UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS

"Francisco García Salinas"

UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

LA SOCIEDAD MEXICANA DE PATOLOGOS VETERINARIOS A.C.

MEMORIAS DEL

XV CONGRESO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINARIA

ZACATECAS, ZAC.

"Patrimonio Cultural de la Humanidad"

21, 22 y 23 de Junio de 2006.

UAMVZ – UAZ Carr. Panamericana Zac –Fres. Km 31.5 ☎ (01-478) 98-5-02-02

AGRADECIMIENTOS

Las memorias impresas del XV Congreso Nacional de Patología Veterinaria no hubieran sido posibles sin el invaluable y desinteresado apoyo de la Dra. Gema A. Mercado Sánchez.
Así mismo agradezco al Consejo Zacatecano de Ciencia y Tecnología, a la Secretaria de Turismo del Estado de Zacatecas a la Oficialia Mayor del Estado de Zacatecas, al Instituto Zacatecano de Cultura Ramón López Velarde las facilidades brindadas en la realización de este evento. Del mismo modo a la Rectoría, Secretaría General y la Secretaría Académica de la Universidad Autónoma de Zacatecas. De la misma manera doy las gracias a todas las personas que de una manera desinteresada intervinieron para la realización del congreso.

INDICE

Página

Directorio
Mensaje
CONFERENCIAS MAGISTRALES
La inmunohistoquimica en el diagnostico de las enfermedades infecciosas de los cerdos: Alberto Stephano. Stephano Consultores, SC..... 2

El empleo de un programa abierto, amistoso y eficiente, de aprendizaje a distancia, para los maestros y alumnos de patología veterinaria. Germán Valero, Emma Serrano ……..…… 8

Descripcion de lesiones microscopicas. Dr. Enrique M. Aburto Fernández…… 13

TRABAJOS EN FORMA ORAL
Detección del virus de diarrea viral bovina por inmunohistoquímica y elisa de captura de antígeno en animales persistentemente infectados. MVZ Edna Vianey Valencia Morales, Elizabeth Morales Salinas, MVZ EAPV Félix D. Sánchez Godoy, MVZ MPA Frida Salmerón Sosa……..…… 20

Caracterización patológica e inmunopatológica inducida por nematodos en pulmones de ovinos infestados naturalmente. Roberto Montes de Oca Jiménez , Betsy Coyote-Camacho , María U. Alonso-Fresan , María E. López-Arellano…… 28

Indicadores de funcionamiento renal de corderos pelibuey tabasco en engorda. Felipe Juárez Barranco, Gabriela Silva Hidalgo, Martín López Valenzuela, Rubén Barajas Cruz, Marco Antonio Espino García, Leonardo Almeida Vega……..…… 33

Utilización de la condición corporal y medición del diámetro y número de adipositos para determinar las reservas grasas y su distribución en la canal de cabras de genotipo cárnico. Saúl Paz Hernández, Eugenia Candanosa Aranda, Andrés Ducoing Watty, Javier Gutiérrez Molotla….. 38

Utilización de la condición corporal y medición del diámetro y número de adipocitos para determinar las reservas grasas y la composición de la canal de cabras de genotipo lechero. Efrén Salamanca Vargas, Eugenia Candanosa Aranda, Andrés Ducoing Watty, Javier Gutiérrez Molotla…….. 44

Tumor venéreo transmisible canino ¿benigno o maligno? Evaluación

histopatológica. Esperanza N. Vázquez-Mota, Raúl C. Fajardo-Muñoz, José S. Matínez, Emilio J. Cordova-Alarcón…….. 50

Estudio descriptivo de la caracterización patológica de las neoplasias caninas remitidas al CIESA-FMVZ de la UAEM. Raúl C. Fajardo Muñoz; Aidé Alpízar Pérez, Claudia Alejandri; Valente Velásquez Ordoñez; Lemuel León Lara; Benjamín Valladares Carranza; José Luis Zamora Espinosa; Simón Martínez Castañeda; Marco Antonio Barbosa Mireles; Ada Elia Díaz González Borja…….. 56

Cardiomiopatía experimental inducida con digoxina y furosemida en canideos. Francisco Daniel Martínez Jiménez, Maximiliano Zamora Ensastegui, Yazmín Hernández González, Valente Velázquez Ordóñez, José Luis Borques Gastelum, Marco Antonio Barbosa Míreles 60

Diagnóstico inmunohistoquímico de dermatosis inmunomediadas en perros domésticos. Bedolla MA, Constantino FC, Salas GG……... 66

Dirofilaria immitis en el municipio de santa maria del oro nayarit. González morteo C.A., P. Arteaga Nochebuena, C.O. de la Cruz Moreno……. 71

Sarcoma histiocítico diseminado asociado a síndrome hemofagocítico en un perro Luis Enrique García Ortuño, Enrique Aburto Fernández, Karla Sombra …… 76

Estudio clínico restrospectivo de espiroquetosis en heces caninas de pacientes sospechosos a leptospira sp asistido con la tinción de rojo congo. Flor Ivette Robledo Alvarado, Carlos Emilio Baldwin Sevilla , Juan José de Jesús Chávez…… 83

Evaluación citológica de *malassezia pachydermatis* en el conducto auditivo externo de perros. Sandy Martínez Reyes, Eugenia Candanosa Aranda. 90

Estudio de los trastornos del comportamiento, y presentación de signos neurofisiopatológicos en el cerdo cisticercosis, relacionados con la localización anatomotopográfica del metacéstodo de taenia solium en el sistema nervioso central. Humberto Cisneros Murillo. Aline S. de Aluja, José ramírez lezama. luis felipe rodarte cobarrubias..... 96

Evaluación del nitrato de plomo en el modelo biológico de trucha arcoiris (*oncorhynchus mikiss*). Valladares, C.B. ; Palomares, S.M.E.; Aguilar, H.J.C.; Castro, M.J.; Zamora, E.J.L.; Talavera, R.M.; Zaragoza, B.A.; Pedraza, S.F. : Vega, C.L.F. …… 100

Enfermedades encontradas en el cultivo de la tilapia en el estado de colima, méxico. Luis Jorge García Márquez José Luis Vázquez García Omar Francisco Prado Rebolledo Fernando Constantino Casas David Osorio Sarabia Edmundo Urcelay Gonzalez Erika Alejandra Macias

Hernández Sihomara Sharon Ortíz Guardado…….. 106

Linfoma intestinal en un caballo: hallazgos citológicos, histopatólogicos y ultraestructurales. Luis E. García O, Carlos Cedillo P, Félix Sánchez G, Luis I Montesinos R, Irma E Candaosa A, Guadalupe Ramírez, Ramiro Calderon……. 115

Bioacumulación y alteraciones histopatológicas del clorhidrato de clenbuterol en modelo conejo. Valladares, C.B.; Pedraza, S.F.; Zaragoza, B.A.; Castro, M.J.; Zamora, E.J.L; Talavera, R.M.; Velázquez, O.V.; Hinojosa, G.J.L.; Palomares, S.M.E.; Aguilar, H.J.C……. 122

Diseño y aplicaciones de péptidos sintéticos en medicina veterinaria (la proteína TV LEGU-1 de *trichomonas vaginalis* como modelo) Salas Garrido Gerardo, Ortega López Jaime, Arroyo Verástegui Rossana……..... 128

Utilidad de la biopsia por aspiración con aguja fina en hígado, en el hospital general de México. Miriam Damián Sandoval, Reynaldo Gurrola Quezada, Jesús Aguirre García y Patricia Alonso de Ruiz…… 136

Cas iigli induce apoptosis *in vitro* en células de carcinoma de colon humano y tiene efectos antiproliferativos *in vivo* en un modelo de xenotransplantación. Francisco Carvallo Chaigneau, Isabel Gracia Mora,Ernesto Rodríguez Aguilera, Carlos Cedillo Peláez, Lucía Macías Rosales, Celedonio Gómez Ruiz, Vicente Madrid Marina, Lena Ruiz Azuara, Fernando Constantino Casas…… 145

Citología de orina y estudio microscópico del sedimento urinario. Correlación clínico patológica. Nuria de Buen de Argüero, Asela Berenice Meza León, Larisa Chávez Soriano…… 155

Correlación citohistológica. Importancia en el diagnóstico. Bedolla MA, Romero LR, de Buen NA. ……. 160

Diagnostico ultraestructural de agentes virales: Estudio Recapitulativo de 1996 A 2005 Carlos Cedillo P, Gerardo Salas G, Fernando Constantino C……..… 164

Lesiones inducidas en ratones transgénicos portadores del gen vpu del VIH-1 Raúl, Fajardo; Christian Lemaire; Gaetan Mayer; Allegria Kessous-Elbaz…… 172

La ética en el diagnóstico *ante-mortem.* Beatriz vanda cantón..... 176

Evaluación Y Comparación De 3 Desparasitantes En La Infección Por *Trichinella Spiralis* En Fase Intestinal Y Muscular En Modelo

Experimental Murino Y Suino. M.V.Z. María Isabel Chávez Ruvalcaba, M. en B. Gabriela Reveles Hernandez, M. en C. Jesús Muñoz Escobedo, Dr. en C. Mario Rodolfo Morales Vallarta, Dra. en C. María Alejandra Moreno García ……. 178

Comparacion Del Quimioterapéutico Albendazol (Comercial, Del Sector Salud Y Generico) En El Tratamiento De Trichinellosis En Fase Muscular En Murinos. María Isabel Chávez Ruvalcaba,Jesús Muñoz Escobedo, Dr. en C. Mario Rodolfo Morales Vallarta, María Alejandra Moreno García. …….. 185

TRABAJOS EN FORMA DE CARTEL

Neumonía Causada Por Una Infección Simultánea Con Distemper Y Adenovirus En Un Perro En Nuevo León. Luis Edgar Rodríguez-Tovar, Rafael Ramírez-Romero, Yazel Valdez-Nava, Alicia. M. Nevárez-Garza, Juan José Zarate-Ramos , Alfonso López……. 189

Cuantificación de células cebadas durante la fase inflamatoria aguda de la reacción local de arthus activa en conejos con diabetes crónica. Perla María Hernández Mendoza , Karla Yanneth Coronado Manzanares, Luis Edgar Rodríguez Tovar, Alicia Magdalena Nevárez Garza Y Rafael Ramírez Romero……. 194

Evaluación del proceso patológico provocado por la infestación artificial con cepas puras de *b. bigemina* y *b. bovis* en bovinos hereford, y nuevas alternativas terapeuticas. Francisco De Paula Jardim Alves-Branco , Adriana De La Rosa Figueroa , Maria De Fátima Munhós Sapper , Luciano Rocha Fagundes Alves-Branco , Marcos Vinicius Vasconselos Camargo , Paulo Sérgio Alves-Branco Duarte , Roberto Cavalheiro Rita , Reginaldo Freitas De Souza…….. 202

Evaluación del proceso patológico provocado por la infestación artificial con cepa pura de *anaplasma marginale* en bovinos hereford, y nuevas alternativas terapeuticas. Francisco de Paula Jardim Alves-Branco , Adriana De La Rosa Figueroa , Maria De Fátima Munhós Sapper , Luciano Rocha Fagundes Alves-Branco , Marcos Vinicius Vasconselos Camargo , Paulo Sérgio Alves-Branco Duarte , Roberto Cavalheiro Rita, Reginaldo Freitas de Souza …….. 208

Recuperación del proceso patológico entérico causado por desafio experimental de *eimeria acervulina, eimeria maxima* y *eimeria tenella* en pollos de engorda mediante prueba en piso. Adriana De La Rosa Figueroa , Jorge Arceo Padilla, Martín López Rojas, Lauro Trejo Castro, Fernando Parrodi López , Pedro Pérez Silva , Catalina Sánchez Quntanilla …… 213

Tiflitis ulcerativa asociada a yersinia enterocolitica en dos becerros. Enríquez Vázquez Alejandro, Estrada Salas Erika Áurea, Río Alfaro

Josefina…….. 219

Adenocarcinoma acinar del intestino grueso en un canideo hembra adulto: reporte de caso. Montes De Oca Solano Sergio, Fabián Morán María Concepción, Velásquez Ordóñez Valente, Fajardo Muñoz Raúl……..… 223

Frecuencia de las lesiones en la piel, pulmones, hígado y estómago de los cerdos sacrificados en el rastro de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia;-universidad autónoma de yucatán, durante un periodo de 4 meses. Leonardo Guillermo Cordero, Marco A. Torres León y Rafael Colín Flores…… 228

Primer reporte nacional de hipoplasia pulmonar primaria en un cachorro. Castro Maruri Jennie, Zamora Espinosa José Luis, Valladares Carranza Benjamín, Fajardo Muñoz Raúl C., León Lara Lemuel……..... 236

Reporte de un caso de rinotraqueítis infecciosa bovina asociada a virus sincitial respiratorio. Zamora Espinosa José Luis, Castro Maruri Jennie, Valladares Carranza Benjamín, Fajardo Muñoz Raúl C., León Lara Lemuel…….. 243

Reporte de un caso clinicopatológico de la enfermedad de las mucosas. Fajardo Muñoz Raúl C.; Díaz González, Borges. Ada E.; Gallego Alarcón Ivan; Atalo Martínez Lara, Jose Luis Zamora Espinoza, Valladares Carranza Benjamín, Castro Maruri Jenny…….. 248

Caracterización histopatológica de la placa de crecimiento de los huesos largos en el basset hound. Simón Martínez Castañeda, Raúl Fajardo Muñoz Y Rogelio Alonso Morales……..… 252

Informe de casos compatibles con una infección con el circovirus porcino tipo 2 en Yucatan. (primer reporte en el estado). Marco A. Torres León, Jorge C. Rodríguez Buenfil. Leonardo Guillermo Cordero y Pilar Ruiz Gómez……..…….. 258

Presencia de cobre asociado a hepatitis crónica con presentación cirrótica en un caballo. Trejo, C.A., González, v .M.A., Buzo, M.W., Marín, R.L.F., Rodríguez, T.L.E., Nevárez, G.A.M., Ramírez, R.R., Robles, A.L.A. ……. 264

Neumonias más comunes en cerdos. informe de 40 casos. Chapa B. J, Rodríguez G. E, Moreno V. S, Sánchez G .F, Tecpa F. Z, Juárez R. M, Martínez R. ……. 268

Histomoniasis en pavo real (pavo cristatus) procedente de colima, México. Luis Jorge García Márquez José Luis Vázquez García Omar Francisco

Prado Rebolledo Tiburcio Lizama Munguía Sihomara Sharon Ortiz Guardado. ……. 270

Linfoma esplénico en un perro. Luis Jorge García Márquez José Luis Vázquez García, Ramón Ruelas Avilés, Erika Alejandra Macias Hernández, Ricardo Alzaga Nuñez……. 276

Mixoma subcutáneo en un bovino. Luis Jorge García Márquez, José Luis Vázquez García, Gabriela Chávez Torres, Omar Francisco Prado Rebolledo, Ricardo Álzaga Núñez, Martha Macias de la Mora……..… 281

Prototecosis focal en un canino. descripción de un caso clínico-patológico. Ma. Teresa Dorantes Ramírez, Eugenia Candanosa Aranda, Carlos Santoscoy Mejía, Edna Vianey Valencia……... 285

Uropatía parcial obstructiva unilateral en un perro. Luis Jorge García Márquez, Ramón Ruelas Avilés, José Luis Vázquez García, Shiomara Sharon Ortíz Guardado, Ricardo Álzaga Núñez……... 290

Lesiones branquiales por *centrocestus formosanus* en peces dorados (*carassius auratus*) de la ciudad de mexico. Lizbeth Xicoténcatl G, Carlos Cedillo P, Fernando Constantino C……. 295

Oligodendroglioma en un boxer. Fonseca Aguilar Wendy Fabiola, Sánchez Godoy Félix, Flores Alonso Luís Arturo, Santoscoy Mejía Carlos Eduardo, Martínez Reyes Sandy……. 300

Osteosarcoma telangiectasico mandibular en un perro. Oralia Medina R, Carlos Cedillo P, Aline Pasquel H, Selene Gonzalez G……..…….. 305

Textiloma abdominal en un perro: informe de un caso y revisión de la literatura . Adriana Montiel L, Carlos Cedillo P, Fernando Constantino C. 310

Toxoplasmosis en monos ardilla (saimiri sciureus) Christopher Padua M, Juan F Muñoz G, Carlos Cedillo P, Elizabeth Morales S…… 315

Circovirus porcino tipo II, informe de un caso. Orduña Sumarán Alberto, Téllez Ballesteros Elizabeth Eugenia…….. 321

Miositis eosinofílica asociada a sarcocystis sp. en un equino informe de un caso. Orduña Sumarán Alberto, Téllez Ballesteros Elizabeth Eugenia……..… 327

Tetralogía de fallot en un perro. Luis Enrique García Ortuño, Enrique Aburto Fernández, Jose Luis Cárdenas Sierra, Yukie Tachika Ohara,

Rosa Elena Méndez Aguilar……. 333

Determinacion de parametros hematologicos en caballos cuarto de milla americano en el municipio de Culiacan, Sinaloa. López Valenzuela Martin, Juárez Barranco Felipe, Silva Hidalgo Gabriela, Aguilar Romo Gerardo…… 339

Exudado eosinofílico en mucosa nasal de ovinos pelibuey con rinitis catarral. Silva Hidalgo Gabriela, Juárez Barranco Felipe, López Valenzuela Martín…….. 344

Lesiones inducidas en ratones transgénicos portadores del gen VPU del VIH-1 Raúl, Fajardo; Christian Lemaire; Gaetan Mayer; Allegria Kessous-Elbaz. …… 348

Aspergilosis pulmonar en delfines, informe de un caso, diagnostico serologico y su correlacion a la necropsia. MVZ María Concepción López Romahn, MVZ Raúl Torres Salcedo, MVZ Ana Dalila Saldaña Ramos, Dr. Roberto Cervantes Olivares, M en C Carolina Segundo Zaragoza, Dr. Enrique Aburto Fernández, MVZ Juan José Bolaños Guerra, Biol. Tomas Capote, MVZ Leonardo Ibarra Vargas……..... 351

Estandarización de la técnica de inmunohistoquímica para el diagnóstico de tuberculosis en tejidos. David Solano Terreros, Omar Castillo Martínez, Julio Martínez Burnes, Ned Iván de la Cruz Hernández, Jaime Campuzano Granados, Félix Acosta Martínez, José Ramos Vara…….…. 355

Reporte de un caso de Intoxicación por *Cestrum dumetorum* en ganado bovino en Tamaulipas. Jesús Antonio Medellín Ledezma, Julio Martínez Burnes y Ned Iván de la Cruz Hernández…….. 363

Cambios morfológicos y hematológicos por la administración de clenbuterol y zilpaterol en pollo de engorda. Resultados preliminares. Antonio Joel Ruiz Uribe, Fidel Infante Rodriguez, Ned Ivan de la Cruz Hernández, Julio Martínez Burnes……. 367

CURSO DE CITOPATOLOGIA PARA PATÓLOGOS VETERINARIOS

Citología de lesiones de piel. Eugenia Candanosa de M. ……..…. 373

Citología de tumores mesenquimales. Laura P. Romero R. …… 376

Citología de glándula mamaria. Eugenia Candanosa de M…….. 379

Citología de líquidos corporales: peritoneal y pleural. Meza León Asela Berenice, Rangel Luna Lucía. …… 385

Evaluacion de daño celular, inflamación y reparación. Laura P. Romero R……. 394

Evaluación citológica de linfomas y leucemias. MVZ EPCV Luís Enrique García Ortuño…….. 397

Toma, conservación y envío de muestras citológicas. Eugenia Candanosa A……... 403

DIRECTORIO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS
"Francisco García Salinas"

M. en C. Alfredo Femat Bañuelos
Rector

M.C. Javier Domínguez Garay
Secretario General

Dr. Rene Vega Carrillo
Secretario Académico

UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

M.en C. Jesús Octavio Enríquez Rivera
Director

M.V.Z. Juan Manuel Ramos Bugarin
Responsable del programa de licenciatura

M. en C. J. Gabriel Ortiz López
Secretario Administrativo

Dr. Juan José de Jesús Chávez
Coordinador de Extensión Vinculo y Servicio Social

M. en C. Carlos Emilio Baldwin Sevilla
Coordinador de proyectos institucionales

SOCIEDAD MEXICANA DE PATÓLOGOS VETERINARIOS A.C.

