

SUPLEMENTO

**Terceras Jornadas de la
Facultad de Ciencias Veterinarias
Científicas y de Actualización Profesional
21, 22 y 23 de septiembre de 2005**

- Resumen de los trabajos presentados -

Comité Organizador

Secretaria General:

Prof. Dra. Irma E. Sommerfelt

Miembros:

Prof. Dra. Nélide Gómez

M. V. Adriana Suraniti

M. V. Andrés Balás

Prof. Dr. Humbeto Cisale

Prof. M. V. Agustín Nápoli

Prof. M.V. Marcelo Míguez

Dra. María L. Fishman

Comité Científico

M.V. Hugo Pinotti

Prof. M. V. Juan José Busso

Prof. M.V. Thomas Wehleer

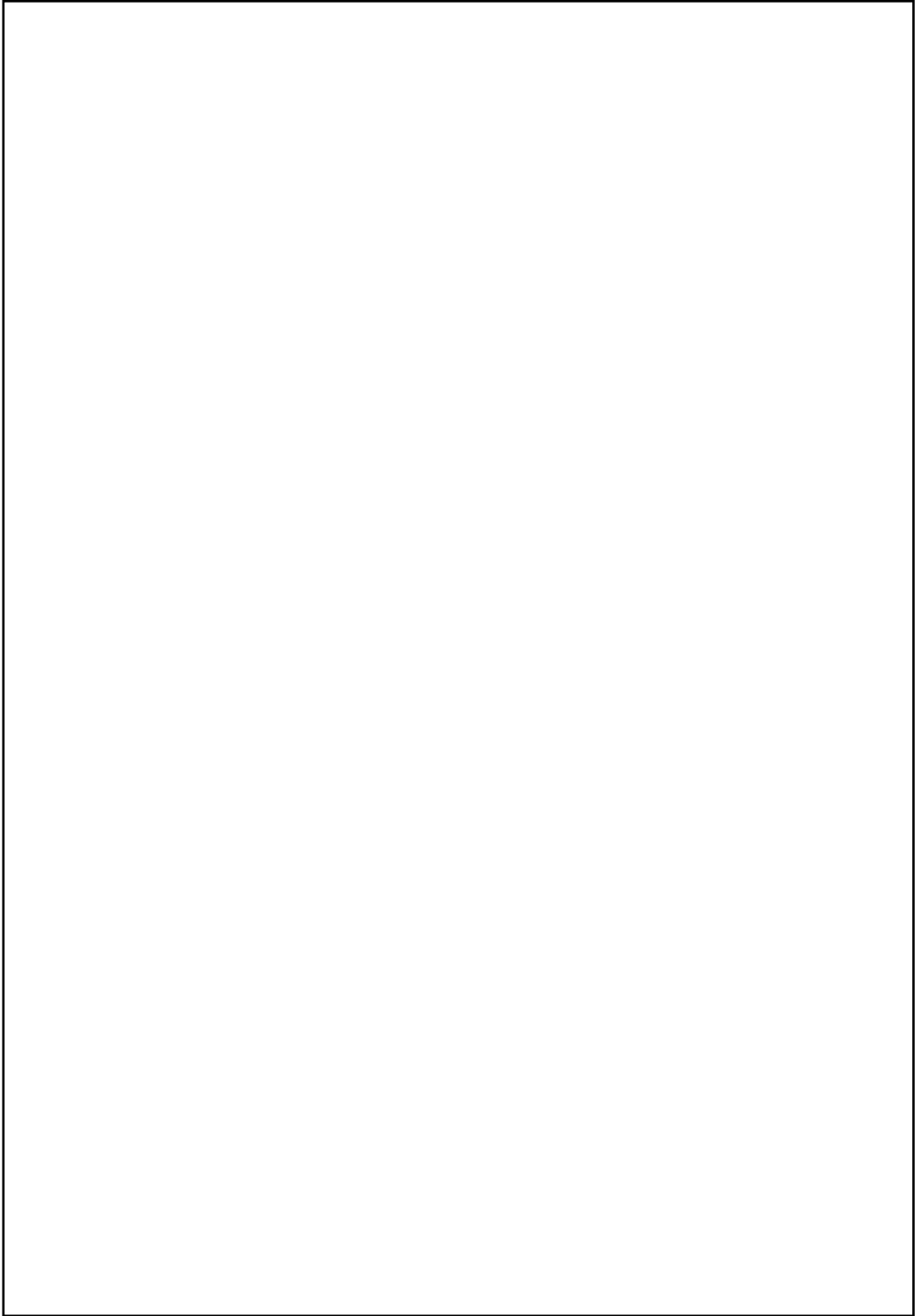
M.V. Leonardo Sepiurka

Sede

Facultad de Ciencias Veterinarias

Universidad de Buenos Aires





FOSFOMICINA: UNA POSIBLE ALTERNATIVA TERAPEUTICA PARA INFECCIONES URINARIAS CANINAS PRODUCIDAS POR *Escherichia coli* MULTIRESISTENTES (ESTUDIO PRELIMINAR)

ABATE, S.; CARLONI, G.; MAUBECÍN, CARABELLA, M.;
PEREYRA, A.; GENTILINI, E.

Facultad de Ciencias Veterinarias UBA – Chorroarín 280 Cdad. Bs. As – Argentina -
sabate@fvet.uba.ar

Introducción: Las infecciones urinarias (IU) son un grupo de entidades patológicas, generalmente ocasionadas por un solo microorganismo y relativamente frecuentes en la clínica médica de animales de compañía. *E. coli* es una de las especies bacterianas aisladas mas frecuentemente de IU. Los médicos cuentan con un grupo de antimicrobianos (quinolonas: enrofloxacina; betalactámicos: ampicilina y sulfas) que por sus características farmacocinéticas y farmacodinámicas suelen ser de elección para tratar IU. Muchas veces son utilizados empíricamente sin estudios de sensibilidad previos. La relación entre el uso de antibióticos y la resistencia en *E. coli* ha sido claramente establecida hace mas de 30 años (Linton 1977). Las bacterias pueden adquirir información genética útil para vulnerar el efecto de un antibiótico, y dicha información puede ser acumulativa. Se denomina cepa multirresistente a aquella capaz de resistir el efecto de tres o más antimicrobianos de grupos químicos diferentes. La asociación de cepas multirresistentes con cuadros clínicos es motivo de consideración de gravedad terapéutica, independientemente de la virulencia de la cepa implicada. La fosfomicina es un antibiótico natural, derivado del ácido fosfónico, de amplio espectro y efecto bactericida. Posee homología estructural con el fosfoenolpiruvato y actúa inhibiendo la síntesis de peptidoglicano en la primer etapa de su formación en bacterias en fase de crecimiento. Además se ha demostrado su efecto inmunoestimulante *in vitro* como su capacidad cito protectora ante el efecto tóxico de drogas antineoplásicas como el cisplatino y antibióticos nefrotóxicos como los amino glucósidos (Gobernado 2003). Teniendo en cuenta su amplio espectro, su capacidad bactericida, la alta concentración urinaria y baja tasa de excreción que permiten concentraciones terapéuticas durante mas de 3 días en orina luego de una dosis oral única, los escasos efectos colaterales, la ausencia de resistencia cruzada con el resto de los antibióticos y la observación de bajísimos e invariables índices de resistencia en las últimas décadas, ha adquirido importancia el uso de fosfomicina en IU bajas en medicina humana (Pedreira 2003), existiendo puntos de corte para estudios de sensibilidad estandarizados solo para *E. coli* y *E. faecalis* (CLSI/NCCLS 2005) de origen humano. En medicina veterinaria, aunque la fosfomicina se utiliza en algunos países, es escasa la bibliografía sobre sensibilidad en cepas aisladas de animales de compañía.

Objetivos: Evaluar la sensibilidad a fosfomicina en *E. coli* aisladas de IU caninas, con resistencia a tres o más antimicrobianos.

Materiales y Métodos: a partir de una colección de 40 cepas de *E. coli* aisladas en el laboratorio del Hospital Escuela y en el Área de Microbiología de la Fac. de Cs Veterinarias

UBA durante los años 2004 y 2005 orina de perros con IU de la Ciudad de Buenos Aires y su conurbano, y caracterizadas en cuanto a su biotipo y antibiograma en el Área de Microbiología de la Fac. de Cs Veterinarias UBA, se seleccionaron aquellas cepas con resistencia a tres o más antimicrobianos (n=9) que se muestran en la tabla N° 1. Los antimicrobianos fueron escogidos exclusivamente para determinar multiresistencia, desconsiderando su utilización en la práctica médica veterinaria para el tratamiento de IU. Se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) a fosfomicina por el método de dilución en agar, asumiendo los puntos de corte Sensible: = 64mg/ml; Intermedio: 128 mg/ml y Resistente: = 256mg/ml, según el documento M-100 S 15 (vol25 N° 1 –2005-) CLSI/NCCLS.

Tabla N°1: cepas seleccionadas y antimicrobianos asociados a multiresistencia

| N° de Cepa | Antimicrobianos utilizados para determinar multiresistencia | | | | | | | | |
|------------|---|------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
| | gen | estr | ams | tms | Col | clor | nit | cip | tet |
| 71 | R | R | R | R | S | I | S | R | R |
| 72 | S | S | S | R | S | S | S | R | R |
| 67 | S | R | R | R | R | S | R | R | R |
| 49 | S | S | R | S | S | S | S | R | R |
| 46 | S | R | R | R | S | R | S | R | R |
| 45 | R | S | R | S | S | S | S | R | S |
| 43 | R | R | R | R | S | R | S | R | R |
| 41 | R | S | S | R | S | R | S | R | R |
| 39 | R | S | R | R | S | S | R | R | S |

R:resistente; S:sensible; gen:gentamicina; cip:ciprofloxacina; ams:aminopenicilina sulbactama; col:colistina; clor:cloramfenicol; amik:amikacina; nit:nitrofurantoina; estr: estreptomycin; tet:tetraciclina.

Resultados: Todos los valores de CIM para fosfomicina fueron inferiores a 64µg/ml.

Conclusiones: La proporción de *E. coli* multiresistentes en la colección de cepas estudiada (9/40 = 22,5%) debe alertar a los veterinarios clínicos de nuestro medio sobre la necesidad de adopción de un cuidadoso criterio en la selección de antimicrobianos para el tratamiento de IU en caninos, tanto para obtener resultados satisfactorios en la clínica como para evitar la selección de nuevas cepas resistentes, de importancia en medicina veterinaria y salud pública debido al riesgo de transmisión al hombre. Todas las cepas seleccionadas resultaron resistentes a ciprofloxacina; aunque no se puede establecer prevalencia poblacional de resistencia a esta droga porque la muestra descrita en este trabajo corresponde a una parte de la colección de *E. coli*, demuestra la necesidad de erradicar los tratamientos empíricos con quinolonas, y adoptar la práctica del diagnóstico microbiano de laboratorio (cultivo y estudio de sensibilidad). La fosfomicina demostró ausencia de resistencia cruzada con los antibióticos, en acuerdo con estudios realizados con *E. coli* de origen humano. En todos los casos existe una alternativa

terapéutica desconsiderando la fosfomicina, siendo la nitrofurantoína la droga que ha manifestado mejores resultados. Si bien se requiere profundizar estudios farmacocinéticos y dinámicos de fosfomicina en animales, nuestros resultados constituyen un aporte valioso en la búsqueda de alternativas terapéuticas para el tratamiento de IU producidas por microorganismos resistentes.

Bibliografía

CLSI/NCCLS Documento M-100 S 15 Normas de desempenho para test de sensibilidade antimicrobiana: 15° suplemento informativo Vol 25 N° 1 (2005)

Gobernado, M: Fosfomicina. Rev Esp Quimioterap, vol 16 :15-40 (2003)

Linton, A.; Howe, K.; Bennett, P.M.; Richmond, M.; Whiteside, E. The colonization of the human gut by antibiotic resistant Escherichia coli from chickens. J Appl Bacteriol.43(3):465-9 (1977)

Pedreira, W.; Anzalone, L.; Alvez, M.; Cafferatta, A Fosfomicina trometamol. Una opción terapéutica válida en infecciones urinarias bajas. Rev Med Uruguay vol19:107-116 (2003)

**FOSFOMICINA COMO ALTERNATIVA TERAPÉUTICA EN INFECCIONES
URINARIAS EN PERROS PRODUCIDAS POR ENTEROCOCOS
(ESTUDIO PRELIMINAR)**

ABATE, S.; DENAMIEL, G.; MAUBECÍN, E.; MOLINA, E.;
MARTIARENA, B.; GENTILINI, E.

Facultad de Ciencias Veterinarias UBA- Chorroarín 280 Cdad. Bs. As - Argentina
sabate@fvvet.uba.ar

Introducción: Los enterococos constituyen uno de los grupos microbianos relacionados con diferentes infecciones en humanos, siendo las especies, *E. faecalis* y *E. faecium* las de mayor frecuencia de aislamientos. Estos microorganismos se caracterizan por presentar resistencia intrínseca a una variada gama de antibióticos, limitando las posibilidades de elección antimicrobiana. A su vez, la sensibilidad frente a los antibióticos varía entre las distintas especies del género, haciéndose necesaria la completa identificación antes de seleccionar los antibióticos apropiados para realizar las pruebas de susceptibilidad. Las drogas evaluadas de rutina son: penicilina, ampicilina, fluorquinolonas y nitrofurantoína. En pacientes hospitalizados que no responden al tratamiento con algunas de las drogas mencionadas, se indica el uso de vancomicina, fosfomicina, eritromicina, tetraciclina y cloranfenicol, dependiendo de la localización del proceso infeccioso, según las recomendaciones del Comité Nacional para el Control Laboratorios Clínicos (NCCLS). Cuando aparece resistencia o tolerancia a betalactámicos y/o vancomicina, se indica previa prueba de sinergismo antibiótico, la combinación de penicilina, ampicilina o vancomicina con un aminoglucósido. En el país se han informado aislamientos de enterococos vancomicina resistente (VRE) (Corso 2005; Toledo 2004), generando una situación crítica por la falta de opciones terapéuticas. En Medicina Veterinaria, en los últimos años se han detectado aislamientos de enterococos de diversas infecciones en animales de compañía y producción (Abate, S. 2005; Boerlin 2001; Denamiel, G. 1997)

Objetivo: Determinar la sensibilidad de diferentes especies de enterococos aislados partir de infecciones urinarias (IU) en perros, frente a fosfomicina.

Materiales y Métodos: Muestras: Se estudiaron 7 cepas de enterococos aisladas en el laboratorio del Hospital Escuela y en el Área de Microbiología de la Fac. de Ciencias Veterinarias de la UBA, a partir de 25 muestras de orina obtenidas por cistocentesis de perros con IU, atendidos en el Hospital Escuela de la Fac. de Ciencias Veterinarias de la UBA y una clínica veterinaria privada de la Pcia de Buenos Aires. Las IU no remitieron a pesar del uso de quinolonas fluoradas y/o betalactámicos en tratamientos independientes. La identificación de especie se realizó según Facklan (1995). La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) para fosfomicina se realizó según NCCLS Documento M 100-S 13 (2003), asumiendo los siguientes puntos de corte: Sensible: $\leq 64 \mu\text{g/ml}$; Intermedio: $128 \mu\text{g/ml}$ y Resistente: $\geq 256 \mu\text{g/ml}$.

Resultados: Se identificaron 5 *E. faecalis* y 2 *E. faecium* de los 7 enterococos estudiados. Los valores de CIM de fosfomicina para las 7 cepas fueron menores o iguales a $64 \mu\text{g/ml}$.

Discusión: El fracaso terapéutico puede atribuirse a causas generales (incumplimientos en la posología, concentración y calidad de la droga en el producto comercial utilizado, etc.); en este caso

alerta sobre la dificultad terapéutica a la que se pueden enfrentar los médicos en casos de IU producidas por enterococos, y la necesidad de considerar estudios de sinergismo in vitro para implementar tratamientos combinados, antes de la utilización de drogas de reserva para casos de extrema necesidad como la vancomicina. La fosfomicina demostró utilidad in vitro frente a las cepas estudiadas. En caso de *E faecalis* la CIM fue menor a los puntos de corte de sensibilidad. En el caso de *E faecium*, no existen puntos de corte estandarizados; según normas europeas, esta especie posee resistencia a baja carga de fosfomicina. No obstante, en las 2 cepas de *E faecium* estudiadas se observa sensibilidad a fosfomicina, con valores de CIM menores al intervalo 4-128 mg/l propuesto por varios autores (Allerberger 1999, Gobernado 2003). Se debería profundizar el estudio de la fosfomicina en caninos, dado que nuestros resultados demuestran una buena respuesta en los ensayos in vitro.

Conclusiones: Se deben agotar todas las instancias antes de decidir el uso de vancomicina en IU, entre ellas el estudio y tratamiento con dos o más antibióticos. Aunque no existen puntos de corte para *E faecium* ni enterococos de origen veterinario, y se carece de información sobre farmacocinética de fosfomicina en caninos, nuestro trabajo constituye un aporte en la búsqueda de alternativas para tratamiento de las IU en perros.

Existen numerosos informes en países desarrollados sobre aislamientos de enterococos multirresistentes en animales de compañía y producción, que alertan sobre el desafío terapéutico y riesgo para la salud pública dada la posible transmisión al hombre. En nuestro país son escasos los trabajos de vigilancia epidemiológica de susceptibilidad de enterococos aislados de animales.

Bibliografía

- Abate, S.; Maubecín, E.; Carabella, M.; Molina, E.; Martiarena, B.; Gentilini, E: Sensibilidad antibiótica de enterococos aislados en urocultivos caninos. IV Jornadas Internacionales de Veterinaria Práctica, Mar del Plata - agosto 2005.
- Allerberger, F.; Klare, I.; In vitro activity of fosfomycin against vancomycin-resistant enterococci. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 43:211-217 (1999).
- Boerlin, P.; Eugster, S.; Gaschen, F.; Strau, R.; Schawalder, P. Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. *Veterinary Microbiology* vol 82 issue 4 :347-359 (2001)
- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2005 (édition de janvier 2005)
- Corso, A.; Faccone, D.; Gagetti, P.; Togneri, A.; Lopardo, H.; Melano, R.; Rodríguez, V.; Rodríguez, M.; Galas, M. First report of VanA *Enterococcus gallinarum* dissemination within an intensive care unit in Argentina *Int J Antimicrob Agents*. Jan;25(1):51-6 (2005)
- Denamiel, G.; Gentilini, E.; Rumi, M.; Perez Monti, H.: Mastitis Bovina: tipificación de cocos catalasa negativo. *Veterinaria Argentina* XIV :374-379 (1997)
- Facklam y Sahm (DF) *Enterococcus* In PR Murray, EJ baron, MA Pfaller, FC Tenover y RH Jolken: manual of Clinical Microbiology 6th ed. American Society for Microbiology Washington DC, pp 308-314 (1995)
- Gobernado, M: Fosfomicina. *Rev Esp Quimioterap*, vol 16 :15-40 (2003)
- NCCLS Documento M 100-S 13 Vol. 23 Nro 2. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Thirteenth Informational Supplement. MIC testing (2003)
- Toledo, C.; Perez, M.; Rocchi M.; Gribaudo, G.; Mangiaterra, S.; Monterisi, A.: Isolation of enterococci species causative of infections and sensitivity to antimicrobial drugs *Rev Argent Microbiol*. Jan-Mar;36(1):31

ADENOCARCINOMA GASTRICO CANINO. REPORTE DE UN CASO

M.V. FEJJOÓ, S.; DUCHENE, A.; VARTABEDIAN, A.

Facultad de Ciencia Veterinarias. U.B.A. Chorroarín 280. sfejoo@fvet.uba.ar

Introducción: Los tumores gástricos que se originan a nivel de la mucosa se clasifican en tres grandes grupos adenomas, adenocarcinoma y carcinoides. El adenocarcinoma, es considerado el tipo de tumor gástrico más frecuente en el perro (1.2.5.).

Bibliográficamente se reporta una mayor predisposición en el Ovejero Belga y Rough Collie, como así también en perros machos (2.5: 1 - 3:1) con un promedio de edad de 8 años. (5)

En cuanto a la ubicación anatómica con mayor frecuencia se localiza en la ultima porción de estómago, principalmente en la región pilórica. Éstos se presentan como un engrosamiento de la pared; en algunas ocasiones en forma difusa, otras nodular; con masas de tamaño variable. La mucosa puede presentar lesiones ulcerativas.

Las autoras describen un caso, de ubicación anatómica poco común (cardias) de características infiltrativas.

Caso clínico: Se presentó a consulta en el Servicio de Gastroenterología del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencia Veterinarias de la U. B.A., un canino, hembra, mestizo, de 7 años de edad, que padecía de vómitos persistentes (varias veces por día), pérdida de peso y anorexia parcial, de 3 meses de evolución.

El paciente había sido tratado con cisapride, metoclopramida, ácido tióctico y prednisolona, con resultados negativos.

En el momento de la consulta se observó ptialismo constante, mucosas pálidas, estado general malo (caquexia), peso 4.650kg, depresión, deshidratación leve (7%), frecuencia respiratoria: 20, frecuencia cardíaca: 100. La palpación abdominal no presentó particularidades.

De acuerdo al examen clínico se decidió realizar análisis de sangre (Hemograma completo, bioquímica sanguínea, y serología) y materia fecal. Los resultados se detallan en la tabla 1.

Se indicó también una radioscopia baritada, la misma mostró un tránsito gastrointestinal enlentecido.

El paciente fue medicado con cisapride a razón de 0.5mg/kg/8 hs. , ranitidina 2mg/kg/12hs, IM, y sucralfato 250mg/8hs. Además se colocó un catéter para la administración de fluidos en forma convencional.

A las 48hs no había evidenciado mejoría, por lo tanto se decidió realizar una endoscopia, pero el estado del paciente no lo permitía en forma inmediata. A pesar de los intentos para frenar los vómitos, con otros antieméticos (ondancetron) este persistió y cinco días después el animal murió.

El propietario aceptó realizar la necropsia donde se observo a nivel gástrico un engrosamiento uniforme de la pared, que involucraba la zona cardial, y cuerpo del estómago, en su tercio anterior. Macroscópicamente la pared se presentaba de color blanco grisáceo y de

consistencia firme a dura, con escasa elasticidad. La capa mucosa conservada, sin evidencias de ulceraciones, con signos de hipertrofia. Al realizar cortes sagitales se observan pequeñas nodulaciones blanquecinas. Se aíslan linfonódulos gástricoduodenales hipertrofiados, de color blanquecinos.

Dicho material se procesa para su observación histológica de acuerdo a las técnicas convencionales para inclusión en parafina. Se realizan cortes seriados de todos los materiales procesados, se colorean con hematoxilina/eosina, PAS y se procede a realizar inmunohistoquímica para inmunotipificación de células epiteliales.

Histológicamente se observan células epiteliales conformando cordones infiltrantes sobre un estroma conjuntivo denso, con zonas esclerosada (Linitis Plástica). Leve hipertrofia de mucosa. Epitelio de revestimiento conservado. Capa muscular y serosa invadida por células neoplásicas. Linfonódulo con signos de extensión tumoral completa. Células con alto contenido de mucopolisacáridos (PAS+). Positivo para citoqueratina (anti-human citoqueratina. Clones AE1-AE3 DAKO CORPORATION). El diagnóstico fue Adenocarcinoma gástrico infiltrante e invasivo.

Tabla 1: Hallazgos hematológicos, bioquímicos, serológicos y de materia fecal (coproparasitológico)

| HEMOGRAMA | BIOQ. SANG | SEROLOGIA toxoplasmosis | A.M.F. |
|-----------------|------------------|-------------------------|--------|
| Hematocrito: 31 | Urea: 33 | AD: < 1/16 | Neg. |
| R.GB.: 10900 | Creatinina: 1.2 | IFI: < 1/512 | |
| N.S.: 92 % | AST: 31 | | |
| N.B: 2 % | ALT: 54 | | |
| Linfocitos: 1 % | FAS: 157 | | |
| Eosinófilos: 0 | Potasio: 4 meq/l | | |
| Basófilos: 0 | Sodio: 150 meq/l | | |
| Monocitos: 5 % | Albúmina: 3 | | |
| | P. Totales: 5.6 | | |

Conclusion: En el diagnóstico diferencial de las enfermedades gástricas crónicas, debe incluirse a los procesos tumorales, sobre todo cuando el paciente presenta un cuadro de vómitos crónicos, pérdida de peso y anorexia, aunque no haya evidencia clínica y/o radiológica de masa gástrica. La presencia de melena y/o hematemesis suelen ser signos clínicos que se presentan frecuentemente.

Dentro de los análisis rutinarios no suelen hallarse datos orientativos, excepto la presencia de anemia, en aquellos tumores que son ulcerativos.

La radiología contrastada y /o endoscopia suelen ser de mayor utilidad. En el primer caso se puede identificar engrosamientos de la mucosa, masas, ulceraciones, retardo del vaciado gástrico, etc.

La endoscopia es de utilidad para la observación de la mucosa gástrica y para realizar toma de muestras de aquellas zonas que aparezcan comprometidas, o donde se observan lesiones ulcerativas, proliferativas, con cambio de coloración, etc.

Cuando los tumores comprometen la submucosa o muscular, si la muestra no es lo suficientemente profunda puede dar falsos negativos, no debe esperarse siempre que los carcinomas gástricos se presenten como masas que deformen la pared estomacal, que puedan detectarse por los métodos radiológicos, radioscópicos, endoscópicos o por palpación abdominal.

La localización anatómica inusual y las características anatomopatológicas del mismo fueron determinantes para no llegar a un diagnóstico concreto a través de los métodos complementarios utilizados. La biopsia endoscópica o quirúrgica convencional en períodos tempranos de la enfermedad hubiera permitido arribar a un diagnóstico etiológico del vómito, y la implementación de terapéuticas apropiadas.

Bibliografía:

- 1- Managing the Veterinary Cancer patient. Ojilvie, G.; Moore. A.
- 2- Oncología en Pequeños Animales. Morris, Joana, Dobson Jane. 2002
- 3- Small Animal Clin. Oncology. 2º edition. Withrow, S.; Mac. Ewen, G. 1996
- 4- Special Veterinary Pathology. Third edition. Thomsons . 2001
- 5- Tumors in domestic animals. Third edition. Mocolton. 1990

AISLAMIENTO DE HERPESVIRUS CANINO ASOCIADO A COLIBACILOSIS

VILAR, G ; RODRIGUEZ, P1; HERROU, J1; IRIBARREN, F

Objetivos: Se recibió en el laboratorio un cachorro Schnauzer miniatura, de 6 días de edad, a partir del cual se intentó realizar un aislamiento viral para herpesvirus canino y un diagnóstico bacteriológico. Provenía de una camada de 6 cachorros que murieron entre los 3 y 5 días post-parto, presentando signos de decaimiento e hipotermia. Al morir tenían buen estado corporal y mantenían el reflejo de succión. Los animales pertenecían a un criadero, hijos de una madre que no presentaba sintomatología alguna, la cual también había perdido la totalidad de la camada anterior en los 7 días posteriores al parto con los mismos signos de decaimiento.

Materiales y métodos: El canino llegó en estado agónico, por lo que se procedió a realizarle una eutanasia. A la necropsia se observó en un lóbulo del hígado una zona ligeramente pálida en su cara diafragmática y congestión en la zona umbilical. El resto de los órganos se encontraba sin lesiones aparentes. Se tomaron muestras de sangre mediante punción cardíaca y pulmón para cultivo bacteriológico, identificándose *Escherichia coli* mediante pruebas bioquímicas. También se realizaron improntas de hígado y bazo que se fijaron en alcohol metílico y fueron teñidas con la coloración de Giemsa. Además se tomaron muestras de dichos órganos, las cuales fueron conservadas a 4°C para realizar el aislamiento viral.

Se procesaron muestras de hígado y bazo para obtener el inóculo, el cual se sembró en una monocapa de células CrFK y se incubó a 28°C, junto a un control negativo de iguales características. Al realizar la lectura de las monocapas, se notó al 5º día redondeamiento celular y la aparición de células gigantes en aquella que estaba inoculada con la muestra proveniente de hígado. Luego se realizó un pasaje ciego a partir del sobrenadante de ambos cultivos celulares, observándose los mismos efectos a los 3 días solamente en el de hígado. Se siguió observando hasta el 5º día, hallándose placas de lisis y desprendimiento de pequeños sectores de la monocapa. Se conservó el sobrenadante de los tres cultivos y se procedió a desprender las monocapas de cada uno, las cuales se sembraron en slides para realizar a continuación inmunofluorescencia directa (IFd) con conjugado específico para herpesvirus canino (Canine Herpesvirus (CHV) Direct FA Conjugate - VMRD, Inc -catalog NO.: 210-12-CHV) en los tres slides.

Resultados: En el cultivo de la muestra de pulmón se hallaron colonias de *Escherichia coli*, confirmando su identidad mediante pruebas bioquímicas.

Se hallaron cuerpos de inclusión Cowdry tipo A en la impronta de hígado teñida con Giemsa y no en la de bazo. Se logró realizar el aislamiento viral a partir de la muestra de hígado, obteniendo los típicos efectos citopáticos (redondeamiento celular, presencia de células gigantes y placas de lisis) que producen los herpesvirus. Se confirma la identidad del herpesvirus canino mediante la IFd, en donde se observó positividad únicamente en el cultivo de hígado, no así en el cultivo de bazo y el control negativo, en los cuales tampoco se observaron efectos citopáticos.

Discusión y conclusiones: A partir de un caso en un criadero de schnauzer miniatura, en el cual se hizo un diagnóstico clínico de herpesvirosis, se logró aislar una cepa de herpesvirus

canino. Cabe mencionar que ésta es una enfermedad que sólo es diagnosticada clínicamente y mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI); por lo tanto, es la primera vez en Argentina que este virus es aislado con la posterior confirmación mediante IFD. Por otro lado, el hecho de tener aislada la cepa del virus que en estos momentos está afectando a los criaderos, nos da la posibilidad de desarrollar vacunas a partir de una cepa nacional de campo.

En cuanto al diagnóstico bacteriológico, del cachorro en estudio se aisló un microorganismo a partir de pulmón, que mediante pruebas bioquímicas se llegó a identificar como *Escherichia coli*. Cabe destacar entonces la importancia de la inmunosupresión debida al virus, que permite la infección por microorganismos comunes por distintas vías, en este caso, posiblemente por vía onfalógena.

