635 sólido | 3.02 |
| | | | | 4.38 |
| Málico | COOHCH ₂ CH(OH)COOH | 134.09 | 1.601 líquido | 3.40 |
| | | | | 5.10 |
| Tartárico | COOHCH(OH)CH(OH)COOH | 150.09 | 1.760 líquido | 2.93 |
| | | | | 4.23 |
| Cítrico | COOHCH ₂ C(OH)(COOH)CH ₂ COOH | 192.14 | 1.665 sólido | 3.13 |
| | | | | 4.76 |
| | | | | 6.40 |

MM, Masa molecular en gramos

Tabla III. Se presenta las concentraciones inhibitorias mínimas en función del grado de ionización de los diferentes ácidos orgánicos.

CMI determinada experimentalmente para ácidos orgánicos no
disociados & disociados (Adaptado: Ravindran V., Kornegay E.T.1993)

| Microorganismo | Acido orgánico | CMInda | CMIdb |
|-----------------------|-----------------------------------|--------|-------|
| E. coli M23 | Láctico | 8.32 | - |
| Y. Enterocolitica | Láctico | 5-10 | - |
| E. coli | Propiónico | 70 | 800 |
| Staphylococcus aureus | Propiónico | 19 | 830 |
| Bacillus cereus | Propiónico | 17 | 380 |
| E. coli | Sórbico | 1 | 100 |
| E. coli | Sórbico | 1 | 350 |
| Staphylococcus aureus | Sórbico | 0.6 | 400 |
| Bacillus cereus | Sórbico | 1.2 | 110 |
| Listeria innocua | Láctico (Na ⁺ lactato) | 4.9 | 1 250 |

CMInda: forma no disociada del ácido (μmole)

CMIdb: forma disociado del ácido (μmole)

A. Soraci y col.

teria debe poner en marcha sistema de bomba (activos) para expulsar los protones generados por la disociación. Esto lleva al agotamiento y muerte celular.

CONCLUSIÓN FINAL

El aparato gastrointestinal del lechón es de vital importancia para el desarrollo de sus múltiples funciones metabólico-digestivas, nutricionales e inmunológicas. Su rápida transformación y adaptación sumada a las exigentes medidas de manejo productivo de las granjas modernas hace que el lechón viva en un delicado equilibrio homeostático. La intervención profiláctica-terapéutica sólo puede realizarse racionalmente, sin extrapolaciones o empirismo si se conoce en detalle los acontecimientos morfo-fisiológico que ocurren durante la etapa productiva del lechón.