CONSEJO DIRECTIVO 004 – 006

Dr. Julio Martínez Burnes
Presidente

Dr. Roberto Montes de Oca Jiménez
Vicepresidente

Dra. Elizabeth Morales Salinas
Secretario

M.en C. Felipe Juárez Barranco
Tesorero

COMITÉ CIENTÍFICO

Dra. Elizabeth Morales Salinas
Coordinadora

Dra. Aline Schuneman de Aluja
Dr. Roberto Montes de Oca Jiménez
Dr. Fernando Constantino Casas
Dr. Enrique Aburto Fernández
Dr. Carlos González Morteo
Dr. Julio Martínez Burnes

COMITÉ EDITORIAL

M. en C. Carlos Emilio Baldwin Sevilla
Dr. Juan José de Jesús Chávez

Nota:

Los artículos publicados expresan el punto de vista de sus autores y no reflejan necesariamente el de las instituciones organizadoras del evento

Comité Organizador del XV Congreso Nacional de Patología Veterinaria

M. en C. Carlos Emilio Baldwin Sevilla
Coordinador

M. en C. Alonso Arturo Enríquez Salazar
Conferencistas y Moderadores

L.C. Lucia Margarita Rodríguez Pescador
Registro e Inscripciones

M.V.Z. Juan Manuel Ramos Bugarin
Prensa y Difusión

M. en C. J. Gabriel Ortíz López
Ing. José Girón Sifuentes
Logística

M. en C. Luís Jorge García Márquez
MVZ Miriam Damián Sandoval
MVZ Yadira Esperanza Villalobos Hernández
Carteles

MVZ Jaime Perea Gutiérrez
Dr. Enrique Aburto Fernández
Seminario de Casos

Dr. Juan José de Jesús Chávez
Edición

M. en C .Carlos Baldwin Sevilla
MVZ Miriam Damián Sandoval
MVZ Yadira Esperanza Villalobos Hernández
Curso Pre Congreso

Dra. Elizabeth Morales Salinas
M.en C. David Ávila Figueroa
Jurados y Premiaciones

M.V.Z.Otoniel Rivas Sánchez
Coordinador de Estudiantes

MENSAJE

El Congreso Nacional de Patología Veterinaria es la reunión anual de los miembros de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios. A.C. y conjuntamente con las facultades de Medicina Veterinaria se realiza en diferentes estados de la república mexicana. Este año a la Universidad Autónoma de Zacatecas a través de la Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia tiene el honor de organizar el XV Congreso Nacional de Patología Veterinaria.

El objetivo del congreso es conjuntar a profesores de todo el país dedicados a la enseñanza, diagnóstico e investigación en patología veterinaria y a sus estudiantes. Participan investigadores de diferentes instituciones, empresas y profesionales dedicados al diagnóstico en laboratorios. Así mismo es el de actualizar, difundir, investigar e intercambiar resultados y experiencias.

La misión del comité organizador es la de ofertar un programa de actualización con calidad con conferencistas magistrales reconocidos nacionalmente y en temas relevantes.

Se ha considerado a la técnica de inmunohistoquímica como una técnica integral en el quehacer cotidiano de los laboratorios de diagnóstico e investigación veterinaria. Por lo que esta técnica cobra importancia como herramienta en el diagnostico e investigación de las enfermedades de los cerdos.

Los sistemas de enseñanza asistida por computadora han evolucionado en los últimos diez años, en forma conjunta sus costos los hacen prohibitivos para las universidades públicas, sin embargo la liberación de software de fuente abierta accesibles para el aprendizaje a distancia nos da la oportunidad de emplear programas amistosos y eficientes para el aprendizaje de maestros y alumnos de patología veterinaria.

En otro orden de ideas el incremento en la actividad de diagnostico e investigación en patología veterinaria hace imperiosa la necesidad de utilizar un lenguaje común en las descripciones morfológicas.

El comité científico integrado por reconocidos patólogos evaluaron y aceptaron los trabajos expuestos en este XV Congreso Nacional de Patología Veterinaria tanto en forma oral como en cartel, contenidos en esta memoria y constituyen trabajos de investigación de diagnostico o de revisión.

La última fase del congreso consiste en el seminario de casos en patología diagnóstica, lo que brinda a los congresistas la oportunidad de revisar laminillas de tejidos e historias clínicas durante el evento, propiciando una discusión interactiva de los casos examinados.

El Comité Organizador del XV Congreso Nacional de Patología Veterinaria integrado por profesores de la Universidad Autónoma de Zacatecas y miembros de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios A.C. contribuyen con su esfuerzo para lograr los objetivos planteados en el presente congreso y en pro de la patología veterinaria.

M. en C. Carlos Emilio Baldwin Sevilla
Coordinador del Comité Organizador

CONFERENCIAS MAGISTRALES

La inmunohistoquimica en el diagnostico de las enfermedades Infecciosas de los cerdos:

Alberto Stephano
Stephano Consultores, SC
stephans@prodigy.net.mx

El diagnostico de las enfermedades infecciosas del cerdo se ha complicado en la actualidad por diferentes razones:

1. Las enfermedades no se presentan solas, generalmente hay interacción de diferentes agentes infecciosos y no infecciosos.
2. La naturaleza es dinámica y se dan constantes cambios, lo que hace que estemos expuestos a nuevos agentes, a modificaciones de existentes. Además de que algunos se han adaptado a los nuevos sistemas de producción:

a. Han surgido nuevos agentes infecciosos como patógenos importantes o potenciales para los cerdos. Virus del PRRS, Paramyxovirus del Ojo Azul, Circovirus 2, nuevos serotipos de virus de Influenza (H3N2), y otros exóticos como el Paramyxovirus de Menangle o el Paramyxovirus Nipha, etc.
b. Otros agentes se han adaptado a los nuevos sistemas de producción, H. parasuis, S. suis, Lawsonia intracellularis, Salmonella, etc., causando perdidas importantes.
c. Y otros se están modificando constantemente dificultando su diagnostico y control: Como el virus de PRRS o el virus de Influenza.
d. Además no siempre contamos con las herramientas diagnosticas especificas para identificar a estos agentes.

3. Los nuevos sistemas de producción han complicado la patogenia de los agentes infecciosos, permitiendo que se establezcan y persistan en las explotaciones.

a. Aumento de la densidad de población de cerdos en ciertas áreas geográficas.

1.1 Por lo que la ubicación de la granja, es determinante en el patrón de infección del área y de la granja.
1.2 Falta una legislación efectiva en cuanto a la ubicación, numero de granjas o densidad de animales en un área. "Cada quien construye donde le viene en gana".
1.3 Falta educación y conciencia de los porcicultores, para comprender los riesgos que implica la ubicación, y la importancia de la prevención de enfermedades.
1.4 Hay mucha ignorancia en cuanto a los riesgos y forma de prevenir las enfermedades.

b. Tamaño de la población en una granja.

1.1 El tamaño de las granjas ha aumentado considerablemente.
1.2 El número de cerdos por sala, también ha aumentado.

c. Los sistemas de producción en 2 y 3 sitios o sitios múltiples, que no permiten mantener poblaciones con inmunidad homogénea y estable.

d. Falta de barreras sanitarias efectivas para limitar la entrada de agentes a las granjas.

4. Otro problema importante es que muchos países particularmente los que están en desarrollo no tienen buen sistema diagnostico que permita identificar las enfermedades subclínicas o en periodo de incubación en animales de importación. Y esta ha sido la principal fuente de entrada de enfermedades a los países.
5. Además un mismo signo clínico o lesión puede corresponder a diferentes agentes etiológicos.
6. Las técnicas diagnosticas tienen limitaciones y no siempre dan resultados blanco y negro.
7. Hay falta de técnicas especificas para diagnostico en vivo en algunas enfermedades.
8. Tenemos limitaciones en la capacidad de interpretación.
9. El tiempo requerido para obtener resultados de laboratorio con frecuencia es largo.
10. Y además hay errores que se producen en el laboratorio, por deficiente, identificación, procesado o interpretación de la prueba que complican el diagnostico.

Diagnostico Integral:

En el diagnostico integral se deben identificar los agentes infecciosos y no infecciosos que están interactuando en el problema, para poder tomar medidas correctivas oportunas:

Agentes infeccioos:

1. Interacción de diferentes agentes primarios y secundarios, virus y bacterias generalmente.
2. Ejemplos:

Interacción de Circovirus 2 con otros agentes

- El Circovirus 2 se identifica solo, únicamente en el 2% de los casos. Generalmente se asocia con:
  - Virus de PRRS (52%).
  - Micoplasma (36%)
  - Neumonía Bacteriana/Septicemia (22%).
  - Influenza porcina (5.4%)
  - Y también con Parvovirus porcino con mucha frecuencia.
- El Circovirus se ha asociado a diferentes Síndromes:
  a. Síndrome de desgaste multisistemico postdestete (PMWS).
  b. Síndrome de dermatitis y nefropatía (DNS).
  c. Neumonía (Dentro del Complejo respiratorio de los cerdos).
  d. Síndrome septicémico.
  e. Enteritis. (Diarrea en engorda)
  f. Fallo reproductivo. (Elevación de Abortos y/o momias)

3. Factores que favorecen las diferencias en infección e inmunidad del cerdo al destete.
   a. Enfermedad activa en el pie de cría (Sitio 1).
   b. Variaciones en Inmunidad en pie de cría y lechones al destete.

c. Reemplazo inadecuado de hembras.
d. Rango amplio de edades al destete.
e. Más de 7 días en llenado de una sala o sitio.
f. Alto numero de cerdos por sala o sitio.
g. Sistema de producción segregado. Dos y 3 sitios
h. Flujo continúo de cerdos.
i. Incapacidad para mantener flujo TD-TF.

Factores no Infecciosos:

1. Condiciones medioambientales desfavorables.
2. Factores de Manejo Inadecuado.
3. Factores humanos.
4. Factores genéticos.
5. Factores nutricionales por deficiencia o exceso.
    a. Micotoxinas.

La inmunohistoquimica (IHQ) es una herramienta importante en el diagnostico actual de los complejos infecciosos en los cerdos.

Técnica de inmunohistoquimica:
Principios:

- La inmunohistoquimica (IHQ) es la demostración *in situ,* de un constituyente en un tejido, por medio de una reacción especifica antígeno – anticuerpo.
- En la sección de tejido primero se aplica un anticuerpo específico para el antigeno que se desea identificar. Y este se liga con un anticuerpo secundario específico para el anticuerpo primario de la inmunoglobulina del huésped, que esta marcado con un complejo enzimático.
- El sitio de unión se visualiza al agregar un substrato cromógeno que es microscópicamente denso.
- El substrato enzimático reacciona convirtiendo un cromógeno incoloro en uno coloreado que puede ser visto a trabes del microscopio.

Colección y Conservación de las muestras
Colección:

- El tiempo entre la muerte del animal y la toma de la muestra es critico y el retraso puede ocasionar falsos negativos o falsos positivos.
- Los tejidos autoliticos o necróticos pueden exhibir artefactos inespecíficos teñidos, debido a que se forman uniones no especificas con anticuerpos.
- Se recomienda tomar la muestra tan pronto como muera el animal y antes de que actúen las enzimas autoliticas.
- Factores a considerar en la toma de muestras:
    1. Tejidos ricos en enzimas como intestino y páncreas se autorizan muy pronto.
    2. Los protozoarios y los hongos resisten más la autólisis.
    3. La distribución del antigeno no es homogénea en todos los tejidos.

4. La severidad de la lesión en ocasiones no se correlaciona con la localización del agente infeccioso.
5. Algunos artefactos se pueden introducir a la muestra al cortar los tejidos, fijarlos o incluirlos en los moldes de parafina.
6. La abundancia de sangre en los tejidos, puede ocasionar que las proteínas plasmáticas se absorban en forma pasiva en células necróticas o degeneradas y causen una tinción de IHQ no específica.
7. Si se sospecha de una combinación virus y bacteria se deben tomar diferentes muestras del órgano. Unas con lesione severa y otras con menos lesión macroscópica.
8. Dependiendo del agente que se sospeche será el órgano a colectar.
9. A mayor numero de muestras, mayor la posibilidad de identificar al antigeno en cuestión.
10. Las muestras de tumores se deben tomar de áreas severamente afectadas y adyacentes a tejido que aparente estar normal, para compararlos y usarlos de control.

Conservación de las muestras:
Método:

- Para evitar la autólisis y preservar la integridad morfológica de las células, la muestra debe colocarse en fijadores a la brevedad posible, después de muerto el animal.
- Los fijadores previenen la autólisis al inactivar las enzimas lisosomales e inhibir el crecimiento de bacterias y hongos responsables de la putrefacción.
- Además, si los tejidos no se fijan pronto, los antígenos pueden difundirse a los tejidos adyacentes, ocasionando un fondo teñido fuera del sitio original del antigeno.
- El fijador ideal para IHQ debe preservar la integridad del antigeno y limitar su extracción, difusión o dispersión durante el procesado de la muestra.
- También deben preservar los detalles morfológicos del antígeno después de embeberse en parafina.
- Los fijadores deben estabilizar las células y tejidos para protegerlos de los rigores subsecuentes del proceso y técnica de tinción a usar.
- Debe ser fácil de conseguir.
- Los fijadores usados en histología se dividen en dos grupos: Los que coagulan proteínas como el etanol y los que forman puentes cruzados con las proteínas como el formaldehído.
- Ambos pueden causar cambios en la configuración de las proteínas, y pueden enmascarar los sitios de ubicación del antígeno, afectando la unión con los anticuerpos.
- Pero también hay métodos de recuperación de antígenos que se pueden usar durante el protocolo de tinción de IHQ para desenmascararlos y hacerlos detectables por el método de IHQ.

Fijadores:

- El fijador usado de rutina es la solución buferada neutra de formalina al 10%.
- Tiene las siguientes ventajas: Es un buen preservativo de la morfología en gran variedad de tejidos; es barato; puede esterilizar las muestras en forma más segura que los fijadores que precipitan proteínas; los virus y particularmente los antígenos de carbohidratos se preservan mejor. Y por sus propiedades muchos antígenos in situ, evitando la salida de proteínas que puedan difundir en agua o alcohol en el proceso.
- El pH de la formalina es importante. Si la formalina es muy ácida, las uniones son muy fuertes y no permiten la penetración de los anticuerpos; además se depositan "pigmentos obscuros de formalina" en los tejidos que pueden confundir la coloración IHQ del antígeno.
- El tiempo de fijación también es importante, y se recomienda trabajar con antígenos que no tengan mas de 2 días en el fijador, si bien esto no se considera critico para algunos antígenos.
- El tiempo mínimo en formalina es 2 horas, pero solo para muestras muy pequeñas, en donde el fijador pueda penetrar rápido y fácilmente.
- El tiempo óptimo en formalina son 24 horas.
- La relación muestra – formalina debe ser igual o mayor a 1 a 10, y la total inmersión de la muestra durante todo el tiempo de fijación es crítico.
- Para muchos antígenos, si la fijación es muy larga, se forman muchas uniones cruzadas entre las proteínas que hacen difícil la identificación del antígeno por el anticuerpo. Si la fijación es muy corta, los tejidos sin fijar tienden a unir todos los reactivos en forma no específica.
- Cada antígeno puede tener uno o muchos epitopes y cada uno estar compuesto de 5 o mas aminoácidos. Si bien la formalina permite a unos epitopes a salir sin cambios (los formalina resistentes) otros tendrán cambios substanciales (formalina sensibles).

Frotis:
Si se usa la técnica en frotis de sangre o tejidos para citología. Es preferible fijar el frotis por secado, para preservar la morfología y dado que se fija en 1 a 2 horas, no hay destrucción de los antígenos para IHQ. De hecho se ha visto que los marcadores de superficie de muchos leucocitos pueden conservarse hasta por mas de una semana después de fijarse por secado y guardarse en temperatura ambiente.
Con el secado las células se fijan mejor al frotis que con los fijadores húmedos. Pero con frecuencia exhiben una débil inmunotinción.
La mayoría de los citólogos prefieren fijar las muestras inmediatamente en etanol al 95% o con fijadores en spray con solución de alcohol y cera liquida. El etanol preserva bien mucos antígenos, por lo que se recomienda hacer dos frotis, uno secado al aire y otro húmedo con alcohol.

Puntos específicos del proceso:

- No dejar secar los tejidos antes de meterlos a la solución fijadora, pues se pueden formar artefactos que den falsos positivos, así como la autolisis. Mientras se cortan deben permanecer en el fijador.

- Después de la fijación inicial, las muestras se cortan en piezas de 2 mm, se procesan y se embeben en parafina.
- Después se cortan secciones de 4 a 5 um de grueso, se remiten para el proceso de IHQ.
- Si los cortes no se van a procesar inmediatamente se deben guardar a 4º C.
- Es pertinente identificar correctamente las muestras en todo el proceso, y señalar las pruebas deseadas para evitar confusiones.
- Cada prueba a realizar se registra a mano, y la información también se introduce en la computadora del autostainer.
- Se pone el numero de la laminilla, la laminilla control y el remitente. Todos los pasos del protocolo del Autostainer de Dako IHQ también se programan en la computadora y se guardan de acuerdo a la fecha de la prueba. Y se guardan en orden cronológico.

Control de calidad:

- Se requiere de un control positivo: para demostrar que el anticuerpo primario esta diluido en concentración optima y el protocolo de tinción trabajo correctamente. También sirve al investigador para ver la intensidad y patrón de tinción celular de las muestras positivas, y comparar con lo que espera ver en la muestra problema.
- Control negativo: Cada prueba realizada incluye una laminilla control negativa. Esta laminilla control negativo se trata con el mismo protocolo de tinción de IHQ, con la diferencia de que el anticuerpo primario es substituido por suero normal de conejo o cabra.