Bibliografía

1. Carmichael L. - Neonatal Viral Infections of Pups: Canine Herpesvirus and Minute Virus of Canines (Canine Parvovirus-1). In: Recent Advances in Canine Infectious Diseases (Last Updated: 19-Aug-2004).
2. Iribarren F. E.; Boviez J.; Menchaca E. S.; Barboni de Stella A. M.; Marena H.; y Moras E. V. - Herpesvirosis en cachorros recién nacidos: Hallazgos clínicos y anatomopatológicos. 1998 - Presentado en el VI Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias, organizado por la Sociedad de Medicina Veterinaria, del 22 al 26 de agosto.
3. Morresey P R. - Reproductive Effects of Canine Herpesvirus - BVSc, MACVSc, DACT, DACVIM University of Pennsylvania - COMPENDIUM - October 2004
4. Poste, G; King, N. - Isolation of a herpesvirus from the canine genital tract: association with infertility, abortion and stillbirths. - Vet Rec. 1971 Feb 27; 88(9): 229-33
5. Prydie, J.; Harrison M.J.; Graham J. - Isolation of a canine herpes virus - Vet rec 1966 Nov 26; 79(22): 660-1

APLICACIÓN DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS/FARMACODINÁMICOS AL EMPLEO TERAPÉUTICO DE AMOXICILINA EN GATOS DOMÉSTICOS

ALBARELLOS, G.¹; DENAMIEL, G.²; AMBROS, L.¹; KREIL, V.¹; MONTOYA, L.¹; LANDONI, M.³

¹Cátedra de Farmacología, FCV UBA, Chorroarín 280, Buenos Aires; ²Cátedra de Microbiología, FCV, UBA; ³Cátedra de Farmacología, FCV, UNLP.
albarell@fvvet.uba.ar

Introducción y objetivos: La amoxicilina (AMX) es un antibiótico betalactámico que incluye en su espectro microorganismos grampositivos (estafilococos y estreptococos) y gramnegativos (algunas enterobacterias). La AMX puede administrarse por vía parenteral como formulaciones solubles de liberación y acción rápida o, como formulaciones de liberación sostenida. Los intervalos posológicos habitualmente recomendados son cada 12 h para las formulaciones solubles y, cada 48 h para las formulaciones de depósito.

La eficacia clínica de la AMX es "tiempo dependiente" y el indicador empleado para predecir el éxito terapéutico es el T>CIM (tiempo que las concentraciones plasmáticas se encuentran por encima de la CIM del patógeno a tratar). El éxito terapéutico se obtendría con un T CIM $\geq 40\%$ del intervalo posológico.

El propósito de este trabajo es determinar el T CIM para la AMX luego de su administración intravenosa (IV), intramuscular en forma soluble (IMs) e, intramuscular como suspensión de depósito (IMd) a gatos domésticos.

Materiales y métodos: El estudio se realizó en tres fases:

1° Obtención de las curvas de concentración plasmática y los principales parámetros cinéticos de la AMX. Para esto se utilizaron 5 gatos adultos sanos, 3 hembras y 2 machos, con un peso de 4.71 ± 1.17 kg (media \pm DS). El estudio se hizo en tres etapas sucesivas separadas por un intervalo de 2 semanas entre cada una. En estas los animales recibieron: a) AMX sal sódica (Amoxidal®, Roemers, Argentina) por vía intravenosa (IV), 20 mg/kg; b) la misma formulación por vía intramuscular (IMs), 40 mg/kg; y c) AMX suspensión, por vía intramuscular (IMd), 15 mg/kg (Clamoxil LA®, Pfizer, UK). Se tomaron muestras de sangre en tiempos preestablecidos y se determinaron las concentraciones de AMX por el método microbiológico utilizando *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) como microorganismo patrón. Las curvas de disposición plasmática se analizaron por métodos no lineales mediante el programa computarizado PcNonlin.

2° CIM de bacterias patógenas aisladas de gatos domésticos: la CIM se realizó por el método de macrodilución en caldo (NCCLS, documento M7-A6 del año 2003) y las cepas controles fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922. Se emplearon 7 *E. coli*, 2 *Enterobacter* spp, 5 estafilococos coagulasa negativa y 2 estafilococos coagulasa positiva, aislados de muestras de piel y sistema génito-urinario de gatos provenientes de Capital Federal y Gran Buenos Aires, durante los años 2004 y 2005.

3° Estimación del indicador de eficacia: se determinó el T CIM para las distintas vías estudiadas, aplicando las CIM50 calculadas para los estafilococos y las enterobacterias.

Resultados: Después de la administración de AMX, las áreas bajo la curva de concentración plasmática en función del tiempo (AUC) fueron de 113.92 ± 41.02 , 147.11 ± 45.50 y 78.23 ± 35.66 g.h/mL, para las vías IV, IMs e IMd respectivamente. Las concentraciones plasmáticas máximas (C_{max}) fueron de 83.40 ± 25.76 µg/mL (IMs) y de 7.06 ± 3.04 µg/mL (IMd). La vida media de eliminación (t_{1/2}) fue de 1.33 ± 0.42 h (IV), 1.12 ± 0.34 h (IMs) y 10.55 ± 3.30 h (IMd).

Los valores de CIM50 de los microorganismos estudiados fueron de 2 g/mL (rango: 1->32 g/mL) para las enterobacterias, y de 0.5 g/mL (rango: de 0.0625->32 g/mL) para los estafilococos.

Los T CIM para una CIM de 0.5 µg/mL fueron de 10, 12 y 36 h para las vías IV, IMs e IMd, respectivamente. Estos valores corresponden al 83.33% y 100% para la IV e IMs cuando se dosifican cada 12 h; y del 75% para la IMd cada 48 h.

Para una CIM de 2 µg/mL, los T>CIM fueron de 7 h para las vías IV e IMs, y de 15 h para la IMd. Estos valores corresponden al 58.33% de una dosificación cada 12 h (IV e IMs) y al 31.25% de una dosificación cada 48 h (IMd).

Conclusiones: la amoxicilina (sal sódica) administrada por vía IV (20 mg/kg) o IM (40 mg/kg) sería efectiva sobre microorganismos con una CIM menor o igual a 2 µg/mL cuando se la administra cada 12 h. Sin embargo, la AMX en suspensión administrada por vía IM (15 mg/kg) sólo sería efectiva para microorganismos con una CIM de 0.5 µg/mL o inferior cuando se la dosifica cada 48 h. Para el tratamiento de infecciones producidas por bacterias con una CIM de 2 µg/mL con esta formulación de depósito, sería aconsejable disminuir el intervalo posológico.

PARÁMETROS DE EVALUACIÓN DE LA MADURACIÓN DE OVOCITOS PORCINOS IN VITRO

ALVAREZ G.*¹, DALVIT G.¹, ACHI M.¹, MIGUEZ M.² Y CETICAP.¹

¹Area de Química Biológica. ²Area de Producción de Porcinos, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280, Cdad. de Buenos Aires.
galvarez@fvvet.uba.ar

Objetivo: El presente estudio tuvo por objeto evaluar la maduración de ovocitos porcinos in vitro utilizando diferentes parámetros, así como su relación con el estadio nuclear y la vitalidad de los ovocitos inmaduros.

Materiales y métodos: Los complejos ovocito cumulus (COCs) inmaduros se obtuvieron por aspiración de folículos antrales (3-8 mm de diámetro) de ovarios provenientes de cerdas de faena y fueron clasificados bajo lupa estereoscópica de acuerdo a las características del cumulus que rodea al ovocito: A1 ovocitos rodeados por cumulus íntegro, denso y oscuro; A2 ovocitos rodeados por cumulus íntegro, denso y claro; B1 ovocitos rodeados sólo por la corona radiata; B2 ovocitos parcialmente desnudos; C ovocitos totalmente desnudos y D ovocitos rodeados por un cumulus de células picnóticas. La maduración se realizó en medio 199 suplementado con sulfato de gentamicina 50 µg/ml, suero fetal bovino 10%, cisteína 0,57 mM, FSH porcina 0,5 µg/ml y LH porcina 0,5 µg/ml a 39°C, 5% CO₂ en aire humidificado por 48 hs. La expansión del cumulus fue evaluada bajo lupa estereoscópica clasificándose en: expansión total (cumulus claro y ampliamente expandido con células separadas por un abundante material intercelular elástico), expansión parcial (cumulus oscuro y más compacto con escaso material intercelular) y denudación parcial espontánea (ovocitos con pérdida parcial de células del cumulus y con restos de cumulus oscuro y compacto). La presencia del primer cuerpo polar se determinó bajo lupa estereoscópica a 4x. La maduración meiótica se evaluó observando la placa cromosómica en metafase II por microscopía óptica a 400x. La evaluación simultánea de la vitalidad y el estadio nuclear de los ovocitos inmaduros se realizó por microscopía de epifluorescencia mediante una tinción combinada de diacetato de fluoresceína y Hoechst 33342. Las comparaciones estadísticas de los diferentes porcentajes se realizaron por la prueba de Chi-cuadrado.

Resultados: La evaluación de la expansión del cumulus pudo realizarse únicamente en las clases A, debido a las particularidades del cumulus en las otras clases. No se observaron diferencias significativas entre los porcentajes de COCs que expandieron total (A1 46% y A2 47%) y parcialmente (A1 46% y A2 51%), sin embargo el porcentaje de los que denudaron espontáneamente fue significativamente menor ($p < 0,05$). Los porcentajes de maduración in vitro evaluada según la presencia del primer cuerpo polar a las 48 hs. fueron muy bajos en todas las clases, aunque significativamente superior en la clase C (33%) y en la clase B2 (12%) respecto de las A (A1 4% y A2 4%) ($p < 0,05$). Los porcentajes de maduración meiótica oscilaron en valores significativamente superiores en las clases A y B (52-58%) respecto de las clases C

(33%) y D (0%) ($p < 0,05$). Al analizar la expansión del cumulus y la maduración meiótica en los COCs clase A, no se hallaron diferencias significativas en los porcentajes de ovocitos en metafase II entre los COCs clasificados según los diferentes tipos de expansión del cumulus, indicando que ambos eventos no están asociados. Por otro lado, se observó asociación estadística entre la presencia del primer cuerpo polar y la maduración meiótica ($p < 0,05$), aunque la evaluación del porcentaje de maduración por la presencia del primer cuerpo polar fue significativamente menor que por la presencia de la metafase II ($p < 0,05$). Finalmente, al realizar conjuntamente la evaluación de la calidad del ovocito inmaduro (vitalidad y estadio nuclear) y la evaluación de la maduración meiótica, no se observaron diferencias significativas entre los porcentajes de ovocitos en metafase II y los porcentajes de ovocitos inmaduros vivos en estadio de vesícula germinal en las clases A y B, indicando que en estas clases los parámetros están asociados. Sin embargo esta asociación no se observa en las clases C y D ($p < 0,05$).

Conclusiones: El grado de expansión del cumulus no presenta relación con la capacidad de maduración nuclear del ovocito, sin embargo la maduración citoplasmática debería ser evaluada a fin de completar el estudio de las diferencias funcionales entre los distintos comportamientos del cumulus durante la maduración in vitro. La asociación estadística observada entre la presencia del primer cuerpo polar y la maduración meiótica indicaría que el primer cuerpo polar está presente cuando se produce una adecuada maduración nuclear. Sin embargo una gran proporción de los ovocitos que alcanzaron la metafase II no presentaban cuerpo polar, pudiendo esto deberse a la degeneración del mismo transcurrido cierto tiempo de cultivo in vitro en esta especie. El mayor porcentaje de ovocitos con cuerpo polar en las clases C y B2, sugiere que el progreso de la meiosis estaría retrasado en el tiempo en estas clases. Los COCs de las clases A y B serían los más aptos para madurar meióticamente debido a que presentan un alto número de ovocitos inmaduros vivos en estadio de vesícula germinal. Por lo tanto, de los parámetros propuestos para evaluar la maduración de ovocitos porcinos in vitro la maduración meiótica parece ser el más adecuado, el cual estaría asociado a la calidad del ovocito inmaduro.

**ENFERMEDADES MÉDICO COMPORTAMENTALES Y PATOLOGÍA CLÍNICA EN
PACIENTES POLIMEDICADOS CON PSICOFÁRMACOS
(PRESENTACIÓN PRELIMINAR)**

MENTZEL, R.*; MAUBECIN, E.; JUÁREZ, M.

Hospital Escuela de Medicina Veterinaria y Área de Patología Clínica y Enfermedades
Médicas, Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA
rmentzel@fvet.uba.ar

Introducción: En la medida en que se definen claramente las enfermedades comportamentales en animales domésticos y se identifican sus mecanismos fisiopatológicos se torna más evidente la posibilidad de lograr beneficios con la administración de psicofármacos, para lo cual es primordial poder establecer diagnósticos específicos, descartar enfermedades físicas asociadas que podrían verse agravadas por los efectos colaterales de los principios activos y monitorear las funciones normales de hígado, riñón y médula ósea. En casos de trastornos severos o varias alteraciones de conducta comórbidas, la falta de fármacos que actúen sobre todos los mecanismos involucrados, obliga a implementar combinaciones medicamentosas. Para los tratamientos con monodrogas en adultos sanos se indica una evaluación clínica y de laboratorio cada 12 o 18 meses y cada 3 a 6 meses en gerontes. Sin embargo para los pacientes tratados con más de un medicamento de acción central, la información bibliográfica existente en medicina veterinaria sobre los efectos colaterales es prácticamente nula.

Objetivos: Descartando la presencia de alteraciones físicas en pacientes con patologías comportamentales severas, diagnosticadas según los criterios clínicos actuales, avalar la utilización de combinaciones psicotrópicas por tiempo prolongados, evaluando los parámetros hematológicos y bioquímicos de rutina.

Materiales y métodos: Se evaluaron 5 pacientes caninos del Hospital Escuela de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA (tabla N° 1). Una vez diagnosticada la enfermedad comportamental se realizó un análisis clínico de rutina previo al inicio de la administración de los fármacos (día 0 de tratamiento), confirmando la ausencia de patología física asociada (tabla N° 2). Los diagnósticos médicos comportamentales (o zopsiquiátricos) se fundaron en los criterios clínicos de necesidad y suficiencia (Overall, K. L. 1997) y o de características principales y secundarias (Pageat, P. 1998). Los protocolos psicofarmacológicos fueron en todos los casos por vía oral e incluyeron antidepresivos tricíclicos (clomipramina) e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (fluoxetina), ansiolíticos específicos (diazepam y clorazepato) e inespecíficos (buspirona), anticonvulsivantes barbitúricos (fenobarbital) y timorreguladores (carbamazepina), y hormonales progestágenos (megestrol). A los 3 meses de medicación continua (día 90 de tratamiento) se repitieron los análisis de laboratorio con igual técnica y equipamiento.

Resultados: Los cuadros fenomenológicos (Overall, K. L. 1997), las entidades nosológicas (Pageat, P. 1998) y las distintas combinaciones medicamentosas utilizadas se presentan en la

tabla N° 1. Los resultados hematológicos y de bioquímica sérica al día 90 de tratamiento no mostraron alteraciones (tabla N° 3).

Tabla N° 1: Reseña, diagnósticos y psicofármacos en cada paciente

| HISTORIA CLÍNICA N° | RESEÑA CANINOS | DIAGNÓSTICO FENOMENOLÓGICO | DIAGNÓSTICO NOSOLÓGICO | COMBINACIÓN PSICOFARMACOLÓGICA |
|---------------------|----------------------------|--|--|--|
| 1082 | Pekines, macho, 2 1/2 años | Agresión dominante e irritativa. Marcación. Ansiedad | Sociopatía estadio 2 | Fluoxetina 1 mg/kg/24 hs Megestrol 2 mg/kg/24 hs decreciente cada 3 semanas |
| 4899 | Pointer, macho, 2 años | Agresión dominante, irritativa, protectora y por miedo. Hiperactividad. Monta. Fobia a ruidos | Síndrome de hipersensibilidad hiperactividad Fobia simple | Fluoxetina 1 mg/kg/24 hs Megestrol 2 mg/kg/24 hs decreciente cada 3 semanas |
| 9018 | Mestizo, hembra, 3 años | Agresión dominante, irritativa, territorial y predatoria. Ansiedad. Fobia a ruidos | Sociopatía e stadio 1 Fobia simple | Buspirona 1 mg/kg/8 hs Carbamazepina 5 mg/kg/12 hs Clorazepato 0,2 mg/kg/24 hs |
| 7286 | Pincher, macho, 1 año | Agresión dominante, irritativa y territorial. Marcación. Ansiedad. Eliminación inadecuada | Sociopatía estadio 2 | Clomipramina 1 mg/kg/12 hs Carbamazepina 5 mg/kg/12 hs Megestrol 2 mg/kg/24 hs decreciente cada 3 semanas |
| 1449 | Mestizo, macho, 11 años | Agresión irritativa, territorial y por miedo. Eliminación inadecuada. Ansiedad. Fobia a ruidos | Síndrome de privación sensorial estadio 2 | Clomipramina 1 mg/kg/12 hs Clorazepato 0,2 mg/kg/24 hs |

Tabla N° 2: Datos de laboratorio en el día 0 de tratamiento para cada paciente

| HISTORIA CLÍNICA N° | LABORATORIO DÍA 0 | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|-------------------|--------|------|------|-----|-----|-----|-------------------|------------|-----------|---------|----------|----------|----------|---------|--|
| | HEMATOLOGÍA | | | | | | | BIOQUÍMICA SÉRICA | | | | | | | | |
| | Hto % | GB /ml | Ns % | Nb % | L % | M % | E % | Urea g/dl | Creat g/dl | Gluc g/dl | PT g/dl | Alb g/dl | ALT UI/l | AST UI/l | FA UI/l | |
| 1082 | 40 | 14600 | 43 | 1 | 9 | 3 | 44 | 29 | 1,06 | 90 | 5,8 | 2,8 | 7 | 7 | 83 | |
| 4899 | 49 | 7300 | 59 | 2 | 34 | 3 | 2 | 25 | 0,90 | 87 | 5,9 | 2,8 | 12 | 24 | 36 | |
| 9018 | 45 | 11500 | 62 | 0 | 30 | 3 | 5 | 45 | 1,10 | 95 | 6,7 | 3,4 | 10 | 10 | 65 | |
| 7286 | 46 | 11000 | 81 | 3 | 12 | 4 | 0 | 50 | 0,95 | 93 | 6,4 | 3,1 | 12 | 9 | 20 | |
| 1449 | 51 | 9800 | 70 | 1 | 23 | 4 | 2 | 33 | 1,00 | 99 | 6,3 | 3,2 | 18 | 12 | 90 | |

Tabla N° 3: Datos de laboratorio en el día 90 de tratamiento para cada paciente

| HISTORIA CLÍNICA N° | LABORATORIO DÍA 0 | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|-------------------|-----------|---------|---------|--------|--------|--------|-------------------|---------------|--------------|------------|-------------|-------------|-------------|------------|
| | HEMATOLOGÍA | | | | | | | BIOQUÍMICA SÉRICA | | | | | | | |
| | Hto % | GB /ml | Ns % | Nb % | L % | M % | E % | Urea g/dl | Creat g/dl | Gluc g/dl | PT g/dl | Alb g/dl | ALT UI/l | AST UI/l | FA UI/l |
| 1082 | 56 | 16500 | 78 | 0 | 11 | 4 | 7 | 33 | 1,10 | 87 | 6,9 | 3,6 | 16 | 21 | 57 |
| 4899 | 45 | 8100 | 60 | 2 | 32 | 4 | 2 | 19 | 1,09 | 85 | 6,0 | 3,1 | 39 | 27 | 45 |
| 9018 | 43 | 10400 | 66 | 1 | 24 | 1 | 8 | 43 | 1,33 | 104 | 6,8 | 3,4 | 23 | 26 | 109 |
| 7286 | 39 | 10000 | 74 | 0 | 22 | 4 | 0 | 39 | 0,44 | 89 | 6,6 | 3,6 | 48 | 37 | 129 |
| 1449 | 52 | 10300 | 86 | 0 | 7 | 4 | 3 | 24 | 1,10 | 78 | 7,0 | 2,9 | 71 | 44 | 137 |

Conclusiones: En los pocos pacientes evaluados hasta el momento no se encontraron alteraciones clínicas ni de laboratorio durante 3 meses de tratamiento continuo. Por lo tanto se considera de gran importancia poder monitorear un mayor número de pacientes polimedicados con psicofármacos, para poder generalizar las conclusiones.

Bibliografía

- Dodman, N. H.; Shuster, L.: Pharmacotherapy of behavior. Vet. Med., 89: 10, 960-969, 1994.
 Mentzel, R. E.: El examen clínico etológico de caninos y felinos. Rev. Med. Vet. 82: 2, 100-107, 2001.
 Overall, K. L.: Clinical Behavioral Medicine Small Animals. St. Louis, Mosby, 1997.
 Pageat, P.: Pathologie du Comportement du chien. Maisons-Alfort, Point Vétérinaire, 1998.

EVALUACIÓN DERMATOLÓGICA DE LA ENFERMEDAD DE CUSHING EN PERROS BAJO TRATAMIENTO CON ÁCIDO RETINOICO VS KETOCONAZOL

Loiza M.*; Castillo, V., Duchene, A; Ortemberg, L.; Lalia, J.; Martiarena B.;
Del Prado, A.; Chiapeto, D.; Tonelli, E.

Hospital Escuela de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. U.B.A.
Chorroarín 280. Ciudad Autónoma de Bs. As. Argentina.

E-mail: monicaloiza@fibertel.com.ar

Introducción: se ha descrito que el ácido retinoico (AR) a través de sus receptores nucleares RXR y RAR, interviene en los procesos de diferenciación celular (1). Paez-Pereda y col. (2) describieron los efectos de AR en la prevención del desarrollo del adenoma secretante de ACTH o corticotropinoma causante de la Enfermedad de Cushing (EC) ACTH dependiente, tanto in vivo (ratones nude) como in vitro (células AtT20). En base a estas observaciones se estudia si el AR controla en perros la EC, siendo una expresión de esta enfermedad las alteraciones dermatológicas.

Objetivos: Evaluar la respuesta dermatológica en los perros bajo tratamiento con ácido retinoico vs Ketoconazol (Ktz), analizando si los cambios son por efecto del control de la EC y/o por acción directa del AR en la piel.

Materiales y métodos:

Población de estudio: 10 perros, 7 hembras, 3 machos, edad 8 años (4 - 12 años), 5 fueron mestizos, 3 Caniches, 1 Daschund y 1 Bichon Frisse con diagnóstico clínico presuntivo de Cushing, el que se confirma mediante el estudio de Relación Cortisol/Creatinina urinaria (valores patológicos > 65). El diagnóstico de EC (ACTH dependiente) fue realizado por dosaje de ACTH plasmática (método IRMA, ACTH 1-39), estando elevada en relación a los niveles de cortisol urinario. La confirmación del corticotropinoma se hizo con resonancia magnética nuclear (con y sin contraste) de la región sellar (hipotálamo - hipófisis - silla turca).

Los perros analizados dermatológicamente se obtuvieron al azar de dos grupos conformados previamente los cuales recibían AR (isotretinoína) o Ktz: 1) grupo control (n=4), tratados con Ktz por razones éticas y 2) grupo AR (n=6). Ambos grupos recibieron las respectivas drogas durante 6 meses.

Pre y postratamiento se evaluó en ambos grupos:

1) Aspecto físico de la piel y anexos: se observó la elasticidad y grosor, presencia o ausencia de seborrea y el manto piloso.

2) Aspecto histológico de la piel: se obtuvieron muestras en la región lateral del tórax por "punch" para biopsia y remisión a histopatología. Las muestras fueron fijadas en formol al 10% y teñidas con hematoxilina-eosina, PAS (ácido peryódico de Schiff) y Tricrómica de Masson.

3) Análisis estadístico: tabla de contingencia X² y test exacto de Fisher entre ambos grupos, con nivel de significación p<0,05.

Resultados: Aspecto físico de la piel: al inicio del tratamiento los pacientes mostraban piel fina, falta de elasticidad cutánea, seborrea y algunos alopecia en distintos grados. Postratamiento se evidenció una mejor respuesta en la elasticidad de la piel, brillo del pelo, recuperación del pelaje, disminución de la seborrea en ambos grupos no habiendo diferencias significativas entre ambos.

Estudio histológico de la piel: las biopsias mostraron hiperqueratosis ortoqueratósica superficial e infundibular; epidermis adelgazada, con dos capas de células epiteliales; dermis también adelgazada, con folículos pilosos incluidos en tejido adiposo subcutáneo pretratamiento. El músculo erector del pelo y glándulas anexas no evidenciaron alteraciones ni había calcificaciones distróficas.

Postratamiento se observó menor grado de seborrea (evaluado por la cantidad de capas de las mismas y el grado comparativo de dilatación infundibular) en el grupo tratado con AR vs Ktz ($p = 0,047$, OR: 0,03), en este último grupo no se evidenciaron cambios. Ambos grupos de animales presentaron aumento en el grosor de la dermis, no habiendo diferencias significativas entre ambos.

Conclusión: Los cambios evidenciaron en la piel en ambos grupos son debidos al control del hipercortisolismo característico de la EC. En el caso del grupo AR, la isotretinoína fue responsable del control secretorio de la ACTH, tal como lo describen Páez-Pereda y col. en los ratones (2), ya que los efectos del retinoide utilizado son más evidentes sobre los anexos cutáneos (3,5). Por otra parte, la mejoría de la piel debida al Ktz es por su efecto inhibidor de la esteroideogénesis (4). Con los resultados parciales obtenidos se puede inferir que con la isotretinoína al controlar la enfermedad de base, se logra revertir indirectamente sus efectos adversos en la piel, teniendo ventajas respecto al Ktz como queda evidenciado por el menor grado de seborrea en el grupo AR. Es necesario evaluar un mayor número de casos para poder arribar a conclusiones definitivas, en particular lo referente al grosor de la dermis.

Bibliografía:

1. Merino, R; Hurlé, JM. The molecular basis of retinoid action in tumors. Trends Mol Med 12: 508-511. 2003.
2. Páez-Pareda, M; Kovalovsky, D; Hopfner, U; Theodoropoulou, M; Pagotto, U; Uhl, E; Losa, M; Stalla, J; Grübler, Y; Missale, C; Arzt, E; Stalla, G. Retinoic acid prevents experimental Cushing syndrome. The J Clin Invest 108:1123-1131; 2001.
3. Fifth World Congress of Veterinary Dermatology, Viena, 25-28 Agosto 2004. Clinical Programme Proceedings. Kwochka, K. W.: Scales, crusts and seborrhoea. P.: 148-156.
4. Feldman, E. Hiperadrenocorticism. En Ettinger, S y Feldman, E (eds) Tratado de Medicina Interna Veterinaria, 4ª ed catellano, Ed Inter-Médica, cap 118: 1861- 1863; 1997.
5. Scott, D. W., Miller, W. H., Griffin, C. E. ; Muller and Kirk`s Dermatología en Pequeños Animales, 6ª Edición, Inter.-Médica, cap:14: 1071-1072; 2002.

Proyecto subsidiado por UBACyT (V045)

SÍNDROME UVEODERMATOLÓGICO EN UN CANINO RAZA SAN BERNARDO

DEL PRADO, A; BLANCO, A*; CHIAPETTO, D; WOLBERG, A.; ZYSMAN, M**

*Área de Clínica Médica de Pequeños Animales.

**Área de Terapia para el dolor. Facultad de Ciencias Veterinarias. U.B.A.

Chorroarin 280 (cp.1427) Buenos Aires, Argentina.

Correo electrónico: drblanco@ciudad.com.ar

Introducción y objetivo: descripción de un caso clínico de presentación y evolución poco frecuente en la clínica diaria.

El Síndrome Uveodermatológico (similar al de Vogt-Koyanagi-Harada de los humanos) es una enfermedad inmunomediada en donde los melanocitos son las células blanco, con destrucción de los mismos en la dermis y en la tracto uveal.

Los signos oftalmológicos suelen ser los primeros en manifestarse como una uveítis anterior o como una panuveítis que involucra el segmento posterior con desprendimientos bulbosos de retina que generalmente llevan a la pérdida de visión permanente o al glaucoma secundario y cataratas. En la piel aparecen zonas depigmentadas y ulcerativas, en la cara, escroto y almohadillas plantares. Es una enfermedad recidivante.

Afecta generalmente a razas del círculo polar Ártico (Akita, Siberian Husky Samoyedo). Los autores hasta ahora no la habían diagnosticado en el San Bernardo.

Materiales y Método: se presentó a consulta un canino macho de 1,5 años de edad, raza San Bernardo, con pérdida súbita de la visión (48hrs). Surge de la anamnesis que el paciente padeció Entropión desde los 7 meses de edad, no habiendo tenido úlceras corneales pero sí presencia de secreciones espesas.

En el momento de la consulta presentaba blefaroespasma y entropión severo, edema corneal generalizado severo y secreciones mucopurulentas.

Para la revisión se le colocó anestesia tópica (para aliviar el blefaroespasma) y se realizó la prueba de Fluoresceína: negativa en ambos ojos. Las pupilas estaban mióticas y las presiones intraoculares (PIO) disminuidas. Las Pruebas de amenaza fueron negativas con lo que se diagnosticó un cuadro de uveítis sin úlceras corneales. Como tratamiento se indicó Sulfato de Atropina al 1% (colirio) 1 gota cada 5 min 5 veces, luego 1 gota c/8h durante 4 días y Tobramicina (col.) 1 gota c/4h hasta el control en 4 días.

En el control se observó una leve mejoría de los signos clínicos pero persistía la pérdida de la visión. Se reevaluó al paciente y se observó desprendimiento bilateral de retina, lesiones costrosas ulcerativas sobre los párpados inferiores, narinas y labios, depigmentación de narinas y labios y una lesión ulcerativa en el ano.

Estas lesiones en las uniones mucocutáneas asociadas a la uveítis bilateral con desprendimiento bilateral de retina orientaron hacia el diagnóstico presuntivo de un Síndrome Uveodermatológico. Se indicó toma de biopsia para su estudio histopatológico, las que se realizaron a partir de párpado inferior, labio y narinas.

Se indicaron análisis de laboratorio (bioquímica sanguínea y hemograma completo) previo

a la iniciación del tratamiento con corticoides sistémicos-Prednisolona via oral a la dosis de 1mg/Kg. cada 12h - y tópicos -Prednisolona, colirio, 1gota c/4h en ambos ojos-.

Resultados: El informe histopatológico confirmó el diagnóstico presuntivo, describiéndose una dermatitis de interfase compatible con el Síndrome Uveodermatológico.

En el control 4 días después del nuevo tratamiento se observó una notable mejoría del estado anímico del animal, recuperación de la visión del ojo izquierdo con la remisión de los signos de uveítis y del desprendimiento de retina. Además las lesiones dermatológicas ulcerativas comenzaron a reducirse. A los 10 días de tratamiento las lesiones dermatológicas, incluyendo la úlcera perianal estaban curadas y la visión siguió mejorando con la aparición de la Prueba de amenaza positiva, también en el ojo derecho, el cual presentaba un desprendimiento parcial de retina.

Se mantuvo el tratamiento durante 14 días con la misma dosis de Prednisolona, realizando controles hematológicos semanales, luego se disminuyó la dosis al 50% durante otros 10 días y se finalizó con terapia a días alternos durante 10 días más con resultados alentadores: la visión conservada en ambos ojos y las lesiones dermatológicas que se mantuvieron en remisión.

Conclusiones: La biopsia de las lesiones cutáneas fueron confirmatorias y la rápida instauración de un tratamiento adecuado resolvieron el cuadro clínico favorablemente, sin olvidar que es una enfermedad crónica y recidivante.