BIBLIOGRAFÍA

1. Dibner JJ, Richards J.D. The Digestive System: Challenges and Opportunities. *J. Appl. Poult Res* 2004; (13):86-93.
2. Vodovar N., Flanzky J., François A.C. Intestin grêle du porc. I. - Dimensions en fonction de l'âge et du poids, étude de la jonction du canal cholédoque et du canal pancréatique a celui-ci. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 1964; (4):27-34.
3. Tarvid I. Neonatal development of protein digestion. *Proc. Nutr Soc Aust* 1995; (19):157-164.
4. Guilhermet R.G. Fonctions nutritionnelles et métaboliques de l'arginine. *Prod Anim* 1996; 9(4):265-272.
5. Salmon H. Immunité chez le fœtus et le nouveau-né : modele porcin. *Reprod Nutr Dévelop* 1984; 24(2):197-206.
6. Skrzypeka T., Valverde Piedrab J.L., Skrzypeka H., Kazimierzczaka W., Szymańczyk S., Pawłowski M., Zabielski R. Intestinal villi structure during the development of pig and wild boar crossbreed neonates. *Livst Sci* 2007; 109(1-3):38-41.
7. Piel C., Montagne L., Sève B., Lallès J.P. Increasing digesta viscosity using carboxymethylcellulose in weaned piglets stimulates ileal goblet cell numbers and maturation. *J Nutr* 2005; 135(1):86-91.
8. Oswald I.P. Role of intestinal epithelial cells in the innate immune defence of the pig intestine. *Vet Res* 2006; 37(3):359-68.
9. Aubry A., Quiniou N., Le Cozler Y., Querné M. Modélisation de la croissance et de la consommation d'aliment des porcs de la naissance à l'abattage: actualisation des coefficients appliqués aux critères standardisés de performances en Gestion Technico-Economique. *Journées Recherche Porcine* 2004; (36) 409-422.
10. Williams B.A., Verstegen M.W.A., Tamminga S. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. *Nutr Res Rev* 2001; (14):207-227.
11. Pestova M.I., Clift R.E., Vickers R.J., Franklin M.A., Mathew A.G. Effect of weaning and dietary galactose supplementation on digesta glycoproteins in pigs. *J Sci Food Agric* 2000, 80(13):1918-1924.
12. Mathew A.G., Ebner, P.D. Issues of drug use and antibiotic resistance in pig production. *Pig News and Information* 2004; 25(4):1N-15N.
13. Matthews D.M., Laster L. Absorption of protein digestion products: a review. *Gut* 1965; 6(5): 411-426.
14. Blomberg L., Gustafsson L., Cohen P.S., Conway P.L., Blomberg A. Growth of *Escherichia coli* K88 in piglet ileal mucus: protein expression as an indicator of type of metabolism. *J Bacteriol* 1995; 177(23):6695-6703.
15. Lallès J.P., Boudrya G., Favier C., Le Floch N., Luron I., Montagne L., Oswald I.P., Pié S., Piela C., Sève B. Gut function and dysfunction in young pigs: physiology. *Anim Res* 2004; (53):301-316.
16. Patterson J.A., Burkholder K.M. Prebiotic feed additives: Rationale and use in pigs. *Advances in Pork Production* 2005; (16):149-159.
17. Stokes C.R., Bailey M., Haverson K., Harris C., Jones P. Inman C., Pié, S., Oswald I.P., Williams B.A., Akkermans A.D.L., Sowa E., Rothkötter H.J., Miller B.G. Postnatal development of intestinal immune system in piglets: implications for the process of weaning. *Anim Res* 2004; (53):325-334.
18. Bauer E., Williams B.A., Smidt H., Verstegen M.W., Mosenthin R. Influence of the gastrointestinal microbiota on development of the immune system in young animals. *Curr Issues Intest Microbiol* 2006; 7(2):35-51.
19. Laplace J.P., Aumaitre A., Rerat A. Forty years of achievement in French research on digestive physiology in the pig. *Reprod Nutr Dev* 2001; 41(2):129-51.
20. Blum S., Schiffrin E.J. Intestinal microflora and homeostasis of the mucosal immune response: implications for probiotic bacteria? *Curr Issues Intest Microbiol* 2003; 4(2):53-60.
21. Davis S.S., Illum L., Hinchcliffe M.J. Gastrointestinal transit of dosage forms in the pig. *Pharm Pharmacol* 2001; 53(1):33-39.
22. Lallès J.P., Konstantinov S., Rothkötter H.J. Bases physiologiques, microbiologiques et immunitaires des troubles digestifs du sevrage chez le porcelet: données récentes dans le contexte de la suppression des antibiotiques additifs alimentaires. *Journ Rech Porc* 2004; (36):139-150.
23. Corpet D.E. Mécanismes de la promotion de croissance des animaux par les additifs alimentaires antibiotiques. *Revue de Médecine Vétérinaire* 2000; 151 (2) 99-104.
24. Herpin P. Bases métaboliques et physiologiques de l'acclimation du porcelet au froid. *Prod Anim* 1989; 2(4):255-265.
25. Laitat M., De Jaeger F., Vandenhede M., Nicks B. Facteurs influençant la consommation alimentaire et les performances zootechniques du porc sevré: perception et caractéristiques de l'aliment. *Ann Méd Vét* 2004; (148)15-29.