Enfermedades:
Se presentaran casos específicos para identificación de los siguientes antígenos y se discutirán las enfermedades que ocasionan:

1. Virus de PRRS
2. Circovirus Porcino tipo 2.
3. Virus de Influenza porcina H1N1
4. Virus de Gastroenteritis transmisible.
5. Rotavirus porcino.
6. Leptospira sp.
7. Lawsonia intracellularis.

El empleo de un programa abierto, amistoso y eficiente, de aprendizaje a distancia, para los maestros y alumnos de patología veterinaria

Germán Valero, Emma Serrano
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,UNAM

INTRODUCCIÓN

Un buen sistema de aprendizaje a distancia, asistido por computadora (*E-learning),* puede contribuir a mejorar el dominio de la patología por los estudiantes que cursan dicha materia en licenciatura. De hecho, también puede ser útil antes de que lleven la materia y después que la han aprobado.

La enseñanza de la patología es un componente básico en la currícula de las más importantes Escuelas y Facultades de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Los conocimientos de patología que el alumno adquiera en sus cursos de licenciatura serán necesarios para entender las clínicas de todas las especies. De la misma forma, para tener un buen aprovechamiento en patología, los estudiantes deben tener conocimientos y habilidades adquiridos previamente. Desafortunadamente, en demasiados casos, los alumnos que están cursando patología han olvidado muchos conocimientos que son requeridos para entender los conceptos que explica el profesor, por lo que algunos profesores terminan invirtiendo una parte importante del tiempo asignado para clase en darles repasos de conocimientos que ya debían de dominar. Para estas situaciones, sería muy conveniente que existiese un sistema de cómputo, preferentemente por internet, que le permitiera a los alumnos verificar que realmente dominan los conocimientos previos, y en caso de existir deficiencias, subsanarlas.

Los sistemas de enseñanza asistida por computadora han tenido una notable evolución en los últimos diez años. Algunos de los más conocidos, como *Blackboard* o *WebCT* tienen un costo prohibitivo para las Universidades mexicanas. Afortunadamente, dentro de la tendencia de programas de fuente abierta, se desarrolló el programa *Moodle (Modular Object-Oriented Dynamic Learning Environment* = Entorno de aprendizaje Dinámico Orientado a Objetos y Modular*)* que fue creado por Martin Dougiamas (http: dougiamas.com/), quien trabajó como administrador de *WebCT*; es un sistema de gestión de enseñanza diseñado para ayudar a los profesores a crear cursos de calidad en línea. Actualmente, esta plataforma es utilizada en más de 2000 sitios, localizados en más de 100 países, y está traducido a más de 50 idiomas. Además de ser de uso gratuito para enseñanza sin fines de lucro, tiene muchas ventajas sobre las contrapartes comerciales. En este trabajo se describirán algunas características de este programa que lo hacen especialmente atractivo para los profesores de patología veterinaria, y muchas otras materias, en México; se comentarán las principales dificultades encontradas, los costos asociados y su empleo actual y futuro.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el centro de cómputo de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México (FMVZ-UNAM) se instaló el programa *Moodle* en español, versión 1.5, obtenido de su sitio oficial (www.moodle.org),

sobre un servidor Windows 2003 montado en una computadora Pentium 4. El programa quedó instalado en febrero de 2006. Los primeros cursos montados fueron sobre citología veterinaria, seguidos por el de informática veterinaria, al que se le habilitó la entrada para visitantes. Se añadió una liga al sitio de la FMVZ-UNAM (www.fmvz,unam,mx). Se dieron de alta varios temas: cómputo y patología, entre otros, con varios cursos dentro de cada tema; por ejemplo: patología general, sistémica y clínica. Los cursos en desarrollo se identificaron con la leyenda "en construcción" y se permitió el acceso de visitantes a ellos cuando el profesor creador del sitio así lo decidió.

RESULTADOS

La instalación, diseño gráfico y configuración original del programa fue realizada por un ingeniero en sistemas; la puesta a punto y cambios de configuración fueron realizados por E. Serrano y G. Valero. Hasta el momento, G. Valero prácticamente no ha necesitado leer detenidamente el manual de *Moodle*, pues ha logrado implementar las actividades y lecciones requeridas sin tener que consultarlo, exceptuando la importación de preguntas en formato AIKEN y la implementación de "clusters" de preguntas para exámenes.

Para el 3 de abril de 2006 había 140 visitantes registrados en el sitio de *E-learning*, de los cuales once corresponden a alumnos de la materia optativa de informática veterinaria del segundo semestre de la licenciatura en MVZ del plan 2006 (usuarios cautivos).

La revisión de los registros de actividad ha permitido conocer cuales son las partes del curso de informática veterinaria que han sido más visitadas por los alumnos, además de conocer las calificaciones individuales -e inclusive, las respuestas elegidas- en cada intento de contestar los cuestionarios.

La adición de recursos del tipo de ligas hacia páginas de internet que contienen información de utilidad resultó sumamente fácil y rápida de hacer, lo que permite que las sugerencias realizadas por terceras personas puedan incorporarse rápidamente al curso en línea.

En el caso de múltiples ligas incrustadas en documentos del programa "Word para Windows", la forma más eficiente de incorporarlos resultó la conversión de los archivos de *Word* hacia documentos .PDF con las ligas incorporadas; la conversión más rápida y económica se obtuvo empleando el programa "*StarOffice*" versión 8, con la opción de exportar PDF. Debe recordarse que la UNAM tiene licencia para el empleo gratuito de *StarOffice* en computadoras de alumnos y profesores, según se describe en las noticias de la página web de la FMVZ.

DISCUSIÓN

Instalación, arranque, puesta a punto y costos

El programa *Moodle*, una vez montado, configurado y depurado, es tan amistoso que prácticamente puede empezar a emplearse sin requerir un curso formal, pues la mayoría de las opciones están muy bién explicadas en las pantallas descriptivas que aparecen cuando el interesado elige el signo de (?) dentro de los cuadros de configuración.

En cuanto al costo de instalación del programa, la mayor parte de los recursos costosos se asociarían a la operación del sitio de internet donde se aloja el programa; pero si, como sucedió en este caso, ya existe un sitio de internet con un servidor razonablemente equipado, configurado como servidor de página web, no se requerirán licencias nuevas para montar el servicio.
Aunque el montaje de *Moodle* en servidores *Windows* y *Linux* está detallado en las instrucciones que lo acompañan, es innegable que surgieron numerosos detalles al momento de configurar y depurar el sitio, y que estos imponderables deben ser solventados por personal con experiencia en servidores. En el caso de la FMVZ-UNAM, afortunadamente contamos con ingenieros muy capaces que nos ayudaron a allanar las dificultades técnicas conforme se fueron identificando, pero es justo advertir a los patólogos que desearan instalar esta aplicación por si mismos, que si tendrán que resolver muchos detalles, relacionados con las peculiaridades de su propio sitio; y que muchas dificultades que encontrarán serán específicas de su sitio, por lo que no deben prometer que tendrán funcionando la aplicación en un tiempo corto.

Operación, escritura de cursos y lecciones
Una vez depuradas las inconsistencias en la operación del servidor, el añadir cursos es una labor muy sencilla. Una vez añadido un curso y elegidos los profesores y creadores del mismo, la labor de organizar el curso en línea se asemeja muchísimo a la organización de un curso presencial, de los que los maestros damos en los semestres de licenciatura.
La descripción de los objetivos del curso es el primer paso lógico a tomar. Al precisar los conocimientos y habilidades que esperamos que adquieran (o demuestren) los alumnos del curso, teniendo creatividad, es relativamente fácil diseñar los recursos y estrategias que les permitan a los alumnos alcanzar los objetivos.

Actividades en Moodle
El programa *Moodle* cuenta con un conjunto de módulos de actividades de aprendizaje interactivo como son: tareas, talleres, consultas, lecciones, cuestionarios, encuestas, y para la comunicación entre profesores y alumnos ofrece la posibilidad de utilizar Chat y foros de debate.

Recursos
Al activar la edición dentro de un curso, el programa permite intregrar páginas de texto simple, editar páginas Web, corregir errores tipográficos, enlazar archivos y otras actividades.

Lección
Una lección es un conjunto de texto seguido opcionalmente por preguntas de repaso. Con respecto a las preguntas dentro de las lecciones, es relativamente sencillo escribir preguntas del tipo de opción múltiple, en forma similar a como lo acostumbran realizar en la mayoría de las escuelas. La gran ventaja del sistema de *E-learning* sobre los exámenes en papel, es que además de que el alumno puede saber inmediatamente si ha contestado correcta o incorrectamente una

pregunta, el profesor puede explicar en un comentario, la razón porqué es incorrecta esa respuesta; por lo que el alumno, además de ser evaluado, recibe una retroalimentación sobre conceptos que no habían quedado claros. Como un beneficio adicional, los alumnos que tienen dificultades especiales para asimilar información, podrían emplear repetidamente este tipo de evaluaciones y recibir retroalimentación sobre su adquisición de conocimientos, sin agotar la paciencia ni el tiempo disponible del profesor.

Exámenes

Dado que el objetivo principal de la enseñanza es que los alumnos aprendan, en el curso de informática veterinaria se programaron los exámenes parciales con la opción de permitir varios (cinco) intentos de resolverlos, lo que sería el equivalente a "vuelta A", más "vuelta B", más "vuelta C", más "vuelta D", más "vuelta E". El resultado, obviamente, fue un progreso demostrado de la capacidad del alumno para responder correctamente. El programa, desde luego, reordenaba las preguntas y respuestas en cada intento, para evitar que los alumnos hicieran un "acordeón" con las letras de las opciones múltiples correctas para cada pregunta. Si los alumnos querían tener acertada una pregunta, necesariamente requerían saber cuál opción era la correcta, lo que -en resumen- era el objetivo de la lección. De esta forma, el profesor consigue que los alumnos demuestren haber adquirido los conocimientos y habilidades que el programa exige, mientras que los alumnos obtienen, después de varios intentos, una buena calificación y la felicidad de haberla merecido.

Opinión de los alumnos

Los estudiantes que han empleado el sitio de *E-learning* de la FMVZ han comentado al profesor que el sitio es amistoso, fácil y divertido de usar.

Comparación del sitio de la FMVZ con otros sitios mexicanos

Existen al menos tres sitios mexicanos que emplean el programa Moodle para fines de educación superior en línea: La Universidad Autónoma de Nayarit (http://192.100.162.76/), UniversidadAutónoma de Chiapas (http://educad.unach.mx/) y Universidad Autónoma de Aguascalientes (http://148.211.40.92:8080/moodle/). En el caso de la U.A. de Chiapas, el propio sitio la describe "Disponible sólo para algunas materias de Lic/Posgrado de esta Universidad, para alumnos inscritos a los cursos presenciales correspondientes". El sitio de Aguascalientes requiere estar inscrito y no acepta el acceso de invitados, al igual que el de la Universidad Autónoma de Nayarit.

El sitio de la FMVZ, permite el acceso a invitados a varios de los cursos, siempre y cuando el profesor que escribe el curso así lo solicite. La política de la UNAM ha sido, es y será, promover la difusión del conocimiento para beneficio de la población, independientemente de que sean o no alumnos inscritos a su programa.

En el caso de la FMVZ, su misión es: "Formar integralmente personas competentes y comprometidas con la sociedad mexicana, capaces de aplicar, generar y difundir con excelencia y ética la ciencia y tecnología en medicina veterinaria y zootecnia, promoviendo el bienestar animal; así como asegurar una

plataforma científica y operativa para producir y divulgar conocimientos que atiendan con prioridad la realidad nacional y brindar asesoría y servicios especializados que contribuyan al desarrollo sustentable y equitativo del país"

Por lo antes expuesto, la FMVZ seguirá impulsando la colaboración interinstitucional que sea compatible con su misión.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El programa *Moodle* es bueno, bonito y barato. Además, es fácil de emplear como alumno y profesor, pero requiere muchos recursos físicos y humanos para montarlo y tenerlo en buen estado.

Dado el excelente desarrollo inicial y la gran capacidad de crecimiento del sitio de *E-learning* de la FMVZ-UNAM, por las innegables ventajas asociadas a estar ligado a la mayor Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en idioma español, los autores de este trabajo consideramos que la colaboración inter-institucional sería la mejor forma de tener un crecimiento más rápido y organizado, evitando duplicidades y competencias innecesarias.

Como la mayoría de los patólogos mexicanos dedicados a la docencia tenemos relaciones de afinidad académica por haber sido maestros, alumnos o compañeros unos de otros, existe un gran potencial de trabajo en equipo, que sin duda beneficiaría a los alumnos de todos nosotros, en una situación académicamente provechosa para todos.

Por lo antes expuesto, los autores invitamos a todos los patólogos a que contribuyan al crecimiento de la enseñanza asistida por computadora, de una forma ordenada, donde la FMVZ sería la coordinadora inicial del sitio, para paulatinamente incorporar a los patólogos del resto del país, en una forma análoga al progreso de la Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios, que tan eficientemente ha contribuído al desarrollo de la enseñanza, diagnóstico e investigación en patología veterinaria en México.

DESCRIPCION DE LESIONES MICROSCOPICAS

Dr. Enrique M. Aburto Fernández
Departamento de Patología
FMVZ, UNAM

Traducido y modificado del curso de Patología Diagnóstica Veterinaria 2001, por el Dr. Bruce H. Williams del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas.

ALGUNAS REGLAS GENERALES

1. No existe una forma en particular para describir cambios observados en una preparación histológica. Procure desarrollar un estilo que le resulte cómodo y consistente, siempre y cuando su descripción sea completa, clara y congruente con su diagnóstico morfológico.

2. Sea conciso. Casi todas las laminillas pueden ser descritas en siete enunciados o menos.

3. Describa los cambios apreciables de menor a mayor magnificación, es decir, primero lo grande y después lo pequeño, a manera de una "pirámide invertida".

4. Escriba siempre pensando en el lector. Si después de haber leído su descripción, el lector puede interpretar el mismo diagnóstico que usted consideró, entonces usted ha hecho un buen trabajo.

5. Enliste el órgano o tejido que va a describir al principio (por ejemplo: pulmón), sin incluir información innecesaria.

6. Describa órganos en una forma consistente. Si usted divide cada órgano en varios componentes, y siempre describe dichos componentes en cada laminilla, entonces nunca va a dejar pasar ningún cambio importante (por ejemplo: cuando describa una sección de pulmón, siempre revise estos 5 componentes: espacio alveolar, septo alveolar, vías aéreas, vasos sanguíneos, y pleura. Todos los órganos tubulares tienen luz y una pared, la cual generalmente tiene varias capas diferentes). Asegúrese de revisar cada parte, aún cuando no las tenga que describir.

7. No tiene que describir cada célula o cada patrón que usted observa en una laminilla. Esto sólo sirve para confundir al lector. Si en una neoplasia, la mayoría de las células tienen bordes indefinidos, y sólo algunas tienen bordes bien definidos, describa únicamente lo que apreció en la mayoría de ellas.

8. No describa hallazgos normales, excepto cuando interpreta fotomicrografías electrónicas. Asimismo, evite comentarios negativos (ejemplo: "No hay evidencia de invasión vascular"). Si usted hubiera visto un cambio importante, lo habría descrito. Si el clínico remitente desea que usted descarte algún cambio en particular, entonces se puede hacer mención especial en la sección de comentarios, pero no en la descripción.

9. Utilice la terminología apropiada en sus descripciones. Esto incluye nombres de localizaciones anatómicas (las cuales son con frecuencia específicas de especie), hallazgos o componentes de protozoarios y metazoarios, y descriptores específicos para varios tipos de inflamación y necrosis, entre otras situaciones. La especificidad en la terminología que usted utiliza, le hace saber al lector que usted sabe de lo que está hablando.

10. Utilice formas y tamaños en sus descripciones siempre que sea posible; estos son descriptores poderosos. Los zoitos de Sarcocystis pueden ser descritos como "estructuras con forma de plátano que mide 1 x 2 micras". Las estimaciones son aceptables cuando no se tiene la certeza o el instrumento para una medición exacta. Es mejor estimar un aproximado que no intentarlo.

11. No tenga miedo de interpretar lesiones, pero asegúrese de que su interpretación esté separada de su descripción por medio de un paréntesis (por ejemplo: "hay depósitos de material eosinofílico fibrilar sobre la pleura (fibrina).

12. Evite redundancias o términos inútiles que no aportan nada a su descripción, como "de color azul", o "caracterizados por", o "asociados con". Dichos términos consumen tiempo valioso.

13. Los pequeños detalles son importantes como: ortografía, puntuación y gramática. Todos ellos ayudan a que su descripción "fluya".

14. Cuando no encuentre cambios que describir en la laminilla, busque aquello que está de más, si no lo hay, busque aquel elemento que falta o se ha perdido (ejemplo: células parenquimatosas, o la arquitectura normal del tejido).

NEOPLASIAS

I. Descripción submacroscópica: Este es uno de los enunciados más importantes en la descripción de cualquier neoplasia.

1. Órgano. Si el tumor ha sustituido casi todo el órgano, y no tiene la certeza del mismo, mencione o describa aquel remanente de tejido (tejido conectivo, músculo liso, músculo estriado, etc.) que pueda identificar.

2. Localización (dentro del órgano). ¿El tumor se extiende a los bordes de la sección?, ¿Está limitado a alguna parte anatómica del órgano (como la sustancia gris del encéfalo, o la corteza renal)?

3. Tamaño (aún en la laminilla de vidrio). Es muy útil si el tamaño no fue asentado en la descripción macroscópica.

4. Las células están muy cerca unas de otras o separadas por abundante matriz extracelular (Densamente o escasamente celular).

5. Bien demarcada o mal delimitada (con respecto al tejido residual).

6. Forma (nodular, multilobular, verrucosa, papilar, etc.).

7. Expansiva o infiltrante.

8. Encapsulada o no encapsulada.

Este es el momento para mencionar si existen dos poblaciones de células, o si una población se diferencia hacia varias líneas celulares.

II. Patrones de crecimiento y estroma.

1. Carcinomas: Nidos, paquetes, lóbulos, cordones.

2. Adenocarcinomas: Túbulos, acinos, papilas.

3. Sarcomas: Haces, fascículos, remolinos, capas concéntricas.

4. Tumores de células redondas: Mantos.

- Evite la mezcla de patrones siempre que sea posible (nidos, paquetes, fascículos). Dicha mezcla produce confusión para el lector.

- Estroma: fibrovascular, fibroso, preexistente, fino, grueso o abundante, etc. Esta debe ser la última parte de cada segundo enunciado en cada descripción.

III. Hallazgos citológicos.

A. Forma (redonda, huso o alargada, ovalada, cúbica, cilíndrica, poliédrica, pleomórfica)

B. Tamaño (micras)

C. Bordes celulares (bien definidos o indefinidos)

D. Citoplasma
   - Cantidad (escaso, moderado, abundante)
   - Color (eosinofílico, basofílico, rojo, azul, claro o pálido, intenso, etc.)
   - Apariencia (homogéneo, fibrilar, granular)

E. Núcleo
   - Forma (redondo, ovalado, alargado, hendido, arriñonado, lobulado, etc.)
   - Localización en la célula (central, paracentral, excéntrico)
   - Distribución de la cromatina (vesicular, finamente granular, gruesamente granular, en grumos, etc.)
   - Tinción de la cromatina (hipercromático, eucromático)

F. Nucléolo
   - Número (uno, dos, varios)
   - Tamaño (pequeño, prominente, inconspicuo)
   - Color

IV. Hallazgos aislados.

- Células multinucleadas (neoplásicas).
- Variación en células o sus componentes (anisocitosis, anisocariosis, cariomegalia, etc.)