Bibliografía:

- 1-Gelatt, K. N.; Veterinary Ophthalmology. Third Edition - Lippincott, Williams &. 2000.
- 2-Slatter, D: Fundamental of Veterinary Ophthalmology. Second Edition 1990

DERMATOMIOSITIS Y/O VASCULITIS INMUNOMEDIADA: PRESENTACIÓN DE UN CASO CLÍNICO ATÍPICO EN UNA PERRA MESTIZA

LOIZA M.; TONELLI, E.; SURANITI, A.; ORTEMBERG, L.; DUCHENE, A.
Hospital Escuela de Medicina Veterinaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. U.B.A.
Chorroarín 280. Ciudad Autónoma de Bs. As. Argentina.
E-mail: monicaloiza@fibertel.com.ar

Objetivos: Comunicar una dermatopatía que se asemeja clínicamente a la Dermatomiositis que se presenta en los perros de raza Collie y Pastores de Shetland, en un animal mestizo.

Las lesiones cutáneas incluyen: alopecia y lesiones costrosas en prominencias óseas y distal de las extremidades. También afecta los pabellones auriculares con lesiones costrosas y ulcerativas en su cara interna.

Materiales y métodos: Se presentó a la consulta un canino hembra, mestizo de siete años de edad, con alopecia y costras sobre la cabeza, lateral de las escápulas y dorsal de los dedos. En cara interna de los pabellones auriculares se observaban lesiones costrosas y ulcerativas, de varios meses de evolución. No presentaba prurito.

La atrofia en ambos músculos temporales era muy evidente.

En el examen objetivo general no presentó alteraciones significativas (ni signos clínicos compatibles con alteraciones digestivas).

En una primer etapa se realizaron los siguientes métodos complementarios: hemograma, bioquímica sanguínea, análisis de orina, hormonas tiroideas (T4, T4L, TSH), diagnóstico serológico de Toxoplasmosis, células LE y Neospora.

En cuanto a las lesiones dermatológicas se realizaron raspajes cutáneos para descartar Demodexia. Se trató con Cefalexina por 15 días por presentar piodermia, al término de los cuales se tomaron muestras para biopsia cutánea.

Segunda etapa (10 meses después) y como consecuencia de la aparición de regurgitación: se solicitaron hemograma, bioquímica sanguínea, electromiografía y radiografía simple latero-lateral de cuello y tórax.

Resultados: Los raspajes cutáneos fueron negativos.

El hemograma mostró linfopenia. La bioquímica sanguínea y el análisis de orina fueron normales. El diagnóstico serológico para Toxoplasmosis (aglutinación directa e inmunofluorescencia indirecta) y Neospora estaban dentro de los valores normales.

El estudio de Células LE fué negativo.

Las hormonas tiroideas estaban dentro de los parámetros normales. En la biopsia cutánea correspondiente a zonas con alopecia, se observó hiperqueratosis ortoqueratósica (Seborrea Seca), con fibrosis dérmica, indicativo de cronicidad. En pabellones auriculares se evidencia una lesión inflamatoria perivascular, con alto número de linfocitos, plasmocitos y mastocitos, epidermis adelgazada con pequeñas bullas subepiteliales. Ausencia de microorganismos. El diagnóstico sugiere la presencia de enfermedad de índole inmunológico (signos compatibles con Dermatomiositis y/o Vasculitis inmunomediada).

Se indicó el tratamiento con prednisolona a dosis de 1mg /kg /día por 15 días y luego se redujo a día por medio, combinándola con pentoxifilina (10mg/kg cada 12 hs).

El paciente se mantuvo estable con mínima medicación por diez meses, luego de los cuales acudió a la consulta por presentar tos y signos de regurgitación (de una semana de evolución). La radiografía simple L-L de cuello y tórax evidenció la presencia de megaesófago generalizado.

El hemograma y la bioquímica sanguínea eran normales con la excepción de la CK la cuál se mostraba notablemente aumentada (UI/l: 572).

En la electromiografía de músculos temporales y tibiales se observaron potenciales fibrilatorios y fasciculaciones que sugieren denervación.

Conclusión: Se describe una dermatopatía en una perra mestiza la cual se asemeja a la Dermatomiositis que se presenta en los perros de raza Collie y Pastores de Shetland, tanto en sus manifestaciones clínicas, como en su forma de evolución y hallazgos histopatológicos (1,2).

Estando ante una patología polisistémica con signos dermatológicos, atrofia muscular y megaesófago, se deberá considerar como diagnóstico diferencial más importante al Lupus eritematoso sistémico (3) y también otras patologías como Toxoplasmosis, Neosporosis e Hipotiroidismo, siendo de gran ayuda para esto el empleo de los métodos complementarios antes nombrados y la biopsia cutánea.

Bibliografía:

1. Scott, D. W., Miller, W. H., Griffin, C. E. ; Muller and Kirk`s Dermatología en Pequeños Animales, 6° Edición, Inter-médica, cap.9:779-792; cap.12:982-988. -2002.
2. Fergusson, E.A., Cerundolo, D. H., Lloyd, D. H., Rest, J., Capello, R., The Veterinary Record- "Dermatomyositis in five Shetland sheepdogs in the United Kingdom", pag 214-217, febrero 2000.
3. Parker, W., Foster, R; Veterinary Dermatology- "Cutaneous vasculitis in five Jack Russell Terriers", 7: pag:109-115, 1996.

REPORTE DE UN CASO DE DIOCTOPHYMA RENALE EN TEJIDO MAMARIO DE UN CANINO HEMBRA

HALL P.¹, *CORRAL F.¹, LATTANZIOL.¹, ONTIVEROS L.¹, CARDILLO N.²

(1) Servicio de Cirugía del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.B.A. (2) Cátedra de Parasitología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.B.A.
panchocorral@hotmail.com

Objetivo: El objetivo del presente trabajo es describir la presencia de un parásito nematode, el *Dioctophyma renale* en una localización aberrante.

La dioctofimosis es una enfermedad causada por el *Dioctophyma renale* que generalmente afecta a caninos y a otros carnívoros silvestres.

Esta enfermedad presenta alta prevalencia en algunas zonas de nuestro país, siendo la ribera de Quilmes una de ellas.

Habitualmente los parásitos se localizan en el riñón derecho, aunque también pueden parasitar el riñón izquierdo. A su vez existen otras localizaciones tales como cavidad abdominal, tejido subcutáneo inguinal, escroto y cavidad pleural.

Al ser parásitos histiófagos se produce la destrucción del parénquima renal y la consecuente hidronefrosis. En ciertas ocasiones la enfermedad cursa de forma asintomática debido a que el riñón no afectado compensa la función renal.

En el caso de presentarse signos clínicos, éstos pueden ser dolor renal, hematuria y disuria.

El método complementario de elección para la detección de la enfermedad es el urianálisis y sedimento urinario, siendo también de utilidad la ecografía abdominal.

El tratamiento de la enfermedad es quirúrgico, realizando la nefrectomía del riñón afectado, exploración del abdomen para la extracción de los parásitos libres en el mismo y la remoción quirúrgica de los que se ubiquen en otras localizaciones.

Materiales y métodos: Se presenta a consulta en el Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.B.A. para control clínico y por tumoraciones mamarias, un canino hembra no castrado mestizo de doberman de 27 kilos de peso. La misma había sido encontrada por el propietario hacía un mes en la zona de Quilmes.

Se realizó un examen físico de rutina y métodos complementarios tales como: radiografías de tórax, control cardiológico, electrocardiograma, ecocardiograma, ecografía abdominal, análisis de sangre y urianálisis.

En el examen objetivo general se encontró : estado general regular, sensorio alerta, mucosas rosadas, tiempo de llenado capilar de un segundo, hidratación normal, linfonódulos normales exceptuando ambos poplíteos aumentados de tamaño, auscultación pulmonar sin particularidades, auscultación cardíaca soplo 2/6, foco mitral, pulso fuerte y sincrónico.

En el examen objetivo particular se observó una masa de 10 cm de diámetro en la zona axilar izquierda, múltiples tumores mamarios y un tumor no hemorrágico y de bordes lisos en el techo de la vagina.

Las radiografías de tórax revelaron cardiomegalia leve generalizada con predominio derecho sin signos de descompensación.

En la ecografía abdominal se encontró el riñón izquierdo disminuido de tamaño, con poca definición corticomedular que sugirió nefroesclerosis, bazo heterogéneo con tamaño conservado, cuerpo uterino levemente engrosado de 1,3cm de diámetro y un quiste de 0,6cm de diámetro en ovario izquierdo sugerente de cuerpo lúteo.

El urianálisis en su sedimento demostró glóbulos blancos ++, bacterias +, células descamativas ++, células vesicales superficiales +.

Tanto el electrocardiograma como el ecocardiograma resultaron normales.

El análisis de sangre se presentó sin alteraciones excepto la F.A.S. : 314 UI/L, el hematocrito :35% y los leucocitos: 20.000/mm³. En su fórmula apareció leucocitosis con neutrofilia y desvío a la izquierda regenerativo. Anemia normocrómica.

El tratamiento quirúrgico consistió en una ovariectomía y mastectomía regional.

Se realizó una anestesia general inhalatoria con halotano.

La ovariectomía fue realizada sin complicaciones mediante una celiotomía preumbilico prepúbica y no se observaron anomalías en la exploración rutinaria del abdomen.

Durante la mastectomía, en la disección roma instrumental de la zona caudal de la 5ta. mama derecha se encontró una porción de un parásito redondo de color rojizo que se extrajo de la misma traccionando suavemente. El parásito se encontraba localizado en el tejido mamario o perimamario y su longitud era de unos 40 cm. aproximadamente. Estudios posteriores realizados en la Cátedra de Parasitología de la F.C.V. de la U.B.A. confirmaron que era un *Dioctophyma renale*.

Ambos anillos inguinales se encontraban dilatados, por lo cual se realizó una sutura con puntos simples para disminuir su tamaño.

La hispatología de los tumores mamarios informó Cistoadenoma papilar y Adenocarcinoma compuesto.

El urianálisis posquirúrgico en su sedimento no reveló huevos de *Dioctophyma renale*.

El posoperatorio no presentó complicaciones en la cicatrización de la herida quirúrgica, el animal evoluciona favorablemente sin signos clínicos de la parasitosis y se encuentra bajo tratamiento quimioterápico adyuvante por sus tumores mamarios.

Discusión: Las apariciones erráticas de este parásito son relativamente comunes pero en este caso particular la presentación fue inesperada por la no detección de la parasitosis por los métodos complementarios habituales.

Tampoco se logró determinar si existe alguna relación entre la aparición del tumor y la presencia del parásito que pudo haber ocasionado una inflamación crónica en la zona.

Bibliografía

- Saumell, C.A.; Fusé, L.A.; San Romé, C.A.: "Un caso de *Dioctophyma renale* en glándula mamaria de perra". Revista de medicina veterinaria, 71, (4), 162-164, 1990.
- Ortega, C.F.: "*Dioctofimosis* canina: descripción de un caso clínico". Analecta Veterinaria, Vol 1, Numero 1, 45- 48, 1969.

EFFECTO DE LA DEXAMETASONA SOBRE APOPTOSIS EN TUMOR VENÉREO TRANSMISIBLE CANINO

NÚÑEZ G.; CEPEDAR; FLORES E*; GONZÁLEZ C.; CATTANEO G.

Facultad de Ciencia Veterinarias, Universidad De Chile
Santa Rosa 11735. eflores@uchile.cl

El cáncer es una enfermedad celular, caracterizada por una alteración de la proliferación celular y de los mecanismos de apoptosis, con supervivencia de las células neoplásicas, debido a las anormalidades génicas. La inducción de la actividad apoptótica en las células alteradas sería una forma de actuar sobre esta compleja patología, con un cierto grado de selectividad, al no afectar las células normales.

La Apoptosis o muerte celular programada, es una forma específica de muerte celular, en la cual células individuales son llevadas a experimentar autodestrucción en forma tal que no dañan a las células vecinas, desempeñando un rol crítico en una amplia variedad de procesos fisiológicos durante el desarrollo fetal y en tejidos adultos.

Objetivos: Estudiar el efecto de la dexametasona sobre la inducción de apoptosis.

Materiales: Se utilizaron siete perros, machos, sexualmente maduros, que presentaban Tumor venéreo transmisible (TVT) espontáneo, de ubicación genital. Se administró dexametasona, en dosis de 0,5 mg/kg 7 días; continuando con dosis decrecientes durante los siguientes 7 días. Se tomó biopsias previo, durante y posterior al tratamiento (día 0, 7, 17).

Métodos: de las biopsias se extrajeron muestras histológicas, que fueron teñidas con Hematoxilina eosina y Van Gieson, para la descripción histopatológica del tumor. Estas muestras histológicas fueron teñidas mediante técnica inmunohistoquímica de TUNEL (terminal deoxytransferase-mediated dUTP nick-end labeling) para evidenciar el comportamiento apoptótico del tumor. Se realizó un recuento del área positiva a la inmunomarcación, mediante un análisis morfométrico (Image Pro - Plus, Media Cybernetics, USA). Se hizo recuentos diferenciales de las células inmunomarcadas para apoptosis. Se observó vascularidad y presencia de mitosis.

Resultados:

TABLA 1. Evaluación cualitativa de diferentes células y tejidos, en cortes histológicos en los días 0, 7 y 17 de terapia.

| | Día 0 | Día 7 | Día 17 |
|---------------------|-------|----------|----------|
| Células tumorales | ++++ | ++++/+++ | +++/++++ |
| Matriz extracelular | + | + | ++ |
| Vasos sanguíneos | ++++ | +++ | ++ |
| Leucocitos | + | +++ | + |
| Figuras mitóticas | ++ | 0 | 0 |
| Células apoptóticas | 0 | + | ++ |

Al progresar los días de tratamiento se observó en proporción un aumento de la visualización de células en apoptosis, una disminución los vasos sanguíneos, y un aumento altamente significativo del área positiva a inmunomarcación para apoptosis. Al recuento diferencial, las células tumorales fueron las que en mayor proporción fueron positivas para apoptosis, en los diferentes días de muestreo.

Conclusiones: Al administrar la dexametasona se induce un aumento progresivo de la apoptosis independiente del tipo celular, pero afectando mayoritariamente a las células neoplásicas.

La Dexametasona debería ser utilizada como complemento a otras modalidades terapéuticas, ya que a pesar de producir un aumento de la actividad apoptótica, no se produjo una disminución significativa del tamaño tumoral en el presente ensayo.

El Kit Apoptag , es un método objetivo y específico, que permite la detección temprana de apoptosis en células que aún no han manifestado cambios morfológicos característicos de este proceso. Asociado al análisis morfométrico computacional, constituye una metodología fácil, rápida y confiable para detectar apoptosis celular.

FINANCIADO POR PROYECTO FONDECYT 1020980

Bibliografía

- 1-FLORES, E.; DIEZ, X.; URCELAY, S.; CATTANEO, G. 1989. Tumores en perros diagnosticados en el período 1981 - 1985 en la Región Metropolitana de Chile. Informe preliminar. Patología animal. 3 (2): 8 - 12.
- 2-GAVRIELI, Y.; SHERMAN, Y.; BEN-SASSON, S.A. 1992. Identification of Programmed Cell Death In Situ via Specific Labeling of Nuclear DNA Fragmentation. J. Cell. Biol. 119 (3): 493 - 501.
- 3-GONZALEZ, C.; GRIFFEY, S.; NAYDAN, D.; FLORES, E.; CEPEDA, R.; CATTANEO, G.; MADEWELL, B. 2000. Canine transmissible venereal tumour: a morphological and immunohistochemical study of 11 tumours in growth phase and during regresion after chemotherapy. J. Comp. Path. 122: 241 -248.
- 4-MARCHETTI, M.; DI MARCO, B.; CIFONE, G.; MIGLIORATI, G.; RICCARDI, C. 2003. Dexamethasone - induce Apoptosis of Thymocytes: Role of Glucocorticoides Receptor-Associated Src Kinase and Caspase-8 activation. Blood101(2): 585 - 593.

**ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL EN EL PERRO, REPORTE DE 21 CASOS
(2002 - 2005). INFORME PRELIMINAR**

ORTEMBERGL, FEIJOÓ S, DUCHENNEA.

Hospital Escuela Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Buenos Aires
Chorroarín 280 Ciudad de Buenos Aires Argentina. Leonardoortemberg@yahoo.com.ar.

Objetivos: La enfermedad inflamatoria intestinal define a un grupo de trastornos crónicos que provocan la acumulación de células inflamatorias en la mucosa y submucosa del estómago, intestino delgado, intestino grueso o una combinación de los mismos. Se clasifican según el infiltrado de células inflamatorias que predominan en los hallazgos histopatológicos y en la localización del canal alimentario involucrado. Afecta a caninos de cualquier raza y sexo, con mayor incidencia en adultos jóvenes, la etiología exacta se desconoce y es una causa muy frecuente de vómitos y diarreas crónicas en los perros.

El diagnóstico de esta entidad es esquivo ya que los signos clínicos son inespecíficos, constantes o episódicos y con escasa o nula respuesta a los cambios dietéticos empíricos o tratamientos sintomáticos los cuales solo permiten la persistencia de los signos y generan confusión y frustración en el profesional que los utiliza y el propietario del paciente. El método para confirmar la enfermedad es el estudio histopatológico de la mucosa y submucosa del sector o sectores del canal alimentario involucrados. En este trabajo se describen los hallazgos clínicos complementarios, endoscópicos, histopatológicos y evolutivos de 21 casos de la enfermedad evaluados en el Servicio de Gastroenterología del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA(2002 - 2005).

Materiales y métodos: Se evaluaron clínicamente 21 perros con signos crónicos de vómitos y/o diarrea de intestino delgado y/o grueso. A todos se les realizaron estudios complementarios:

Hemograma completo, Bioquímica sanguínea (Urea, Creatinina, Proteínas Totales, Albúmina, Aspartatoamino transferasa (AST), Alaninaminotransferasa (ALT), Fosfatasa alcalina sérica (FAS), Urianálisis. Análisis coproparasitológico

En todos los casos se efectuaron estudios ecográficos.

Los pacientes se desparasitaron con Fenbendazol y Praziquantel a dosis habituales y se realizaron endoscopías de estómago, intestino delgado y colon en todos los pacientes, se tomaron muestras de biopsia (5 a 6) de cada sector y se efectuó el correspondiente estudio histopatológico de las mismas (Hematoxilina-Eosina). Cuando se observó involucrado el estómago y/o intestino delgado la terapéutica se basó en una dieta a base de hidrolizados de proteínas de soja y prednisona 2 mg/12 h oral con un descenso paulatino hasta dosis de mantenimiento. En los casos de colitis se indicó Sulfasalazina en dosis de 20 mg/kg /12 h oral.

Resultados: De los 21 perros afectados 16 fueron machos (76%) y 5 hembras (24%), la edad promedio de los pacientes fue de 5 años con extremos entre 1,5 y 13 años. Las razas puras correspondieron a 18/21 casos (86%), indefinidos 3/21 casos (14%). En los estudios de hemograma no se detectaron cambios, la bioquímica sanguínea detectó en un caso de enteritis perdedora de proteínas (EPP) la disminución de la albúmina y las proteínas totales. Los análisis

coproparasitológicos fueron invariablemente negativos. La endoscopia demostró cambios en la mucosa en 20 de los 21 casos (95%). En 7/21 casos (33%) la afección involucró el colon, en 3/21 (14%) intestino delgado, en 3/21 (14%) el estómago y en 8/21 (39 %) la enfermedad afectó 2 o más sectores en forma simultánea. En la histopatología el infiltrado linfoplasmocitario se presentó en 18/ 21 casos (86 %) y el eosinofílico en 3 casos (14%).

La EPP fue causada por un infiltrado linfoplasmocitario severo con daño mucoso y submucoso en el duodeno.

Conclusiones:

1- La evaluación clínica es inespecífica pero permite orientar sobre el sector del tubo digestivo involucrado.

2- Los machos tuvieron mucha mayor prevalencia que las hembras. A pesar de un promedio de edad de 5 años la enfermedad afectó desde muy jóvenes a perros gerontes. La gran mayoría de los afectados fueron perros de raza.

3- Los estudios complementarios de rutina (hemograma, bioquímica, radiología, ecografía urianálisis y AMF) fueron útiles en el diagnóstico diferencial, pero no en el etiológico.

4- En el 95% de los casos se observaron cambios en la endoscopia sin embargo estos no son patognomónicos

5- La evolución terapéutica de los casos fue de buena a muy buena en 19 de 21 casos y mala en 2, uno de ellos correspondió a una gastritis linfoplasmocitaria profunda de larga data y un mal estado general del paciente, el otro al caso de la enteritis perdedora de proteínas mencionada con anterioridad, la cual tiene siempre un pronóstico reservado a desfavorable.

Bibliografía:

- 1- Ettinger-Felman: Tratado de Medicina interna veterinaria. Vol 2 1997 Editorial Intermédica
- 2- Kira Bonagura: Terapéutica Veterinaria en Pequeños Animales XIII Edición 2001.
- 3- Nelson Couto: Medicina Interna de Animales Pequeños 3ª edición Vol 1 2005 Intermédica
- 4- Strmobeck's Smalll Aniumal Gastroenterology iii Edition 1996 Wb Saunders
- 5- Tams: Manual de Gastroenterología en Animales Pequeños. 2a Edición 2005 Intermédica

ASIMPLETECHNIQUE TO STUDY SPERM DNA FRAGMENTATION IN PIG SPERMATOZOA

ENCISO M*, FERNÁNDEZ JL, GOSÁLBEZA, GARCÍA P, GOSÁLVEZ J AND
LÓPEZ-FERNÁNDEZ C

Unidad de Genética, Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Madrid,
C/Darwin n 2, 28049 Madrid, Spain

* Corresponding author. Tel.: +34 914978209; fax: +34 914978344.

E-mail address: maria.enciso@uam.es (M. Enciso).

Recent studies indicate Sperm DNA Integrity (SDI) may be a new independent parameter of semen quality and a potential fertility predictor. Several techniques exist to analyse SDI. Nevertheless these techniques are either labour intensive, require the use of enzymes whose activity and accessibility to DNA breaks may be irregular, or require expensive instrumentation. Recently, a new procedure for the determination of DNA fragmentation has been developed for human sperm cells. This methodology gives rise to nucleoids with a central core and a peripheral halo of dispersed DNA loops. Sperm nuclei containing DNA fragmentation produce very small or an absence of halos of DNA dispersion, whereas those sperm with intact DNA release their DNA loops forming large halos. These results were confirmed by DNA Breakage Detection-Fluorescence In Situ Hybridization (DBD-FISH). Thus, DNA Fragmentation Index (DFI) can be accurately determined merely by examining the halo size.

The aim of the present investigation was to compare the efficiency of the SCD test when used in boar sperm samples, so DFI could be confidently performed in every basic laboratory of semen analysis using conventional bright-field microscopy. Additionally, another endeavour of the present investigation was to adapt the basic methodology, provided in a commercial kit, for fluorescence microscopy applications, in order to attain a simultaneous and direct visualization of DNA damage in boar sperm nuclei.

Materials and methods: Sperm samples from adult boars aged 18-24 months were used in this study. Human sperm samples were processed as a control for DNA fragmentation using Halosperm® kit (Indas Biotech, Madrid, Spain). This methodology was also used on sperm boar samples. DBD-FISH procedure was performed on slides previously processed with Halosperm® using correspondent whole genomic DNA probes in accord with the protocol described by Fernandez et al. (2002). Only those sperm nuclei containing fragmented DNA were positively labelled.

The technical variant of the SCD test to determine DFI in boar sperm cells was performed using the Sperm-Sus-Halomax® kit (ChromaCell SL, Madrid, Spain) on both human and boar samples following the manufacturer recommendations. For visualization of DNA damage under fluorescence microscopy, In Situ Nick Translation (ISNT) of DNA breaks was performed as follows: on sperm samples previously treated with the solutions included in the kit, 100 µl of reaction buffer containing 25 units of DNA-polymerase I and biotin-16-dUTP in the nucleotide mix, were deposited on each slide and incubated in a moist chamber for 5, 10, 20 and 30 min at

37C. After washing in TBE buffer, the slides were dehydrated in sequential 70- 90-100% ethanol baths, and air-dried. Then incubated with the appropriate antibody conjugated with FITC for 30 min. The slides could be analyzed directly or alternatively counterstained with propidium iodide. Those sperm nuclei with DNA damaged were positive labelled.

Results and discussion: Boar sperm cells processed with the SCD test protocol developed for humans (Halosperm® kit), give rise to images of similar characteristics to those obtained in humans. Sperm cells with fragmented DNA do not show or show very small halos of dispersion of DNA loops, whereas those with intact DNA fragmentation release peripheral halos from the central core. DNA fragmentation was confirmed by DBD-FISH labelling. Only sperm nuclei containing damaged DNA were labelled, and they correlate with an absence of dispersion halos. However, discrimination attending halo size in boar sperm samples is not as easy to establish as it is in humans.

The use of the technical variant included in Sperm-Sus-Halomax® kit in human sperm samples gives rise to halos in fragmented DNA sperm nuclei, but they usually are not easily discriminated from those with unfragmented DNA. So the acid-lysis SCD protocol is the most discriminative method for humans, but it seems unsuccessful to estimate DNA fragmentation in boar samples. Boar sperm treated with Sperm-Sus-Halomax® kit, gave rise to nucleoids with remarkably large halos of diffusion of chromatin spots in those sperm nuclei containing fragmented DNA. Sperm nuclei with intact DNA did not show halos or showed an extremely minimal relaxation of DNA loops in the proximal area, close to the tail.

The ISNT performed on slides processed with Sperm-Sus-Halomax® kit revealed that only those sperm nuclei with large halos resulted in highly labelled diffused chromatin spots; that being a direct in situ confirmation of the presence of DNA breaks in expanded halos.

Conclusions: The acid-lysis protocol included in Halosperm ® kit employed in humans seems suitable, as demonstrated by the DBD-FISH procedure. Nevertheless, the lysis protocol included in Sperm-Sus-Halomax ® kit, was clearly found as a better system to determine DNA fragmentation, specifically in boar sperm cells.

The discrimination of spermatozoa with fragmented DNA is extremely sharp and with great reproducibility. ISNT performed on sperm cells processed with the Sperm-Sus-Halomax ® kit directly confirmed that nuclei with low DNA fragmentation produce nucleoids with very small or absence of halos whereas those with high levels of DNA fragmentation release their DNA loops forming large halos. This would allow for the routine assessment of boar sperm samples for DNA fragmentation, as well as basic and clinical research on this relevant topic in any laboratory of semen analysis.

The kit is versatile enough to be used in more focused research areas, it may be adapted with other variants for the visualization of DNA damage. As could be those based on fluorescence microscopy, like ISNT and DBD-FISH. And probably could be expanded to TUNEL or other FISH strategies. This possibility is interesting because a more direct visualization of the DNA damage could be achieved and probably different levels of sperm DNA fragmentation or possible differential chromatin organization patterns could be identified with much more confidence than under bright-field microscopy.

**ESTUDIO RETROSPECTIVO SOBRE
TRATAMIENTO EN PACIENTES CON SIGNOS CLÍNICOS Y RADIOLÓGICOS DE
SÍNDROME DE WOBBLER CON AGENTES FÍSICO-TÉCNICOS**

STERIN, G*, CORNES, H.; GONZALEZ, V.
Rehabilitacionvet. Práctica Privada. Buenos Aires, Argentina.
gracielasterin@rehabilitacionvet.com.ar

Introducción y Objetivos: El objetivo de este trabajo fue determinar el número de sesiones para evidenciar mejoría clínica con agentes físico - técnicos, y evaluar si este resultado depende o no, de la cronicidad, raza, sexo o edad. Con este fin se realizó un análisis estadístico de nuestra casuística (2002-2004 en Buenos Aires, Argentina), de pacientes con signos clínicos y radiológicos de Síndrome de Wobbler, sin resolución quirúrgica previa, derivados para evaluación y posterior tratamiento de Fisioterapia.

Materiales y Métodos: En este estudio observacional se evaluaron 51 pacientes con información completa en nuestros registros, que presentaban características clínicas y radiológicas de Síndrome de Wobbler. No se incluyeron en este análisis aquellos pacientes que por distintos motivos discontinuaron el tratamiento. Todos los casos analizados llegaron al consultorio derivados y medicados previamente con distintos tratamientos convencionales. Como única terapia, utilizamos agentes físico- técnicos, sin incorporar fármacos y solicitamos al médico de cabecera suspender los corticoides antes de comenzar el tratamiento.

En la población analizada encontramos la siguiente distribución:

Edad promedio: 10 3.1 años. Sexo: Machos 64%, Hembras 36%, con predominio de Raza Doberman de 76 %, Ovejero Alemán 5.2 %, Dálmata 5.2 %, Waimaraner 3.4 %, entre otros.

Se dividieron en 2 grupos según su sintomatología:

Grupo I: N = 44 pacientes. Síntomas clínicos: Presentaban dolor, deambulaban con marcha envarada en miembros anteriores, ataxia en miembros posteriores, y/o en los 4 miembros. Cronicidad: de 7 días a 2 años de evolución (Mediana = 10 días).

Grupo II: N = 7 pacientes. Síntomas: cuadriparesia, Cronicidad: 10 a 15 días (Mediana = 10 días).

Los tratamientos fueron de dos sesiones por semana, con distintos agentes físico - técnicos:

-Laser: Equipo de Arseniuro de Galio (As-Ga) Longitud de onda de 904nm con técnica de aplicación puntual.

-Electroanalgesia: Equipo, Potencial de Acción Simulado (APS) con técnicas de aplicación longitudinales y transversales en las zonas de dolor, y tiempos totales de tratamiento de 24 a 32 minutos.

-Magnetoterapia: Equipo, Onda sinusoidal prefijada de 50 y 100 Hz, densidad de campo 70 / 80 gauss con tiempos de aplicación de 30 a 50 minutos.

-Generador de corrientes: Onda rectangular. Técnica: Bipolar y /o monopolar. Intensidad: Contracción franca. Tiempos de tratamiento de 5 a 7 minutos por grupo muscular.

Resultados: De los 51 pacientes totales estudiados, los resultados, en cuanto a número

de sesiones, fueron distintos en los 2 grupos. En el grupo I: De 44 pacientes, el resultado promedio fue de 5 sesiones (4.2 1.6) para lograr analgesia, relajación y mejoría de la ataxia. La respuesta resultó ser independiente de la edad y la cronicidad, pero aparece una diferencia significativa entre sexos: la respuesta promedio en hembras es de 3.4 0.8 sesiones y marcadamente mayor 4.5 1.7 sesiones en los machos ($p \neq 0.05$ según el test de Kruskal-Wallis). En tanto que en el grupo II: los 7 pacientes con cuadriparesia tuvieron un promedio de 7 sesiones (6.3 2.5), en las que presentaron solamente analgesia y relajación, este número de sesiones resultó significativamente mayor al registrado en el grupo I ($p = 0.07$ según el mismo test). Con relación a la cronicidad observamos que son remitidos antes para realizar tratamiento, los pacientes con cuadriparesia (evolución de 10 a 15 días) que aquellos que caminan y presentan dolor (evolución de 7 días a 2 años), surgiendo como recomendación el tratamiento temprano del paciente con ésta patología. No se observaron efectos adversos por esta terapia en ninguno de los pacientes de este estudio. No se analizaron las recaídas posteriores al tratamiento.