26. Van Heugten E., Funderburke D.W., Dorton K.L. Growth performance, nutrient digestibility, and fecal microflora in weanling pigs fed live yeast. *J Anim Sci* 81(4):1004-1012.
27. Corring T., Aumaitre A. Évolution du système enzymatique du pancréas et de l'intestin chez le porcelet allaité. *Ann Biol Anim Biochim Biophys* 1971; (11):322-324.
28. Le Floch N., Sève V. Le devenir des protéines et des acides aminés dans l'intestin du porc: de la digestion à l'apparition dans la veine porte. *Prod Anim* 2000; 13(5):303-314.
29. Lemos Budiño F.E., Thomaz M.C., Kronka R.N., Satiko Okada Nakaghi L., Marcussi Tucci F., Fraga A.L., Scandolera A.J., Robles Huaynate R.A. Effect of probiotic and prebiotic inclusion in weaned piglet diets on structure and ultra-structure of small intestine. *Braz Arch Biol Technol* 2005; 48(6):921-929.
30. Niness K.R. Inulin and Oligofructose: What Are They? *J Nutr Am Soc Nutrition* 1999; (129):1402S-1405S.
31. López-Molina D., Navarro-Martínez M.D., Rojas-Melgarejo F., Hinerc A.N.P., Chazarrac S. Rodríguez-López J.N. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochemistry* 2005; 66(12):1476-1484.
32. Drouault S., Corthier G. Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Vet Res* 2001; (32):101-117.
33. Roselli M., Finamore A., Britti M. S., Bosi P., Oswald I., Mengheri E. Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in vivo results. *Anim Res* 2005; (54):203-218
34. Rychen G., Simoes Nunes C. Effets des flores lactiques des produits laitiers fermentés: une base scientifique pour l'étude des probiotiques microbiens dans l'espèce porcine. *Prod Anim* 1995; 8(2): 97-104.
35. Dibner J.J., Richards J.D. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult Sci* 2005; 84(4):634-43.
36. Devie P., Le Goaziou A. Divol A., Olivon M. Gilbert G. Petit J., Laurent S. Les antibiotiques en alimentation animale. 2005-2006; 1-30.
37. Thomke S., Elwinger K. Growth promotants in feeding pigs and poultry. II. Mode of action of antibiotic growth promotants. *Ann Zootech* 1998; (47):153-167.
38. Meunier-Salaun M.C., Picard M. Les facteurs des choix alimentaires chez le porc et les volailles. *Prod Anim* 1996; 9 (5):339-348.
39. Saleria R., Barata M., Mainardia G.L., Renavilleb R., Giustinac A., Quintavallad F., Tamaninia C. IGF-I, IGFBP-2 and -3 but not GH concentrations are different in normal and poor growing piglets. *Reprod Nutr Dev* 2001; (41):163-172.
40. Li X., Yin J., Defa Li, Xingjie Chen, Jianjun Zang and Xuan Zhou. Dietary supplementation with zinc oxide increases IGF-I and IGF-I receptor gene expression in the small intestine of weanling piglets. *J Nutr Am Soc Nutrition* 2006; 136:1786-1791.
41. Donovan S.M., Hartke J.L., Monaco M.H., Wheeler M.B. Insulin-like growth factor-I and piglet intestinal development. *J. Dairy Sci* 2004; (87):E47-E54.
- Étienne M., Père M.C. Adaptations physiologiques et métaboliques au cours de la gestation chez la truie. *Prod Anim* 1998; 11(3):250-253.
42. Animut G., Chandler K.D. Effects of exercise on mammary metabolism in the lactating ewe. *Small Rum. Res* 1996; 20(3):205-214.
43. Van den Borne J.J.G.C., Westrom B.R., Kruszewska D., Botermans J.A.M., Svendsen J., Wolinski J., Pierzynowski S.G. Exocrine pancreatic secretion in pigs fed sow's milk and milk replacer, and its relationship to growth performance. *J Anim Sci* 2007; 85(2): 404-412.
44. Devillers N., Le Dividich J. Physiologie de la production de colostrum chez la truie. *Prod Anim* 2006; 19(1): 29-38.
45. Mori A.V., Kluess J., Zabielski R., Laubitz D., Wolinski J., Geraert P.A. Les enzymes modifient la physiologie intestinale chez le porcelet. *Journ Rech Porc* 2007; (39):139-142.
46. Gauthier R. Le mode d'action des acidifiants et leur intérêt en engraissement. *Actualités en production porcine. Pathologie digestive en engraissement/Maladie d'amaigrissement du porcelet/Immunité - Vaccination. Association Française De Médecine Vétérinaire Porcine (A.F.M.V.P.)* 2002; 1-17.
47. Lambert R.J., Stratford M. Weak-acid preservatives : modelling microbial inhibition and response. *Journal of Applied Microbiology*, 1999; (86):157-164.
48. Presser K.A., Ratkowsky D.A., Ross T.: Modelling the growth rate of *Escherichia coli* as a function of pH and lactic acid concentration. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997; (63), 2355-2360.
49. Jensen B.B.: Possible ways of modifying type and amount of products from microbial fermentation in the gut. *Gut Environment of Pigs*, 2001; 181-200.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

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

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

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

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

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

Normas generales de redacción

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

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

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

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

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

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

Normas particulares de redacción:

1.Trabajos de investigación:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Si se tratase de trabajos publicados en libros:

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

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

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

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

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

II. Artículos de revisión

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

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

III. Comunicaciones breves

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

IV. Información institucional

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

V. Cartas al editor

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

Correspondencia

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

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

Desde el exterior: +54-221-4257980

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

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