V. Actividad mitósica.

- Número promedio de mitosis por campo con el objetivo 40x.
- Rango promedio del número de mitosis (ejemplo: 1-3) por campo con el objetivo 40x.
- Mitosis atípicas.

VI. Evidencia de malignidad.

- Invasión capsular
- Invasión de tejidos adyacentes
- Invasión vascular

- Permeación linfática
- Necrosis

VII. Cambios secundarios en la neoplasia o en el órgano afectado

- Inflamación
- Ulceración
- Hemorragia
- Mineralización
- Otros

LESIONES NO NEOPLÁSICAS

I. Órgano. Si la lesión (inflamación o necrosis) es muy extensa o intensa y no permite la identificación del órgano con certeza, mencione o describa aquel remanente de tejido (tejido conectivo, músculo liso, músculo estriado, etc.) que pueda identificar.

II. Localización, distribución y tamaño. Es básico mencionar en que parte dentro del órgano o tejido están localizados los cambios (substancia gris, corteza, mucosa, intersticio, etc.), como se distribuyen en el mismo (focalmente, multifocalmente, multifocalmente con coalescencia, perivascularmente, transmuralmente, difusamente etc.), y que tan extensos o notorios son.

III. Componentes

- Liste todos los tipos celulares observados en una respuesta inflamatoria, en orden de prevalencia y relacione las cantidades entre ellos (por ejemplo: abundantes neutrófilos rodeados por menor número de macrófagos, linfocitos, y células plasmáticas, y ocasionales células gigantes multinucleadas tipo Langhans.

- Especifique los componentes celulares en un proceso inflamatorio. Evite usar términos como "infiltrado de células mononucleares", "inflamación no supurativa", "inflamación subaguda", etc.

- No olvide mencionar o describir los componentes no celulares como fibrina, edema, hemorragia, y los comúnmente olvidados restos celulares o detritos. Estos suelen ser tan importantes como las células.

- Cuantifique todo (escaso, pocos, cantidad moderada, abundante, numerosos, innumerables, etc.), ya sea componentes celulares o no celulares.

- No tenga miedo de interpretar sus descripciones (por ejemplo: "la pared de lo vasos sanguíneos contiene escaso material granular, eosinofílico claro, mezclado con pocos neutrófilos y detritos celulares (necrosis fibrinoide)").

IV. Agente etiológico

- Localización (intracelular, intrahistiocítico, intravascular, etc.)
- Tamaño y forma (descriptores importantes)
- Interpretación (bacilos, cocos, protozoarios, hifas, etc.)
- Cuerpos de inclusión (eosinofílicos, basofílicos, anfofílicos, intracitoplásmicos, intranucleares)

DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO

Existen muchas maneras de formular un diagnóstico morfológico, y éstas suelen variar entre instituciones. Lo importante es que dicho diagnóstico represente una síntesis de las características de la lesión principal y que dicha síntesis sea lo más completa posible. En el caso de lesiones inflamatorias, procure incluir los cinco puntos básicos siempre que sea posible.

1. Sitio. Este incluye no sólo el órgano o tejido en donde se asienta la lesión, sino la localización específica (por ejemplo: "Riñón, glomérulos:", o "Encéfalo, corteza, sustancia gris:", o simplemente "Hígado:")

2. Lesión. Sea lo más específico posible, y agregue los modificadores de acuerdo al componente celular, o no celular, predominante (por ejemplo: Dermatitis supurativa, o "Miocarditis granulomatosa y eosinofílica", o "Neumonía fibrinosa")

3. Duración. Aguda o crónica. Cuando en una lesión se observa fibrosis abundante y áreas diseminadas de inflamación supurativa, algunos patólogos utilizan el término de inflamación "crónica activa".

4. Distribución. Focal, multifocal, multifocal coalescente, difusa, masiva, transmural, etc. Estos términos pueden combinarse, o de hecho, ser sustituidos por la localización específica dentro del órgano; es decir, perivascular, periglandular, perifolicular, intersticial, periportal, periacinar, centrolobulillar, etc.

En el caso de las neoplasias, el diagnóstico morfológico es simplemente el sitio y la estirpe celular, por ejemplo: "Fémur: Osteosarcoma telangiectásico", "Piel, cuello: Histiocitoma", o "Piel, prepucio: Hemangiosarcoma".

TRABAJOS EN FORMA ORAL

DETECCIÓN DEL VIRUS DE DIARREA VIRAL BOVINA POR INMUNOHISTOQUÍMICA Y ELISA DE CAPTURA DE ANTÍGENO EN ANIMALES PERSISTENTEMENTE INFECTADOS

MVZ Edna Vianey Valencia Morales, Dra. Elizabeth Morales Salinas, MVZ EAPV Félix D. Sánchez Godoy, MVZ MPA Frida Salmerón Sosa

Resumen

Se realizó un estudio con 80 becerras Holstein de hasta tres meses de edad, cuyo objetivo fue comparar el número de animales detectados como persistentemente infectados (PI) con el Virus de Diarrea Viral Bovina, mediante la prueba de ELISA de captura de antígeno con un punto de corte de 0.300 y el método de inmunohistoquímica (IHQ) Estreptoavidina-biotina-peroxidasa en biopsias de piel de oreja, utilizando un anticuerpo monoclonal (gp53/E2) desarrollado en ratón. Con la ELISA de captura de antígeno no fue posible identificar animales positivos al VDVB; sin embargo, se detectaron antígenos del VDVB en el 15% (12 casos) de las biopsias evaluadas por inmunohistoquímica. Los sitios en donde la inmunopositividad se encontró con mayor frecuencia fueron células mononucleares de la dermis, células epiteliales de la epidermis y folículos pilosos. Los resultados obtenidos se analizaron por la prueba de Xi^2 de homogeneidad encontrándose diferencia significativa de que la capacidad para detectar animales PI mediante la técnica de ELISA de captura de antígeno y la IHQ es diferente. Se concluye que la IHQ es un método de diagnóstico eficaz, útil en la detección temprana de animales PI, siendo más sensible que la ELISA, por lo que su identificación permite la eliminación oportuna de dichos animales, reduciendo las pérdidas económicas, la diseminación del virus en el hato y el desarrollo de generaciones completas de animales PI.

Palabras clave: Bovine Viral Diarrhea, persistently infected cattle, immunohistochemestry.

Bovine Viral Diarrhea Virus Detection by Immunohistochemistry and Antigen-Capture ELISA in Persistently Infected Animals

Abstract

A study was realized with 80 Holstein calves of up to three months of age, which target was to compare the number of animals detected as persistently infected (PI) with the Bovine Viral Diarrhea Virus, by means of antigen-capture ELISA with a cut of 0.300 and the immunohistochemistry (IHC) method of Avidin-biotin complex in ear notch samples, using a monoclonal antibody (gp53/E2) developed in mouse. With the antigen-capture ELISA it was not possible to identify positive animals to the VDVB; but, antigens of the BVDV were detected in 15 % (12 cases) of the biopsies evaluated by immunohistochemistry. Positive staining was mainly found in mononuclear cells of the dermis, epithelial cells of the epidermis and follicular epithelium. The results were analyzed by Chi-square of homogeneity and it was found significant differences in the aptitude to detect animals PI by antigen-capture ELISA and IHC. One concludes that the IHC is an effective method of diagnosis, useful in the early detection of PI animals, being more sensitive than antigen-capture ELISA, and its identification allows the opportune elimination of the

animals, reducing economic losses, dissemination of the virus in the herd and the development of PI families.

Key words: Bovine Viral Diarrhea, persistently infected cattle, immunohistochemestry.

Introducción

El virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) es un virus ARN y se encuentra clasificado dentro de la familia *Flaviviridae* y el género *Pestivirus*. La diarrea viral como se describió por primera vez en Nueva York en 1946 por Olafson y colaboradores, es una enfermedad aguda, altamente contagiosa que es raramente fatal y que se caracteriza por fiebre, diarrea, lesiones en las mucosas y leucopenia. La enfermedad y el agente fueron nombrados Diarrea Viral Bovina (DVB) y virus de la diarrea viral bovina (VDVB) respectivamente. El virus fue subsecuentemente asociado con una enfermedad entérica a la cual se denominó como enfermedad de las mucosas (EM), ésta era altamente fatal y ocurría esporádicamente, el cuadro clínico consistía en fiebre, descarga nasal mucosa, anorexia, diarrea constante o intermitente que frecuentemente contenía sangre, así como erosiones y úlceras en el tracto gastrointestinal, deshidratación rápida y muerte.[1-7] Existen dos genotipos de VDVB designados como VDVB 1a, 1b y VDVB 2. El grupo 1 de VDVB contiene virus que se usa para la producción de vacunas, pruebas de diagnóstico e investigación, mientras que el grupo 2 representa aislamientos a partir de sueros fetales, animales persistentemente infectados (PI) becerros nacidos de madres vacunadas contra el VDVB, y ganado que ha muerto por una forma aguda de infección denominada síndrome hemorrágico. Asimismo, cada genotipo presenta dos biotipos citopatico (cp) y no citopático (ncp), con base en si ocasionan o no alteraciones en cultivo celular.[3,5,8,9]

La infección con el VDVB ncp en etapas tempranas del desarrollo fetal, antes de que se complete la maduración del sistema inmune fetal (150 a 200 días de gestación) puede traer como consecuencia animales inmunotolerantes al virus. La inmunotolerancia e infección persistente con el VDVB ocurre únicamente cuando el animal se infecta con un virus no citopático antes del día 125 de gestación. Los animales persistentemente infectados eliminan continuamente grandes cantidades de virus aún cuando estén clínicamente sanos, estos animales son inmunocompetentes con respecto a otros agentes. La inmunotolerancia es específica a la cadena del virus no citopático infectante por lo que los animales PI son capaces de desarrollar una respuesta inmune a cadenas heterólogas del VDVB y pueden ser seropositivos.[1-3.10-12]

Los animales PI se encuentran en riesgo de presentar enfermedad de las mucosas (EM). La EM ocurre cuando animales que son inmunotolerantes y PI con una cadena no citopática de VDVB sufren una superinfección con un virus citopático que presenta una gran homología con el virus persistente infectante. Debido a esto no cualquier combinación de virus citopático y no citopático da como resultado enfermedad de las mucosas.[7,10-12]

Los animales PI se consideran como la fuente de infección más importante de VDVB, la cantidad de virus en estos animales es extremadamente alta. Los

métodos de transmisión pueden ser vertical (todos los PI), u horizontal directo e indirecto. [1,2,6,10,12,13,14]

Dentro de los métodos de diagnóstico más comúnmente utilizados se encuentran: aislamiento viral, ELISA, hibridación *in situ*, reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) y pruebas de seroneutralización entre otras. Actualmente, el uso de la inmunohistoquímica en biopsias de piel, ha demostrado ser un método práctico y útil en la detección de animales PI.[14-27]

Objetivos

Detectar becerros persistentemente infectados con el virus de Diarrea Viral Bovina de hasta tres meses de edad a través de inmunohistoquímica en biopsias de piel, ELISA de captura de antígeno en suero y comparar los resultados. Asimismo, determinar la localización de la inmunopositividad en las biopsias de piel.

Material y Métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en marzo del 2004 en tres diferentes establos de la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo. Se utilizaron 80 becerras de la raza Holstein menores a tres meses de edad, provenientes de hatos con antecedentes previos de Diarrea Viral Bovina.

Prueba de ELISA de captura de antígeno

Para la detección de antígeno del Virus de Diarrea Viral Bovina se obtuvo sangre mediante punción de la vena yugular o caudal y posteriormente se tomó el suero para realizar la técnica de ELISA de captura de antígeno utilizando los reactivos y el método Antigen Test Kit/Serum de laboratorios IDEXX, donde el punto de corte fue de 0.300.[28]

Método de Inmunohistoquímica

Al mismo tiempo, de la toma de sangre se realizaron biopsias de piel de oreja para lo cual se utilizó un "muesqueador", obteniendo un fragmento de tejido de 1 x 0.8 x 0.4 cm aproximadamente, que se depositó en tubos vacutainer reciclados que contenían formalina al 10%, a pH de 7.4 permitiendo su fijación durante 24 horas a temperatura ambiente.

Para identificar el antígeno viral presente en la piel de oreja de las becerras se utilizó la técnica de Inmunohistoquímica con el método de detección Complejo Estreptoavidina-Biotina-Peroxidasa (CEB-P).[29]

Como testigos positivos se utilizaron secciones de intestino delgado y piel de oreja positivas para este virus a través de la técnica de inmunohistoquímica. Los testigos negativos fueron secciones de estos mismos tejidos en los cuales se sustituyó el anticuerpo primario por PBS.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la prueba de Xi^2 de homogeneidad utilizando el programa estadístico SAS.[30]

Resultados

De las 80 biopsias de piel de oreja que fueron sometidas a la técnica de IHQ con el método de detección estreptoavidina-biotina-peroxidasa, sólo 15% fueron

diagnosticadas positivas (inmunopositividad en grado moderado). Los sitios en donde la inmunopositividad se encontró en general, fueron células mononucleares de la dermis, células epiteliales de la epidermis y folículos pilosos.
En los 80 sueros de las becerras previamente analizadas por IHQ, no se logró detectar antígeno del VDVB mediante la prueba de ELISA de captura de antígeno al utilizar el punto de corte de 0.300.
En los resultados del diagnóstico obtenido mediante la técnica de ELISA de captura de antígeno y la técnica de IHQ, analizados por la prueba de Xi^2 de homogeneidad se encontró evidencia significativa de que la capacidad para detectar animales PI es diferente, P (<0.01) con 15% de animales diagnosticados positivos.
La inmunopositividad (casos positivos), se encontró en 2 casos de los 12 totales, en epitelio (epidermis y folículos pilosos), en 5 sólo se presentó positivo para células mononucleares y el resto (5) se apreció positivo para ambos (epitelio y células mononucleares).

Discusión
Los animales PI constituyen grandes pérdidas económicas para los productores, ya que la mayoría no manifiestan signos clínicos y es hasta los cuatro meses cuando se realizan pruebas diagnósticas tradicionales como la detección de anticuerpos por ELISA o el aislamiento viral en busca de animales infectados.
De acuerdo a algunos estudios, la IHQ en biopsias de piel ha constituido un método de diagnóstico alterno que ha demostrado ser útil en la detección de animales PI, ya que se puede realizar desde los primeros días de vida, la toma de muestra es relativamente fácil y no requiere refrigeración o medios especiales para su transporte, además de ser relativamente barata. El presente estudio es el primero que se realiza en México utilizando esta técnica.
Los resultados obtenidos en el presente estudio utilizando la IHQ y la ELISA de captura de antígeno en suero mostraron diferencias significativas (P<0.01) en la detección de animales PI concluyéndose que la IHQ fue más eficiente que la ELISA ya que detectó 15% de animales infectados.
Estos resultados concuerdan con lo descrito por Brodersen[31] y colaboradores, quienes en 1996 realizaron un estudio utilizando 37 bovinos, de los cuales 15 fueron positivos por IHQ y de estos solo 13 fueron positivos por ELISA de captura de antígeno en suero. En los dos bovinos que resultaron negativos por ELISA se decidió hacer el aislamiento viral en el que se logró demostrar la presencia del virus. Por otro lado Grooms y Keilen[32] quienes realizaron una investigación con 332 becerros de entre 1 y 4 semanas de edad obteniendo sangre y biopsias de piel de oreja de estos animales, encontraron que 6 (1.8%) fueron positivos tanto por aislamiento viral como por IHQ, por lo que concluyeron que la IHQ fue un método sensible y adecuado en la detección de animales PI. En otro estudio Njaa[33] y colaboradores utilizaron la prueba de IHQ a partir de biopsias de piel de diferentes regiones corporales de 42 animales diagnosticados como PI por aislamiento viral, encontrando inmunopositividad en 41 de ellos (97.6%). Los resultados de IHQ de estos estudios son semejantes a los resultados obtenidos en el presente estudio, poniendo de manifiesto la eficiencia de la IHQ para el diagnóstico de animales PI.

Cabe señalar que Cornish[34] y colaboradores, encontraron a diferencia del presente estudio, que la ELISA de captura y la IHQ eran capaces de detectar al 100% de los animales PI. El hecho de que ambos métodos de diagnóstico hayan tenido la misma sensibilidad puede deberse a que las pruebas de ELISA de captura de antígeno fueron realizadas a partir de biopsias de piel de la oreja y no en el suero como en el presente estudio. Recientemente, se ha utilizado la prueba de ELISA de captura de antígeno en biopsias de piel la cual también está indicada para detectar antígenos virales en el suero, sangre y plasma.[35] Una ventaja de esta prueba es que solo se requiere de una pequeña muestra de oreja. Según otro estudio realizado por Kuhne[36] y colaboradores este método fue igual de sensible que la IHQ al utilizar animales positivos diagnosticados por aislamiento viral, encontrando una sensibilidad de 100% y una especificidad de 99% para la prueba de ELISA en piel. Dentro de las desventajas que se mencionan en la utilización de éste método se encuentran: la interferencia de los anticuerpos maternos en la identificación del antígeno, la conservación de la muestra, ya que si no se realiza la prueba en un lapso corto después de la obtención de la muestra, esta debe refrigerarse o congelarse y se debe realizar una segunda ELISA o algún otro método diagnóstico para diferenciar entre animales PI o con infección aguda.

En el presente estudio, la inmunopositividad en la piel de todos los casos fue moderada, a diferencia de la observada por Brodersen[31], Grooms[32], Njaa[33] y Cornish[34], quienes obtuvieron una inmunopositividad marcada; esto puede deberse a que en estos casos se utilizó el anticuerpo monoclonal 15c5, el cual ha mostrado tener muy buenos resultados para biopsias de piel, y en el presente estudio se utilizó el anticuerpo monoclonal gp53E2. Probablemente las variaciones en los resultados de la IHQ están relacionadas con las características del anticuerpo primario utilizado, el sistema de detección, el método de recuperación antigénica, el tiempo de fijación de los tejidos y el método de IHQ utilizado, además de la interpretación del patólogo. Cabe señalar que el grado de inmunopositividad no interfiere con el diagnóstico, ya que el animal es considerado como negativo o positivo y por lo tanto PI independientemente de si la inmunopositividad es leve, moderada o marcada.

En el presente estudio, la inmunopositividad se observó en las estructuras y células esperadas (epidermis, folículos pilosos y células mononucleares), confirmando la preferencia del virus por estas células. Esta puede ser la explicación del porqué algunos animales infectados presentan hipotricosis y/o alopecia. Es importante señalar que en el caso de animales no PI que se infectan después del nacimiento no siempre es posible observar la inmunopositividad en piel y cuando esta presente es leve e inespecífica. Al parecer, hoy en día, no se conoce con exactitud en que día post-infección el virus es capaz de alcanzar la piel.