Conclusiones: Podemos decir que la terapia con agentes físico -técnicos, en los pacientes analizados con este síndrome y con fichas de información completa, muestra resultados que son independientes de la cronicidad previa y de la edad (promedio 10 años), pero no del sexo, ya que hemos visto respuesta más rápida en hembras que en machos. Sobre los casos totales evaluados, podemos decir que el tratamiento de Fisioterapia es un complemento terapéutico que mejora los síntomas clínicos (dolor, marcha envarada en miembros anteriores y ataxia en los cuatro miembros) en un tiempo estimado promedio de 15 a 20 días, considerando un régimen de dos sesiones semanales.

Queda abierta la inquietud de analizar resultados comparativos con otro régimen de trabajo, en cuanto a número de sesiones semanales y las posibles respuestas empleando un protocolo fijo en todos los casos.

Nuestra observación al respecto es que no hay protocolos, si no pacientes, y consideramos que, al igual que con otros tratamientos, se deben evaluar las características propias en cada caso bajo la responsabilidad del profesional actuante y el conocimiento profundo de cada medio terapéutico empleado con todos sus efectos indicaciones y contraindicaciones para lograr obtener mejores resultados.

Bibliografía:

- SHEALY, P. ; THOMAS, W.B. ; IMMEL, L.; Section V, Chapter 22: Neurologic Conditions and Physical Rehabilitation of the Neurologic Patient. In : MILLIS, D. L.; Levine, D. ; TAYLOR, R.A.; (Ed.). Canine Rehabilitation & Physical Therapy. Ed. Saunders. p. 388-403, 2004.
- TAYLOR, R.A.; LESTER, M.; GANNON, J. R.; Section VI, Chapter 30: Physical Therapy in Canine Sporting Breeds. In : BLOOMBERG, M. S.; DEE, J. F.; TAYLOR, R.A., (Ed.). Canine Sports Medicine and Surgery. Ed. Saunders Company W. B. Philadelphia. p. 265-273, 1998.
- STERIN, G. M.; GALLEGO, F., Capítulo 15: Fundamentos de Fisioterapia en la Terapéutica del dolor. En: OTERO P. E. (Ed.). Dolor, Evaluación y Tratamiento en Pequeños Animales. Ed. Inter-Médica Buenos Aires, Rca. Argentina. p. 205-216, 2004.

FARMACOCINÉTICA DE LA CEFALEXINA EN CANINOS ADMINISTRADA POR VÍA ORAL LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE METOCLOPRAMIDA

PRADOS, A.P.; KREIL, V.; REBUELTO, M.

Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Chorroarín 280 (1427) Buenos Aires, Argentina. Mail: aprados@fvet.uba.ar
Proyecto de Investigación UBA 2004-2007 V010

Introducción: La cefalexina es una cefalosporina de primera generación perteneciente al grupo de los antibióticos betalactámicos. El objetivo de este trabajo fue describir la farmacocinética y el $T_{>CIM90}$, indicador farmacocinético/farmacodinámico de eficacia clínica, de la cefalexina administrada por vía oral, luego de la administración de metoclopramida, droga proquinética de uso frecuente en pequeños animales.

Materiales y métodos: Se utilizaron 6 caninos adultos sanos de raza Beagle, de ambos sexos, con un peso promedio de 11.7 ± 2.94 kg, obtenidos de los Caniles de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Cada animal recibió, en ayunas, una dosis única por vía endovenosa de 0.5 mg/kg de metoclopramida (Pileran®, Holliday, Buenos Aires, Argentina) y, luego de 20 min, recibió por vía oral 25 mg/kg de cefalexina monohidrato en suspensión al 5% (Cefalexina 250 mg®, Bio-Amer, Buenos Aires, Argentina). Se extrajeron muestras de sangre de las venas yugulares (1.5 ml) en tiempos predeterminados antes y después de la administración de las drogas. Las concentraciones plasmáticas de la cefalexina se determinaron mediante el método microbiológico utilizando como microorganismo patrón *Micrococcus luteus* ATCC 9341. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante un programa computarizado (PCNONLIN 4.0), utilizando el análisis no compartimental. El $T_{>CIM90}$ se calculó gráficamente considerando una CIM⁹⁰ para estafilococos -hemolíticos coagulasa positivos de origen canino, igual a 0.5 µg/ml.

Este trabajo fue evaluado y aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de esta facultad.

Resultados: El $T_{>CIM90}$ calculado fue de 11.5 horas. Los valores de los parámetros farmacocinéticos expresados en media \pm DE obtenidos fueron: C_{max} 21.88 ± 0.85 µg/ml; T_{max} 1.45 ± 0.51 h.; $T_{1/2}$ 2.36 ± 0.97 h.; $ABC_{0-\infty}$ 113.1 ± 20.91 µg·h/ml.

Conclusión: Teniendo en cuenta que el tiempo durante el cual la concentración plasmática de la cefalexina permanece por arriba de la CIM es el indicador que mejor predice su eficacia clínica, y que el mismo debería ser entre el 60-70% del intervalo posológico, se concluye que, en las condiciones de este estudio, la administración de cefalexina en suspensión oral a caninos a dosis de 25 mg/kg BID, sería efectiva en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos sensibles con $CIM \leq 0.5$ µg/ml.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DISTRIBUCIÓN DE LA CROMATINA EN ESPERMATOZOIDES CON CONTENIDO DE ADN NORMAL Y DUPLICADO

FERRARI M.*, SPIRITO S., GIULIANO S., CAMPIS., FERNÁNDEZ H.
Área Física Biológica, Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Argentina.
mferrari@fvet.uba.ar

Introducción: Los espermatozoides con contenido duplicado de ADN, presentes en eyaculados de individuos fértiles (frecuencias menores al 1%), pueden originar triploidías que son una de las causas de abortos espontáneos.

El estudio del contenido y distribución de ADN en espermatozoides puede ser realizado mediante técnicas ópticas tales como la microespectrofotometría de barrido. La absorción de la radiación depende de la longitud de onda utilizada, de la sustancia presente y del espesor correspondiente. En consecuencia, medidas de absorbancia hechas mediante microespectrofotometría o procesamiento digital de imágenes, permitirían estimaciones objetivas del contenido, de la distribución de ADN y de la conformación geométrica del núcleo.

Objetivo: El objetivo del presente trabajo fue determinar si el incremento del contenido de ADN en espermatozoides bovinos es isótropo.

Materiales y Métodos: Se hicieron extendidos con semen congelado proveniente de 4 toros Holando Argentino. Los núcleos espermáticos se colorearon con la Reacción de Feulgen y se analizaron mediante microespectrofotometría de barrido usando luz de longitud de onda de 560 nm. En cada núcleo se midió el área correspondiente al plano principal, la absorbancia máxima y la absorbancia media. El producto de la absorbancia media por el área corresponde al contenido de ADN expresado en unidades arbitrarias.

Resultados: La microscopía óptica permitió reconocer núcleos que, tratados con la Reacción de Feulgen, mostraban una coloración oscura que los diferenciaba del resto aunque su tamaño y forma eran similares a los de los normales. La frecuencia de estos núcleos en los toros fértiles analizados en este trabajo fue de 0,15%. Las determinaciones hechas mostraron que estos núcleos tenían un contenido de ADN duplicado, lo que sugirió que su número cromosómico era "diploide".

Los datos individuales del contenido de ADN permitieron separar haploides y diploides, formando dos poblaciones que fueron analizadas estadísticamente. Este análisis, aplicado a las medidas de área, mostró la presencia de dos subpoblaciones en cada grupo, que se atribuyeron a la presencia de espermatozoides "macrocéfalos".

Para realizar un estudio comparativo entre dos poblaciones es requisito que ambas sean homogéneas, es decir formadas por una única población, por lo cual se adoptó el criterio de seleccionar estadísticamente ("data rejection") la población más populosa de cada grupo.

Los datos de cada extendido fueron previamente normalizados mediante el valor medio de los datos de los espermatozoides normales correspondientes.

La Tabla 1 muestra los valores medios obtenidos y su desvío estándar (DE) sobre núcleos

normales y diploides, de la población más populosa correspondiente.

TABLA 1

| Núcleos | [μm^2] Área \pm DE | Absorbancia Media \pm DE | Absorbancia máx. \pm DE | [UA] Cont. ADN \pm DE | Nº de núcleos |
|-----------|--------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------|
| Normales | 47.83 \pm 2.51 | 0.09 \pm 0.01 | 0.30 \pm 0.07 | 4.39 \pm 0.39 | 50 |
| Diploides | 52.34 \pm 1.41 | 0.17 \pm 0.02 | 0.60 \pm 0.14 | 8.69 \pm 0.75 | 13 |

Las Figuras 1 y 2 representan el volumen de los núcleos espermáticos bovinos haploide y diploide respectivamente. Los ejes x e y corresponden al plano principal y el eje z a la absorbancia.

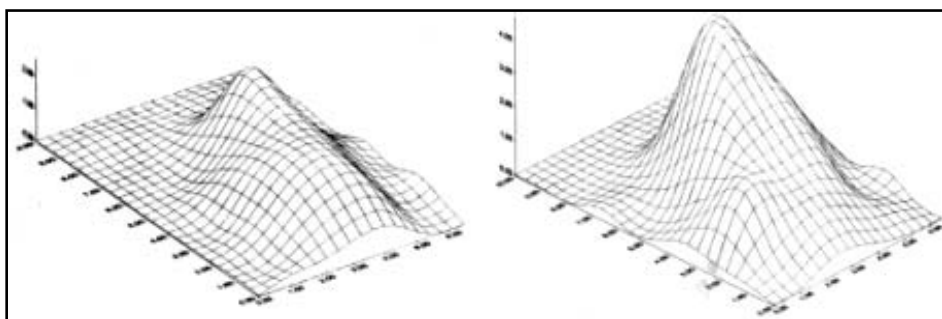


FIGURA 1

FIGURA 2

Tanto los núcleos normales como los diploides presentaron la zona de máxima absorbancia en la zona basal en posición asimétrica con respecto a la inserción de la cola. Este hecho fue especialmente notorio en los núcleos diploides que tenían levemente ensanchada la zona basal del núcleo. En ambos tipos nucleares había un decrecimiento gradual de la absorbancia hacia la periferia. Asimismo, las mediciones de área del plano principal del núcleo mostraron un pequeño incremento en los diploides respecto de los normales.

Para determinar si el incremento del contenido de ADN de los diploides sigue un comportamiento isotrópico se elaboró un modelo matemático simple. El mismo relaciona al núcleo del espermatozoide con un elipsoide de revolución, ajustando la sección principal del plano xy (elipse) del elipsoide con los datos de área del plano principal del núcleo, y el semieje z del elipsoide con el contenido de ADN a través de considerar que el volumen del elipsoide es proporcional al mismo. De esta forma el estudio del incremento de ADN se transforma en un problema geométrico.

Desde un punto de vista topológico el incremento de volumen de un sólido cualquiera puede ser considerado como un cambio de métrica sobre tres ejes ortogonales dando lugar a una transformación de coordenadas. Si la transformación es conforme el comportamiento es isotrópico y la forma se conserva "agrandada" o "disminuida". Esto permitió realizar un análisis

comparativo entre haploides y "diploides", resultando un incremento volumétrico claramente anisotrópico, con un factor de crecimiento mayor en sentido perpendicular al plano principal.

Conclusión: En consecuencia, el incremento del contenido de ADN no sigue un comportamiento isotrópico, resultando máximo en la dirección perpendicular al plano principal.

COMPARACIÓN ENTRE DIFERENTES TÉCNICAS DE EVALUACIÓN DE SEMEN PORCINO

FISCHMAN ML, GONZÁLEZ L, BOQUET M, GARCÍA C, TORRES BIANCHINI L,
FERRARI MR, CISALE H*

Área Física Biológica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.
Chorroarín 280, Ciudad de Buenos Aires.
cisale@fvet.uba.ar

Introducción: En los últimos años se ha puesto énfasis en la valoración de la fertilidad de los machos reproductores mediante pruebas de laboratorio para verificar la calidad de los eyaculados. Si bien no se han encontrado aún pruebas que correlacionen eficientemente parámetros seminales con fertilidad a campo, la implementación de las mismas resulta indispensable a los fines de optimizar la producción en especies de interés pecuario.

Objetivo: El objetivo del presente trabajo fue analizar la movilidad, viabilidad, funcionalidad de membrana y morfología del núcleo de espermatozoides en eyaculados de semen porcino y comparar los resultados obtenidos en estas pruebas a fin de optimizar las rutinas de evaluación en la especie.

Materiales y Métodos: Los eyaculados fueron obtenidos en todos los casos mediante la técnica de mano enguantada. Se analizaron 13 muestras de semen fresco, provenientes de 4 cerdos (individuos A a D) y 9 muestras de semen refrigerado a 17°C, pertenecientes a 9 animales (individuos E a M). Estas últimas fueron conservadas en diluyente comercial y las observaciones se llevaron a cabo a las 24 h de su extracción.

La movilidad progresiva individual (porcentaje de espermatozoides móviles, % MP) se observó en platina térmica estabilizada a 37°C con contraste de fases.

La viabilidad (% vivos) se determinó en extendidos coloreados con la tinción de eosina-nigrosina.

Para evaluar la funcionalidad de las membranas espermáticas se utilizó la prueba HOS (% HOS +), que se basa en el hinchamiento de la membrana de la cola de los espermatozoides cuando se los enfrenta durante breves períodos de tiempo a soluciones hipoosmóticas (100 mOsm). La morfología nuclear se observó en preparados tratados con la Reacción de Feulgen que colorea en forma específica y estequiométrica al ADN y se presenta el porcentaje de núcleos normales (% NN). En todas las técnicas, las lecturas se hicieron en un mínimo de 200 espermatozoides por muestra.

Resultados: En la tabla 1 se muestran las evaluaciones realizadas sobre un total de 22 muestras. Mientras que el porcentaje de núcleos espermáticos normales tuvo el menor rango de variación (valor mínimo 95% y máximo 99%), la movilidad progresiva tuvo el mayor (valor mínimo 10% y máximo 85%). El porcentaje de espermatozoides HOS(+) fue menor que el porcentaje de espermatozoides vivos en el 95% de las muestras. Estos resultados preliminares no muestran correlación estadísticamente significativa entre las distintas técnicas de evaluación

utilizadas ($R < 0.61$), a excepción de las pruebas de movilidad progresiva individual y HOS ($R = 0.73$).

Conclusiones: El núcleo espermático maduro mostraría menor variación frente a las diferentes condiciones de laboratorio a las que se someten los eyaculados, mientras que los otros parámetros evaluados serían mucho más susceptibles.

Cada una de las pruebas realizadas analiza diferentes aspectos relacionados con la calidad seminal. Si bien las pruebas de movilidad progresiva y HOS presentarían correlación, es importante destacar que los resultados de la primera son subjetivos. Este hecho, sumado a la falta de correlación entre las otras técnicas indicaría la conveniencia de realizar el conjunto de pruebas de laboratorio presentadas en este trabajo.

Tabla 1: Se detallan los resultados obtenidos en las diferentes pruebas de laboratorio realizadas. N/D: datos no disponibles.

| Individuos | Muestra | % NN | % MP | % HOS(+) | % Vivos |
|------------|---------|-------|-------|----------|---------|
| A | 1 | 96,47 | 60-65 | 78,00 | 83,00 |
| A | 2 | 97,71 | 60 | 80,40 | N/D |
| A | 3 | 98,78 | 80 | 91,30 | N/D |
| A | 4 | 95,97 | 70 | 88,60 | 86,00 |
| A | 5 | 96 | 15 | 51,00 | 61,00 |
| A | 6 | 96,66 | 60 | 76,00 | 86,00 |
| B | 1 | 96,97 | 70 | 80,70 | 91,20 |
| B | 2 | 97,19 | 80 | 77,00 | 86,20 |
| B | 3 | 96,66 | 85-90 | 68,00 | 94,00 |
| C | 1 | 96,95 | 85-90 | 64,00 | 70,00 |
| C | 2 | 98,66 | 80-85 | 73,00 | 86,50 |
| D | 1 | 97 | 50 | 60,00 | 77,60 |
| D | 2 | 97,66 | 80 | 75,00 | N/D |
| E | 1 | 96,7 | 60 | 52,00 | N/D |
| F | 1 | 97,1 | 50 | 68,00 | N/D |
| G | 1 | 97,1 | 20 | 54,00 | 83,0 |
| H | 1 | 97,6 | 70 | 66,00 | 82,00 |
| I | 1 | 96,5 | 35 | 50,00 | 65,00 |
| J | 1 | 99 | 50 | 51,00 | 78,00 |
| K | 1 | 98,2 | 10 | 47,00 | 75,00 |
| L | 1 | 98,4 | 40 | 53,00 | 89,00 |
| M | 1 | 96,7 | 30 | 51,00 | 76,00 |

FISIOTERAPIA: ELECTROESTIMULACIÓN: IMPORTANCIA DE LA UBICACIÓN DE LOS ELECTRODOS

PALLARES, C.; *MERCADO, M. CATTANEO, M

Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280 Ciudad Autónoma de Buenos Aires. mmercado@fvet.uba.ar

Objetivos: La Electroestimulación es la técnica que utiliza la corriente eléctrica para provocar una contracción muscular, para recuperar miembros atroficos con inervación conservada, esta terapéutica es altamente eficaz, estimula el nervio motor (motoneurona) y el músculo se contrae realizando electrogimnasia.

Dado que la activación efectiva de una fibra nerviosa depende del tamaño y localización del electrodo, conociendo sus medidas, el objetivo del presente trabajo fue determinar cuál es la técnica de aplicación adecuada del electrodo negativo y positivo para conseguir una contracción efectiva.

Materiales y Métodos: Para la electroestimulación se utilizó un equipo con una alimentación eléctrica de 220v. 50 Hz., dimensiones de 13x9x17 cm, un peso de 500 grs., tensión de salida de 70v y corriente máxima de salida de 30mA. Tipo de onda cuadrangular. Frecuencia y ancho de pulso constantes.

Para mensurar qué cantidad de corriente circulaba, el aparato empleado fue un amperímetro digital marca EICO modelo 18D7, al cual, para conectarlo se le abrió el circuito y se intercaló en serie.

Fueron seleccionados 25 caninos con músculo cuádriceps no atrofico y con inervación conservada.

Se utilizaron electrodos de superficie de 0,5 de ancho, ambos de igual tamaño y de silicona, cubiertos por un gel conductor, sujetándose con bandas elásticas en origen e inserción de dicho músculo alternando la ubicación de los electrodos I negativo (negro) y positivo, (rojo). En miembro posterior derecho se ubicó el negativo en origen y el positivo en inserción, representando el grupo I, mientras que en miembro posterior izquierdo se invirtió la posición, rojo en origen y negro en inserción, representando el grupo II.

Para poder evaluar los resultados se aplicó la Ley de Ohm; $I = V / R$, en donde I = intensidad en amperios, V = voltaje en voltios, R = resistencia en ohmios, la relación entre estas tres magnitudes, Tensión, Corriente y resistencia, están siempre presentes en todo circuito eléctrico y es la base de la comprensión que en él ocurren

Para la comparación estadística se empleó una prueba no paramétrica y se compararon medianas.

Resultados: De la experimentación realizada, se obtuvieron dos conjuntos de datos : uno de intensidades mínimas necesarias para provocar la contracción muscular en el lado derecho (MPD) y otro de intensidades mínimas necesarias para provocar la contracción muscular en el lado izquierdo (MPI). (Los valores se expresan en la tabla 1)

Tabla 1

| Nº caso | El (-) origen | (-) Inserción | Nº caso | El (-) origen | Inserción | Nº caso | Origen | Inserción |
|---------|------------------|------------------|---------|------------------|-----------|---------|--------|-----------|
| 1 | 54 | 125 | 10 | 48 | 130 | 19 | 87 | 110 |
| 2 | 48 | 105 | 11 | 76 | 106 | 20 | 26 | 115 |
| 3 | 88 | 102 | 12 | 74 | 104 | 21 | 59 | 125 |
| 4 | 56 | 112 | 13 | 12 | 119 | 22 | 48 | 110 |
| 5 | 23 | 112 | 14 | 58 | 114 | 23 | 84 | 92 |
| 6 | 97 | 104 | 15 | 54 | 125 | 24 | 76 | 108 |
| 7 | 10 | 117 | 16 | 95 | 102 | 25 | 44 | 126 |
| 8 | 15 | 115 | 17 | 15 | 115 | | | |
| 9 | 13 | 125 | 18 | 44 | 126 | | | |

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó la prueba no paramétrica de rangos de Wilcoxon.

De la prueba se obtuvo que los valores de la distribución del MPI centrada en la mediana, superan significativamente a los de la distribución correspondiente del MPD ($p\text{-valor}=0,0005 < 0,05$)

Conclusión: La aplicación de electrodos en el grupo I parece resultar una forma de aplicación más beneficiosa para el paciente, ya que requiere el uso de menor intensidad para lograr la contracción muscular, en comparación con el grupo II. Además según la Ley de Ohm el amperaje o intensidad es directamente proporcional al voltaje en el sistema e inversamente proporcional a la resistencia en el trayecto de la corriente. También coincidimos con que, si una intensidad pequeña fluye en el conductor, entonces éste debe oponer gran resistencia al paso de la corriente y análogamente una resistencia pequeña produce una intensidad grande para un misma diferencia de potencial. Es decir que necesitamos menor intensidad de corriente para vencer la resistencia de la piel y así atravesar a la primer barrera al paso de la corriente eléctrica al interior del cuerpo.

**FLAP CONJUNTIVAL PEDICULADO:
DEHISCENCIA ASOCIADA A POSIBLE RESISTENCIA MICROBIANA
A LA TOBRAMICINA Y LA OFLOXACINA TÓPICAS**

CHIAPETTO, D.^{1*} - GÓMEZ, N.¹ - DEL PRADO, A.¹ - IVANIC, J.¹ -
CARUSO, M.²

(1) Área de Clínica Médica de Pequeños Animales - (2) Área de Anestesiología y Cirugía -
FCV - UBA - Chorroarín 280 (1427) - djpchiapetto@hotmail.com.ar

Objetivos: Los autores presentan dos casos clínico-quirúrgicos oftalmológicos, uno con Descemetocelito epitelizado perforado y otro con úlcera axial profunda, ambos de evolución rápida por presencia de colagenolisis corneal, donde se empleó la Técnica del Flap Conjuntival Pediculado para su resolución y cuyo progreso posquirúrgico fue entorpecido por una sugerente acción microbiana.

Materiales y Métodos: Los pacientes caninos fueron un pequinés, hembra castrada, de 13 años (Paciente 1) y un rottweiler, hembra, de 7 años (Paciente 2). Ambos fueron tratados en base a un protocolo terapéutico oftalmológico prequirúrgico de rutina (antibioticoterapia tópica y sistémica, midriático-ciclopléjico, sustancias anticolagenasas, collar isabelino), a la espera de los estudios complementarios solicitados con urgencia. En la técnica microquirúrgica se empleó para la sutura del flap pediculado, un monofilamento de nylon 10/0 a puntos simples.

Resultados: El paciente 1, mostró a las 48 hs posquirúrgicas una desvascularización del extremo distal del pedículo, un aspecto hemorrágico en la porción proximal y "a posteriori" el desmembramiento del flap, pero recuperando una tonalidad rosada en la porción remanente. Dado el fracaso apreciado luego de la primera cirugía, el canino fue sometido a una segunda instancia quirúrgica el día 8°, a fin de cubrir el defecto corneal persistente con un flap de mayor diámetro, proveniente de la conjuntiva ventrolateral. El mismo evidenció al día 11° idéntica reacción, siendo el antibiótico tópico empleado hasta el momento un colirio con Tobramicina 0,3 % cada 3 horas. Inmediatamente se decidió cambiar la modalidad terapéutica por el uso de Ofloxacina 0,3 % tópica cada hora, observándose en menos de 24 horas una modificación favorable en el aspecto del pedículo residual y al día 15°.

El paciente 2, cuya lesión corneal recibió un pedículo conjuntival proveniente de la región dorsolateral, fue tratado desde su inicio con Ofloxacina 0,3 % cada 3 horas, presentando al día 7° posquirúrgico una desvascularización incipiente del extremo distal, optándose por suspender el antibiótico elegido y reemplazarlo por un colirio con Tobramicina 0,3 % cada hora. La conducta adoptada contribuyó al cambio, notoriamente favorable en el aspecto del flap dentro de las 48 hs.

Conclusiones: La presente comunicación de dos casos oftalmológicos intenta demostrar, a través de una experiencia "in vivo", la probable existencia de microorganismos resistentes a los antibióticos de uso habitual en la clínica, para el tratamiento de sostén posquirúrgico de un flap conjuntival; y como un factor adicional de posible fracaso en el control inicial y evolución de una queratitis ulcerativa microbiana.

Bibliografia

- 1- Gelatt, K. N. & Gelatt, J. P.; Handbook of Small Animal Ophthalmic Surgery, Volume 2: Corneal and Intraocular Procedures. Pergamon. 1995
- 2-Gelatt, K. N.; Veterinary Ophthalmology. Third Edition - Lippincott, Williams &

INMUNOFENOTIPO EN CANINOS CON LINFOMA: SU RELACIÓN CON LA SOBREVIDA GLOBAL, TIPO DE REMISIÓN Y POSIBILIDADES TERAPÉUTICAS

PEREIRA, M; FIDANZA, M*; MAUBECIN, E; MARQUEZ, A; MIRA, G.

Area Patología Clínica, Facultad de Ciencias Veterinarias U.B.A., Argentina, patclin@fvvet.uba.ar

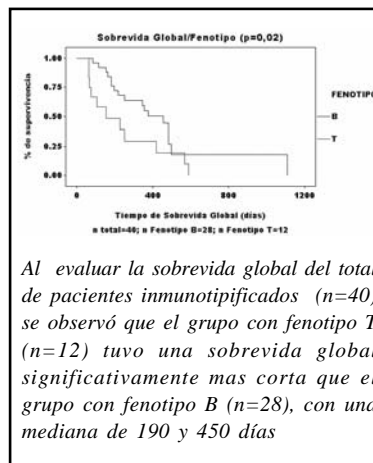
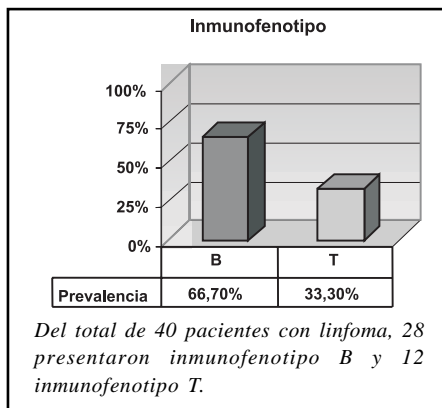
Introducción: El linfoma se define como una proliferación de células malignas de origen linfoide que afecta principalmente a los nódulos linfáticos y a órganos sólidos como el bazo y el hígado. La inmunofenotipificación ha permitido no sólo el diagnóstico y la clasificación de las neoplasias hematopoyéticas sino también ha servido para comprender la ontogenia de la hematopoyesis normal. Las células neoplásicas mantienen generalmente la expresión de sus antígenos en forma similar a las células normales reflejando tanto su linaje como su estadio de maduración. La posibilidad en nuestro medio de acceder al uso de anticuerpos monoclonales ha permitido el reconocimiento del inmunofenotipo involucrado, el cual es uno de los factores pronósticos más significativos al evaluar sobrevida global y tiempo libre de recaída. La bibliografía consultada indica un predominio del linfoma tipo B en caninos a similitud de lo que ocurre en Medicina Humana con el linfoma no hodgkiniano. La misma asocia al inmunofenotipo T a mayores probabilidades de remisiones parciales y fracasos terapéuticos con menor calidad de vida y a tiempos de sobrevida global y libres de recaída más cortos en relación al inmunofenotipo B. Esto obliga a implementar en aquellos pacientes con inmunofenotipo T protocolos más agresivos, que si bien implican mayores tasas de morbi-mortalidad, resultan la única posibilidad de incrementar la sobrevida global y el tiempo libre de recaída en estos pacientes.

Objetivo: En el presente trabajo se trata de establecer la prevalencia de los inmunofenotipos en la población afectada, establecer la correlación entre el inmunofenotipo y la expectativa de vida y adecuar los protocolos oncológicos de acuerdo al inmunofenotipo comprometido tendiendo a una mejor y mayor sobrevida de los pacientes.

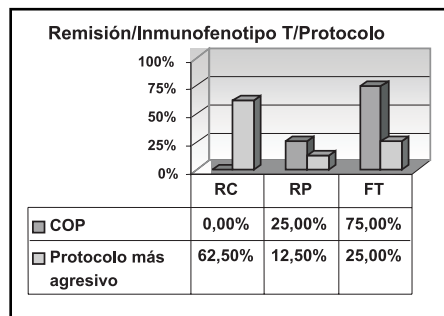
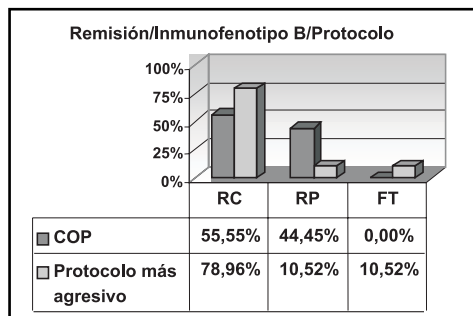
Materiales y Métodos: Se trabajó con 40 caninos con linfoma, pacientes del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UBA. El inmunofenotipo de los mismos se determinó por citometría de flujo a partir de muestras de órganos afectados debidamente procesadas para su adquisición por el citómetro y para el análisis posterior de los datos se utilizaron programas informáticos CELLQUEST (BD) y PAINTOGATE (BD). Los anticuerpos monoclonales utilizados fueron: CD79a (anticuerpo monoclonal anti-humano, DAKO, Carpintería, USA) como marcador de células B y CD3 (anticuerpo monoclonal anti-canino, SEROTEC, Kidlington, Oxford, UK) como marcador de células T. Una vez determinado el inmunofenotipo se evaluó en ambos grupos de pacientes (grupo con inmunofenotipo B n=28 y grupo con inmunofenotipo T n=12) el tiempo de sobrevida global (días) y las tasas de remisión (RC=remisión completa, RP=remisión parcial y FT=fracaso terapéutico) en relación a la terapéutica implementada (protocolo no agresivo COP y protocolo más agresivo que incluyó L-Asparaginasa, Doxorubicina, ambas u otras drogas). Para evaluar sobrevida global se empleó como método estadístico el análisis de supervivencia de Kaplan Meier.