Algunos estudios indican que el porcentaje de animales PI en los hatos generalmente es bajo (1%). Sin embargo, también se ha informado de hatos con una seroprevalencia de más del 20%. En el presente estudio se encontró un 15%, aunque este se realizó únicamente en 80 becerras.

La identificación y eliminación de los animales persistentemente infectados resulta de gran importancia ya que dichos animales constituyen la principal fuente de

infección del virus dentro de los hatos. El 50% de estos animales puede alcanzar la edad reproductiva llegando a producir generaciones completas de animales PI que además estarán en riesgo de desarrollar la enfermedad de las mucosas. Asimismo, se encuentran en mayor riesgo de presentar infecciones secundarias por otros microorganismos, debido al poder inmunosupresor del virus.

Conclusiones

La IHQ permite detectar animales PI desde la primera semana de vida, siendo más sensible que la ELISA de captura de antígeno en suero.

La inmunopositividad se encontró en las estructuras y células esperadas (epidermis, folículos pilosos, células mononucleares).

Se sugiere la utilización de la IHQ como un método de diagnóstico eficaz, ya que ha demostrado ser útil en la identificación temprana de animales PI.

Se sugiere realizar más estudios utilizando la prueba de ELISA en biopsias de piel de la oreja ya que puede constituir además de la IHQ un método de diagnóstico alterno en la identificación de animales PI, que al igual que esta última resultaría económica, práctica y rápida.

Referencias

1. Radostits O M, Littlejohns I R. New concepts in the pathogenesis, diagnosis and control of diseases caused by the Bovine Viral Diarrhea Virus. Can Vet J 1988; 29: 513-528.
2. Baker J C. Bovine Viral Diarrhea Virus: A review. JAVMA 1987; 190: 1449-1458.
3. Brock K V. The many faces of Bovine Viral Diarrhea Virus. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 1-5.
4. Donis R O. Molecular biology of Bovine Viral Diarrhea Virus and its interactions with the host. Vet Clin N Am Food Anim Pract 1995; 11: 393-423.
5. Bolin S R, Grooms D L. Origination and consequences of Bovine Viral Diarrhea Virus diversity. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 51-68.
6. Tremblay R. Transmission of Bovine Viral Diarrhea Virus. Vet Med 1996; 9: 858-866.
7. Brownlie J, Thompson I, Curwen A. Bovine Virus Diarrhea Virus, strategic decisions for diagnosis and control. In Practice 2000; 4: 176-187.
8. Potgieter L N. Immunology of Bovine Viral Diarrhea Virus. Vet Clin N Am Food Anim Pract 1995; 11: 501-520.
9. Fulton R W, Saliki J T, Confer A W, Bolin S R. Bovine Viral Diarrhea Virus cytopathic and noncytopathic biotypes and type 1 and 2 genotypes in diagnostic laboratory accessions: clinical and necropsy samples from cattle. J Vet Diagn Invest 2000; 12: 333-38.
10. Campbell J R. Effect of Bovine Viral Diarrhea Virus in the feedlot. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 39-50.
11. Baker J C. The clinical manifestations of Bovine Viral Diarrhea Infection. Vet Clin N Am Food Anim Pract 1995; 11: 425-443.
12. Bielefeldt H O. The pathologies of Bovine Viral Diarrhea Virus infection. Vet Clin N Am Food Anim Pract 1995; 11: 447-476.

13. Houe H. Epidemiology of Bovine Viral Diarrhea Virus. Vet Clin N Am Food Anim Pract 1995; 11: 521-547.
14. Odeón A C, Risatti G, Kaiser G G, Leunda M R, Odriozola E, Campero C M, Donis R O. Bovine Viral Diarrea Virus genomic associations in mucosal disease, enteritis and generalized dermatitis outbreaks in Argentina. Vet Microbiol 2003; 96: 133-144.
15. Saliki J T, Dubovi E J. Laboratory diagnosis of Bovine Viral Diarrhea Virus infections. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 69-84.
16. Kelling C L. Evolution of Bovine Viral Diarrhea Virus vaccines. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 115-130.
17. Evermann J F, Berry E S, Baszler T V, Lewis T L, Byington T C, Dilbeck P M. Diagnostic approaches for the detection of Bovine Viral Diarrhea (DVB) virus and related pestiviruses. J Vet Diagn Invest 1993; 5: 265-269.
18. Cornish T E, Van Olphen A L, Cavender J L, Edwards J M, Jaeger P T, Woodard L F, Miller R D. Comparison of ear notch immunohistochemistry, ear notch antigen-capture ELISA, and buffy coat virus isolation for detection of calves persistently infected with bovine diarrhea virus. J Vet Diagn Invest 2005; 17: 110-117.
19. Bitsch V, Ronsholt L, Control of Bovine Viral Diarrhea Virus infection without vaccines. Vet Clin N Am Food Anim Pract 1995; 11: 627-640.
20. Larson R L, Pierce V L, Grotelueschen D M, Wittum T E, Economic evaluation of beef cowherd screening for cattle persistently-infected with Bovine Viral Diarrhea Virus. Bov Prac 2002; 36: 106-112.
21. Thur B, Zlinszky K. Immunohistochemical detection of Bovine Viral Diarrhea Virus in skin biopsies: a reliable and fast diagnostic tool. Zentralbl Veterinarmed B 1996; 43: 163-166.
22. Dubois W R, Cooper V L, Duffy J C, Dean D D, Ball R L, Starr B D. A preliminary Evaluation of the effect of vaccination with modified live Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) on detection of BVDV antigen in skin biopsies using immunohistochemical methods. Bov Pract 2000; 34: 98-100.
23. Ridpath J F, Hietala S K, Sorden S, Neill J D. Evaluation of the reverse transcription-polymerase chain reaction/probe test of serum samples and immunohistochemestry of skin sections for detection of acute Bovine Viral Diarrhea infections. J vet Diagn Invest 2002; 14: 303-307.
24. Smith D R, Grotelueschen D M. Biosecurity and biocontainment of Bovine Viral Diarrhea Virus. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 131-150.
25. Sandvik T. Progress of control and prevention programs for Bovine Viral Diarrhea Virus in Europe. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 152-170.
26. Brock K V. Strategies for the control and prevention of Bovine Viral Diarrhea Virus. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 171-180.
27. Lertora J. Inmunohistoquímica en biopsias de piel y bulbos pilosos para el diagnóstico de bovinos persistentemente infectados con el Virus de Diarrea Viral Bovina (tesis de maestría). Chile (Valdivia). Chile: Universidad Austral de Chile (UACH), Facultad de Ciencias Veterinarias. 2002.

28. Antigen Test kit/Serum. IDEXX Laboratories Inc. Westbrook, Maine 04092, USA. 0080072743399.
29. Haines D M, Chelack B J. Technical considerations for developing enzyme immunohistochemical staining procedures on formalin-fixed paraffin-embedded tissues for diagnostic pathology. J Vet Diagn Invest 1991; 3:101-112.
30. Wayne D W. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la Salud. 4ta ed. México (DF). Limusa Wiley 2002.
31. Brodersen B W. Immunohistochemistry used as a screening method for Persistent Bovine Viral Diarrhea Virus infection. Vet Clin N Am Food Anim Pract 2004; 20: 85-94.
32. Grooms D L, Keilen E D. Sreening of neonatal calves for persistent infection with Bovine Viral Diarrhea Virus by immunohistochemistry on skin biopsy samples. Clin Diag Lab Imm 2002; 9: 898-900.
33. Njaa B L, Clark E G, Janzen E, Ellis J A, Haines D M. Diagnosis of persistent Bovine Viral Diarrea Virus infection by immunohistochemical staining of formalin-fixed skin biopsy specimens. J Vet Diagn Invest 2000. 12: 393-399.
34. Cornish T E, Van Olphen A L, Cavender J L, Edwards J M, Jaeger P T, Woodard L F, Miller R D. Comparison of ear notch immunohistochemistry, ear notch antigen-capture ELISA, and buffy coat virus isolation for detection of calves persistently infected with bovine diarrhea virus. J Vet Diagn Invest 2005; 17: 110-117.
35. Virus Antigen/ Serum Test kit. IDEXX HerdChek. European Headquarters. Schiphol-Rijk, Noord-Holland 119 NE. The Netherlands.
36. H Kuhne S, Schroeder G, Holmquist G, Wolf S, Horner G, Ballagi A. Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus infected cattle–testing tissue samples derived from ear tagging using an Erns capture ELISA. Journal of veterinary medicine series B 2005; 52:272.

CARACTERIZACIÓN PATOLÓGICA E INMUNOPATOLÓGICA INDUCIDA POR NEMATODOS EN PULMONES DE OVINOS INFESTADOS NATURALMENTE

Roberto Montes de Oca Jiménez [1], Betsy Coyote-Camacho [1], María U. Alonso-Fresan [1], María E. López-Arellano[2].

[1]Centro de Investigación y Estudios Avanzados sobre Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México.
[2]INIFAP. Cuernavaca, Morelos.

RESUMEN
Las neumonías verminosas en ovinos se presentan de manera frecuente en los rebaños, predisponiendo a la presentación de enfermedades bacterianas y virales. Con el objeto de estudiar el patrón neumónico y la respuesta inmunitaria en el pulmón de ovinos infestados naturalmente fueron eutanaciados 21 ovejas criollas con edades entre un año y medio a siete años. Se evaluaron las lesiones macroscópicas y microscópicas del pulmón y se efectuó la cuantificación del número de linfocitos TCD4, TCD8, Macrófagos y linfocitos Tγδ. Se realizó el lavado bronquial y se determinaron los niveles de IgG. Los ovinos presentaron en pulmón huevos y larvas principalmente de *Dictyocaulus filaria* (50%), y en menor cantidad *Muellerius capillaris* (12.5%) y *Protostrongylus sp*. (12.5%). Todos los pulmones presentaron múltiples focos de color blanco amarillento o blanco grisáceo, siendo el lóbulo posterior el más afectado. El 52% de los pulmones presentaron en bronquios un proceso catarral con presencia de parásitos de tamaño variable. Las lesiones histopatológicas consistieron en enfisema alveolar, engrosamiento del septo alveolar, hiperplasia linfoide peribronquial y perivascular, siendo esta severa en los mayores grados de infestación parasitaria. Los acúmulos linfoides estuvieron constituidos fundamentalmente por células $TCD4^+$ y T γ/δ; con escasos linfocitos T $CD8^+$ y macrófagos. Los niveles promedio de IgG respecto al grado de infestación parasitaria fueron en el grado leve de 1.44 mg/ml, en el moderado de 1.74 mg/ml y el grave de 1,71 mg/ml. El grado de infestación parasitaria mostró alta relación con el grado de lesión pulmonar macroscópica y microscópica, así como con los niveles de inmunoglobulinas y con mayor infiltración de células $TCD4^+$ y T γ/δ en los sitios de inflamación.

Palabras claves: respuesta inmunológica, ovinos, nematodos pulmonares, infestación natural

PATHOLOGICAL CHARACTERIZATION AND IMMUNEPATHOLOGY INDUCED BY NEMATODES IN LUNGS OF SHEEP INFECTED NATURALLY

Abstract. The verminous pneumonias in sheep appear in a frequent way in the flocks, predisposing to the presentation of bacterial and viral diseases. The order to study the pneumonic boss and the response inmunitary in the lung of sheep infected naturally 21 creoles sheep's were euthanasia's with ages between one year and a half to seven years. There were evaluated the macroscopic and microscopic injuries of the lung and the quantification of the number was carried

out of lymphocytes TCD4, TCD8, macrophages and lymphocytes Tγδ. The bronchial wash was realized and IgG levels decided. The sheep ones presented in lung eggs and larvae principally of *Dictyocaulus filaria* (50 %), and in minor quantity *Muellerius capillaris* (12.5 %) and *Protostrongylus sp*. (12.5 %). All the lungs presented multiple areas of white yellowish color or grayish target, being the most affected later lobe. 52 % of the lungs presented in bronchi a catarrhal process with presence of parasites of changeable size. The injuries histopathology consisted of alveolar emphysema, engrosamiento of the septum-alveolar, hyperplasia lymphoide pier-bronquial and pier-vascular, being this severe in the major degrees of parasitic infestation. The cumulous lymphoide were constituted fundamentally by cells TCD4+ and T γ/δ; with scanty lymphocytes T CD8+ and macrophages. The levels IgG average with regard to the degree of parasitic infestation were in the slight degree of 1.44 mg/ml, in moderated of 1.74 mg/ml and the serious of 1,71 mg/ml. The degree of parasitic infestation showed high relation with the degree of pulmonary macroscopic and microscopic injury, as well as with the levels of immunoglobulin and with major infiltration of cells TCD4+ and T γ/δ in the sites of inflammation.

Key words: immunological response, sheep, nematodes pulmonary, natural infestation

INTRODUCCIÓN

Los pequeños rumiantes mantenidos en sistema de pastoreo con alta frecuencia se ven afectados por nematodos pulmonares, ocasionando Bronconeumonias verminosas. Las especies implicadas son *Dictyocaulus filaria, Muellerius capillaris y Protostrongylus rufescens*. En las infestaciones por nemátodos la respuesta inmune característica es del tipo Th2; sin embargo, las cepas de parásitos difieren en su capacidad de desencadenar reacciones Th1 o Th2. Estudios realizados en humanos y ratones, sugieren que la primer larva de *Brugia Malawi* que llega a pulmón induce una respuesta Th1. En ovinos no hay estudios del tipo de respuesta inmune que se desarrolla en infestaciones parasitarias, mayormente en infestaciones naturales.

OBJETIVOS

Evaluar y caracterizar la respuesta inmune bronquio-alveolar generada ante la presencia y acción de nematodos en pulmones de ovinos infestados naturalmente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio*:* ovinos criollos infestados naturalmente por nematodos pulmonares procedentes de explotaciones ovinas de la localidad de Río Frío, municipio de Ixtapaluca, Estado de México los cuales fueron estudiados para determinar los cambios patológicos macroscópicos y microscópicos, el nivel de infestación parasitaria, y la carga parasitaria en tejido pulmonar.

Para la identificación de las especies de nematodos pulmonares a partir de muestras fecales y establecer la frecuencia de infestación se realizo la técnica de Baerman.

Caracterización macroscópica: tras la necropsia, se efectuó la descripción de las lesiones asociadas a la infestación parasitaria pulmonar, estableciendo su patrón de distribución en cada lóbulo pulmonar, la extensión, el color y consistencia. Se efectuó la disección de los pulmones siguiendo el árbol bronquial con objeto de evaluar la presencia de parásitos y el tipo de exudado.
Caracterización del patrón neumónico microscópico de pulmones ovinos infestados por nematodos: Las muestras tomadas de pulmón se fijan en formol al 10%; se realizaron cortes de 4 µm de espesor, se teñirán con la técnica de Hematoxilina – eosina.
ELISA: en los sitios de hallazgos de los parásitos se realizó el lavado bronquial, mediante la técnica de ELISA se determinaron los niveles de IgG .
Inmunohistoquimica: se tomaron muestras en congelación, las cuales fueron teñidas mediante inmunocitoquímica frente a los marcadores para linfocitos TCD4, TCD8, Macrófagos y linfocitos γ/δ.

RESULTADOS

Las especies de nematodos encontradas utilizando la técnica de Baerman en heces fueron huevos y larvas de *Dictyocaulus filaria* en el 100% de los animales muestreados, *Muellerius capillaris* y larvas de *Protostrongylus spp* se observaron en el 12,5% de los casos.
Todos los pulmones de ovinos presentaron múltiples focos de color blanco amarillento o blanco grisáceo en ambos pulmones, con bordes irregulares y de aproximadamente 0.3 a 3.5 cm. de diámetro. En todos los animales se observaron lesiones en ambos pulmones a nivel del lóbulo posteriores en sus diversos segmentos, siendo el segmento basal dorsal el más afectado en un 100% (21/21). En el árbol bronquial se identificaron 52% (11/21) de ovejas con parásitos pulmonares con un tamaño que oscila de 1-8 cm y presentaron un proceso catarral de moderado a severo. De los 11 animales que presentaron parásitos en el árbol bronquial, el 100% presento *Dictyocaulus filaria*. *Muellerius capillaris* se observó en el 18% de los casos.
Las lesiones histopatológicas del pulmón consistieron en engrosamiento de la pleura visceral que varía de leve a severa con infiltración discreta focal a multifocal de células mononucleares; enfisema alveolar que varía de moderado a severo; engrosamiento del septo alveolar en diversos grados de severidad. Se presentó hiperplasia linfoide peribronquial y perivascular en grado variable y altamente relacionada con respecto al grado de infestación pulmonar. En bronquios y bronquiolos se observó hiperplasia del epitelio de moderado a severo con presencia de moco en cantidad variable, presencia de escasos leucocitos en la luz y células en descamación. Infiltración de células mononucleares en submucosa e hipertrofia de las glándulas. En algunos bronquiolos se presentó hipertrofia de la capa muscular y metaplasia escamosa del epitelio bronquiolar asociada a la presencia de larvas de parásitos. En alvéolos y bronquios se observaron huevos y larvas en cantidad variable con infiltración leve de células mononucleares.
El infiltrado y el número de linfocitos T en los acúmulos linfoides estuvieron constituidos fundamentalmente por células $TCD4^+$ y T γ/δ, se observaron escasos linfocitos T $CD8^+$ y macrófagos.

Los niveles promedio de IgG respecto al grado de infestación parasitaria fueron en el grado leve de 1.44 mg/ml, en el moderado de 1.74 mg/ml y en el grave de 1,71 mg/ml.

DISCUSIÓN

La positividad cruda obtenida de la presencia de nematodos pulmonares en el estudio coproparasitoscópico, utilizando la técnica de Baerman para *Dictyocaulus filaria* fue del 100% de los animales muestreados, *Muellerius capillaris* y larvas de *Protostrongylus spp* se observaron en el 12,5% de los casos; estos hallazgos encontrados son similares a los reportados por otros autores (Vázquez, 1991; Gaxiola *et al.,* 1997). Baerman es una técnica con alta sensibilidad frente a otras pruebas parasitoscópicas ya que esta diseñada para detectar huevos y larvas de nematodos pulmonares.

Al igual que otros autores se encontró que las especies más comunes son *Dictyocaulus filaria*, y *Muellerius capillaris* (Sharma, 1994; Bouljihad *et al.,* 1995). Esto es debido a que los parásitos tienen una distribución cosmopolita, cuya presencia varía con las regiones climáticas y la presencia o ausencia de hospederos intermediarios (Mansfield *et al.,* 1993; Melhlhorn, 2001). Debido a esto en el presente estudio no encontramos *Protostrongylus rufescens* por las condiciones climáticas de Ixtapaluca, Estado de México, coincidiendo con lo dicho por otros autores.

Con respecto a las lesiones macroscópicas evaluadas de ambos pulmones, se observo que todos los pulmones de ovinos eutanaciados presentaron múltiples focos de color blanco amarillento o blanco grisáceo en ambos pulmones, con bordes irregulares y de aproximadamente 0.3 a 3.5 cm. de diámetro. Quiroz describe que *Dictyocaulus filaria* y *Muellerius capillaris* afectan el área postdorsal del lóbulo posterior con presencia de focos de color blanco amarillento en la infestación por *Dictyocaulus filaria*, mientras que *Muellerius capillaris* presenta un predominio del color gris amarillento o rojizo (Berrag *et al.,* 1997).

En *Dictyocaulus filaria* las lesiones más características son la traqueo-bronquitis catarral, con presencia de mucus espumoso de color blanquecino, además de presentar macroscópicamente formas adultas localizados en la tráquea y en los grandes bronquios (Baht and Sharma, 1984). Los hallazgos encontrados en el presente estudio son similares a lo reportado por Baht, ya que en el árbol bronquial se identificaron 52% de ovejas con parásitos pulmonares con un tamaño que oscila de 1-8 cm y presentaron un proceso catarral de moderado a severo. Al igual que en otros estudios, en nuestro trabajo se observó que a mayor presencia de parásitos la severidad de las lesiones histopatológicas e inmunológicas fueron mayores (King *et al.,* 1993; Yazdanbakhsh *et al.,* 1995).

Los niveles promedio de IgG respecto al grado de infestación parasitaria donde se utilizo la técnica de ELISA en lavado bronquial de ovinos presentaron que el grado moderado es el mas alto con un 1.74 mg/ml, seguido del grave de 1,71 mg/ml y por ultimo el grado leve de 1.44 mg/ml. Aun cuando los estudios no son

similares por la diferencia entre el parásito muestran similitudes, como es en el caso de Lawrence *et al.,* en 1995 observaron que en casos de *Brugia malayi* la primer larva que llega a pulmón induce una respuesta Th1 con la aparición de anticuerpos específicos IgG2a, IgG2b, e IgG3 y oculta en IFN-gama secretados por el bazo.

En el presente estudio se observo que los linfocitos CD4 presentaron un promedio de 48.67 y de 38.17 en los T γ/δ. En el caso de T CD8 se obtuvo la media más baja de 4. Se encontraron similitudes con otros autores en el caso de T CD4, pues Mitre *et al*., 2004 encuentra que al aumentar la función basófila se amplia la respuesta Th2 liberando IL-4 y con ello es más frecuente que las células T CD4 se incrementen en respuestas a los antígenos de filaria.

Debido a la adaptación de los helmintos el sistema inmunitario es relativamente ineficiente para controlarlos, pues estos generan una adaptación por necesidad a la competencia exitosa contra el sistema inmunitario (Tizard, 2002).

CONCLUSIONES

La especie de nematodo encontrada con mayor frecuencia fue *Dictyocaulus filaria,* debido a las condiciones climáticas de Ixtapaluca, Estado de México.

El grado de infestación parasitaria tiene relación con el daño pulmonar tanto macroscópico, como microscópicas.

La infestación parasitaria tiene relación con una infiltración mayor de células $TCD4^+$ y T γ/δ y la concentración elevada de IgG en el lavado bronquial.

REFERENCIAS

1. Hartmann S, Lucius R. Modulation of host immune responses by nematode cystatins. Int. J. Parasitol. 2003;33(11):1291-302.
2. Loke P, MacDonald AS, Robb A, Maizels RM y Allen J. E. Alternatively activated macrophages induced by nematode infection inhibit proliferation via cell-to-cell contact. European J. Immunology. 2000;30(9):2669-2678.
3. Mehlhorn, H. Encyclopedic referente of Parasitology. Springer. Berlin Germany, 2001.
4. Morimoto M, Morimoto M, Whitmire J, Xiao S, Anthony RM, Mirakami H, Star RA, Urban JF y Gause WC. Peripheral CD4 T cells rapidly accumulate at the nost: parasite interface during an inflammatory Th2 memory response. J. Immunol. 2004;172(4):2424-30.
5. Quiroz HR. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. LIMUSA. México. 1990.
6. Ramírez SJ, Reyes LO. Estudio comparativo de las verminosis pulmonares y lesiones macroscópicas presentes en caprinos sacrificados en los Valles Centrales del Estado de Oaxaca. EMVZ Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca. 2000.

INDICADORES DE FUNCIONAMIENTO RENAL DE CORDEROS PELIBUEY TABASCO EN ENGORDA

Felipe Juárez Barranco, Gabriela Silva Hidalgo, Martín López Valenzuela, Rubén Barajas Cruz, Marco Antonio Espino García, Leonardo Almeida Vega.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa.

RESUMEN

Con el objetivo de determinar la concentración sérica de creatinina y las características físico químicas de la orina, se llevaron a cabo dos mediciones: una durante enero y febrero, y otra en marzo y abril. En ambas mediciones se emplearon 12 corderos Pelibuey Tabasco. Los animales se alojaron en jaulas metabólicas individuales por 56 días y recibieron dietas de engorda a libre acceso. Los días 14, 28, 42 y 56 se colectaron muestras de sangre para determinar la concentración de creatinina y muestras de orina para determinar gravedad específica, pH, proteína, glucosa, nitritos, cetonas y bilirrubina. La concentración sérica de creatinina encontrada fue de 0.841 mg/dL (DS ± 0.07) con limites de 0.66 a 0.94 mg/dL. Urianálisis: la gravedad específica fue de 1.015 (DS ± 0.002) con limites de 1.010 a 1.020; proteína 15.42 mg/dL (DS ± 24.9) con limites de 0.0 a 100 mg/dL; el pH fue de 8.85 (DS ± 0.29) con limites de 8.0 a 9.0; la presencia de glucosa, Nitritos, Cetonas y bilirrubina fue negativa. Se concluye que la concentración sérica de creatinina en corderos Pelibuey Tabasco en engorda, oscila entre 0.66 y 0.94 mg/dL y los valores del urianálisis corresponden con los conocidos. Es conveniente conducir mas estudios, que aporten información para establecer valores de referencia en ovinos.

Palabras clave: Ovino, creatinina sérica, urianálisis

KIDNEY FUNCTION INDICATORS IN FINISHING LAMBS PELIBUEY TABASCO

ABSTRACT

With the objective to determine the concentration of serum creatinine and urianalysis, were conducted two meditions: one in january and february, and the other in march and april. In both meditions twelve Pelibuey Tabasco lambs, placed individually in metabolic crates and receive food *ad libitum* for 56 days. Blood and urine samples were taken on days 14, 28, 42 and 56. Serum creatinine, and urine specific gravity, pH, protein, glucose, nitrites, ketones and bilirubin analysis were performed. The serum cretinine concentration was 0.841 mg/dL (DS ± 0.07) and range of 0.66 - 0.94 mg/dL. Urinalysis: specific gravity was 1.015 (DS ± 0.002) and range of 1.010 - 1.020; protein was 15.42 mg/dL (DS ± 24.9) and range of 0.0 - 100 mg/dL; pH was 8.85 (DS ± 0.29) and range of 8.0 - 9.0; glucose, nitrites, ketones and bilirubin were negative. It is concluded that serum creatinine concentration in finishing lambs Pelibuey Tabasco oscillate between 0.66 y 0.94 mg/dL and the urinalysis valors are similar to established at the literature. It is convenient to realize more studies for the establishement of reference values in ovine.

Key words: Ovine, serum creatinine, urinalysis

INTRODUCCIÓN

En la práctica clínica, la determinación de creatinina sérica y el urianálisis son las pruebas más importantes para el diagnóstico de un daño renal.[1] La creatinina es un compuesto nitrogenado no proteico que se produce de manera constante en el organismo, se origina como producto secundario del metabolismo muscular y se excreta por el riñón, esta sustancia es filtrada libremente por el glomérulo renal, no se absorbe a nivel tubular[2] y por esto último su concentración sérica es considerada de gran utilidad en el diagnóstico de patologías renales que alteran principalmente el proceso de filtración.[3] La creatinina, además es secretada en un 10% por los túbulos renales, por lo que su concentración sanguínea se eleva cuando hay un daño tubular.[2] El valor de referencia para la concentración sérica de creatinina se encuentra entre 1.2 y 1.9 mg/dL,[1,4] mientras que El Manual Merck propone para las ovejas de 0.9 a 2.0 mg/dL[5]. Por su parte los valores de referencia del urianálisis en ovinos son los siguientes: gravedad específica 1.015 a 1.045[1,3] y 1.020 a 1.040[6]; pH alcalino de 7.2 a 8.0; proteína negativo o trazas; glucosa, cetonas y bilirrubina negativo,[1] es común que algunos ovinos presenten cetonas y bilirrubina en pequeñas cantidades.[6] Los valores de referencia de los que se dispone en la literatura son valores generados en otros países distintos y no se dispone de valores referenciales que consideren la edad, raza, sexo, entre otros. En México y el mundo no se dispone de valores de referencia para evaluar función renal que consideren la edad, la raza, el sexo, condiciones medioambientales y función zootécnica.

OBJETIVO

El objetivo del presente estudio fue determinar la concentración sérica de creatinina y algunas características físico químicas de la orina que son de importancia clínica para el diagnóstico de daño renal en ovinos Pelibuey Tabasco en engorda.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio consistió en la realización de dos mediciones, una realizada en los meses de enero y febrero (M-1), y la segunda en los meses de marzo y abril (M-2) de 2005, el trabajo se efectuó en la unidad metabólica para rumiantes y laboratorio de patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa.

Animales. M-1: Se utilizaron 12 ovinos machos enteros Pelibuey Tabasco, con un peso inicial promedio de 19.542 kg $\pm$ 0.858 kg. M-2: Se utilizaron 12 ovinos machos enteros Pelibuey Tabasco, con un peso inicial promedio de 18.146 $\pm$ 1.502 kg.

Procedimiento. Los animales se alojaron durante 56 días en jaulas metabólicas individuales de 60 x 120 cm y elevadas a 60 cm del piso; se alimentaron a libre acceso con dietas integrales para corderos en engorda. Después de un periodo de adaptación de dos semanas, se colectaron muestras de sangre por punción yugular los días 14, 28, 42 y 56 (96 muestras en total), entre las 7:30 y 8:30 h previo al servido de alimento y agua, se obtuvo el suero y se midió la concentración de creatinina sérica (método colorimétrico automatizado (Randox, 1993) empleando los reactivos CR 524 de Laboratorios Randox); los mismos días se colectaron muestras de orina para urianálisis (96 muestras en total), se conservaron en refrigeración a 4 °C por un periodo no mayor a 3 h para su procesamiento (Benjamín, 1991); para la recolección de orina se siguió el principio de la técnica propuesta por Coffin (1959), en lugar de fijar la bolsa recolectora con un cordón a ambos lados del animal y atado sobre la región lumbar, se fijo la bolsa con dos puntos de sutura en piel a ambos lados (craneal y caudal) del prepucio, utilizando sutura de nylon triple cero. La orina se depositó en un recipiente de plástico y de cierre hermético. Se determinó gravedad específica, pH, concentración de proteína, glucosa, nitritos, cetonas, urobilinógeno, bilirrubina y eritrocitos, empleando tiras reactivas Multistics (Laboratorios Bayer) y un lector Clinitek Status (Bayer HealthCare); cuando en la orina se detectó proteína, se confirmó manualmente por medio de la prueba del anillo de Heller (Laurine, 1987).

RESULTADOS.

La concentración sérica de creatinina de ovinos Pelibuey Tabasco en engorda, se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Concentración sérica de creatinina mg/dL de ovinos en engorda (M-1 y M-2)

Cordero	M-1 Creatinina mmg/dL (promedio)	DS*	M-2 Creatinina mmg/dL (promedio)	DS*
1	0.750	0.07	0.830	0.05
2	0.838	0.05	0.940	0.08
3	0.833	0.03	0.660	0.21
4	0.825	0.04	0.733	0.08
5	0.898	0.05	0.783	0.3
6	0.940	0.02	0.808	0.19
7	0.913	0.06	0.820	0.02
8	0.873	0.04	0.883	0.1
9	0.830	0.06	0.883	0.06
10	0.918	0.07	0.753	0.09
11	0.918	0.04	0.845	0.07
12	0.885	0.07	0.828	0.09
Promedio	0.868	0.055	0.814	0.075

* DE = desviación estándar

El valor promedio general fue de 0.841 mg/dL (DS ± 0.07) y los limites observados fueron de 0.66 a 0.94 mg/dL.

Las características fisicoquímicas de la orina de ovinos Pelibuey Tabasco en engorda, se presentan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Características físico químicas de la orina de ovinos en engorda.

Variable	Media	DS*	Limites
Gravedad específica	1.015	0.002	1.010 – 1.020
Proteína mg/dL	15.42	24.9	0.0 -100
pH	8.85	0.29	8.0 –9.0
Glucosa	0.0	-	-
Nitritos	0.0	-	-
Cetonas	0.0**	-	-
Bilirrubinas mg/dL	0.0**	-	-

* DS significa desviación estándar
** En 8 muestras de orina de las 96 analizadas se detectaron indicios de bilirrubina y en 7 la presencia de pequeñas cantidades de cetonas.

DISCUSIÓN

La concentración sérica de 0.84 mg/dL encontrada, es menor que los valores publicados como referencia de 1.2 a 1.9,[1,4] o bien de 0.9 a 2.0,[5] esta diferencia probablemente se deba, a que estas mediciones fueron realizadas en corderos

Pelibuey Tabasco, que es una raza bien definida y en engorda intensiva, en tanto que los valores publicados en la literatura, quizás corresponden a otro tipo de ovino con un componente genético distinto, de diferente edad, sexo, condiciones ambientales y de explotación. La gravedad específica de la orina de 1.015 encontrada en el estudio es semejante a los valores publicados; [1,3] la presencia de pequeñas cantidades de proteína en la orina (0 – 100 mg/dL) es normal encontrarla en los ovinos de acuerdo con Pugh; [1] el pH de la orina se encontró en un grado de alcalinidad mayor (8 – 9) que lo informado por Pugh[1] de 7.2 a 8 esta diferencia puede ser debida a las mismas razones señaladas para el nivel de creatinina; en ovinos sanos la presencia de glucosa y nitritos en orina es negativa,[1] igual resultado se encontró en este estudio; la presencia de pequeñas cantidades de cetonas y bilirrubina detectadas en la orina de algunos de los corderos del estudio se considera común que estén presentes en la orina.[6]

CONCLUSIONES

La concentración sérica de creatinina de corderos Pelibuey Tabasco en engorda oscila entre 0.66 y 0.94 mg/dL, en tanto que los valores resultantes del urianálisis corresponden con los de la literatura existente. Es conveniente la conducción de más estudios, que aporten información para establecer valores de referencia en los indicadores de función renal en los ovinos Pelibuey Tabasco.

REFERENCIAS

1. Pugh DG. Sheep and Goat Medicine. W.B. Saunders Company. United States of America: 2002.
2. Cunningham JG. Fisiología Veterinaria. 2a ed. McGraw-Hill Interamericana. México: 1997.
3. Benjamín MM. Manual de Patología Clínica en Veterinaria. Ed. Limusa. México: 1991.
4. Radostis OM, Gay CC, Blood DC y Hinchcliff KW. Medicina Veterinaria. 9a ed. McGraw-Hill Interamericana. España: 1999.
5. The Merck Veterinary Manual. 7a ed. Merck & Co. United States of America: 1991.
6. Doxey DL. Patología Clínica y Procedimientos de Diagnóstico en Veterinaria. Manual Moderno. México:1987.

UTILIZACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL Y MEDICIÓN DEL DÍAMETRO Y NÚMERO DE ADIPOCITOS PARA DETERMINAR LAS RESERVAS GRASAS Y SU DISTRIBUCIÓN EN LA CANAL DE CABRAS DE GENOTIPO CARNICO

Saúl Paz Hernández[1]*, Eugenia Candanosa Aranda[1], Andrés Ducoing Watty[2], Javier Gutiérrez Molotla[2]
[1] Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
[2] Departamento de Producción Animal: Rumiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

RESUMEN

Se utilizaron 12 cabras en mantenimiento entre 2 y 6 partos, de genotipo cárnico (Boer), las cuales conformaron 3 grupos con 4 cabras cada uno según la escala de condición corporal descrita por Morand-Fehr, con el fin de evaluar la eficacia del sistema de calificación de condición corporal empleado para caprinos de genotipo lechero y la medición del diámetro y numero de adipocitos en la estimación de las reservas grasas y su distribución corporal en cabras adultas de genotipo cárnico.

Se sacrificó a los animales para obtener la canal la cual se evaluó al igual que el ojo de la chuleta y se diseccionó la canal. A todos los animales se les tomó una muestra de tejido adiposo *post mortem* de seis diferentes regiones anatómicas, tomando las muestras del tejido subcutáneo esternal, de la base de la cola, tejido omental, tejido perirrenal y tejido mesentérico. Las muestras de tejido se cortaron con un criostato Leica CM 1800^{MR} , se midieron 100 adipocitos de cada sección de tejido adiposo y se tiñeron con la técnica de Sudán, se evaluaron las células con el programa Image Pro Plus versión 4.5.1 para Windows ^{MR} 98/2000.

Los resultados sugieren que la medición de la condición corporal propuesta en cabras de genotipo lechero puede ser implementada en animales de genotipo cárnico y que existe mayor variabilidad de los promedios de los adipocitos de reservas corporales subcutaneas (región esternal y glándula mamaria) que en las reservas cavitarias. Y que la variación de los perímetros de los adipocitos no tuvo relación con el porcentaje de grasa total de los individuos, exceptuando el perímetro de los adipocitos de la grasa omental y el porcentaje de grasa interna total.

Palabras claves: condición corporal, adipocitos, cabra.