Resultados y Conclusiones: Se observó una mayor prevalencia del inmunofenotipo B

sobre el T (gráfico N°1), mejor pronóstico para el grupo de pacientes con inmunofenotipo B el que presentó mayor sobrevida global en relación al grupo con inmunofenotipo T (gráfico N°2)..



Con respecto al tratamiento empleado en relación a las tasas de remisión se observó que el uso de terapéuticas más agresivas permite incrementar las remisiones completas y disminuir las posibilidades de remisión parcial aun con un incremento en la morbi-mortalidad para los pacientes con inmunofenotipo B, pero significó la probabilidad de obtener remisiones totales y de disminuir las remisiones parciales y los fracasos terapéuticos para el grupo de pacientes con inmunofenotipo T (gráfico N°3).



El uso de tratam más agresivos que incorporan al protocolo COP, Doxorubicina, L-Asparaginasa, ambas u otras drogas, permite incrementar la tasa de remisiones completas en los pacientes con inmunofenotipo B y obtener remisiones completas en pacientes con inmunofenotipo T.

Si bien las posibilidades terapéuticas en el linfoma canino son amplias, la decisión del tratamiento a seguir en cada caso tiene una importancia trascendental, sobre todo si se tiene en cuenta que el fracaso en la terapia inicial implica una remisión parcial, o la recaída temprana que lleva a un corto tiempo libre de recaída, y en ambos casos significará una drástica reducción en la sobrevida global del paciente.

Bibliografia

- Caniati M; Roccabianca P; Scanziani E; Paltrinieri S; Moore PF: Canine lymphomas: Immunocytochemical analysis of fine-needle aspiration biopsy. *Vet Pathol* 33: 204-212 (1996).
- Grindem CB; Page R; Ammerman B; Breitschwerdt E: Immunophenotypic comparison of blood and lymph node from dogs with lymphomas. *Vet Clin Pathol* vol 27 (N° 1) 16-20 ,(1998).
- Jain NC: Schalm´s Veterinary Hematology, ed.5 . Philadelphia, Lea and Febiger. (2000).
- Kiupel M; Teske E; Bostock D: Pronostics factors for treated canine malignant lymphoma . *Vet Pathol* 36: 292-300 , (1999).

**ENSAYOS DE UNIÓN ESPERMATOZOIDE-ZONA PELÚCIDA UTILIZANDO
OVOCITOS AISLADOS DE OVARIOS PORCINOS CONGELADOS Y CONSERVADOS
EN SOLUCIÓN SALINA**

FISCHMAN ML¹, OLIVARES R¹, PIEHL LL², CISALE H¹, MIRANDA PV^{3*}

1Cátedra de Física Biológica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. 2Cátedra de Física, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires,

3Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET, Buenos Aires

* Instituto de Biología y Medicina Experimental, Vuelta de Obligado 2490, C1428ADN
Buenos Aires, pmiranda@dna.uba.ar

Introducción: Los ensayos de interacción entre gametas representan una herramienta útil para determinar la capacidad fertilizante a la hora de estudiar distintos eventos relacionados con la reproducción. En los humanos y pequeños animales de laboratorio, estos ensayos de interacción utilizan ovocitos maduros producidos por superovulación. En humanos, los ovocitos sobrantes de los procesos de reproducción asistida se conservan en una solución concentrada de sulfato de amonio para la realización posterior de ensayos de unión a la zona pellúcida (ZP). En los animales de granja, la obtención de ovocitos por superovulación para ensayos de laboratorio no es una opción viable desde el punto de vista económico. En estos casos, el uso de ovarios obtenidos de matadero permite disponer de una gran cantidad de material que ha demostrado ser de utilidad. En el cerdo, la inducción de reacción acrosomal utilizando ZP soluble obtenida de ovocitos inmaduros es igual de efectiva cuando éstos son aislados de ovarios frescos o congelados (1,2). También se han desarrollado ensayos de penetración in vitro aislando ovocitos de ovarios frescos y utilizándolos antes o después de su conservación en frío o en sulfato de amonio.

Objetivo: El objetivo de nuestro trabajo fue determinar si ovocitos inmaduros aislados de ovarios porcinos congelados podían ser conservados en sulfato de amonio para su posterior utilización en ensayos de unión espermatozoide-ZP.

Materiales y métodos: Los ovarios fueron obtenidos de animales faenados para consumo. Los ovocitos se aislaron por aspiración de folículos antrales a partir de ovarios recién obtenidos, o por filtración a través de mallas de tamaño de poro decreciente antes o después del congelamiento (3). Luego del aislamiento y lavado (en 10 mM fosfato de sodio, 130 mM NaCl, 2 mM EGTA, 11 mM citrato de sodio, pH=7.0), los ovocitos fueron inmediatamente utilizados para el ensayo o conservados en una solución de sulfato de amonio [0.5 M (NH₄)₂SO₄, 0.75 M MgCl₂, 0.2 mM ZnCl₂, 0.1 mg/ml PVA, pH=7.4] a 4 C hasta su uso. Espermatozoides provenientes de muestras de semen obtenidas por el método de la mano enguantada fueron incubados en medio Tyrode suplementado con 3 mg/ml de BSA en 5% CO₂ a 39 C por 3 hs. El día del ensayo, los ovocitos fueron lavados en medio Tyrode e incubados con los espermatozoides a 37 C. Después de 30 min de incubación, los complejos espermatozoide-ovocito fueron lavados 3 veces para eliminar a los espermatozoides que no estuvieran firmemente

unidos a la ZP. Luego de una fijación en formaldehído 0.1%, los complejos fueron incubados en Hoechst 33342, lavados y montados. Se determinó el número de espermatozoides unidos por ovocito por microscopía de fluorescencia.

Resultados: Los ovocitos obtenidos por punción mostraron más frecuentemente células del cúmulus adheridas a la ZP, lo cual dificultó la posterior evaluación del ensayo. Los espermatozoides fueron capaces de unirse a la ZP de ovocitos provenientes de ovarios congelados y que habían sido mantenidos en sulfato de amonio por dos meses. Los resultados obtenidos utilizando los distintos tipos de ovocitos no mostraron diferencias importantes.

Conclusiones: El método de filtración para el aislamiento de ovocitos de ovarios frescos resultó ser más sencillo, rápido y eficiente para obtener ovocitos libres de células de cúmulus. La utilización de ovarios congelados y el mantenimiento de los ovocitos en sulfato de amonio permitiría disponer de una fuente de ovocitos para la realización de ensayos de unión en el momento requerido. Estos ensayos pueden ser de utilidad para evaluar la funcionalidad espermática luego de diversos tratamientos experimentales.

Bibliografía

- 1 - Berger T, Turner KO, Meizel S, Hedrick JL (1989) Zona pellucida-induced acrosome reaction in boar sperm. *Biol. Reprod.* 40, 525-530.
- 2 - Melendrez CS, Meizel S and Berger T (1994) Comparison of the ability of progesterone and heat solubilized porcine zona pellucida to initiate the porcine sperm acrosome reaction in vitro. *Mol. Reprod. Dev.* 39, 433-438.
- 3 - Dunbar BS, Wardrip NJ and Hedrick JL (1980) Isolation, physicochemical properties, and macromolecular composition of zona pellucida from porcine oocytes. *Biochemistry* 19, 356-365.

FOSFORILACIÓN DE UN POLIPÉPTIDO DE 18 KD DE MEMBRANA APICAL DURANTE LA CAPACITACION DE ESPERMATOZOIDES DE CERDO

PIEHL LL¹, FISCHMAN ML², CISALE H², HAGER AA¹, MIRANDA PV^{3*}

1 Cátedra de Física, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires,
2 Cátedra de Física Biológica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires.
3 Instituto de Biología y Medicina Experimental-CONICET

*Instituto de Biología y Medicina Experimental, Vuelta de Obligado 2490, C1428ADN
Buenos Aires, pmiranda@dna.uba.ar

Introducción: Los espermatozoides de mamífero no pueden fertilizar a un ovocito inmediatamente después de ser eyaculados. Antes deben sufrir un proceso llamado capacitación, que ocurre fisiológicamente en el tracto femenino y puede ser reproducido in vitro. La capacitación es un evento complejo que involucra la disminución del contenido de colesterol con el consecuente aumento de la fluidez de membrana y la activación de numerosas vías de señalización. Uno de los fenómenos concomitantes con la capacitación es el aumento de la fosforilación en los residuos tirosina de diversas proteínas. Esto se ha reportado en todas las especies de mamífero estudiadas hasta hoy (1). En bovinos, se ha demostrado que la presencia de Glucosa en el medio inhibe la fosforilación en tirosina (2).

Objetivos: En el presente trabajo, analizamos diversos aspectos relacionados con la capacitación al incubar espermatozoides de cerdo bajo diferentes condiciones experimentales.

Materiales Y Métodos: Las muestras de semen fueron obtenidas con el método de la mano enguantada. Los espermatozoides (15 x 10⁶/ml) fueron diluïdos en medio Tyrode (control o deficiente en Glucosa) suplementado con 3 mg/ml de BSA e incubados durante 3 horas en estufa con 5% de CO₂ y a 39 C. Para la obtención de extractos totales, las células fueron lavadas con PBS y tratadas con 1% SDS a ebullición por 5 minutos. Membranas plasmáticas de la zona apical de la cabeza fueron obtenidas por cavitación (3). Para ello, los espermatozoides fueron resuspendidos en 5 mM Tris, 0.25 M sacarosa, pH=7.4 y sometidos a una presión de nitrógeno de 650 psi durante 10 min. Luego de la extrusión en 1mM EDTA, 0.2 mM PMSF, 1 mM Na₃VO₄, la suspensión fue sometida a centrifugaciones seriadas (1.000, 6.000 y 100.000 g). El pellet de membranas fue resuspendido en PBS para determinar el contenido de colesterol y la fluidez de membrana y suplementado con SDS para el análisis de la fosforilación en tirosina. El colesterol se cuantificó por el método enzimático (kit Colestat®, Laboratorios Weiner). La fluidez de membrana fue analizada por determinación del parámetro de orden S mediante marcación con ácido 5-doxil esteárico y análisis del espectro obtenido por resonancia paramagnética electrónica. El grado de fosforilación en tirosina se determinó por inmunoblot con un anticuerpo monoclonal anti-fosfo-tirosina. Los complejos fueron revelados utilizando un segundo anticuerpo acoplado a Peroxidasa y revelado quimioluminiscente.

Resultados: La incubación de los espermatozoides produjo una disminución del contenido de colesterol (33±2 vs 15±1 ng/10⁶ espermatozoides antes y después de la incubación) y un

aumento de la fluidez de membrana evidenciada en la disminución de S (0.696 ± 0.009 vs 0.638 ± 0.014 , $p<0.02$). En cuanto a la fosforilación en tirosina, los espermatozoides de cerdo, a diferencia de otras especies, presentaron un alto grado de fosforilación antes de la capacitación en varios polipéptidos con peso molecular entre 30 y 85 kD, en concordancia con los resultados de otros grupos. La incubación en condiciones capacitantes incrementó la señal producida por un polipéptido de 32 kD, recientemente identificado como sp32. También se observaron aumentos de señal en proteínas de alto peso molecular (75-230 kD) en todos los experimentos. Otra banda, de alrededor de 18 kD, aumentó su grado de fosforilación y resultó ser muy sensible a variaciones interensayo. Por el contrario, la incubación en condiciones capacitantes produjo una disminución de la señal en una banda de muy bajo peso molecular (<10 kD). Cuando los espermatozoides fueron incubados en ausencia de Glucosa, no se observaron cambios en el patrón de fosforilación en tirosina. El análisis de los extractos de membrana mostró un enriquecimiento en la banda fosforilada de 18 kD.

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el patrón de fosforilación en tirosina observado en los extractos totales no estaría relacionado con la presencia de glucosa en el medio de capacitación. Por otro lado, describimos la fosforilación de un polipéptido de 18 kD localizado en la membrana plasmática de la zona apical de la cabeza de espermatozoides de cerdo cuya identidad está siendo actualmente estudiada.

Bibliografía:

- 1 - Visconti PE, Westbrook VA, Chertihin O, Demarco I, Sleight S and Diekman AB (2002) J. Reprod. Immunol. Jan;53(1-2):133-50. 53, 133-50.
- 2 - Galantino-Homer HL, Visconti PE, Kopf GS (1997). Biol. Reprod. 56(3): 707-719.
- 3 - Gillis G, Peterson R, Russell L, Hook L and Freund M (1978) Prep. Biochem. 8, 363-378.

CIRURGIA PLÁSTICA RECONSTRUTIVA PARA CORREÇÃO DO LÁBIO LEPORINO EM CÃES: RELATO DE CASO

SOUSA, E.L.1; SENGER, A.2; KLAUMANN, P. R.3; *MILIETTI, M. M.4;
MONTEIRO, B. C.4; THOMS, E.4.

1Cirurgião Veterinário do Hospital CLINIVET - Curitiba, 2Clínica Médica do Hospital
CLINIVET - Curitiba, 3Anestesista Veterinário do Hospital CLINIVET - Curitiba, Acadêmica
de Medicina Veterinária da PUC-PR.

Alameda Princesa Isabel, 2500 - Ap. 401 - Bigorriho - Curitiba - Paraná - Brasil -
CEP.: 80730-080 - mmilietti@uol.com.br

Resumo - O lábio leporino é uma alteração neonatal caracterizada pela ausência do fechamento dos processos nasais médios do maxilar que se estende desde o bordo labial até a fossa nasal que tem como conseqüência a aparição de incisões no lábio superior. Relatamos o manejo clínico e cirúrgico de cinco pacientes neonatos da raça Lhasa Apso, irmãos, 3 dias de idade, para correção do defeito anatômico. Foram mantidos com assistência clínica até a sexta semana de idade e submetidos à cirurgia plástica reconstrutiva com a técnica de revestimento simples.

Palavras chaves: lábio leporino, cirurgia plástica reconstrutiva, cães.

Introdução: O lábio leporino é uma alteração neonatal congênita caracterizada pela ausência do fechamento dos processos nasais médios do maxilar que se estende desde o bordo labial até a fossa nasal que tem como conseqüência a aparição de incisões no lábio superior.

A formação da face e cavidade oral é de natureza complexa e compreende o desenvolvimento de múltiplos processos teciduais. Distúrbios no desenvolvimento destes processos ou em sua fusão podem resultar na formação do lábio leporino. A embriogênese normal pode ser alterada pela ação deletéria de fatores químicos, físicos ou biológicos. A combinação destes agentes ou a intensificação de um deles, mesmo isoladamente, acarreta modificações estruturais irreversíveis do organismo em desenvolvimento. Existe ainda uma considerável constatação da ocorrência do padrão hereditário multifatorial nos erros de desenvolvimento. Desta forma, pode-se subdividir as deformidades em: congênitas, com influência ambiental claramente determinada; e hereditárias, caracterizando o estigma genético. Entre os fatores ambientais, vários estão relacionados à mãe (Distúrbios hormonais maternos, Hipoxia tecidual uterina), a infecções, medicamentos (Cortisona, Talidomida), nutricionais (Carencias protéicas, Deficiência de ácido fólico, Hipervitaminose A), irradiações e estresse. Quanto às deformidades hereditárias pesquisas demonstram que há histórico positivo de fissuras labiais em antecedentes familiares e que o número de parentes afetados parece diminuir à medida que o grau de parentesco se distancia. A incidência de lábio leporino em pequenos animais é alta em Beagle, Cocker Spaniel, Dachshund, Pastor Alemão, Labrador Retriever, Schnauzer, Pastor de Shetland, Shih-tzu, Pequinês, Bulldog Inglês, Bulldog Francês e gatos Siameses. Raças braquicéfalas podem ultrapassar 30% dos fatores de risco. Nos humanos o lábio leporino afeta mais freqüentemente o sexo masculino.

Materiais e Métodos: No ano de 2004 foram recebidos cinco cães da raça Lhasa Apso com 3 dias de idade para tratamento do lábio leporino. Inicialmente estes pacientes apresentavam dificuldade em mamar, disfagia e evidente gotejamento de leite pelas narinas quando os recém nascidos tentavam mamar. O tratamento inicial foi clínico, resumido em cuidadoso manejo para o auxílio alimentar garantindo a nutrição diária. Houve necessidade de cobertura antibiótica, visto um neonato com quadro respiratório inferior. Estes pacientes foram mantidos até a sexta semana de vida sem quaisquer outras intercorrências e, foram submetidos a cirurgia reconstrutiva, com a técnica de revestimento com fechamento simples. A correção cirúrgica é efetiva somente se o defeito for pequeno e normalmente é feita com 6 a 8 semanas de idade em pequenos animais, antes que a saúde geral seja comprometida. Várias técnicas cirúrgicas, revestimento com fechamento simples, se necessário enxerto móvel ou implante protético, são comumente dependentes da severidade e localização do defeito. Animais mais severamente afetados talvez requerem múltiplas cirurgias para o sucesso da correção.

Resultados: Os cães com lábio leporino freqüentemente nascem com o palato aberto e morrem nos primeiros dias de vida e, os sobreviventes não demonstram diferenças de olfato em comportamento de caça. Os referidos pacientes completaram 3 meses de vida e necessitaram de apenas uma reintervenção.

Conclusão: A medicina veterinária deixou de ser uma prática médica restrita ao que se diz respeito aos neonatos portadores de deficiências. As condutas clínicas e cirúrgicas bem elaboradas proporcionam vida de qualidade ao paciente e conforto aos proprietários. A cirurgia plástica reconstrutiva pode ser aplicada em cães portadores de lábio leporino com seis semanas de idade, após conduta de manejo nutricional e clínico do neonato, com sucesso.

Referências Bibliográficas:

1. ALTMANN, B. C. E. Fissuras Labiopalatinas. 4. ed. Carapicuíba: Pró-Fono Departamento Editorial, 1997.
2. CANO, A., SARMIENTO, A. Prenatal diagnosis: Hare lip, catastrophe on delivery room. Rev Colomb Obstet Ginecol., v.49, n.1, p.57-62, 1998.
3. CARLSON, M. B. Embriologia humana e Biologia do Desenvolvimento. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1996.
4. CARREIRÃO, S. Et al., Tratamento das Fissuras Labiopalatinas. 2. ed. Rio de Janeiro: Revinter Ltda, 1996.
5. MOORE, L. K. Et al., Embriologia Clínica. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2000.
6. NEVILLE, W. B. Et al., Patologia Oral e Maxilofacial. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1995.
7. REGEZI, A. J.; SCIUBBA, J. J. Patologia Bucal Correlações Clinicopatológicas. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2000.
8. SHAFER, G. W. Et al., Patologia Bucal. 3. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1979.

LINFOMA DE PIEL-MUCOSAS Y DIGESTIVO EN CANINOS CLASIFICACIÓN E INMUNOTIPIFICACIÓN

DUCHENE, A1.; VARTABEDIAN, A1.; VERNI, A1.

1 Patología Clínica. Hospital Escuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. U.B.A.

Objetivos: El objetivo del presente trabajo es clasificar e inmunotipificar las células del Linfoma en piel, mucosas y tracto digestivo, dado que existe una alta correlación entre pronóstico, patrón de crecimiento, tipo citológico y fenotipo, y además el tratamiento tiene diferencias según se trate de una variedad tumoral u otra.

Introducción: El Linfoma es un proceso neoplásico originado en las células linforreticulares. Constituye el 80% de las neoplasias hematopoyéticas y el 7-24% de todas las neoplasias caninas (1). Anatómicamente se los clasifica como multicéntrico, mediastinal, alimentario y cutáneo. Histológicamente según el patrón de crecimiento, puede ser difuso o folicular. Desde el punto de vista citológico puede ser de células pequeñas, medianas o grandes, linfocíticos, linfoblásticos, inmunoblásticos o histiocíticos, Haciendo referencia en cada caso a las características del núcleo (irregularidades en la membrana, nucleolo, cromatina, y número de mitosis por campo de 40 X). La clasificación se realiza utilizando la Fórmula de Trabajo del Instituto Nacional del Cáncer para la Clasificación de los Linfoma (Working Formulation. WF)(2). El fenotipo celular puede ser de células T, B. ó 0. Este último aspecto no está contemplado en la WF. La forma cutáneo-mucosa que representa el 5-7% de los linfomas(1), puede además clasificarse según su extensión en epitelio superficial y/o de los folículos pilosos en Linfoma epiteliotrópico, o tener localización en dermis-subcutáneo exclusivamente: Linfoma no epiteliotrópico. Los que presentan epiteliotropismo positivo generalmente son de células T, con mal pronóstico y mala respuesta al tratamiento. Los no epiteliotrópicos en un principio se creía que eran de tipo B, aunque en la actualidad se cree que en su mayoría son de Tipo T(3). Por otra parte la forma alimentaria no es muy común en caninos; (a diferencia de lo que existe en los felinos que representa el 40% de los linfomas(4,)), no existiendo demasiados reportes respecto al inmunofenotipo de los mismos(1,2,3). Se cree que en su mayoría serían de tipo B.

En los tumores de distribución multicéntrica, con linfadenopatías generalizadas, (que representan el 80% de los linfomas(1)), el diagnóstico citológico es de utilidad, dado la facilidad que representa la toma de muestra y el alto número de células exfoliadas. Esta circunstancia no es tan favorable en piel, mucosa y tracto digestivo, por lo que es necesario realizar biopsias. Además en estos órganos la clasificación según el patrón de crecimiento tiene mayor importancia que en el linfonódulo u otros órganos (Bazo, Timo etc.).

Materiales y Métodos: Sobre un total de 20 muestras que fueron diagnosticadas por histopatología e inmunotipificadas en el período 2004-2005, 5 corresponden al grupo en estudio, 2 de ellas fueron de mucosa bucal, 1 de piel, 1 de mucosa gástrica y 1 de mucosa intestinal.

Se fijaron en formol al 10% bufferado. Se procesaron para inclusión en parafina. Se colorearon con H/E y Giemsa y se inmunotipificaron con marcadores para Linfocitos T

(Policlonal Rabbit anti-human T cell CD3) y B (Monoclonal Mouse anti-human CD 79 Alfa cy, clone HM 57) DAKO Corporation.

Resultados: Los linfomas de piel y mucosas se clasificaron como Linfoma de Alto Grado, de tipo Linfoblástico difuso, con núcleos grandes no escindidos y nucleolos evidentes. Índice mitótico alto, epiteliotropismo positivo y reacción fuertemente positivo para Linfocitos T. Uno de ellos presentó en forma asociada signos de enfermedad autoinmune de tipo Pénfigo Vulgar. Los de mucosa gástrica e intestinal fueron de tipo difuso, malignidad intermedia, celularidad mixta (pequeñas y grandes células), índice mitótico intermedio e inmunofenotipo B.

Conclusiones: Las biopsias son una herramienta importante para el diagnóstico, clasificación e inmunotipificación de los tumores linforreticulares. Las diferentes variedades histomorfológicas deben tenerse en cuenta al momento de instaurar la terapéutica antitumoral. Además la correlación entre estos diferentes tipos y pronóstico permite predecir la evolución de los mismos.

Bibliografía:

- 1- Canine Lymphoma and Lymphoid Leukemia. Vail,D; Mac Ewen, E; Young, K. Small Animal Clinical Oncology Stephen Withrow- Gregory Mac Ewen. Cap. 28.
- 2- Enfermedades inmunomediadas en el perro y gato. Michael Day. Tumores del sistema inmunitario. Capítulo 14.
- 3- Oncología en pequeños animales. Morris, J.; Dobson, J. Sistema hematopoyético. Capítulo 15.
- 4- Consulta en Medicina Interna felina August, J. linfoma gastrointestinal y enfermedad intestinal inflamatoria. Carsten, E.; Willard, M. Capítulo 63

PRESENTACIÓN ÓSEA DE UN MASTOCITOMA GRADO 3 EN UN CANINO

CIAPPESONI, J.L.¹; DUCHENE, A.²; VARTABEDIAN, A.²; ZACCAGNINI, A.¹; ONTIVEROS, L.^{1*}

1 Área de Cirugía y Anestesiología. 2 Área Patología Clínica. Departamento de Medicina.

Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires.

Chorroarín 280. Capital Federal. Argentina. Email: lauraont@yahoo.com.ar

Introducción: En algunas ocasiones los diagnósticos diferenciales, sobre todo a nivel óseo, son difíciles de lograr a partir de los signos clínicos o cuando se los estudia mediante métodos complementarios convencionales de imagenología. La radiología suele mostrar imágenes muy similares frente a distintos tipos de tumores óseos primarios o secundarios.

Las neoplasias del aparato osteoarticular comprenden aproximadamente el 3 a 4,5% de todos los tumores del canino, siendo la mayoría malignas (98%) ya que suelen producir la muerte del animal por infiltración local o metástasis. El osteosarcoma es el tumor óseo de presentación más frecuente pero también pueden presentarse en menor grado fibrosarcomas, condrosarcomas, hemangiosarcomas, así como metástasis de neoplasias de tejidos blandos.

Los mastocitomas representan los tumores cutáneos más comunes en el canino. Se presentan como masas dermoepidérmicas o subcutáneas con un 50% localizadas en el tronco/periné, 40% en las extremidades y un 10% en la cabeza y cuello. El diagnóstico citológico por medio de punción aspiración con aguja fina (PAF) es muy sencillo pero no es suficiente en la mayoría de los casos para establecer una graduación. Desde el punto de vista histopatológico se clasifican: grado 1 (bien diferenciado), grado 2 (moderadamente diferenciado) y grado 3 (indiferenciado). Los grados 2 y 3 tienen potencial metastásico más alto y mayor probabilidad de diseminación sistémica. Los sitios de metástasis más frecuentes son los linfonódulos regionales y a distancia, el bazo, hígado y en menor medida los pulmones.

En este trabajo se describe un caso de presentación infrecuente de un mastocitoma óseo en proximal del húmero derecho de un canino.

Descripción del caso clínico: Se presenta a la consulta un canino, Rottweiler, hembra, de 8 años con claudicación de tercer grado en miembro anterior derecho, de siete meses de evolución, con historia de haber tenido cría luego del comienzo de la misma.

Al examen clínico se observa deformación en más en dorsal del húmero derecho con leve inflamación, sin edema y dolor moderado.

Los métodos complementarios solicitados revelan: Radiografía del miembro: imagen osteogénica y osteolítica en proximal del húmero, compatible con neoplasia ósea.

Radiografía de tórax: no se observa imagen actual de metástasis.

Control cardiológico: no se detectan signos que indiquen enfermedad cardíaca primaria.

Hematología: Hto 34, Hb 11,3, GB: 8800, plaquetas: 7 / c, T. Quick: 8" (7"), KPTT: 21" (18"), Uremia: 27, creatinina: 0,95, prot: 7,7, alb: 2,0, GPT: 17, GOT: 58; FAS: 249

Se decide realizar la amputación del miembro afectado y se indica como tratamiento paliativo hasta el momento de la cirugía: meloxicam 7,5 mg por 2 días y tramadol 100 mg cada

8 horas por 2 días luego cada 12 horas.

Cirugía: se efectúa la amputación alta del miembro con desarticulación escápulo - torácica. En el momento de la cirugía se observa linfadenopatía de los linfonódulos axilar y cervical superficial por lo cual se realiza su extirpación en bloque.

Se realiza anestesia general inhalatoria con halotano más analgesia epidural con morfina 0,1 mg/kg diluida en 0,3 ml de solución fisiológica. Se deja colocada una sonda K 30 en la zona quirúrgica para instilación de bupivacaína 0,5% diluida en 20 cc de solución fisiológica cada 8 hs para control del dolor postquirúrgico. Se indica además Tramadol 50 mg c/8 h, Meloxicam 7,5 mg y Ampicilina 600 mg cada 8 hs

Diagnóstico histopatológico: Anatomopatología: se recibe miembro anterior derecho completo más dos linfonódulos. Se realiza incisión en piel y músculos esqueléticos a nivel del húmero hasta base ósea. Macroscópicamente se observan cambios de coloración y consistencia en el tejido muscular, el cual se presenta de color blanco grisáceo y consistencia firme. El tejido óseo no ofrece resistencia al corte y sus características macroscópicas son similares al tejido muscular enfermo.

Linfonódulos: dos masas nodulares de 5 x 4 cm de diámetro aproximadamente, de aspecto homogéneo y color blanco grisáceo.

Microscopía: Tejido óseo compacto y esponjoso reemplazado por una población homogénea de células redondas con núcleo redondo central y citoplasma eosinófilo claro con gránulos metacromáticos positivos para la coloración de Giemsa. Alto número de eosinófilos. Alto índice mitótico. Alto grado de anaplasia. Trombos de células neoplásicas en el lumen de los vasos linfáticos.

Linfonódulos: pérdida de estructura corticomedular. Reemplazo de las células linfoideas por células pleomórficas con características iguales a las observadas en los cortes del tejido muscular y óseo.

DH: mastocitoma anaplásico. Grado 3 Invasión local y linfonodular

Discusión y conclusiones: En el caso clínico presentado en la reseña, los signos clínicos y radiológicos hacían sospechar de un osteosarcoma apendicular. Los cuadros atípicos suelen resultar aún más oscuros cuando involucran órganos o sistemas de reacciones inespecíficas frente a las diferentes noxas. La búsqueda y la implementación de métodos complementarios se debe agudizar, poniendo en práctica todo cuanto esté al alcance para poder establecer tanto un diagnóstico como un pronóstico correctos.

El mastocitoma es un tumor con aspecto clínico y forma de presentación variable. El diagnóstico citológico es muy eficiente dado que exfolia un alto número de células. De la misma forma el osteosarcoma (cualquiera de sus variedades) se diagnostica bien por citopatología. En ambos casos debe confirmarse por histología.

Por lo cual se concluye que en aquellos casos que puede accederse a un diagnóstico citopatológico prequirúrgico, el mismo debe ser realizado para permitir instaurar la conducta terapéutica adecuada a cada patología.

Bibliografía:

Whitrow, S.; Mac Ewen, E.: Small animal Clinical Oncology. 3° Ed. W.B. Saunders. 2001
Ogilvie, G: Managing the veterinary cancer patient, Veterinary learning systems 1996

ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES CONTRA VIRUS DE MOQUILLO CANINO EN PERROS VACUNADOS

COLAVECCHIA, S.; SOBA, M.; MAURE, P Y MUNDO, S.*

Área Inmunología. Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad de Buenos Aires.
Chorroarín 280. Buenos Aires. *smundo@fvet.uba.ar

El moquillo canino es enzoótico en el mundo entero y tiene un amplio rango de huéspedes. Los caninos de todas las edades son susceptibles al virus del moquillo canino (VMC), pero los cachorros lo son aún más cuando pierden los anticuerpos maternos (Appel, MJG. y Summers, BA., 1999).

La aparición de vacunas a virus vivo modificado durante los años 60, permitió el control del moquillo canino. En los últimos años la incidencia en caninos aumentó, posiblemente debido a fallas en la vacunación y/o inmunización. (Appel, MJG. y Summers, BA, 1999). Es por ello que el control de la inmunogenicidad de las vacunas debe considerarse de importancia.