Abstract

12 meat genotype goats (Boer) in maintenance, between 2 and 6 parturitions, were used. They were grouped in 3 categories of 4 goats each according to the scale of body condition described by Morand-Fehr, with the purpose of evaluating the effectiveness of the body condition qualification system for milk genotype goats, and the measurement of the size and number of adipocytes in the estimation of the fat depots and the body distribution in meat genotype adult goats. Once the animals were sacrificed the carcass was obtained and samples of fatty tissue from esternal subcutaneous, base of the tail, omental , perirenal and

mesenteric regions were obtained. The tissue samples were cut with a criostato Leica CM 1800 TM, were stained with Sudan´s technique, and the cells were evaluated with the Image Program Pro Extra version 4.5.1 for Windows TM 98/2000.
The results suggest that the measurement of body condition proposed in milk genotype goats can be implemented in meat genotype animals, that there is greater variability of the average of the adipocites of subcutaneous
body reserves (esternal region and mammary gland) than in the interior reserves, and that variation of the perimeters of the adipocytes did not have relation with the percentage of total fat from the individuals, excepting the perimeter of the adipocytes of the omental tissue and the percentage of total internal fat.
Keywords: goats; Body condition, adipocytes

INTRODUCCION

La condición corporal en los caprinos y su correcta interpretación constituyen elementos de criterio para la toma de decisiones relacionadas al manejo del rebaño tendiente al incremento de su productividad. La condición corporal se define como ¨la razón de la cantidad de grasa con la cantidad de materia no grasa en el cuerpo del animal vivo¨. La estimación subjetiva de la condición corporal ha sido usada durante un tiempo considerable para determinar la proporción de grasa de un animal, por lo que diversos autores la han ocupado como la interpretación del estado nutricional de los animales en sus diversos experimentos.[1]
Morand-Fehr y Hervieu (1999) describieron una escala de condición corporal que consta de seis grados, donde cada grado está definido por características que son evaluadas a la palpación donde el grado 0 es el grado mas bajo y se refiere a un animal emaciado, hasta el grado 5 que describe a un animal obeso.[2]
Se ha observado que la condición corporal es el resultado de la acumulación y movilización de la grasa y que se puede apreciar en el tamaño de la célula adiposa. La movilización y deposición de reservas varía según la especie animal. En cabras de genotipo lechero los lípidos se depositan principalmente en el tejido adiposo interno (grasa omental, mesentérica y perirrenal), estos depósitos representan mas del 50 % del tejido adiposo total.[2] Sin embargo, se ha observado que la movilización primaria del tejido adiposo proviene de las reservas localizadas a nivel subcutáneo e intermuscular.[2] Actuando en este proceso enzimas lipogénicas.
Por lo tanto, para la evaluación de las reservas grasas existen diversas técnicas que varían en su complejidad, costo y eficacia. Desde la más sencilla, como la técnica manual de evaluación de la condición corporal o más complejas como la medida de espacio de difusión de isótopos en agua.[3] Robelin y Agabriel (1986), propusieron un método intermedio para los bovinos que evalúa la cantidad de grasa corporal con base al diámetro de los adipocitos subcutáneos.
El empleo de técnicas alternativas para la medición de reservas corporales puede ser de gran utilidad para determinar el grado de condición corporal de un animal gracias a su precisión, a diferencia de la calificación de la condición corporal, la cual es una medida subjetiva. Sin embargo, la combinación de técnicas permite tener una estimación más precisa de las reservas grasas de los animales[5].

MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se realizó en el Centro de Enseñanza Practica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, ubicado en el Km 28.5 de la Carretera Federal México-Cuernavaca, a 19° latitud norte y 99° longitud oeste, a una altura de 2760 msnm, con un clima Cw, templado subhúmedo con lluvias en verano, con una temperatura anual mínima de 7° C y una máxima de 24° C, y una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm^3 anuales.

Se utilizaron 12 cabras en mantenimiento entre 2 y 6 partos, de genotipo cárnico (Boer), las cuales conformaron 3 grupos con 4 cabras cada uno según la escala de condición corporal descrita por Morand-Fehr.[2]

El grupo A estuvo formado por cabras con una condición corporal menor a 2 (condición corporal baja), el grupo B por cabras con una condición corporal de 2 a 3 (condición corporal media) y el grupo C por cabras con una condición corporal mayor a 3 (condición corporal alta).

Las muestras para la medición del número y diámetro de los adipocitos fueron tomadas inmediatamente después del sacrificio; tomando las muestras del tejido subcutáneo esternal, de la base de la cola, omental, perirrenal y mesentérica. A cada muestra de tejido se le realizaron varios cortes con una medida de 7 µm, los cortes fueron efectuados por un criostato Leica CM 1800^{MR}, cada corte fue colocado en un portaobjetos y teñido con Sudán y Hematoxilina-Eosina para su posterior evaluación.[6] Se ocupó el programa Image Pro Plus versión 4.5.1 para Windows ^{MR} 98/2000 y un microscopio óptico Zeiss MC 80. Para medir 100 adipocitos de cada sección de tejido adiposo.

El sacrifico se efectuó según lo especificado por la Norma Oficial Mexicana,[7] utilizando para la insensibilización, una pistola de émbolo oculto para proceder al posterior desangrado por corte de yugulares, dentro de los treinta segundos posteriores al insensibilizado.

Inmediatamente después del sacrificio, se procedió a pesar la canal en caliente, para permanecer 24 horas en refrigeración. Pasado este tiempo las canales fueron pesadas nuevamente para registrar su peso frío y el rendimiento de la canal. Se evaluaron las canales utilizando la Norma Oficial Española para ovinos, para tal evaluación se contó con la asesoría de un evaluador experto.

La información obtenida en el presente estudio fue evaluada en un análisis de varianza para un modelo completamente aleatorizado, considerando como variable explicativa el nivel de condición corporal, con el objeto de establecer su efecto sobre las variables estudiadas. El análisis de la información se realizó utilizando el programa estadístico JMP (SAS Corp, 1997).

RESULTADOS

Cuadro 1. Medias de mínimos cuadrados para la evaluación de la condición corporal del área lumbar y el área esternal en cabras de genotipo cárnico.

	Grupo A* Media ± EE	Grupo B* Media ± EE	Grupo C* Media ± EE
Evaluación lumbar	0.9 ± 0.55^{a}	2.5 ± 0.55^{b}	4.1 ± 0.55^{c}
Evaluación esternal	1.2 ± 0.45^{a}	2.6 ± 0.45^{b}	4.5 ± 0.45^{c}

Las diferentes literales muestran que existe una diferencia estadística (P<0.05) entre los grupos de condición corporal.
EE: Error estándar.
*Condición corporal (A) baja, (B) media, (C) alta.

Para las variables condición corporal lumbar y esternal los tres grupos fueron estadísticamente diferentes en sus promedios (P<0.05). El grupo de condición baja (A) tuvo el promedio menor y el grupo de condición alta (C) fue el que obtuvo el promedio más alto.

Cuadro 2. Medida de mínimos cuadrados para el diámetro de los adipocitos (µm) en las seis regiones anatómicas evaluadas para los tres grupos de condición corporal en cabras de genotipo cárnico.

	Grupo A* Media ± EE	Grupo B* Media ± EE	Grupo C* Media ± EE
Región esternal	63.80 ± 2.08^{a}	28.76 ± 2.08^{b}	56.56 ± 2.08^{c}
Región g. Mamaria	29.15 ± 2.44^{a}	69.27 ± 2.44^{b}	43.93 ± 2.44^{c}
Región caudal	25.96 ± 2.24^{a}	30.06 ± 2.24^{a}	73.79 ± 2.24^{b}
Región omental	42.90 ± 2.47^{a}	46.43 ± 2.47^{a}	82.00 ± 2.47^{b}
Región perirrenal	44.15 ± 2.1^{a}	42.13 ± 2.1^{a}	60.60 ± 2.1^{b}
Región mesentérica	30.82 ± 1.81^{a}	73.18 ± 1.81^{b}	76.91 ± 1.81^{b}

Las diferentes literales muestran que existe una diferencia estadística (P<0.05) entre los grupos de condición corporal.
EE: Error estándar.
*Condición corporal A) baja, (B) media, (C) alta.

Las medias de mínimos cuadrados para los diámetros de los adipocitos de las regiones esternal, glándula mamaria, caudal, omental, perirrenal y de la región mesentérica en los tres grupos de condición corporal. Para el diámetro de los adipocitos de la región esternal los tres grupos fueron diferentes (P<0.05). Para el diámetro de los adipocitos de la región de la glándula mamaria se encontró diferencia (P<0.05) entre los tres grupos de condición corporal. Para las variable medias de los adipocitos de la región caudal, medias de los adipocitos de la región omental y medias de los adipocitos de la región perirrenal, el grupo de condición corporal alta mostró mayores medias (P<0.05) que los otros dos grupos de condición corporal. En el diámetro de los adipocitos de la región mesentérica, el grupo de condición corporal baja(A) fue menor en promedio (P<0.05) que los otros dos grupos de condición corporal. (Cuadro2)

Cuadro 3. Medida de mínimos cuadrados para los porcentajes de grasa subcutánea, grasa interna, otros y músculo para los tres grupos de condición corporal en cabras de genotipo cárnico.

	Grupo A* Media ± EE	Grupo B* Media ± EE	Grupo C* Media ± EE

Grasa externa total (%)	2.1 ± 0.03	4.94 ± 0.03	7.08 ± 0.03
Grasa interna total (%)	3.64 ± 0.03[a]	9.13 ± 0.03[ab]	11.79 ± 0.03[b]
Otros (%)	12.98 ± 0.03	8.38 ± 0.03	7.88 ± 0.03
Músculo (%)	45.08 ± 0.02	45.77 ± 0.02	50.83 ± 0.02

Las diferentes literales muestran que existe una diferencia estadística (P<0.05) entre los grupos de condición corporal.
EE: Error estándar.
Otros: Tendones, fascias, ligamentos.
*Condición corporal A) baja, (B) media, (C) alta.

Las medias de mínimos cuadrados para las variables porcentaje de grasa subcutánea, porcentaje de grasa interna, porcentaje de otros y porcentaje de músculo para cada grupo de condición corporal evaluado. Para el porcentaje de grasa interna total se observaron diferencias (P<0.05) entre los grupos de condición alta y baja. Para las variables porcentaje de grasa externa total, otros y músculo no se observaron diferencias (P>0.05), entre cada uno de los grupos de condición corporal lumbar (Cuadro3).

DISCUSIÓN

Según lo evaluado se sugiere que la medición de la condición corporal propuesta en cabras de genotipo lechero puede ser implementada en animales de genotipo cárnico, ya que los tres grupos fueron diferentes (Cuadro1) donde el criterio de selección fue la evaluación de la condición corporal tomando las calificaciones del área lumbar y los tres grupos fueron diferentes, dichos resultados coinciden con la clasificación descrita por Morand-Fehr y Hervieu.[1]
En cuanto a la evaluación de la condición corporal en el área esternal (Cuadro1), la calificación varió en relación a la calificación lumbar descrita en cabras de genotipo lechero. Sin embargo, los tres grupos fueron diferentes y por lo tanto también se puede tomar esta medición en cabras de genotipo cárnico.

Las medias de los perímetros de las regiones esternal y glándula mamaria (Cuadro 2) fueron diferentes para los tres grupos de condición corporal, pero su comportamiento no fue el esperado. En la región esternal el promedio más alto lo obtuvo el grupo de condición corporal baja y el grupo que tuvo el promedio mas bajo fue el grupo de condición corporal media. En la región glándula mamaria el grupo de condición media fue el que tuvo el promedio mas alto. Lo que podemos explicar si tomamos en cuenta que la movilización de lípidos en cabras se da primero en los acúmulos subcutáneos. Coincidiendo esta aseveración con estudios realizados en cabras celtibéricas donde encontraron que la grasa subcutánea tiene la mayor capacidad para acumularse y para movilizarse.[9]

El perímetro de grasa omental del grupo de condición corporal alta fue mayor que el de las otras seis regiones, además el porcentaje de grasa interna fue el único porcentaje de grasa que mostró diferencia. Mendizábal et al. Encontraron que en cabras Celtibéricas el peso de la grasa omental fue la mayor que las demás grasas abdominales.[9]

LITERATURA CITADA.

1. Delfa, R., Texeira A., González C., Torrano L., Valderrabano J.: Utilización de ultrasonidos en cabritos vivos de raza blanca celtibérica, como predoctores de la composición tisular de sus canales. *Arch. Zootec*. (1999). **48**: 123-134.
2. Morand-Fehr, P. and Hervieu, J.: Body Condition Scoring of Goats : use and method. *Chevre*. (1999). ***23***: 22-33.
3. Susmel, P.and Canavese, B.: Prediction of body fat in lactanting ewes using the diameter of subcutaneous adipocite cells or body condition score. *Serie A: Options Méditerrannéennes.* (1995). ***27***: 59-66.
4. Robelin, J. And Agabriel, j. Estimation de l¨ëtat d´engraissement des bovins viviants á partir de la taille des cellules apipeuses. *Bull. Tech*. (1986), **66**: 37-41.
5. Russel, J. F; Doney, J., Jun, R. G. S*ubjetive* assessment of the body fat in the live sheep. *Agri. Sci*. (1969), **72,** 451-454.
6. Sobin, L. Prophet, E. Mills, B. Arrington, J.: Instituto de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. (AFIP). Metodos Histológicos. *Registro de los Estados Unidos de América.* Washington, D. C. 1995.
7. Colmer Rocher, F., Morand-Fehr, P. and Kirton, A. H.: Standard methods and procedures for goat carcass evaluation, jointing and tissue separation. *Liv. Prod. Sci*. (1987). ***17***:149-159.
8. Lentner, M. and Bishop, T. Experimental Design and Analysis. Valley Book Co. 2nd. Ed. *Blacksburg*, VA, 1993.
9. Mendizábal, J.A., Delfa, R., Arana, A., Eguinoa, P. and Purroy, A. Lipogenic activity in goats (Blanca celtib´erica) with different body condition scores. *Small Rum. Res.* (2006).Article in press.

UTILIZACIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL Y MEDICIÓN DEL DIÁMETRO Y NÚMERO DE ADIPOCITOS PARA DETERMINAR LAS RESERVAS GRASAS Y LA COMPOSICIÓN DE LA CANAL DE CABRAS DE GENOTIPO LECHERO.

Efrén Salamanca Vargas[1]*, Eugenia Candanosa Aranda[1], Andrés Ducoing Watty[2], Javier Gutiérrez Molotla[2]
[1] Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
[2] Departamento de Producción Animal: Rumiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

Resumen
El objetivo de este estudio fue evaluar la condición corporal lumbar (CCL) sobre el número y diámetro de adipocitos y su relación con la distribución de grasa corporal en cabras lecheras adultas. Se utilizaron 12 cabras en mantenimiento entre 2 y 6 partos, de genotipo lechero, ubicadas en 3 grupos de condición corporal (CC) con 4 cabras cada uno. El grupo A (Bajas) se formó por cabras con una CC lumbar menor a 2, el grupo B (Medias) por cabras con una CC entre 2 y 3 y el grupo C (Altas) por cabras con una CC mayor a 3, según la técnica descrita Morand-Fehr. En la evaluación de las diferentes áreas de tejido graso se encontró diferencia significativa ($P<0.05$) para el área esternal entre los tres grupos; en el área de la base de la cola se encontró diferencia estadística significativa ($P<0.05$) de grupo C con respecto a los demás grupos; en el área omental la diferencia ($P<0.05$) fue para el grupo B con respecto a los grupos A y C; en el área mesentérica se encontró diferencia entre el grupo C para los grupos A y B; para el área de grasa perirrenal se encontró diferencia estadística significativa ($P<0.05$) del grupo A con respecto a los grupos B y C; en el área de grasa mamaria se encontró una diferencia significativa ($P>0.05$) entre los tres grupos. Se concluye que la actividad lipogénica de las cabras lecheras se realiza en la grasa cavitaria, principalmente en el área mesentérica, donde el adipocito sufre hipertrofia para la acumulación de grasa corporal.

Palabras claves: condición corporal, adipocitos, cabra lechera.

Abstract.

The objective of this study was to evaluate the lumbar body condition (LBC) and the number and diameter of adipocytes along with their relation with the distribution of fat depots in adult milk goats. 12 milk genotype goats in maintenance, between 2 and 6 parturitions, were used. They were grouped in 3 categories of body condition (BC) with 4 goats each. Group A (Low) included goats with LBC under 2, group B (medium) included goats with LBC between 2 and 3, and group C (High) by goats with LBC greater than 3; according to the described Morand-Fehr technique. In the evaluation of the different fat depots, in sternal area a significant difference ($P<0.05$) was found among the three groups. In the area of the base of the tail, a significant statistical difference ($P<0.05$) was found between group C in relation to the other groups; in the omental area, the

difference (P<0.05) was for group B in relation to groups A and C; in the mesenteric area, there was difference for group C in relation to groups A and B; for the perirenal area, fat depots showed a significant statistical difference (P<0.05) between group A in relation to groups B and C; and in the mammary gland fat depots, a significant difference (P>0.05) between the three groups was found. We conclude that the lipogenic activity of the milk goats occurs in the internal fat, mainly in the mesenteric area, where the adipocyte undergoes hypertrophies for the corporal fat accumulation.

Key words: goat, body condition, adipocytes.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la caprinocultura en el país y la necesidad de ofertar a la población mayor cantidad de carne y leche, hace necesario visualizar a la producción como una verdadera alternativa para elevar los niveles de bienestar de muchos productores, que hasta el momento han visto en la cabras sólo una fuente de ingresos extra a la economía familiar (Armendáriz, 2003).

La población caprina en México se estima en 9 millones y medio de cabezas de ganado caprino, las cuales producen 147, 607 millones de litros de leche y aproximadamente 41, 992 millones de toneladas de carne (FAO, 2004).

Las causas que influyen en la movilización de reservas corporales en un animal, han sido examinadas sobre todo en ganado bovino, en donde la producción de leche, estado corporal, edad, raza y factores hormonales han sido detectados como algunos de ellos (Barman y Curie, 1980; Andrew, et al., 1994).

La evaluación de la condición corporal es una técnica poco costosa para apreciar las reservas corporales de los animales. Consiste en juzgar, por medio de palpación de una región anatómica específica, la cantidad de grasa y músculo (Ullman y Foltz, 1999). No obstante en las cabras la evaluación de la condición corporal es un tanto difícil, debido a que los depósitos de grasa son más bien cavitarios, que a nivel subcutáneo, por lo que se han generado diversos criterios para evaluarla, siendo algunos de ellos más costosos (Morand-Fehr et al. 1987).

La condición corporal en los caprinos y su correcta interpretación constituyen elementos de criterio para la toma de decisiones relacionadas al manejo del rebaño, tendientes al incremento en su productividad. La condición corporal se define como "la razón de la cantidad de grasa con la cantidad de materia no grasa en el cuerpo del animal vivo" (Delfa et al., 1995). En 1999 Morand Fehr et al., propusieron una escala de medición corporal, otorgando valores de unidad a los diferentes estados de condición, medidos en una escala con rango de 0 a 5, en la palpación lumbar de cabras de genotipo lechero.

El objetivo de este trabajo es la evaluación de la grasa corporal mediante la medición de los adipocitos como una prueba alternativa de evaluación de la condición corporal.

MATERIAL Y METODOS

El presente estudio se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) perteneciente a la

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en el Km 28.5 de la Carretera Federal México-Cuernavaca.

Se utilizaron 12 cabras en mantenimiento entre 2 y 6 partos, de genotipo lechero, las cuales conformaron 3 grupos con 4 cabras cada uno.

El grupo A estuvo formado por cabras con una condición corporal lumbar menor a 2, el grupo B por cabras con una condición corporal entre 2 y 3 y el grupo C por cabras con una condición corporal mayor a 3, según la técnica descrita Morand-Fehr (Morand-Fehr 1999).

Antes del sacrificio de las cabras se midieron los pesos de los animales en vivo, previo período de dietado de 18 a 24 hrs. El sacrificio se efectuó según lo especificado por la Norma Oficial Mexicana, utilizando para la insensibilización. Se obtuvo la canal, se eviscerarón los animales de los órganos contenidos en las cavidades torácica y abdominal, Inmediatamente después del sacrificio, se procedió a pesar la canal en caliente. La canal fue dividida en dos mitades después de la evaluación anterior, para los análisis de determinación de grasa.