Objetivo: El objetivo de este trabajo es la determinación de la presencia de anticuerpos neutralizantes frente al VMC en animales inmunizados con una vacuna comercial de origen nacional a virus vivo modificado.

Materiales y métodos: Se analizaron sueros de 8 animales: 3 caninos adultos (más de tres años), con más de 4 dosis de inmunización y 5 caninos de entre 4 y 11 meses, con 2 dosis de inmunización (la primera dosis de vacuna aplicada entre los 45 y los 50 días de edad). Los animales pertenecían a diferentes razas (Labrador, Pastor inglés, Weimaraner y Golden Retriever).

Los sueros fueron recolectados 30 días luego de la última inmunización y almacenados a -20°C hasta su utilización. Los caninos evaluados no poseían historia previa de infección con moquillo y se encontraban clínicamente sanos.

Los controles utilizados fueron: como control positivo, el suero de un animal infectado detectado por sintomatología clínica y confirmado por RT-PCR y como control de bajos niveles de anticuerpos, los sueros de 3 cachorros calostrados de 25 días de edad, cuyas madres habían sido vacunadas y no habían presentado infección previa por moquillo canino. En todos los animales utilizados como control de bajos niveles de anticuerpos se obtuvo un título igual o menor a 1.2 0.91.

Se utilizó VMC cepa LEDERLE. El virus se multiplicó en células Vero de bajo pasaje (entre 20 y 27) en DMEM, con 8% de suero equino.

Prueba de Seroneutralización: Se incubaron los sueros problemas y los controles con 500 dosis infectantes en cultivo celular 50 % (TCID 50%) en 6 diluciones entre 1:128 y 1:8192 (6 repeticiones de cada una), durante una hora a 37° C en placa de 96 hoyos de fondo plano y luego se agregaron 1,2 x10³ células Vero por hoyo. La presencia de anticuerpos neutralizantes se evaluó microscópicamente por inhibición del efecto citopático a las 48 hs. (Appel, MJG y Robson, D 1973).

Los resultados se expresan como índice de seroneutralización (IS), correspondiente a la

inversa de la dilución del suero (expresada en logaritmo) que inhibe el efecto citopático en el 50% de los hoyos analizados.

Resultados: En este estudio hemos encontrado que perros inoculados con la vacuna a VVM, presentan una media de anticuerpos neutralizantes frente a VMC de 2.5 0.18. En todos los casos se vió que el título de anticuerpos neutralizantes obtenido frente a VMC estuvo dentro del rango de títulos considerados protectores según Carmichael, LE., 1999 (Tabla 1). No se observó diferencia entre los títulos obtenidos en animales con más de 4 dosis de inmunización respecto de los caninos con 2 dosis.

Tabla 1: Índice de seroneutralización en caninos inmunizados con 2 dosis y más de 4 dosis de vacunas comerciales

| Inmunización | Animal | Sexo | Raza | IS* |
|----------------|-------------------|------|------------------|------------|
| Controles | Bajos niveles Acs | M | Beagle | 1,2 ± 0.91 |
| | Bajos niveles Acs | M | Beagle | 0.9 ± 0.30 |
| | Bajos niveles Acs | M | Beagle | 0.9 ± 0.42 |
| | Positivo | M | Mestizo | 2,7 ± 0.17 |
| Más de 4 dosis | 1 | H | Labrador | 2,3 ± 0.09 |
| | 2 | H | Pastor inglés | 2,4 ± 0.42 |
| | 3 | M | Weimaraner | 2,7 ± 0.07 |
| 2 dosis | 4 | M | Pastor inglés | 2,4 ± 0.09 |
| | 5 | H | Pastor inglés | 2,7 ± 0.21 |
| | 6 | H | Golden retriever | 2,7 ± 0.35 |
| | 7 | H | Golden retriever | 2,3 ± 0.21 |
| | 8 | M | Golden retriever | 2,6 ± 0.28 |

*Promedio desvío estándar

Conclusiones: Esta técnica permitió discriminar entre individuos vacunados de no vacunados. La inmunización con dos dosis de vacuna atenuada produjo títulos neutralizantes considerados protectores por la bibliografía internacional frente a la infección por VMC (Carmichael, L.E., 1999).

Si bien hemos utilizado como antígeno la cepa de virus vacunal, ya que no se contó con aislamientos locales, y la seroneutralización no permite evaluar la respuesta celular al VMC, esta técnica podría considerarse de utilidad para evaluar la inmunogenicidad obtenida por la vacunación.

Bibliografía:

- Appel, MJG y Robson, DS. 1973. A microneutralization test for Canine Distemper Virus. Am. J. Vet. Res. 34(11): 1459-1463
- Appel, MJG y Summers, B.A., 1999. Distemper canino: Estado actual. Recent Adv.in Canine Infect. Dis., LE. Carmichael (Ed.) (<http://www.ivis.org>) . Ithaca NY. USA.
- Carmichael, LE. 1999. Canine viral vaccines at turning point- a personal perspective. Canine distemper. In Veterinary Vaccines and Diagnostics. Ed. Schultz R.D. New York, Academic Press pp 293-296.

ERRORES EN LA INTERPRETACIÓN DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS DE LA PERITONITIS INFECCIOSA FELINA (PIF)

GISBERT,M; SEERY, H; BLANCO TOLEDO, M; ESPINA,C;DI TOLLO,B; NOVARO, L;
GÓMEZ,N*

Área Clínica Médica de P.A. Facultad de Veterinaria UBA. ngomez@fvet.uba.ar

Introducción: El diagnóstico de PIF es complejo, debido a la superposición de signos con muchos otros procesos morbosos y porque la prueba serológica disponible es poco confiable para esta virosis. Esto a su vez se fundamenta en el hecho de que la presencia del virus en un animal o la determinación de los anticuerpos dirigidos hacia él, no necesariamente implican que ese individuo vaya a padecer la enfermedad, pues para provocarla debe desencadenar una reacción inmunomediada. En realidad, el diagnóstico se debería basar en la sumatoria de la signología clínica, hematología y bioquímica, la relación albúmina/ globulina en el suero o en la efusión, la medición de la Alfa-glicoproteína ácida, proteína de fase aguda (AGP), citología del líquido de derrame, la titulación de anticuerpos anticoronavirus, y la Reacción de Polimerasa en Cadena, interpretando todos estos datos en su conjunto y priorizando el criterio clínico; siendo el único diagnóstico confirmativo el histopatológico.

En la clínica diaria y como consecuencia de trabajar con derivaciones de casos sospechosos de la enfermedad se observa una gran confusión en la metodología diagnóstica para la misma, por ello el objeto del presente trabajo es precisamente detectar cuales son los puntos críticos en el camino diagnóstico y en la interpretación de las pruebas disponibles.

Materiales y método: Se efectuaron 100 encuestas anónimas a clínicos veterinarios orientados a animales pequeños, elegidos al azar. En la misma por medio del planteo de casos clínicos y de preguntas de respuesta breve y de opción múltiple, se verificó la comprensión de los alcances de las pruebas diagnósticas para PIF, por parte de los encuestados. La primera pregunta se orientaba a evaluar el grado de comprensión de un resultado positivo a la serología. La segunda y tercera preguntas tendían a verificar si el colega comprendía que métodos le permiten llegar al diagnóstico de una PIF efusiva. La cuarta hacía lo propio con un caso sospechoso de PIF no-efusiva. La 5ª pregunta demandaba de los encuestados una síntesis de la comprensión de la validez de los métodos diagnósticos.

Resultados: En la 1ª pregunta el 94% de los encuestados contestó incorrectamente pues le atribuían al método serológico una posibilidad de confirmar la enfermedad. Sólo el 6% demostró entender el alcance de esta prueba.

En la 2ª pregunta el 25% de los colegas demostraron entender la importancia de la evaluación físico-química y citológica de las colectas y su clasificación como exudado aséptico para el diagnóstico de PIF. El 15% consideró necesario aunar este resultado a otros tales como disminución de la relación albúmina/globulinas, valores de AGP mayores a 1500 ug/ml. En la 3ª solo un 23% demostró tener presentes los diagnósticos diferenciales de la forma efusiva de la enfermedad.

En la 4ª pregunta, relativa a la forma no efusiva, el 97% de los encuestados contestó en

forma incompleta cuáles son los signos clínicos y las pruebas complementarias a tener en cuenta en el diagnóstico.

En la última pregunta, solo un 15 % demostró comprender el valor diagnóstico de la AGP aunado con los signos clínicos y los resultados de los métodos complementarios de rutina, y el 85% señaló a la histopatología como método confirmativo de la enfermedad.

Conclusiones: Las encuestas realizadas nos permiten sacar básicamente tres conclusiones:

1-No se llega a valorar el alcance de la determinación de anticuerpos. Todos los métodos serológicos disponibles tienen la misma limitante: no diferenciar entre anticuerpos anti-PIF de los anti-coronavirus intestinales. Además, pueden persistir serologías positivas por varias semanas aún habiéndose eliminado el virus del organismo y los gatos con PIF no siempre evidencian anticuerpos elevados, por la formación de complejos inmune que "consumen" los anticuerpos. La utilidad del diagnóstico serológico radica en su correcta interpretación clínica, teniendo en cuenta el cuadro en su conjunto. El resultado positivo por sí solo no confirma nada, pues cualquier gato puede tener estos anticuerpos, sin estar enfermo, salvo cuando los títulos son muy altos y en ese caso la prueba que los determine debe ser muy bien controlada, cada vez que se ejecuta.

2- Se desconoce o no se interpreta el valor diagnóstico de métodos como la determinación de AGP proteína de fase aguda, que suele encontrarse en niveles superiores a 1500 ug/ml en los pacientes con PIF (normal 400). Como esta prueba revela concentración es necesario derivar la muestra junto con datos detallados sobre el paciente (signos y resultados de complementarios de rutina) para interpretarlos correctamente. Es un método que sumado a los demás datos puede resultar clarificador para el diagnóstico del animal vivo a fin de poder encarar un tratamiento antiviral.

3- Se diagnostican casos de PIF con signos inespecíficos y resultados serológicos positivos, llegándose a veces a sugerir la eutanasia de los animales en contacto por el solo hecho de resultar positivos a la prueba serológica. En realidad se debería tener presente que esta virosis que provoca una signología muy compleja y variada, requiere que se despliegue un abanico de métodos complementarios para tener una mayor certeza de diagnóstico.

Bibliografía:

- Addie, D.; Jarrett, O., "Infecciones por Coronavirus felinos" (G.E. Green, ed) W.B. Saunders, Philadelphia, 1998.
- Ettinger, S.; Feldman, E., "Tratado de Medicina Interna Veterinaria" Intermédica, 1997.
- Kirk, R. W.; Bistner, S. I.; Ford, R. B., "Manual de Procedimientos y Tratamientos de Urgencia en Animales Pequeños" Intermédica, 1994.
- Tilley, L. P.; Smith, F.W. K., "La Consulta Veterinaria en 5 Minutos" Intermédica, 1998.

ENCUESTA: La presente encuesta se ha desarrollado con el objeto de conocer las dificultades en la comprensión y el alcance de los métodos diagnósticos para PIF (totalmente anónima). Los resultados de la misma podrán ser consultados en un trabajo que será presentado en las 3as Jornadas de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UBA

Caso nº 1:

Felino, hembra, Oriental de 2 años. Presenta un estado sanitario bueno, como requisito para recibir servicio el veterinario le indica realizar test de VIF y VILEF y test de coronavirus. Se obtienen resultados negativos en VIF y VILEF y presenta título de Ac anti-coronavirus.

Se le diagnostica con ese estudio PIF y se indica eutanasia.

¿Cómo procedería Ud.?

- a- Realizaría la eutanasia
- b- Realizaría tratamiento sintomático
- c- No realizaría tratamiento ya que el título positivo solo indica contacto previo con coronavirus
- d- No lo trataría pero lo observaría periódicamente ya que en algún momento va a manifestar PIF

Caso nº 2:

Felino, macho, Común Europeo de 5 meses. Se presenta a consulta con disnea marcada y síndrome vestibular. Se realiza Rx de tórax y se evidencia colecta pleural.

¿Como arribaría al diagnóstico etiológico?

- a- Evacuaría la colecta y realizaría estudios de sangre
- b- Evacuaría la colecta, realizaría estudios de sangre y físico-químico-citológico de la colecta
- c- Evacuaría la colecta, realizaría estudios de sangre, físico-químico-citológico de la colecta y AGP
- d- Evacuaría la colecta y realizaría análisis de sangre y test de coronavirus

Caso nº 3:

Felino, hembra, Siamés de 8 meses. Se presenta a consulta con abdomen abultado y con signos de colecta abdominal.

¿Cuáles serían sus diagnósticos presuntivos?

- a- PIF Efusiva
- b- PIF Efusiva - Linfoma
- c- PIF Efusiva - Linfoma - Cardiopatía
- d- PIF Efusiva - Linfoma - Cardiopatía - Toxoplasmosis

Caso nº 4:

Felino, macho, Siamés de 6 años. Presenta signos de insuficiencia renal, uveitis anterior bilateral e ictericia.

¿Cuáles son sus diagnósticos presuntivos? PIF, Linfoma, Vilef, Hemobartonella.

¿Qué determinaciones de rutina de laboratorio lo orientan hacia el diagnóstico de esta enfermedad?

Signos clínicos, Relación A/G, Serología, AGP, estudio colectas, imágenes

Caso nº 5:

El diagnóstico definitivo de PIF se realiza por medio de: Histopatología..

DIAGNÓSTICO DE POLINEUROPATÍAS EN 23 CANINOS

SURANITI, AP.¹; GILARDONI, LR.²; MIRA, G.³; RAMALLAL, MG.²; DUCHENE, A.⁴;
RIGAZI, A.¹; CAIROLI, V.⁵

1Unidad de Neurología, 3Unidad de Laboratorio, 4Unidad de Histopatología 5Cirugía
2Área de Semiología.

Facultad de ciencias Veterinarias, UBA. Chorroarín 280, Bs. As. Hospital Escuela de
Medicina Veterinaria.

Introducción y objetivo: Las polineuropatías constituyen un síndrome neuropático, de inicio insidioso, curso crónico y etiología variada, citándose por ejemplo desórdenes endocrinos, metabólicos inmunológicos, infecciosos, e inflamatorios, entre otros, y de pronóstico reservado. Los signos clínicos son de neurona motora inferior (NMI), generalmente bilaterales y simétricos, manifestándose con hiporreflexia e hipotonía, parálisis o paresias de miembros, debilidad y mioatrofia neurogénica, disfagia, disfonía y regurgitación. El diagnóstico se realiza mediante un examen físico minucioso y estudios complementarios orientativos de la etiología. En el presente trabajo se expone la evaluación de 23 caninos de diferentes raza, edad y sexo con diferente signología neurológica sugerentes de polineuropatías.

Materiales y método: Fueron evaluados clínica y neurológicamente un grupo de 23 caninos con manifestaciones neurológicas diversas. Dicho grupo estaba compuesto por 6 Rottweiler, 2 Bóxer, 6 Ovejero Alemán, 1 Kuvasz, 4 Doberman y 4 mestizos; 14 hembras y 9 machos, mayores de 7 años de edad y entre 21-37 Kg. de peso. En la exploración física se observaron: hipotonía e hiporreflexia generalizada-progresiva de los cuatro miembros en 4 animales (4/23) con más de 3 meses de evolución; tetraparesia no ambulatoria y mioatrofia generalizada en 5 animales (5/23); cambios de voz en 7 pacientes (7/23) y regurgitación en 8 casos (8/23).

Se solicitaron pruebas de laboratorio: hemograma completo, bioquímica sanguínea (urea, creatinina, GPT, GOT, FAS, proteínas totales, albúmina, potasio, CPK y glucemia), TSH y T4 libre, y test serológico para toxoplasmosis (aglutinación directa -AD- e inmunofluorescencia indirecta -IFI-), y aglutinación directa para Neospora. Por cuestiones económicas de los propietarios, sólo en 6 pacientes se pudo realizar la determinación de anticuerpos antiacetilcolinesterasa (ACRA) para Miastenia Gravis. Se efectuaron en los 23 animales estudios electrofisiológicos de electromiografía (EMG) en los músculos semimembranoso, semitendinoso, tríceps braquial y deltoides bilaterales y velocidad de conducción nerviosa motora (VCNM) del nervio ulnar, radiografía de tórax en los 8 pacientes con regurgitación y biopsia de nervio peroneo y músculo (cuadriceps) en 3 casos donde la mioatrofia era moderada y permitían anestesia general para necesaria para el estudio.

Resultados: Los resultados del hemograma estuvieron dentro de los valores normales. Bioquímica sanguínea: aumento significativo de CPK en 5 pacientes (1.350 UI/L, 890 UI/L, 2.100 UI/L, 630 UI/L, 1.120 UI/L, VN: hasta 230 UI/L), las restantes determinaciones bioquímicas sin particularidades. Los niveles de TSH y T4 libre estuvieron aumentados en 7 casos (valor

normal de T4 libre de 1,5-4 ng/dl y de TSH valor normal entre no detectables y 0,40 ng/ml, valores superiores a 0,5 ng/ml indican hipotiroidismo). Los resultados serológicos para toxoplasmosis fueron positivos en 5 pacientes (títulos mayores a 1/128), obteniendo marcado incremento de título en las seroconversiones efectuadas a los 30 días post primo determinación en todos ellos. La AD para Neospora fue positiva en 1 caso. Los valores ACRA fueron superiores a 0,6 nmol/L en 4 animales, considerándose los positivos. La EMG determinó fibrilación por deservación en todos los músculos evaluados y la VCNM con valores entre 32-47 m/seg, siendo la velocidad normal entre 55-60 m/seg. Los cortes histopatológicos de biopsia muscular embebidos en parafina y coloración de hematoxilina-eosina, mostraron infiltrado inflamatorio con celularidad mixta, preponderantemente leucocitos mononucleares (linfocitos y células plasmáticas) y polimorfonucleares (neutrófilos y eosinófilos), en uno de los cortes se observó necrosis de miofibrillas. En la biopsia de nervio periférico se registró necrosis axonal con desmielinización y presencia de macrófagos.

Conclusiones: Los pacientes con manifestaciones crónicas y progresivas de debilidad muscular, mioatrofia, hipotonía, hiporreflexia y regurgitación, son sugerentes de presentar polineuropatía o síndrome neuropático. El diagnóstico se basa en la minuciosa exploración física y, de ser posibles, estudios electrofisiológicos como la EMG y la VCNM que junto a la biopsia muscular y de nervio periférico confirmarán el diagnóstico. Establecido el diagnóstico de polineuropatía, cobra importancia la investigación de la etiología mediante análisis de laboratorio para establecer una terapéutica correcta, supervisando periódicamente la evolución de la enfermedad por ser ésta de pronóstico reservado.

Bibliografía:

- Braund K. Symposium on Neuropathies in Dogs and Cats. Veterinary Medicine 1996.
Chrisman CL. Neuropathy. Problems in Small Animal Neurology. 1991
Chrisman CL. Polyneuropathies of Cats. Journal of Small Animal Practice. 41,2000
O'Brien JA, Harvey CE, Kelly AM y col. Neurogenic Atrophy of the Laryngeal Muscles of the Dog. J Small Anim Pract. 14:521-532, 1973

APLICACIÓN DE LOS POTENCIALES EVOCADOS VISUALES (PEV) EN FELINOS CON INMUNODEFICIENCIA

GÓMEZ, N.; SURANITI, A*; WOLBERG, A.; GISGERG, M.; FELJOO, S.; SEERY, H.

Facultad de Ciencias Veterinarias .Hospital Escuela. Chorroarín 380. Bs As

suraniti@speedy.com.ar

Objetivo: En el presente trabajo fueron evaluados 16 gatos FIV (+) con signos neurológicos, mediante los PEV .Se observó alteraciones de los PEV en dichos pacientes

POTENCIALES EVOCADOS VISUALES

Los potenciales evocados visuales (PEV) son potenciales eléctricos promedios tienen su origen en áreas encefálicas después del estímulo visual .Esas regiones son: los colículos rostrales, áreas pretectales y áreas visuales corticales específica (región occipital).

Los parámetros utilizados son: T de análisis 400 ms (milisegundos), sensibilidad 1,5 uV/div ,frec. estm: 2pps; Filtro bajas : 125 Hz; Filtro altas 1 Hz; Promediaciones 100.

Se colocan electrodos de inserción dérmica, se produce estímulos y a través de computadoras promediadoras , las señales obtenidas son analizadas.

Para efectuar los potenciales visuales pueden ser utilizados diferentes fuentes de luz como el flash y cámara. En Medicina veterinaria se usa el flash.

-Técnica de obtención registro-

El paciente debe tener una adaptación a la oscuridad de 15 minutos. Son colocados tres electrodos de inserción a nivel de: Cz (vertex, línea media en el centro de la cabeza) el electrodo negativo; en Oz (línea media de la cresta nuchal) el electrodo positivo y en Fpz (línea media entre los ojos) el electrodo tierra. Se usa la colocación de los electrodos según el Sistema Internacional 10/20.

El estímulo se efectúa con el flash ubicado a 15 cm de distancia del ojo a estimular. Por norma primero se ilumina el ojo derecho y se tapa con un algodón el otro ojo repitiéndose una segunda vez .En los canales A y B se obtienen los registros de los PEV del ojo derecho. El mismo método se realiza en el ojo izquierdo cubriéndose el derecho (canales C y D)

Si bien hay diferentes opiniones en cuanto a la valoración de los resultados se acepta como importante la obtención de la onda P100, también denominada P3 u onda IV, que debe a los 100 mseg, aunque por la obtención por flash puede encontrarse normalmente hasta los 130 mseg.

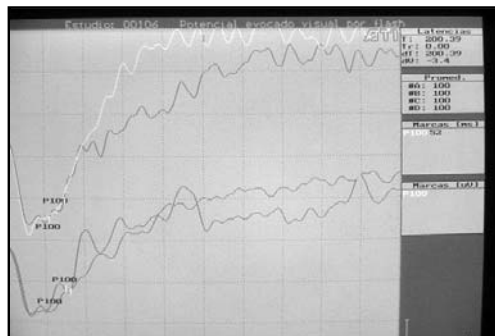
Materiales y método: Se evaluaron 16 gatos infectados por FIV, confirmado por medio de una nested-PCR.

El estadio de la enfermedad fue determinada en base a los signos clínicos (convulsiones parciales y generalizadas, ataxia de cabeza y miembros, síndrome vestibular y cerebeloso), resultados de métodos complementarios y la relación CD4/CD8 por citometría de flujo. Se efectuó el descarte de otras posibles etiologías como *Toxoplasma gondii*, Peritonitis Infecciosa felina, *Cryptococcus neoformans*.

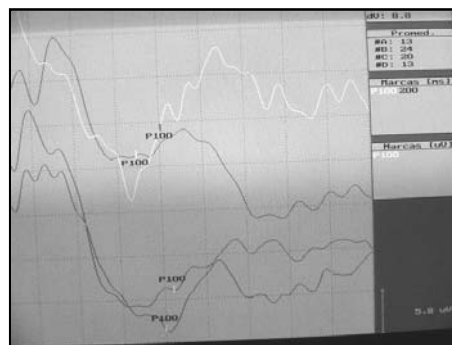
Los pacientes fueron sedados con Xilacina. Se realizaron los PEV de acuerdo a lo descripto.

Resultados: Los registros de los PEV mostraron en 8 pacientes un aumento de la latencia de la onda P100, obteniéndose latencias superiores a 162mseg.

Conclusiones: Los PEV mostraron enlentecimiento de la transmisión nerviosa, que puede ser atribuida a la presencia de infiltrados mononucleares en gatos VIF (+). Caben realizar futuras investigaciones con un mayor número de felinos VIF + con signos neurológicos a fin de poder utilizar dicho estudio como parte del diagnóstico y pronóstico de dicha enfermedad.



PEV conservados(fig1)
Onda P100 registrada a los 52 msec



PEV no conservados .Onda P100 registrada a los 200 msec(fig2)

Bibliografía

- Sims,Michael:Evaluación electrodiagnóstica de la audición y la visión.August.Paul cuddon.(447-453)1999.
- Sims MH; LarattaLJ,Visual Evoked potentials in cats using a light emitting diode stimulator .Am J Res 49:1876,1988 .

QUERATOCONJUNTIVITIS SECA CANINA UNA NUEVA ALTERNATIVA TERAPÉUTICA

DEL PRADO A, IVANIC J*, CHIAPETTO D, CARUSO MJ, GÓMEZ N.
Área de Clínica Médica en Pequeños Animales, Área de Cirugía
Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA
Chorroarín 280 (1427), juanivanic@yahoo.com

Introducción y objetivos: La queratoconjuntivitis seca (QCS) es una de las patologías frecuentes que conforman el grupo de enfermedades corneales en el perro. Ante la presencia de un canino con secreción ocular mucoide o mucopurulenta, una córnea de apariencia seca o pigmentada, la enfermedad debe ser descartada, por medio de la prueba de Schirmer (STT).

El depósito de pigmento sobre la córnea suele llevar a la pérdida de visión.

Esta enfermedad afecta animales de edad variable, siendo las razas más predispuestas el Cocker Spaniel, Pekinés, Shih-Tzu y Bulldog Inglés, entre otras.

La causa más frecuente de la enfermedad es inmunomediada.

Otras causas menos frecuentes están provocadas por el virus del Moquillo canino, administración de Sulfas, trauma orbitario, o la aplasia / hipoplasia congénita de la glándula lagrimal.

El tratamiento de la QCS consiste en: sustitutos de lágrimas, antimicrobianos, Pilocarpina y Ciclosporina A como inmunomodulador.

Un porcentaje de los pacientes no responde al tratamiento médico antes mencionado, con el riesgo de pérdida de visión por el depósito de pigmento en la córnea.

El objetivo del presente informe consiste en describir y difundir en nuestro medio, una nueva técnica quirúrgica de utilidad para ser empleada en aquellos pacientes que no han respondido a la terapéutica convencional.

Materiales y Método: Para la realización del presente informe se incluye un caso clínico de un Cocker Spaniel, hembra, de 6 años de edad.

El mencionado paciente se presentó a consulta con secreción ocular verdosa, bilateral, con una evolución de 1 año aproximadamente.

El valor del STT que presentaba en el momento de la primera consulta resultó 0 mm en ambos ojos, ambas córneas estaban pigmentadas, provocando un déficit visual parcial.

El canino había sido tratado con Ciclosporina A 2% y Pilocarpina durante 3 meses sin respuesta favorable, decidiéndose entonces poner en práctica esta nueva técnica quirúrgica.

Esta técnica consiste en un autotransplante (1.5 cm de largo x 0.5 cm de ancho) de la porción polistomática de la glándula salival sublingual al saco conjuntival inferior para aportar de esta manera secreción serosa, como una vía alternativa de lubricación.

Resultados: Desde los primeros controles realizados se observó mejoría en los signos clínicos, principalmente disminución de la descarga ocular verdosa, ambas córneas mostraron ser más brillantes como así también se observó mayor confort en el paciente.

La evolución del test de Schirmer se muestra en la tabla N°1:

Tabla N°1: Evolución de STT

| | O hs | 48 hs | 7 días | 14 días | 21 días | 28 días |
|-----|------|-------|--------|---------|---------|---------|
| STT | 0mm | 7mm | 21mm | 7mm | 9mm | 6mm |

CONCLUSIONES: La integridad de la película lagrimal preocular es de suma importancia para el mantenimiento de la transparencia corneal, cuando ésta se altera, la QCS se hace presente; de no mediar el tratamiento adecuado el depósito de pigmento en la córnea provocará déficit visual.

Este es el primer acercamiento a una nueva técnica quirúrgica (más sencilla de llevar a cabo que las ya descritas) que permitirá resolver una enfermedad de alta incidencia en la clínica diaria, y responsable de provocar ceguera en un alto porcentaje de animales.

Si bien un solo caso clínico no permite obtener resultados estadísticos, la mejoría observada permite concluir que la secreción aportada por el autotransplante ha sido beneficiosa para la superficie ocular.

Aclaración: La técnica fue presentada previamente en el Congreso Mundial WSV 2005.

Bibliografía

GüerriSSI JO, Belmonte J. Surgical Treatment of Dry Eye: Conjunctival Graft of the Minor Salivary Gland. The Journal of Craniofacial Surgery 2004; 15, 1: 6-10
del Prado, A; Gómez, N; Chiapetto, D; Ivanic, J; Caruso, M Polistomatic portion of

HIPERPLASIA DE LA GLÁNDULA DE LA COLA (COLA DE SEMENTAL) EN UNA GATA CON SIGNOS DE HERMAFRODITISMO. DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO

PALUDI, ALEJANDRO E.*; MINOVICH, FABIÁN G.**

* Médico Veterinario, Docente del área Fauna de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA, Jefe del Departamento de Medicina Felina del Hospital de la FCV de la UNLP

** Médico Veterinario, Docente de Medicina I de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA, Jefe de Cátedra de Patología Médica de la Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza

Introducción: Se describe como hiperplasia de la glándula de la cola u órgano supracaudal (cola de semental) a la patología descrita del órgano glandular situado en la superficie dorsal de la cola de los gatos, compuesto por un conjunto de glándulas sebáceas y apócrinas. Este conjunto de glándulas habitualmente no es visible, pero su estructura histológica está bien diferenciada.

Por causas multifactoriales en general concomitantes con encierros prolongados, falta de higiene, etc, suele acumularse en la zona descrita formaciones ceras, que se hacen notorias por estar los pelos de la zona pegoteados, con formación de costras y alopecia difusa; que con la cronicidad tiende a la hiperpigmentación y a una piodermatitis secundaria.

Esta patología se describe con asiduidad en machos de criadero, por lo que se lo denomina comúnmente "cola de semental". Si bien no es de aparición exclusiva en machos enteros, suele esporádicamente aparecer en hembras y en machos castrados.

Caso clínico: Se presenta a la consulta un felino hembra, de raza siamés, blue point, de 11 años de edad, con ovariosterectomía previa, que presentaba una alopecia difusa en la zona supracaudal y parte de la zona lumbar.

La descripción de las lesiones eran compatibles de hiperplasia de la glándula de la cola o "cola de semental"

A la anamnesis no llama la atención ningún dato importante que sea causa disparadora de la enfermedad.

Se procede al examen objetivo general sin obtener ningún dato en particular, salvo el problema dermatológico ya explicado.

A la inspección particular de los órganos sexuales externos se descubre un pene rudimentario entre los labios vaginales.

Se realizaron pruebas sanguíneas básicas (sin ningún parámetro alterado) y dosaje de hormonas sexuales como testosterona, estrógenos y tiroideas. Los valores alterados correspondieron a la testosterona que dio valores de 3,1 ng/ml (Laboratorio Biomédico Dr. Rapela). Los valores de testosterona en felinos machos enteros es de 1 a 10 ng/ml y en hebras hasta 0,80ng/lts

Conclusiones: Debido a la falta de pruebas fehacientes no podemos concluir que exista una relación entre la patología dérmica y el hermafroditismo, ya que la única manifestación de esta última patología en este caso clínico es el crecimiento de un pene en una hembra castrada;

sin embargo el descubrimiento de esta anomalía se realizó en base a la descripción de la cola de semental y a una sospecha clínica en busca de una causa que justifique esta patología en una hembra castrada.

Tampoco existen registros bibliográficos amplios como para determinar la presentación de los distintos grados de hermafroditismo en felinos, ni como los mismos se manifiestan.

FERTILIZACIÓN IN VITRO CON SEMEN FRESCO Y COMPLEJOS OVOCITO-CÚMULUS (COC's) OBTENIDOS POR ASPIRACIÓN FOLICULAR, EN LA ESPECIE

Lama glama

TRASORRAS, V.1, *; CHAVES, G.1; MIRAGAYA, M.1; RUTTER, B.1; GIULIANO, S.2;
DIRECTOR, A.2; CONDE, P.3; HERRERA, C.3; AGÜERO, A.1

Áreas de 1Teriogenología y 2Física Biológica, Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280, 1427. Capital Federal.

3Halitus Biotecnología, Halitus Instituto Médico, Buenos Aires.

*vtrasorras@fvvet.uba.ar

Objetivo: El objetivo del presente trabajo fue evaluar la factibilidad de producir embriones mediante la técnica de fertilización in vitro (FIV) a partir de semen fresco y COC's recuperados por punción y aspiración folicular por vía quirúrgica.

Materiales y métodos: Se utilizaron 2 machos adultos y 5 hembras adultas vacías y no en lactancia. Las muestras de semen se obtuvieron mediante electroeyaculación. Debido a que el eyaculado de esta especie es altamente viscoso, se realizó un pre-tratamiento con colagenasa. Los COC's utilizados fueron obtenidos mediante aspiración folicular por laparotomía por el flanco a partir de ovarios superestimulados con 1000 (n=3) y 1500 (n=2) UI de eCG (Novormon®, Syntex, Bs. As.). Las hembras recibieron 8 µg de busrelina EV (Receptal®, Hoechst, Bs. As.) 20 hs previo a la cirugía, para favorecer la maduración del ovocito. Los COC's recuperados fueron identificados bajo lupa estereoscópica (60-80x) y clasificados según su estado de maduración por la expansión del cúmulus (compactos, expandidos y denudados) y de acuerdo al tamaño del folículo del que provenían (folículos ≤ 0,69 cm y folículos ≥ 0,7 cm). Se colocaron en gotas de 25 µl de medio FIV (Fert-TALP + 6 mg/ml de albúmina bovina + 20 µg/ml de heparina + 5,9 µg/ml de Penicilamina + 2,1 µg/ml de Hipotaurina). Estas microgotas fueron luego inseminadas con 7µl de una suspensión de 14.000-70.000 espermatozoides totales y se las dejó incubar a 39 °C con 5 % de CO₂. Luego de 20 hs, los ovocitos se colocaron en gotas de 20 µl de medio SOF cubiertas con vaselina líquida estéril y 48 hs después, se evaluó el porcentaje de clivaje bajo lupa estereoscópica.

Resultados: Los resultados fueron los siguientes:

| TAMAÑO FOLICULAR | Nº de COC's recuperados | Nº de COC's en medio SOF (%) | Nº de embriones (%) |
|---------------------|-------------------------|------------------------------|---------------------|
| Folículos ≤ 0,69 cm | 24 | 19 (79) | 2/19 (11) |
| Folículos ≥ 0,7 cm | 34 | 34 (100) | 10/34 (29) |
| TOTAL | 58 | 53 (91) | 12/53 (23) |

Conclusión: De los resultados obtenidos, se concluye que es posible obtener embriones mediante la técnica de fertilización in vitro utilizando semen fresco y COC's obtenidos por punción y aspiración folicular por vía quirúrgica a partir de ovarios superestimulados.

Bibliografía:

Del Campo, M.R.; Del Campo, C.H.; Donoso, M.X.; Berland, M.; Mapletoft, R.J. (1994) *Theriogenology* 41: 1219-1229.

Director, A.; Giuliano, S.M.; Miragaya, M.H. 15th International Congress on Animal Reproduction. Agosto 2004, Porto Seguro, Brasil.

Giuliano, S.M.; Ferrari, M.R.; Miragaya, M.H.; Spirito, S.E.; Capdevielle, E.F.; Agüero, A. (2002) *Theriogenology* 57 (1):583. Abstract.

Miragaya, M.H.; Chaves, M.G.; Capdevielle, E.F.; Ferrer, M.S.; Pinto, M.; Rutter, B.; Neild, D.M.; Agüero, A. (2002) *Theriogenology* 57 (1): 731. Abstract.

ANÁLISIS PRELIMINAR DE DILUYENTES COMERCIALES PARA SEMEN PORCINO CONGELADO

SUHEVIC, J.*; CAMPI, S.; GONZÁLEZ, L.; JORGE, A.; GARCÍA, C.; CISALE, H.
Laboratorio de Calidad Seminal y Criopreservación de Gametas. Cátedra de Física Biológica.
Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA. Chorroarín 280. (1427).
Ciudad Autónoma de Buenos Aires. jsuhevic@fvet.uba.ar

Introducción: El uso de la inseminación artificial (IA) es cada vez más frecuente en granjas comerciales porcinas, empleándose semen refrigerado a 16°C con diluyentes de corta y larga duración. La calidad fecundante del semen conservado en estas condiciones disminuye pasadas 24 horas, a pesar de lo cual se prefiere su uso con respecto al congelado por no haberse obtenido a la fecha resultados satisfactorios con los distintos protocolos existentes.

Objetivo: Evaluar el comportamiento del semen diluido en diferentes diluyentes comerciales a temperaturas de 17°C y 5°C.

Materiales y métodos: Se trabajó con 8 eyaculados de verracos seleccionados, obtenidos por la técnica de la "mano enguantada". La calidad seminal fue evaluada teniendo en cuenta: características físicas del semen, motilidad (método subjetivo), pH, concentración (cámara de Neubauer), grado de aglutinación, coloración vital (Eosina/Nigrosina), integridad acrosómica (microscopio de contraste de fase), integridad funcional de membrana (HOS) y anomalías morfológicas. El semen fue diluido 1:2 con cuatro diluyentes comerciales seleccionados y estabilizado durante 2 horas a 17°C. Luego la muestra fue centrifugada a 1000 rpm durante 15 minutos y resuspendida en un diluyente de congelamiento estandarizado por nuestro laboratorio. Se efectuó una segunda estabilización a 17°C durante 2 horas. El semen fue enfriado hasta 5°C siguiendo una curva de enfriamiento rápida, estabilizándose nuevamente durante 2 horas y glicerolando al 3%. Luego de cada estabilización se realizó una evaluación de motilidad progresiva, coloración vital y HOS.

Resultados: En la tabla se detallan los promedios y desvíos estándar de cada una de las mediciones realizadas en el semen fresco a 36°C y con los diferentes diluyentes comerciales probados a 17°C para dos etapas del protocolo y a 5°C con el agregado de glicerol.

Conclusión: Para analizar los datos se utilizó el coeficiente de correlación y se aplicó estadística no paramétrica. Los resultados obtenidos con el análisis de Pearson sugieren que existiría un comportamiento similar de los cuatro diluyentes evaluados en la resistencia a la penetración del colorante a 17°C, así como una vez reemplazados por el diluyente de precongelado. A la vez, se observó una buena correlación en la respuesta al test de integridad de membrana para el semen conservado a 5°C, más allá del diluyente comercial usado.

La aplicación de estadística no paramétrica indicó la inexistencia de diferencias estadísticamente significativas $p < 0.05$ entre los diluyentes utilizados para este tamaño muestral.

Valores medios y desvíos estándar de los parámetros valorados para cuatro diluyentes comerciales.

| | | Motilidad | | Vitalidad | | HOS | |
|--------------------------------|-----------------|-----------|--------|-----------|--------|-------|--------|
| | | Media | Desvío | Media | Desvío | Media | Desvío |
| A 36° C | Semen fresco | 81,9 | 4,6 | 76,1 | 10,5 | 80,9 | 4,6 |
| 1ra estabilización a 17° C | Con diluyente A | 67,5 | 10,7 | 68,0 | 17,2 | 65,8 | 9,5 |
| | Con diluyente B | 65,0 | 7,6 | 62,1 | 16,7 | 67,1 | 11,2 |
| | Con diluyente C | 70,6 | 5,0 | 73,0 | 9,9 | 69,8 | 7,1 |
| | Con diluyente D | 69,4 | 6,8 | 71,3 | 14,9 | 70,1 | 8,0 |
| 2 da estabilización a 17° C | Con diluyente A | 56,9 | 5,9 | 68,1 | 13,3 | 53,9 | 8,3 |
| | Con diluyente B | 55,6 | 9,4 | 52,9 | 16,9 | 62,3 | 13,1 |
| | Con diluyente C | 60,0 | 6,0 | 65,1 | 9,3 | 62,8 | 8,1 |
| | Con diluyente D | 61,9 | 3,7 | 67,0 | 9,1 | 64,8 | 4,8 |
| Estabilización a 5° C | Con diluyente A | 46,3 | 1,6 | 63,9 | 9,8 | 49,9 | 13,3 |
| | Con diluyente B | 48,8 | 11,3 | 53,5 | 9,6 | 56,5 | 13,5 |
| | Con diluyente C | 53,8 | 6,4 | 65,5 | 9,5 | 56,0 | 10,8 |
| | Con diluyente D | 55,6 | 4,2 | 62,9 | 7,4 | 61,6 | 8,2 |

Bibliografía:

- Watson, P.F.: The Causes of Reduced Fertility of Cryopreserved Semen. *Animal Reproduction Science*, 60-61: 481-492 (2000).
- Johnson, L. A.; Aalbers, J. G.; Grooten, H. J. G. Artificial Insemination of Swine: Fecundity of Boar Semen Stored in Beltsville Ts (BTS), Modified Modena (MM), or Mr-A and Inseminated on One, Three and Four Days After Collection. *Zuchthyg.* 23,49-55 (1988).
- Rivolta M., S. Campi, H. Fernández, H. Cisale. "Optimización del test de hinchamiento osmótico (Hos Test) para semen porcino". Congreso Mercosur de Producción Porcina, Buenos Aires, Octubre 2000.

EVALUACIÓN DE PATOLOGÍAS DENTO-GINGIVALES EN GATOS PARA LA PLANIFICACIÓN DE SU TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

NEGRO, V*; HERNÁNDEZ, S; RODRÍGUEZ, D.; TORIGGIA P; CIAPPESONI, J
Área de Cirugía y Anestesiología y Servicio de Cirugía, HEMV, FCV, UBA, Chorroarín 280
(C1427CWO) Buenos Aires, Argentina. E-mail: vinegro@fvet.uba.ar

Introducción y objetivos: Aproximadamente 75% de los gatos mayores a 3 años presentan algún grado de enfermedad dento-gingival, según la bibliografía mundial, aunque es habitual que los propietarios no adviertan el problema hasta que haya alcanzado un estadio avanzado. El manejo adecuado de estas enfermedades incluye el reconocimiento y tratamiento de varios problemas específicos, principalmente: enfermedad periodontal, gingivitis o gingivo-estomatitis y lesiones odontoclásticas reabsortivas felinas (LORF). La detección temprana de estas alteraciones patológicas y su tratamiento adecuado en tiempo y forma es importante pues el principal signo clínico asociado a ellas, más allá de la halitosis, es el dolor. Éste se manifiesta como: cambios en los hábitos de alimentación (en muchos casos anorexia severa por el dolor, con la consecuente pérdida del estado general), hipersensibilidad oral y cambios de comportamiento. La presencia de estadios avanzados y la combinación de distintas enfermedades, complica significativamente el tratamiento. Por ello, no existiendo, en el conocimiento de los autores, datos en nuestro medio, se realizó este trabajo con el objeto de caracterizar (en sus diferentes estadios) la presencia de periodontitis, gingivitis y LORF en gatos adultos sometidos a anestesia, así como el empleo de los datos obtenidos para planificar el posible tratamiento quirúrgico de los animales afectados.

Materiales y Método: Pacientes felinos adultos de 2,5 a 13 años (n=15: 8 hembras y 7 machos) anestesiados para ser sometidos a cirugía (no bucal y sin signos clínicos de enfermedad oral actual) en el Servicio de Cirugía del HEMV, así como para ser castrados durante los trabajos prácticos del curso de Cirugía 2005 de la carrera de Veterinaria de la FCV de la UBA. Una vez anestesiados los gatos, con el auxilio de una sonda periodontal, un explorador dental y, en los casos en que fue posible, radiografía dental, se exploró su boca siendo examinado cada diente (n=510). Los datos obtenidos se anotaron en una planilla dental felina (identificación dental por sistema TRIADAN modificado para veterinaria) Se determinó: 1) dientes ausentes (la falta de los segundos premolares superiores -N° 106 y 206 en el sistema TRIADAN modificado- se consideró como una regresión filogenética y la ausencia de los otros tipos de dientes se los incluyó como pérdida posible asociada a progreso de LORF); 2) LORF (incluyendo en esta categoría a raíces retenidas y a los dientes ausentes anteriormente mencionados); 3) enfermedad periodontal (incluyendo gingivitis) y su estadificación de acuerdo a los siguientes índices preestablecidos: profundidad de bolsillo periodontal (medido en mm, normal hasta 1 mm), retracción gingival (medida en mm), índice gingival (grado I, II y III según gravedad), sitios activos (detectados por sangrado a la palpación con la sonda periodontal), índice de furca (grado 1, 2 y 3, según gravedad); índice

de movilidad (grado 1, 2, 3 y 4) e índice de cálculo (grado 1 a 4 según la superficie labial del diente ocupada por la placa bacteriana o cálculo dental). Una vez asentados los datos en la planilla se determinó la necesidad de tratamiento quirúrgico: desbridamiento periodontal supra y subgingival, gingivectomía y gingivoplastia, biopsia y exodoncia. Se informó a los propietarios para que, una vez recuperado el animal del procedimiento quirúrgico al que había sido sometido, pudiera solicitar el tratamiento adecuado para la enfermedad oral que padeciera su mascota, evitando complicaciones futuras.

Resultados: En esta comunicación, se presentan algunos de los resultados obtenidos. Los dientes ausentes fueron 8 segundos premolares superiores y 43 dientes de otros tipos, lo que redujo en 51 dientes, el número teórico de 510 a estudiar respecto de las otras características (n=422). De los 17 gatos estudiados, el 32,29% presentó un aumento en la profundidad del surco gingival (> a 1 mm), siendo afectados el 5,68% de los dientes; exhibiendo además 6 dientes una retracción gingival de 2 a 3 mm, planificándose la exodoncia de todos los dientes afectados por esta pérdida de sostén. La gingivitis afectaba al 70,59 % de los gatos y al 21,09% de los dientes, con sangrado que indicaba sitio periodontalmente activo, en el 11,61% del total de los dientes evaluados. El tratamiento quirúrgico planificado en estos casos fue desbridamiento periodontal, más gingivectomía y plastia en los grado I y II (con profilaxis hogareña de mantenimiento) y exodoncia con biopsia gingival, en los grado III. Se encontró cálculo y/o placa bacteriana sobre 95 dientes, la mayoría (67) grado 1, indicándose desbridamiento periodontal y profilaxis hogareña. Presentaron movilidad dental 23,53% de los gatos y el 1,66% de los dientes, planificándose la exodoncia en los grados 2 a 4; en los grado 1 desbridamiento periodontal y mantenimiento con profilaxis hogareña. Los gatos que presentaron exposición de la furca fueron el 11,76%, estando afectados el 1,42% de los dientes, indicándose la exodoncia. Se detectaron LORF en el 35,29% de los gatos, estando afectados el 4,74% de los dientes, aumentando al 5,21% con el auxilio de radiografías panorámicas (que sólo pudieron obtenerse en 3 de los gatos). Incluyendo a los dientes ausentes como consecuencia del avance de LORF (por socavación de la estructura dental con el avance de la enfermedad y pérdida dental como última fase del proceso), los gatos afectados aumentaron al 64,70% y los dientes al 15,88%. Los gatos mayores a 8 años, presentaron en un 100% LORF; los gatos más jóvenes (grupo menor a 5 años, representados por los animales anestesiados para ser castrados) presentó un 0% de LORF. Dentro de los animales mayores a 8 años, la distribución por sexo de LORF fue 63,67% de hembras y 36,36% de machos. Aplicando un test exacto de Fisher, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre la proporción de machos y hembras con LORF ($p=0,1974$).

Discusión y Conclusiones: Las enfermedades orales en el paciente felino pueden ser un problema frustrante tanto para el veterinario, como para el gato y su propietario. El diagnóstico precoz y acertado es fundamental a la hora de realizar una planificación terapéutica, para lo que es necesario un examen oral detallado y sistemático con el auxilio de una planilla dental. Por ello es importante aprovechar para efectuar dicho examen oral, cualquier acto anestésico a que deba ser sometido el gato, incluso cuando no presente signos actuales de enfermedad oral, a fin de detectar precozmente las lesiones y evitar que pueda llegar a padecer dolor oral

intenso que lo conduzca a una hiporexia o anorexia severa. Los resultados obtenidos hasta el momento revelan que la frecuencia con que se presentan las enfermedades dento-gingivales en los gatos de nuestro medio es alta, siendo la gingivitis el hallazgo más frecuente, notándose un aumento de LORF con el progreso de la edad sin una aparente predisposición por sexo. Al no estar disponibles datos de este tipo en nuestro país, serán de gran utilidad los resultados obtenidos en el presente estudio.

Este trabajo forma parte del Proyecto UBACyT: VO11 y del Programa Becas Estímulo 2004.

EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CALIDAD SEMINAL EN SEMEN PORCINO CRIOPRESERVADO CON VITAMINA E

SATORRE M, BREININGER E, BECONIM, BEORLEGUIN*

Área de Química Biológica, Facultad de Ciencias Veterinarias,

Universidad de Buenos Aires

Chorroarín 280, C1427CWO, Buenos Aires, Argentina. nbeorlegui@fvet.uba.ar

Objetivos: El objetivo del presente estudio fue evaluar parámetros morfológicos y dinámicos y el estado de precapacitación como indicadores de calidad seminal en espermatozoides criopreservados con y sin vitamina E.

Materiales y Métodos:

1. Criopreservación de semen porcino

Se congelaron muestras de semen de verraco (York x Pietrain) en pastillas con y sin el agregado de vitamina E (0.2 mg/ml) en el diluyente de congelamiento. La fracción rica del eyaculado se mantuvo en el recipiente de recolección durante 105-135 minutos hasta alcanzar la temperatura ambiente (22-24 °C). Luego las muestras se centrifugaron durante 10 minutos a 300 x g para separar el plasma seminal, el pellet resultante se resuspendió en el diluyente de congelamiento (BF5) y se realizó una curva lenta de enfriamiento durante dos horas hasta alcanzar una temperatura de 5 °C. Después del período de enfriamiento, se agregó el mismo volumen de BF5 conteniendo 2% de glicerol. El contenido fue mezclado por inversión y congelado en pastillas de 0.2 ml a -76 °C en hielo seco. Las pastillas se mantuvieron en nitrógeno líquido a -196 °C hasta su utilización.

2. Preparación de la suspensión espermática para su evaluación

Las pastillas provenientes de ambos tratamientos se descongelaron en el diluyente de descongelamiento a 37 °C durante 10 minutos. La suspensión espermática se centrifugó a 600 x g durante 5 minutos y se resuspendió en el mismo diluyente para evaluar los parámetros de calidad seminal.

3. Evaluación de la motilidad y viabilidad espermática

Se evaluó la motilidad espermática por microscopía óptica con platina termostatzada a 37 °C. La viabilidad se determinó por la técnica de eosina-nigrosina.

4. Técnica de epifluorescencia de clorotetraciclina (CTC)

Se observaron las modificaciones en la distribución de la fluorescencia de CTC en respuesta a los cambios en la membrana plasmática del espermatozoide. Las muestras se evaluaron según los diferentes patrones de CTC. Patrón F: muestra con epifluorescencia uniforme correspondiendo al espermatozoide no capacitado, patrón B: se observó fluorescencia solamente en la región post-acrosomal (espermatozoide capacitado) y el patrón RA: no posee fluorescencia salvo por una pequeña banda en el segmento ecuatorial y corresponde a espermatozoides con acrosoma perdido.

5. Evaluación de la integridad acrosomal en espermatozoides vivos

Se utilizó la técnica combinada de azul tripán 0.25% y microscopia óptica de contraste interferencial diferencial.

6. Determinación de la concentración espermática

La concentración se determinó por hematocitometría.

Resultados:

Parámetros de calidad seminal en muestras criopreservadas con (E) y sin (C) vitamina E

| | C | E |
|--|---------------------|---------------------|
| Motilidad total (%) | 39 ± 4 ^a | 46 ± 2 ^b |
| Viabilidad (%) | 49 ± 6 ^a | 52 ± 1 ^a |
| Integridad acrosomal (%) | 46 ± 1 ^a | 50 ± 1 ^b |
| CTC | | |
| Patrón F (%) | 47 ± 6 ^a | 50 ± 1 ^a |
| Patrón B (%) | 10 ± 1 ^a | 10 ± 1 ^a |
| Concentración (espermatozoides x10 ⁶ /mL) | 34 ± 8 ^a | 40 ± 8 ^a |

Media ± desvío estándar de los parámetros evaluados. Valores con diferentes letras dentro de una misma fila difieren significativamente (P<0.05, n=5, Prueba de T de student)

En muestras congeladas con vitamina E aumentó significativamente la motilidad post-descongelamiento.

No se detectaron diferencias significativas en la viabilidad, concentración y estado de precapitación entre ambos tratamientos.

Se observó un aumento significativo de la integridad acrosomal en las muestras congeladas con vitamina E.

Conclusiones: El efecto antioxidante de la vitamina E estaría preservando la integridad de la membrana plasmática y mitocondrial, conservando la capacidad de generar energía oxidativa requerida para la motilidad.

La preservación de la integridad acrosomal, pero no de la viabilidad en presencia de la vitamina E, confirmaría la hipótesis que la membrana plasmática del espermatozoide porcino es intrínsecamente más lábil que la membrana acrosomal externa.

En el espermatozoide bovino, la criopreservación produce un estado precapitado, que en el porcino se acentuaría por la labilidad que presentan las membranas debido al elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados; la presencia de vitamina E no modificaría este estado de pre-capitación.

De acuerdo a nuestro modelo experimental, se sugiere la inclusión de vitamina E en el diluyente de congelamiento para mejorar la calidad espermática del semen porcino criopreservado.

Agradecimientos: Bravestar SA, Dra. Cintia Faletti

CAPACIDAD DE CONSERVACIÓN DEL SEMEN PORCINO SEGÚN LA TASA DE DILUCIÓN

WILLIAMS, S.; FERNANDEZ, V.; DE LA SOTA, R.L.

Instituto de Teriogenología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, CC 296, B1900AVW, La Plata, Argentina

Introducción y Objetivo: El uso de la inseminación artificial (I.A.) en la especie porcina, es un método reproductivo cada vez más difundido. Además, recientemente, la aplicación de nuevas tecnologías en I.A. porcina, como las técnicas intra-uterinas (IA-IU), utilizan un bajo número de espermatozoides y de volumen para cada una de las dosis, que difieren según los autores.

El objetivo del presente trabajo es comparar la capacidad de conservación del semen porcino, según cuatro diferentes tasas de dilución, según el efecto del verraco y de la estación del año.

Materiales y Métodos: Las muestras de semen fueron obtenidas de dos padrillos provenientes de cruzamientos comerciales y de fertilidad comprobada, de entre 1,5 a 2 años de edad. Los animales estaban alojados en padrilleras individuales, con una dieta convencional compuesta de maíz molido y un concentrado proteico-mineral-vitamínico. La extracción de semen se realizaba utilizando la técnica de presión manual, recogiendo la fracción espermática del eyaculado, en un recipiente estéril y provisto de una doble tela de gasa para filtrar la porción gelatinosa. Al semen, se le realizaba la evaluación seminal de rutina, en microscopio de luz a x400, determinándose motilidad individual, concentración espermática y porcentaje de morfoanomalías con el uso de la cámara cuentaglobulos de Bürker.

El semen era diluido en dosis con diferente concentración, según lo usado comúnmente en IA-IU: 1) 3×10^9 espermatozoides en 100 ml; 2) 1×10^9 espermatozoides en 100 ml; 3) 3×10^9 espermatozoides en 50 ml; 4) 1×10^9 espermatozoides en 50 ml. El eyaculado era diluido en diluyente MR-A y conservado a 15°C. Las muestras de semen fueron controladas cada 24 h, evaluando la motilidad hasta 72 h de conservación.

Se realizaron tres experiencias diferentes, y entre las mismas, los padrillos tuvieron un período de descanso de una semana. Una de las experiencias se realizó en verano (Diciembre 2002 , n = 44), la otra en invierno (Junio/Julio 2003 , n = 72) y la última en primavera (Septiembre 2003 , n = 40)

Los datos fueron analizados utilizando el análisis de varianza (Anova, Stargraphics plus 4.0), para determinar el efecto del día de conservación y la tasa de dilución sobre el porcentaje de motilidad y el tipo de motilidad o vigor (en una escala de 0-5), para cada uno de los verracos, sobre el total de los datos o según la estación del año en que se realizó la experiencia.

Resultados: Los valores promedios hallados en el día de la colecta fueron:

Padrillo 1: volumen 100 ml; motilidad: 72%; vigor: 3.9; concentración: $61,5 \times 10^7$ espermatozoides/ml; morfoanomalías: 25%

Padrillo 2: volumen 105 ml; motilidad: 80%; vigor: 4; concentración: $71,9 \times 10^7$ espermatozoides/ml; morfoanomalías: 3.75%

Al analizar el efecto de la estación del año sobre la calidad seminal de semen durante la conservación, se observó un comportamiento similar entre los padrillos. Los menores valores de porcentaje de motilidad se hallaron en la primavera y la mejor calidad seminal en invierno (Tabla 1), aunque se hallaron diferentes valores entre los padrillos.

Tabla 1: Porcentaje de motilidad a diferente concentración, según la estación del año

| Días de conservación | Porcentaje de motilidad | | | | | |
|----------------------|-------------------------|----------|-----------|------------|---------------------|-----------|
| | Padrillo 1 | | | Padrillo 2 | | |
| | Verano | Invierno | Primavera | Verano | Invierno | Primavera |
| Día 1 | 46.67 | 33.33 | 8.75 | 63.12 | 68.75 ^b | 51.87 |
| Día 2 | 33.75 | 22.50 | 18.75 | 51.25 | 60.00 ^{ab} | 52.50 |
| Día 3 | 32.50 | 25.83 | -- | -- | 50.42 ^a | 51.87 |

Superíndices diferentes en una misma columna, indican diferencias significativas, $P < 0.05$

Sin embargo, cuando se estudió la influencia de la estación del año sobre la conservación, en dosis de diferente concentración, se observó un comportamiento distinto de la calidad seminal según los padrillos. Mientras que para el padrillo 1 los mejores valores fueron hallados utilizando dosis de 3×10^9 esp/50ml, para el padrillo 2 la mejor motilidad se halló en dosis tradicionales (3×10^9 esp/100ml (Tabla 2)

Tabla 2: Porcentaje de motilidad de dosis de diferente concentración, según la estación del año.

| Concentración de las dosis | Porcentaje de motilidad | | | | | |
|----------------------------|-------------------------|----------|-----------|------------|----------|---------------------|
| | Padrillo 1 | | | Padrillo 2 | | |
| | Verano | Invierno | Primavera | Verano | Invierno | Primavera |
| 3×10^9 esp/100ml | 42.14 ^{ab} | 32.22 | 5.00 | 65.00 | 59.44 | 60.83 ^{bc} |
| 1×10^9 esp/100ml | 38.57 ^{ab} | 24.44 | 17.50 | 51.25 | 56.11 | 47.50 ^b |
| 3×10^9 esp/50ml | 50.00 ^b | 33.33 | 15.50 | 57.50 | 60.56 | 70.00 ^c |
| 1×10^9 esp/50ml | 25.71 ^a | 18.89 | 17.50 | 55.00 | 62.78 | 30.00 ^a |

Superíndices diferentes en una misma columna, indican diferencias significativas, $P < 0.05$

Conclusiones: En base a los resultados hallados, se puede concluir que la respuesta a la conservación varía mucho según los animales, existiendo amplias variaciones individuales, aún partiendo de eyaculados con valores aceptables y similares en el día de la recolección, y que dichas diferencias se mantienen, cuando el semen se diluye en dosis de diferente concentración, como así también por efecto de la estación del año. Asimismo, la preparación

de dosis con una concentración de 3×10^9 espermatozoides en 50 ml, no parece perjudicar la conservación. Sin embargo, y debido a las variaciones individuales halladas, cabe remarcar la importancia de determinar la concentración mínima por dosis y la capacidad de conservación de eyaculados, individualmente para cada padrillo.

**TUBERCULOSIS PORCINA. CARACTERIZACIÓN BACTERIOLÓGICA Y
MOLECULAR DE MYCOBACTERIAS AISLADAS DE CERDOS
FAENADOS EN LA PAMPA HÚMEDA**

*MARTÍNEZ VIVOT M¹; MARTICORENA D¹; ZUMÁRRAGA M²; CATALDIA²;
BELGRANO D³; BARBONIA. y MORAS E.V.¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Argentina. ²Instituto de Biotecnología CICVyA-INTA, Castelar. ³SENASA. *mvivot@fvvet.uba.ar

Introducción: Los cerdos son susceptibles a la infección con *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), *Mycobacterium avium* y *Mycobacterium tuberculosis* (3). En la Argentina el *M. bovis* es el principal responsable de la infección en los porcinos y suelen adquirirla por vía oral a través del consumo de leche o subproductos lácteos crudos (1). Así es como los niveles de prevalencia de la tuberculosis en porcinos reflejan habitualmente los registrados en la población bovina local y la erradicación de la enfermedad en el ganado contribuye a reducir la infección en cerdos (2, 4).

El objetivo de este trabajo fue realizar el diagnóstico de la Tuberculosis porcina utilizando técnicas bacteriológicas y moleculares.

Materiales y Métodos: fueron inspeccionados en establecimientos faenadores de la pampa húmeda, ganglios y vísceras de 1253 cerdos pertenecientes a 15 lotes de animales procedentes de diferentes localidades de las provincias de Córdoba, Santa Fé y Buenos Aires. El muestreo se realizó durante 2003 y 2004, se basó en la recolección de todas aquellas lesiones compatibles con Tuberculosis (LCT) y un 10 % de cada lote que no evidenció lesiones macroscópicas. En este caso se tomaron al azar linfonodos mesentéricos, gastrohepáticos, retrofaríngeos y mediastínicos.

El aislamiento y la tipificación bacteriológica de las muestras se realizó en base a cultivo en medios de Stonebrink y Löwenstein-Jensen, tiempo de desarrollo, pruebas bioquímicas y enzimáticas, según la metodología convencional (5).

Para la tipificación molecular de los *M. bovis* aislados, se utilizó la técnica de Spoligotyping, que se destaca por su reproducibilidad y sencillez de realización e interpretación. Es una técnica de hibridación reversa que se basa en la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) de una región de repeticiones directas (DR) presente en las mycobacterias que integran el complejo *mycobacterium tuberculosis* y entre las cuales se encuentran secuencias polimórficas denominadas espaciadores (6). Las secuencias de los espaciadores se encuentran fijadas en una membrana de nylon y luego se hibridan con los productos de PCR. Esta técnica permite diferenciar aislamientos de *M. bovis* por la presencia o ausencia de un número de espaciadores conocidos. Un patrón de Spoligotyping es definido por la presencia o ausencia de cada uno de los 45 espaciadores. Así, una muestra es identificada como *M. bovis* cuando están ausentes los espaciadores 3; 9; 16; y 39 a 43. Dos muestras con patrones diferentes, corresponden a cepas diferentes, mientras que dos muestras con patrones idénticos, probablemente sean derivadas del mismo clon.

DECONDENSACIÓN IN VITRO DE CROMATINA ESPERMÁTICA BOVINA

VIEYTES A*, SPIRITO S, CISALE H, FERRARI M

* Área Producción de Bovinos de Leche. Fac. de Ciencias Veterinarias UBA. Chorroarín
280. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. avieytes@mail.retina.ar

Introducción: El núcleo espermático de mamíferos está constituido en su mayor parte por cromatina. La alta estabilidad del núcleo espermático es el resultado del reemplazo de histonas por protaminas y de la formación de un gran número de puentes disulfuro formándose una estructura casi cristalina. La decondensación de la cromatina in vitro se logra mediante la acción de agentes reductores como el ditioneitol (DTT) que rompen esos puentes disulfuro.

Objetivo: El propósito del presente trabajo fue analizar el comportamiento de la cromatina espermática (ADN y proteínas básicas) durante la decondensación in vitro inducida con DTT.

Materiales y Métodos: Se utilizaron espermatozoides bovinos congelados de al menos dos pajuelas provenientes de un mismo eyaculado de 10 toros fértiles.

Decondensación nuclear (NCD): Muestras de semen descongelado se incubaron en tubos Eppendorf, a temperatura ambiente, a razón de 100 μ l de semen (6,5 x 10⁶ espermatozoides/ml), en 100 μ l de DTT al 1% en agua destilada. Los tiempos de incubación usados fueron 2 y 11 minutos. Se colocaron 0,4 μ l de la mezcla anterior en cada portaobjetos para hacer los extendidos. Se secaron rápidamente con una corriente de aire a temperatura ambiente para detener la reacción del DTT.

Coloraciones: Sobre los extendidos se realizó la Reacción de Feulgen (específica y estequiométrica con el ADN), la Coloración con Azul de Toluidina (colorante intercalar con efecto metacromático que colorea a los espermatozoides inmaduros o decondensados) y la Técnica de coloración con Plata Amoniacal (específica de proteínas básicas nucleares tales como histonas y protaminas).

Morfometría del núcleo espermático: Los núcleos espermáticos coloreados con Feulgen se midieron con un analizador de imágenes (Kontron Bildanalyse, MiniMOP) sobre microfotografías digitalizadas. Se determinó el valor de caracteres morfométricos directos (Área, Perímetro y Longitud de los ejes mayor y menor), y caracteres indirectos (forma = 4π área perímetro²; cociente entre el área de los núcleos tipo I, II, III, IV y el área promedio los núcleos tipo I; cociente entre los ejes mayor y menor).

Estadística: La comparación de mediciones morfométricas de distintos tipos de núcleos decondensados se hizo aplicando la prueba de ANOVA y contrastes de Scheffe, usando el programa Statistics 7.1.

Resultados: Los núcleos coloreados con la Reacción de Feulgen se clasificaron en 4 tipos según la distribución del ADN: I (no reaccionado o sin modificaciones observables a microscopía óptica, similares a los controles sin tratamiento con DTT), tipo II (núcleo pequeño y muy coloreado), tipo III (núcleo vacuolado con leve pérdida de la forma) y tipo IV (núcleo muy decondensado, grandes vacuolas, importante pérdida de la forma)

Los cambios en el núcleo espermático, revelados a través de la Reacción de Feulgen, tendrían

la siguiente secuencia temporal: tipo I, tipo II, tipo III y tipo IV. Las determinaciones morfométricas dieron los siguientes resultados para los núcleos tipo I, II, III y IV respectivamente:

Forma: $0,78 \pm 0,00^a$; $0,73 \pm 0,01^b$; $0,67 \pm 0,02^c$; $0,76 \pm 0,02^{ab}$

Área tipo (I,II,III,IV) / Área promedio tipo I: $1,00 \pm 0,01^a$; $0,52 \pm 0,02^b$; $0,66 \pm 0,01^c$; $1,37 \pm 0,11^d$

Eje menor / eje mayor: $0,51 \pm 0,01^a$; $0,46 \pm 0,01^b$; $0,41 \pm 0,01^c$; $0,61 \pm 0,02^d$

El análisis de varianza mostró para las tres características analizadas diferencias significativas entre los cuatro tipos de núcleos, (Forma, $F = 23,21$, $P < 0,0001$; Área tipo (I, II, III, IV) / Área tipo I, $F = 110,62$, $P < 0,0001$; Eje menor / eje mayor, $F = 39,42$, $P < 0,0001$). Los contrastes de Scheffe indicaron que los cuatro tipos nucleares diferían significativamente en las relaciones: Área tipo (I, II, III, IV) / Área promedio tipo I; Eje menor / eje mayor pero no en la característica forma. (Los superíndices diferentes indican diferencias significativas para cada característica)

La coloración Azul de Toluidina permitió distinguir 4 tipos de núcleos: tipo A (tamaño normal y coloración muy tenue y homogénea), tipo B (tamaño y forma normales con coloración intensa y generalmente homogénea), tipo C (con vacuolas y moderada pérdida de la forma), tipo D (decondensados, muy vacuolados y con importante pérdida de la forma). El Tipo A expresa una respuesta al tratamiento con DTT ya que los controles (sin tratamiento con DTT) presentan núcleos espermáticos sin colorear (fantasmas).

La coloración con la Técnica de Plata Amoniaca permitió clasificar a los núcleos en tres tipos: Ag1 (núcleos pequeños con una distribución homogénea de gránulos de plata); Ag2 (núcleos medianos con el mismo tipo de gránulos de plata que los anteriores y otros por encima más densos y grandes); Ag3 (núcleos grandes con muy pocos gránulos grandes de plata, algunos en la zona apical y otros en lugares no específicos). Bajo Contraste de Fase se pudo comprobar que con dos minutos de tratamiento con DTT todos los espermatozoides tenían gránulos de plata mientras que en los controles (sin tratamiento con DTT) no se observaron dichos gránulos. Al aumentar el tiempo de exposición con DTT, hubo pérdida de proteínas observándose un incremento en el número de gránulos de plata fuera de los núcleos. Con once minutos de tratamiento con DTT se encontraron las mismas formas que las observadas a los 2 minutos pero en distinta proporción, disminuyeron los pequeños Ag1 y aumentaron los medianos Ag2. Se observó una gran cantidad de gránulos de plata en el campo y bajo contraste de fase se observaron grandes núcleos, Ag3, con dos, uno y ningún gránulo. Durante el proceso de decondensación primero se formaron cluster de protaminas que se visualizaron como gránulos densos y grandes en el tipo Ag2, luego se perdieron hasta llegar a núcleos vacíos de protamina pero no de ADN.

Conclusión. Con las tres coloraciones se detectó un aumento en el tamaño nuclear al decondensarse la cromatina espermática. Aunque la Reacción de Feulgen y el Azul de Toluidina colorean ADN, los tipos de núcleos observados con estas coloraciones no son comparables debido a que la fijación, la forma de unión al ADN y el grado de especificidad es distinto en ambas.

La coloración con Plata Amoniaca dio una visión distinta de la decondensación de la cromatina, pues colorea específicamente las protaminas a diferencia de las coloraciones anteriores. El uso simultáneo de microscopía de interferencia y de contraste de fase permitió comprobar que hay pérdida de proteínas cuando el núcleo espermático aún conserva ADN.

COHERENCIA CEREBRAL INTRAHEMISFÉRICA EN CANINOS: DESCRIPCIÓN Y ESTANDARIZACIÓN

*VIDAL FIGUEREDO, R.; PELLEGRINO, F.

Área de Anatomía, Facultad de Ciencias Veterinarias, U.B.A. rvidalfigueredo@hotmail.com

OBJETIVOS: Analizar la coherencia cerebral intrahemisférica en caninos adultos normales, describiendo su comportamiento y características, a efectos de definir sus patrones de normalidad.

MATERIALES Y MÉTODO: Se trabajó con 24 animales sanos mayores de un año de edad de distintas razas, con edades de 1 a 13 años (media: 6,5 años). Todos los perros resultaron normales al examen físico y neurológico, y ninguno de ellos tenía antecedentes de enfermedad neurológica.

Para obtener los registros electroencefalográficos se utilizó montaje referencial, con electrodo de referencia nasal, procesado con un programa diseñado para electroencefalografía computada y reconstrucción por mapeo cerebral (AKONIC BIO- PC versión modificada 7.0), con 12 canales simultáneos de registro. El tiempo mínimo de registro fue de 30 minutos.

La restricción de los animales se realizó mediante inyección subcutánea de xylazina (Rompún®, Bayer Argentina S.A.), en dosis de 1 mg/kg.

Se realizó la estimación espectral para cada uno de los estudios; a partir del espectro de potencia se calculó la coherencia intrahemisférica en ambos hemisferios cerebrales para los pares de electrodos occípito-parietales (O-P), occípito-frontales (O-F), occípito-frontopolares (O-Fp) occípito-temporales (O-T) y témporo-frontopolares (T-Fp). Los resultados se analizaron desde dos aspectos: a) a partir del pico de potencia cruzada (PPC), seleccionando la frecuencia a la que se encuentra la armónica de mayor potencia común a ambas señales; b) por bandas de frecuencia, estimando el promedio de los valores de coherencia para las bandas theta (4-7.5 Hz.) y alpha (8-13.5 Hz.). Debido a que las variables en estudio no presentan comportamiento normal, para realizar el análisis estadístico se utilizaron métodos no paramétricos (Kruskal-Wallis; $p < 0.05$).

RESULTADOS:

a) Análisis de la coherencia a partir del PPC: no se hallaron diferencias significativas en los valores de coherencia de ambos hemisferios cerebrales ($F: 0.03$ $P: 0.8682$).

La frecuencia a la que se halla el PPC es similar en todos los pares de canales estudiados, presentando una media de $7,20 \pm 1.84$ Hz. ($F: 2,15$ $P: 0.0262$). Los canales O-P muestran un comportamiento significativamente diferente a los demás en cuanto a los valores de coherencia propiamente dicha ($F: 11,27$ $P: < 0.0001$), presentando una media de 0.90 ± 0.93 ; para los restantes pares de canales la media fue de 0.68 ± 0.18 . En cuanto al espectro de fase, los pares de canales O-P y O-F presentan comportamiento similar entre ellos ($F: 7,77$ $P: < 0.0001$) con una media de 3.37 ± 7.93 ms, y diferente al resto, que presenta un valor medio de 11.52 ± 20.54 ms.

b) Análisis de coherencia por bandas de frecuencias: no se hallaron diferencias significativas en los valores de coherencia de ambos hemisferios cerebrales ($F: 0.32$ $P: < 0.572$)

El valor de coherencia analizado por bandas de frecuencia solamente muestra diferencias

significativas entre los valores promedio de las bandas Theta y Alpha en los canales Fp-T del lado derecho (0.46 +/- 0.20 y 0.49 +/- 0.18 respectivamente) ($p < 0.05$). En el resto de los pares de canales estudiados no se encontraron diferencias significativas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES: En este estudio la coherencia intrahemisférica presentó un comportamiento similar en ambos hemisferios cerebrales.

La frecuencia del PPC se ubica en el límite superior de la banda theta (4-7.5 Hz.), mostrando en todos los pares de canales estudiados valores mayores a 0.6, lo que indica que la señal registrada es similar entre ellos.

El gradiente que presenta la coherencia intrahemisférica, con valores significativamente mayores para los pares de canales O-P respecto al resto, se debería a la proximidad y al gran número de conexiones intracorticales que existe entre las regiones registradas. Los altos valores de coherencia intrahemisférica que presentan los demás pares de canales pueden atribuirse a que el 95% de la sustancia blanca cerebral está constituida por fibras de conexión intrahemisféricas.

Los valores del espectro de fase de los canales O-P y O-F podrían explicarse en virtud de las conexiones anatómicas que relacionan las áreas occipitales con las frontales y parietales, dadas no solamente por fibras intracorticales sino también por el tracto cingular (ubicado en profundidad del giro cingular), que es muy grueso en su trayecto hasta el surco cruzado, a partir de donde disminuye su grosor llegando al polo rostral del hemisferio con una baja cantidad de fibras.

El estudio de coherencia por bandas de frecuencias mostró un comportamiento similar para el promedio de las bandas de frecuencia alpha y theta en todos los pares de canales estudiados. Este hecho se debería a la presencia de sólidas conexiones intracorticales que permiten la difusión de la señal, en forma independiente del lugar donde se genere.

La diferencia en el comportamiento de la coherencia entre las bandas alpha y theta hallada en los pares de canales Fp2-T4 (del lado derecho), no se relacionaría con ninguna conexión anatómica específica, sino mas bien a la existencia de interferencias de señales de origen extracerebral que pueden filtrarse en esa región (por ejemplo, movimientos de los ojos).

El estudio de la coherencia cerebral intrahemisférica es uno de los indicadores de la actividad eléctrica de la corteza cerebral, que permite evaluar la similitud de las señales registradas entre diferentes áreas de un hemisferio, así como las relaciones anatómicas y/o funcionales existentes entre ellas. El estudio de la coherencia intrahemisférica obtenido a partir del PPC se presenta como una herramienta que resumiría de forma confiable el comportamiento de la coherencia evaluada por banda de frecuencias.

El análisis de la coherencia podría utilizarse para la identificación de generadores neuronales patológicos que se encuentran superpuestos a los generadores normales, aún mimetizándose con ellos. Este hecho tiene aplicación directa en individuos epilépticos.

La epilepsia idiopática es una afección caracterizada por crisis recurrentes debidas a una descarga excesiva y sincrónica de las neuronas cerebrales. Este fenómeno eléctrico se relaciona a la presencia de "células marcapaso" en la corteza cerebral, que constituyen un generador neuronal patológico con la capacidad de alterar los ritmos electroencefalográficos normales.

Esta alteración se manifiesta en el EEG interictal de solamente el 33 % de los caninos epilépticos idiopáticos, por medio de eventos paroxísticos epileptiformes. En aquellos individuos que no muestran alteraciones evidentes en el análisis visual del EEG interictal (67 % de los casos), la coherencia podría ser la única variable capaz de identificar alteraciones funcionales que permitan caracterizar al paciente epiléptico.

PROTOTECOSIS CANINA: REPORTE DE UN CASO EN MENDOZA, ARGENTINA

DUCHENE A1., FLORES D2.; MERA Y SIERRA R.3; VERNI, A1

1: Fac. Ciencias Veterinarias, UBA 2Fac. Ciencias Veterinarias UMAZA

3. Fac. Ciencias Medicas UNCuyo

Introducción: La Prototecosis es una infección causada por un alga aclorofílica del género Prototheca. Se conocen tres especies: *P. wickerhamii*, *P. zopfii* y *P. stagnora* siendo las primeras dos, patógenas para animales y humanos. Se reproducen mediante endosporulación, produciendo células esféricas de 8 a 25 micras de diámetro. Prototheca puede hallarse en el medio ambiente en vegetales, suelo y aguas superficiales, incluso en aguas cloacales. La inoculación con Prototheca puede ocurrir por trauma, picadura de insectos, mediante maniobras quirúrgicas o a través de piel lesionada al contactar con agua contaminada. En humanos produce principalmente cuadros cutáneos, ocasionalmente articulares y también sistémicos. Ha demostrado ser patógena para caninos, felinos, bovinos, ciervos, y murciélagos. En bovinos es una causa común de mastitis. En caninos puede producir enfermedad tanto cutánea como sistémica, habiéndose reportado casos en Estados Unidos, Gran Bretaña, África y Australia. En una revisión de la literatura en Medline no se ha encontrado reporte de casos caninos en la República Argentina

El Objetivo del presente trabajo es presentar un caso de Prototecosis canina cutánea en la República Argentina.

Materiales y Métodos: Se recibe para su análisis histopatológico material de dos nódulos cutáneos, uno del plano nasal, otro del pabellón auricular, obtenidos de un canino, hembra, de raza Rottweiler, de 2,5 años de edad, oriundo y residente en la provincia de Mendoza. El mismo presentaba nódulos múltiples, dérmicos-subcutáneos. Los materiales fijados en formol al 10% son procesados para inclusión en parafina. Se realizan cortes seriados cada 4 micrones. Se colorean con Hematoxilina-Eosina (H/E) y P.A.S. Las observaciones histológicas sugieren la realización de un cultivo de tejido, para lo cual se procede a extirpar un nuevo nódulo. El mismo se remite en recipiente estéril. En el laboratorio es homogenizado y sembrado en medio de Agar Sangre y Agar Saboreaud cultivándose a 25° y a 37°C. En el material cultivado se realiza observación directa, tinción de Gram y de Giemsa.

Resultados: el estudio histopatológico de las biopsias cutáneas, reveló un proceso inflamatorio granulomatoso dérmico subcutáneo con formaciones redondeadas fagocitadas y libres. Las mismas presentaban cápsula clara, tabicaciones y endosporas. El diagnóstico indicó una micosis subcutánea, sugiriéndose la posibilidad de prototecosis. En los cultivos tanto en Agar Sangre como en Agar Saboreaud a 25 y 37 grados se observó en 72 horas abundante desarrollo de colonias cremosas de aspecto levaduriforme. En la observación directa se pudo ver células esféricas (esporangios) de diverso tamaño, desde pocas micras hasta 25 micras. A la tinción se observa dentro de las mismas las características esporangiosporas, identificándose así como Prototheca spp.

Discusión: Este caso de prototecosis canina sería el primero reportado en Mendoza y no

existen publicaciones referidas a dicha patología en caninos de la Argentina . La presentación cutánea ha sido descrita por diversos autores en otros países. La histopatología es una herramienta fundamental para el diagnóstico diferencial preliminar, que incluye granulomas (infecciosos, por cuerpo extraño, estériles), abscesos y neoplasias.

La presentación cutánea puede asemejarse a otras patologías fúngicas tal como esporotricosis, histoplasmosis, blastomicosis, etc. La diferenciación y el diagnóstico definitivo se obtiene mediante el cultivo en el cual, a los pocos días, se observa el desarrollo de las colonias con su aspecto microscópico característico.

Bibliografía:

Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat, Cowel, R.; Tyler, R.; Meinkoth, J.

Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat., Baker, R.; Lumsden, J.

Enfermedades infecciosas en Perros y Gatos., Craig Greene. Capítulo 69. 2º edición., Mac Graw-Hill.

Special Veterinary Pathology., Mac Gavin, M.; Carlton, W.; Zachary, J., 3º edición. Mosby.

ÚLCERA SUPERFICIAL CRÓNICA EN CANINOS

Ivanic J*, Chiapetto D, del Prado A, Gómez N.

Servicio de Oftalmología, Hospital Escuela, Área de Clínica Médica en Pequeños Animales
Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA, Chorroarín 280 (1427) juanivanic@yahoo.com

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS: La Úlcera Superficial Crónica es una enfermedad que afecta la córnea del canino descrita por primera vez en el Boxer en el año 1965, para luego diagnosticarse en más de 40 razas caninas.

El déficit de hemidesmosomas en la capa basal del epitelio corneal y/o el de factores de crecimiento en las lágrimas son característicos en esta enfermedad.

Suelen afectarse con mayor frecuencia animales de mediana edad.

Clínicamente se observa un borde de epitelio que crece sobre el defecto corneal pero es incapaz de adherirse al mismo, siendo característica la difusión subepitelial de la fluoresceína.

El objetivo del presente informe consiste en describir las medidas terapéuticas, que los autores consideran apropiadas, para la resolución de este tipo de úlceras.

MATERIALES Y MÉTODO: En la presente comunicación se incluyen casos clínicos (n=15) atendidos durante los meses de Enero a Julio del 2005 en el Hospital Escuela. En todos los pacientes fue descartada la presencia de factores que favorecerían la persistencia de una ulceración corneal (ej. cilia ectópica, anomalías palpebrales, distiquiasis, triquiasis, etc).

Como agente midriático - ciclopléjico fue utilizada la Atropina al 1% y como agente antimicrobiano la Tobramicina 0.3%.

Las medidas terapéuticas empleadas fueron:

Desbridamiento del epitelio corneal y topicación con tintura de yodo fuerte (procedimientos que estimulan la producción y fijación de membrana basal y hemidesmosomas normales).

Plasma autólogo (aporte de factores de crecimiento, TGF, EGF, etc, y alfa 2 macroglobulina con actividad anticlagenasa).

Queratotomía en grilla (favorece la adherencia del epitelio al estroma corneal por interrupción del colágeno estromal).

Aprotinina (inhibidor de la plasmina, proteasa encontrada en altas concentraciones en úlceras refractarias).

Cloruro de sodio al 5 % (para disminuir el edema estromal que puede interferir con la fijación del epitelio corneal).

RESULTADOS: El 80% (n=12) de los pacientes respondió favorablemente y en un período de 21 días al desbridamiento epitelial, topicación con tintura de yodo fuerte (procedimientos realizados en forma semanal) más el agregado de plasma autólogo 4 veces al día.

En el 20% (n=3) restante se continuó con el mismo tratamiento antes mencionado realizándose además queratotomía en grilla; sólo 1 paciente respondió favorablemente a los 7 días de la misma, en los 2 restantes fue necesario la incorporación de aprotinina con el agregado de cloruro de sodio al 5 % simultáneamente 6 veces al día); uno de estos pacientes respondió

a los 10 días, mientras que el otro requirió de tres semanas de tratamiento para la resolución de la úlcera.

CONCLUSIONES: La mayor parte de los pacientes respondió positivamente al desbridamiento epitelial, topicación con tintura de yodo fuerte y plasma autólogo, mientras que la falta de respuesta en un 20% obligó el uso de otras medidas terapéuticas.

La falta de respuesta inicial en este porcentaje de pacientes podría deberse a la mayor cronicidad que presentaba la enfermedad.

Una vez diagnosticada la misma, el empleo de los procedimientos antes mencionados, permitirá la cicatrización de este tipo particular de úlcera de córnea.

Bibliografía:

Gelatt, K. N. & Gelatt, J. P.; Handbook of Small Animal Ophthalmic Surgery, Volume 2: Corneal and Intraocular Procedures. Pergamon. 1995

Gelatt, K. N.; Veterinary Ophthalmology. Third Edition - Lippincott, Williams &

ULTRASONOGRAFÍA DE MASTOCITOMA DIGESTIVO EN FELINOS, REPORTE DE UN CASO

Zeo, G1 *; Molina2, E; Suarez3, J

1-2 Departamento de Medicina : Area Clínica Médica de Pequeños Animales.Facultad De
Ciencias Veterinarias UBA 3 Práctica Privada
gracezeo@yahoo.com.ar,emarinam@hotmail.com,
Chorroarín 280 ,Ciudad Autónoma de Buenos Aires, CP 1427

INTRODUCCIÓN: El mastocitoma es un tumor del tejido hematopoyético. En el gato, los mastocitos se concentran en mayor número en la dermis, mucosa intestinal e hígado.

A diferencia de los caninos, en los que predomina la forma cutánea, en los felinos las presentaciones más reportadas son las del sistema linforreticular, cutánea y del tracto gastrointestinal, siendo ésta última la de mayor incidencia en gatos gerontes.

OBJETIVOS: Describir las características ultrasonográficas del mastocitoma digestivo en un felino remarcando las similitudes con el linfoma intestinal, lo cual puede generar que esta patología sea poco considerada como diagnóstico diferencial de las neoplasias de tracto gastrointestinal.

MATERIALES Y MÉTODOS: Fue llevado a consulta un felino hembra, mestizo europeo de 12 años de edad por pérdida de apetito, vómitos aislados, diarreas sanguinolentas episódicas y manto deslucido.

Se realizó un examen clínico completo y posteriormente un examen ultrasonográfico del abdomen con un Scanner Pie Medical 200 con transductor sectorial de 5 y 7,5 MHz y exámenes de laboratorio prequirúrgicos que incluyeron hemograma y bioquímica sanguínea.

Se recurrió a la histopatología para confirmar el diagnóstico de la neoplasia intestinal y epidérmica.

RESULTADOS: En la revisión clínica del paciente se encontró una tumoración cutánea en zona glútea izquierda y a la palpación abdominal se percibió una masa mesogástrica irregular y no dolorosa.

Los exámenes de laboratorio revelaron: Hematocrito 38%, Hemoglobina 12 gr/dl, Leucograma 7.870 / mm³, uremia 15 mg/dl, Creatinemia 0,3 mg/dl.

En la ecografía abdominal se visualizó una pérdida de estructura laminar normal de la pared intestinal con proyección excéntrica de contorno irregular hipocogénica y compromiso del linfonódulo mesentérico satélite, lo cual fue interpretado como una neoplasia intestinal cuyo principal diagnóstico diferencial fue linfoma digestivo.

Para confirmar la patología se decidió recurrir a laparotomía exploratoria, mediante la cual se encontró una neoplasia intestinal con linfadenopatía mesentérica que comprometía la circulación principal de yeyuno e ileon. Por las características invasivas se decidió no practicar enterectomía obteniéndose una muestra para histopatología la cual reveló que se trataba de un mastocitoma digestivo.

El diagnóstico histopatológico de la neoplasia cutánea fue de basiloma.

CONCLUSIONES: La presencia de un mastocitoma cutáneo puede hacer sospechar una metástasis digestiva, pero en este caso el tumor de piel no tenía correspondencia con el intestinal, de donde se desprende que la forma digestiva fue de presentación primaria.

Las características ecográficas de la neoplasia de este paciente eran indistinguibles de las producidas en linfomas digestivos en gatos, por lo cual se concluye que solo es posible llegar al diagnóstico definitivo a través de citopatología- histopatología.

Un aporte diagnóstico de la ultrasonografía en estos casos es la determinación de la extensión de la lesión y el compromiso de los linfonódulos satélites.

BIBLIOGRAFÍA

- Amy Sato ,DVM, Mauricio Solano,MV Ultrasonographic findings in Abdominal Mast cell Disease: A Retrospective Study of 19 Patients, *Veterinary Radiology & Ultrasound* ,Vol 45, N° 1 2004 ,pp 51-57
- Nyland / Mattoon *Small Animal Diagnostic Ultrasound Second Edition* 2002
- Avila NA ,Ling A. ,Worobec AS,et al Systemic Mastocytosis: CT and US Feature of abdominal manifestations. *Radiology* 1997, 202: 367-372.
- Cartee R.E. et al. *Practical Veterinary Ultrasound* 1995

UTILIZACIÓN DE LOS POTENCIALES EVOCADOS VISUALES EN CANINOS

Suraniti 1, AP.; Gilardoni 2, LR.; Ramallal 2, MG.; Aiello 1, N.; del Prado 1, Potenzoni 1, A.;
Marina 1, L.

1. Hospital Escuela. 2. Área de Semiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA.
Chorroarín 280

INTRODUCCIÓN: Los PEV son potenciales eléctricos promedios originados en zonas encefálicas en respuesta a la fotoestimulación visual, permitiendo el diagnóstico de ceguera central (amaurosis), en aquellos casos de lesiones tanto en las vías visuales posteriores a los cuerpos geniculados laterales (CGL) como en las del lóbulo occipital. En dichos cuadros los reflejos fotomotores pupilares (RFP) y la electroretinografía (ERG) arrojarán respuestas normales, no así los potenciales evocados visuales (PEV), que se hallarán no conservados, determinando el diagnóstico topográfico de la lesión encefálica.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se evaluaron 18 caninos entre 4 y 9 años de edad, de diferente raza y sexo, que presentaban ceguera y signos neurológicos de convulsiones generalizadas (16/18), convulsiones parciales (6/18), síndrome cerebeloso (8/18), mioclonos (7/18). Se les realizó la prueba de deambulación simple y con obstáculos, respuesta a la amenaza, RFP, oftalmoscopia directa, y ERG. Los estudios de PEV se realizaron con equipo ATI Nautilus, flash y sistema 10/20, adaptación de los pacientes a la oscuridad de 15 minutos, sin utilización de sedantes ni midriáticos y colocación de 3 (tres) electrodos aguja. El electrodo negativo Cz (vertex, línea media de la cabeza), electrodo positivo Oz en la línea media de la cresta nugal y el electrodo tierra (Fpz) en la línea media entre los ojos.

RESULTADOS: En los 18 pacientes las pruebas de deambulación y la respuesta a la amenaza fueron negativas. Los RFP y la ERG fueron normales en 11 animales y en los 7 restantes fueron anormales, realizándoseles los PEV, presentando ondas P100 con latencias superiores a 175 mseg (VN 72 ± 40). (Ver figuras 1 y 2)

CONCLUSIÓN: Los PEV tienen valor diagnóstico y pronóstico en neurología y neurooftalmología al evaluar objetiva y cuantitativamente las vías visuales desde los CGL hasta los lóbulos occipitales. Especialmente en la evaluación de la agudeza visual en cuadros neurológicos desmielinizantes, convulsiones, neoplasias encefálicas, etc.

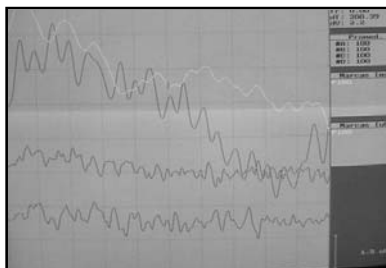


Figura 1-PEV no conservados, de escasa amplitud con prolongación de la latencia de la onda P100.

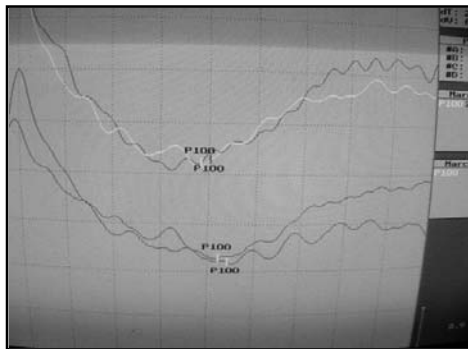


Figura 2-PEV conservados con amplitud y latencias normales de las ondas P100.

Bibliografía

- Braund Kyle G. Evoked Activity in Spinal Cord. Evoked Activity in the Brain. Clinical Syndromes in Veterinary Neurology .Second Edition,1994,pp362-368-
- Chiappa ,Keith H,MD. Evoked Potentials in Clinical Medicine .Cap I,II,III.
- Delamónica. Potenciales evocados.Electroencefalografía.1984.599-622