De las piezas obtenidas de la media canal, se procedió en cada una a la disección del músculo, hueso y grasa. La grasa de cada pieza quedó dividida a su vez, en grasa subcutánea, grasa intermuscular y grasa interna, el método de disección que se empleó es el propuesto por Méndez (1991). Las muestras para medición del número y diámetro de los adipositos fueron tomadas inmediatamente después del sacrificio; tomando las muestras de tejido subcutáneo esternal, de la base de la cola, omental, perirrenal mesentérica y de glándula mamaria. Las muestras de tejido adiposo se fijaron con formalina al 35% por 7 minutos para ser congelada en nitrógeno líquido y mantenido a -20^{o} C. A cada muestra de tejido se le realizaron varios cortes con una medida de 7 µm, que fueron efectuados por un criostato Leica CM 1800. Cada corte fue colocado en un portaobjetos y teñido con Sudán y Hematoxilina-Eosina, para su posterior evaluación se empleo el programa Image Pro Plus versión 4.5.1 para windows ^{MR} 98/2000 y un microscopio óptico Zeiss 80, para medir 100 adipocitos de cada sección de tejido adiposo.

RESULTADOS

En la condición corporal lumbar (CCL) encontramos una diferencia significativa ($P<0.001$) entre los tres grupos, con una diferencia para el grupo C de 1.0 y 2.12 unidades con respecto a los grupos B y A respectivamente; para el grupo de condición corporal esternal (CCE) se encontró diferencia estadística ($P=0.04$) entre el grupo A y C. En el peso vivo no se observó diferencias estadísticas significativas ($P=0.11$) entre los tres grupos de condición corporal. (Cuadro 1)

Cuadro 1. Medidas de mínimos cuadrados para el peso y los dos métodos de condición corporal evaluados.

	CONDICIÓN CORPORAL		PESO VIVO
Grupo de condición corporal*	CONDICIÓN CORPORAL LUMBAR	CONDICIÓN CORPORAL ESTERNAL	(Kg)
Grupo A	1.56^{a}	2.12^{a}	47.96

Grupo B	2.58[b]	2.5[ab]	51.70
Grupo C	3.68[c]	3.5[c]	63.17
EE	0.17	0.3410	4.78

[a,b,c] Las medidas con superíndices diferentes en la misma columna son estadísticamente diferentes (P<0.05). *Condición corporal (A) baja, (B) media, (C) alta.
EE= Error estándar.

No se observó diferencia estadística significativa (P>0.05) para los grupos de condición corporal respecto a las medidas morfométricas de los animales evaluados. Para el área esternal se encontró diferencia significativa (P<0.05) entre los tres grupos mostrando que en el grupo C el diámetro de los adipocitos es mayor a los otros grupos; para el área de la base de la cola se encontró diferencia estadística significativa (P<0.05) del grupo C con respecto a los grupos A y B; en el área omental la diferencia fue entre el grupo B con los grupos C y A, mostrando un mayor diámetro con respecto a estos dos grupos; en el área mesentérica se encontró diferencia entre el grupo C con respecto a los grupos A y B; para el área de grasa perirrenal se encontró diferencia estadística significativa (P<0.05) de los grupos B y C con respecto al grupo A; en el área de grasa mamaria se encontró una diferencia significativa entre los tres grupos de condición corporal lumbar.

Cuadro 2. Medidas de mínimos cuadrados para el tejido graso con relación al grupo de condición corporal lumbar.

		GRUPO DE CONDICION CORPORAL LUMBAR (GCCL)*			
		BAJAS (A) N=4	**MEDIAS (B)** N=4	**ALTAS (C)** N=4	
VARIABLE	MG	MMC	MMC	MMC	EEM
Área esternal	44.7	32.9[a]	12.6[b]	88.6[c]	2.5
Área de la base de la cola	51.8	31.2[a]	39.9[a]	84.3[b]	2.81
Área omental	30.9	25.9[a]	43.1[b]	23.6[a]	0.98
Área mesentérica	74.8	50.7[a]	42.5[a]	131.3[b]	2.7
Área perirrenal	68.4	49.1[a]	81.2[b]	75.0[b]	3.2
Área mamaria	45.5	35.2[a]	24.5[b]	71.6[c]	1.95

[a,b,c] Superíndices diferentes en la misma línea indican diferencias entre los grupos de condición corporal (P<0.05) *Condición corporal (A) baja, (B) media, (C) alta.
MG= Media general, MMC= Media de mínimos cuadrados, EEM= Error estándar

DISCUSION

Existe una relación de el número de adipocitos de la base de la cola con respecto a la condición corporal lumbar, estos datos son similares a los informados en un estudio con ovejas lactantes de raza Bergamasca (Susmel, 1995).
El promedio mayor en el diámetro de los adipocitos del área mesentérica refleja que el mayor aumento de actividad lipogénica es a nivel interno (Morand-Fehr et al. 1987) con respecto a el área de la base de la cola y la esternal que es en

donde posteriormente se deposita la grasa, estos datos difieren con estudios realizados (Susmel,1995; Mendizabal et al, 2006) en los cuáles refieren que el área omental es la que presenta más actividad lipogénica.

El incremento en el diámetro de los adipocitos en el área esternal, base de la cola, mesentérica, y mamaria en cabras con condición corporal lumbar alta indica que los animales entran a una fase de mayor actividad lipogénica (Purroy, 1995) que las de condición corporal media y baja, indicando que el aumento del tamaño del adipocito es la causa principal de la grasa acumulada en cabras, más que el aumento en el número del adipocito. En rumiantes adultos, la acumulación de grasa es casi exclusivamente debido a la hipertrofia de las células del adipocito (Vernon, 1986), aunque la obesidad también se ha atribuido a la hiperplasia retrasada del adipocito (Rogdakis et el al., 1997; Mendizabal et al., 2004). Se concluye que la actividad lipogénica de las cabras lecheras se realiza en la grasa cavitaria, principalmente en el área mesentérica, donde el adipocito sufre hipertrofia para la acumulación de grasa corporal.

LITERATURA CITADA

1. Armendáriz, J.M.; 2003. La caprinocultura en México viene firme. Acontecer ovino-caprino, 4 (20): 33-34
2. Barman, e. and Curie, B. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy an lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. J. Dairy Sci. 63:1514-1529.
3. Andrew, M., Waldo, R.., and Erdman, A. 1994. Direct analysis of body composition of dary cows at three physiological Stages. J. Dayri Sci. 77 :3022-3033.
4. Ullman-Cullare, H. and Follz, J. 1999. Body condition scoring: A rapid and accurate method for assessing health status in mice. Laboratory Animal Sci. 49 (3):319-323.
5. Chilliard Y., D. Sauvant, P. Bas, G. Pascal, et P. Morand-Feher. 1981. Impirtance relative et activités m'taboliques des differents tissues adipeux de la chévre leaitaére. Dans: Nutrition et Systèmes d' Alimentation de chèvres.
6. Gall, C. P. 1982. Carcass composition. Proceedings of the Third International Conference on Goat Production and Disease. Tucson. 472-487.
7. Bas, P., P. Morand Fehr, A. Rouzeau, and Y Chilliard. 1985. Weight and metabolism of goat adipose tissues during pregnancy and lactation. Ann. Zothech. 34:483_484.
8. Morand-Fehr, P., Branca, A., Santucci, P. and Napoleone, M. 1987. Methodes D' estimation de L' etat corporele des chevres reproductices dans: L'evaluation des ovins et des caprins mediterranees. Symposium Philoetios, Flamant, J. C. et Morand-Fehr, P. (eds). September 23-25, Fonte Boa, Portugal, Rapport EUR11893, OPOCE; Luxemburgo, pp.
9. Delfa, R., C. González, A. Teixeira, L: F: Gosálvez, and M. Tor. 1995. Relationship between body fat depots, carcass composition, live weight an body condition scores in Blanca Celtibérica goats. Ed: A. Purroy. International Centre for Advanced Mediterranean Agronomic Studies. Paris. 101-119.
10. Morand-Fehr, P., Hervieu, J. Body condition scoring of goats : use and method. Chevre. 23: 22-33. 1999.

11. García, E. Modificación al sistema de clasificación climática de Koppen. Instituto de geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1988.
12. Norma Oficial Mexicana NOM-033-ZOO-1995, Sacrificio humanitario de los animales domésticos y silvestres.
13. USDA. Corte de canales. http://capraiespana.es/capra//cortes/cortes.htm
14. Méndez, R. D.: Estudio de la tipificación y composición de las canales de ovino mayor en ovejas de raza merina. Tesis de doctorado. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. Córdoba, España, 1991.
15. Lentner, M. and Bishop, T. Experimental Design and Analysis. Valley Book Co. 2nd. Ed. Blacksburg, VA, 1993.

TUMOR VENEREO TRANSMISIBLE CANINO ¿BENIGNO O MALIGNO? EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA

Esperanza N. Vázquez-Mota*$_1$, Raúl C. Fajardo-Muñoz$_1$, José S. Matínez$_1$, Emilio J. Cordova-Alarcón$_2$.

1 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México. Campus El Cerrillo Km 15 Carr Toluca-Ixtlahuaca

2 Instituto Nacional de Investigaciones en Medicina Genómica

RESUMEN

El Tumor Venéreo Transmisible (TVT) es una enfermedad importante en la salud reproductiva de los cánidos de diversas partes del mundo, incluido México. Su histogénesis es indeterminada. En su desarrollo se identifican tres fases; proliferativa, de estabilidad y de regresión espontánea, que se describe principalmente en ensayos experimentales. El tumor se disemina entre los cánidos, a través del coito, o por sus hábitos de socialización entre animales sanos y enfermos. Diversos autores se refieren al TVT como una neoplasia benigna, otros más le señalan como maligno. El presente trabajo tuvo como objetivo el hacer una descripción histológica de masas tumorales con diagnóstico clínico de TVT, procedentes de la ciudad de Toluca y sus inmediaciones. La muestra se conformó por 36 masas tumorales tomadas de la mucosa genital de cánidos hembras y machos. Fueron rutinariamente procesadas mediante la técnica histológica y teñidas por Hematoxilina Eosina, Giemsa y Fontana. El diagnóstico de TVT fue confirmado por histopatología en 31 casos. En las muestras analizadas, se estimó la frecuencia en la que se presentó: ausencia de cápsula, infiltración a tejidos epiteliales, anaplasia, escasez de estroma, invasión a vasos sanguíneos, vascularización, anisocitosis, anisocariosis, mitosis atípicas aberrantes y uno o dos nucleolos prominentes. Se hizo la comparación de medias de grupo (malignidad/benignidad) mediante T de student con un intervalo de confianza de 95%, ($P < .05$), concluyendo que los parámetros asociados con malignidad observados en los tumores evaluados, presentan diferencia significativa con aquellos parámetros asociados con benignidad.

Palabras clave: Perros, Tumor, TVT, Maligno, Metástasis.

TRANSMISSIBLE VENEREAL TUMOR IN DOGS, BENIGN OR MALIGNANT? HISTOPATHOLOGY FINDINGS

Abstract

Transmissible venereal tumor (TVT) is an important disease in reproductive health of dogs in several countries in the world, including Mexico. Histogenesis of this tumor is undetermined. The development of TVT has three phases; proliferative, stable and spontaneous regression, which were described in experimental researches. TVT become transmitted by coitus or by the social behaviors between healthy and diseased dogs. Several authors refer TVT as a benign tumor, by other hand some other authors appoint it like a malignant neoplasm.

The objective of this work was to do a histopathological description of TVTs. 36 samples were taken of the genital tract of male and female dogs. The samples were processed under standard techniques for histopathology, stained with HE,

Giemsa and Fontana. Only 31 samples were confirmed as TVT. Frequencies of presence or absence of several malignant parameters were estimated: capsule absence, surface epithelium infiltration by tumor cells, anaplasia, presence of scarce amount of conjunctive tissue, blood vessels invasion, hypervascularization, anisocitosis, anisocariosis, abnormal mitosis, and presence of prominent nucleoli. The averages of both groups of tumors malignant and benignant were compared by T Student test with 95% of confidence interval. The difference between both groups was statistically significant ($p<.05$). Our histopathological observations demonstrate that TVT shows a malignant behavior.
Keywords: Dog, Tumor, TVT, Malignant, Metástasis

INTRODUCCIÓN

El tumor venéreo transmisible (TVT), es la neoplasia del tracto reproductor más reportada en perros de diversos lugares del mundo, incluyéndose países de Europa, Asia y Latinoamérica. No así en Dinamarca, Inglaterra y Suiza 1, 2, 3. El tumor ha sido reportado en diversas partes de Europa, África, Asia, Islas del Caribe, Norte, Centro y Sur-América. No así en Dinamarca, Inglaterra y Suiza 1, 2, 3. Es un tumor no invalidante, localizado comunmente en la mucosa genital de machos y hembras. Aunque también puede desarrollar en regiones extragenitales 4, 5, 6, 7, 8, 2, 5, 9, 10. Los primeros reportes que describen a ésta enfermedad, datan de 1820 (2). Los índices de frecuencia de ésta enfermedad se asocian con propiedades geográficas y al ambulantaje canino, propiciando la generación de áreas endémicas para el TVT 10. Ésta neoplasia posee características *sui géneris* que la hacen única, debido a su comportamiento transplantable y por cursar en algunos casos, con una fase de regresión espontánea 4, 5, 5.

Particularmente en México, la FMVZ UNAM estimó en el D.F. al TVT entre 1984 y 1985, con un 21.63% del total de casos recibidos y para 1986 con el 16.96% 11. En 2003, en Mérida Yucatán, se encontró una prevalencia del 2.64% 9.

La transmisión de la enfermedad ocurre durante la cópula, aunque basta con el lamido u olfateo de los genitales de un animal enfermo a uno sano, pudiendo diseminarse hacia regiones extragenitales mediante un proceso diferente a la metástasis, denominado transplantabilidad, aunque también puede ocurrir metástasis a órganos internos que algunos autores refieren en menos del 5% de los casos 4, 5, 12, 10.

Su estirpe histológica indeterminada 2, 4 generó imprecisiones en el diagnóstico, asociándolo con linfomas, hay quienes propusieron su origen neuroendocrino 13, o bien que sea de origen histiocitario14, 15, 16 sin consenso entre los investigadores, se toma su morfología histológica para agruparlo dentro de los tumores de células redondas, sin precisar su histogénesis 17, 12, 6, 7, 8, 10.

En cuanto al comportamiento del tumor, existe discrepancia entre los autores, de manera que algunos le refieren como neoplasia benigna 11, 19, 5, 12. Y otros como neoplasia maligna 20, 8, 4, 21,

En la mayoría de los casos, la distinción entre una neoplasia benigna y otra maligna puede hacerse morfológicamente junto con el con considerable certeza, que aunado a los datos del comportamiento biológico, permite una predicción

sobre la futura evolución de la neoplasia. Existen criterios para discriminar entre tumores benignos y malignos, sustentados básicamente en: la diferenciación celular, invasividad, metástasis, velocidad de crecimiento, estroma, límites tumorales, características celulares y nucleares 2, 23. Las metástasis definen claramente a un tumor maligno, ya que las neoplasias benignas no metastatizan 23.

OBJETIVO:

Hacer la descripción histológica e identificar los parámetros compatibles con malignidad presentes en las masas tumorales con diagnóstico de Tumor Venéreo transmisible canino.

MATERIAL Y METODO:

Muestreo piloto: Para estimar la frecuencia en que se presenta el TVT en la población canina de la ciudad de Toluca, se hizo un muestreo piloto, sometiendo a inspección clínica e histopatológica a los perros adultos capturados por el Centro Municipal de Control y Vigilancia Epidemiológica de la Rabia de la ciudad de Toluca, de agosto a diciembre 2005. Los animales sacrificados fueron valorados clínicamente, inspeccionando cuidadosamente sus genitales externos, se tomaron, conservaron y procesaron las muestras para su interpretación histológica, para confirmar el diagnóstico de TVT.
Diseño Experimental: El presente trabajo es un estudio observacional, descriptivo, exploratorio, prospectivo y transversal, en el que se realizó un muestreo no probabilístico por cuota, en una población canina con diagnóstico clínico de TVT, como criterio de inclusión. Se aceptaron en la muestra únicamente los casos con neoplasias localizadas en mucosas genitales tanto de machos como de hembras y procedentes de la Ciudad de Toluca o sus inmediaciones.
Recepción y manejo de muestras: La recepción de casos fue del 1 de Abril al 15 de diciembre 2005, a cada muestra recibida se le asignó un número de control dentro del Centro de Investigación y Estudios Salud Animal (CIESA), se tomaron los datos clínicos del paciente y las características particulares de la neoplasia.
Se tomó una muestra representativa de tejido tumoral (de 0.5 a 2 cm^3). Las muestras de tejido para histología, después de ser rutinariamente conservadas en formalina bufferada al 10%, fueron embebidas en parafina y almacenadas a temperatura ambiente. Se hicieron 6 cortes de 6μm de espesor y fueron montadas en portaobjetos, para ser posteriormente teñidas. Las dos primeras con Hematoxilina Eosina, dos más con la técnica de Fontana (específica para melanocitos) y las últimas dos con Giemsa (selectiva para mastocitos), el procedimiento de tinción fue en estricto apego al protocolo establecido en el Manual de Métodos Histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (Traducido y editado por Heffess, C.S; Mullick, F.G.). El reconocimiento histológico del TVT se hizo conforme a: "Histological Classification of tumors of the Genital System of Domestic Animals", documento publicado por "Armed Forces Institute of Pathology", en cooperación con la OMS. Se utilizó un microscopio fotónico (Olympus BH-2, BHS-237404(J02110V).

Con base en los características morfológicos empleadas como herramientas para discriminar entre las neoplasias malignas y benignas, citadas por Moulton, 1978 y 23,, se aplicaron 10 parámetros asociados con Malignidad para calificar al TVT: 1) Ausencia de cápsula en la zona limítrofe del tumor. 2) Infiltración a las capas epiteliales de la mucosa, aquí se estimó si había atrofia a las células basales, espacio epidermo-dermal disminuído; formación de úlceras y la presencia de grupos celulares extraepiteliales. 3) Megalocitosis (como rasgo anaplásico). 4) Estroma escaso, de manera que se presentan células neoplásicas individuales. 5) Invasión a los vasos sanguíneos o linfáticos. 6) Sobrevascularización tisular con abundantes hemorrágias. 7) Anisocitosis, caracterizada por pleomorfismo celular. 8) Anisocariosis, identificado por pleomorfismo nuclear. 9) La presencia de nucleolos prominentes. 10) La presencia de mitosis aberrantes, que para estimala, se revisaron cinco campos al azar de cada muestra a 40x, registrando su presencia o ausencia. Otro factor a considerar como indicio del comportamiento maligno, es la presencia de metástasis. Como producto del proceso de recolección de muestras en el período establecido, se reunió un total de 36 piezas tumorales sospechosas, de las cuales fueron confirmadas histopatológicamente como TVT 31 casos, los cuales también se confirmaron negativos a las tinciones especiales de Giemsa y Fontana.

RESULTADOS:

Durante el muestreo piloto, fueron inspeccionados 876 caninos adultos, recolectando 21 muestras de animales sospechosos a TVT, de los cuales se confirmaron 17 casos, con una prevalencia estimada de 1.9%.

Como resultado del análisis de las 31 muestras, evaluando los parámetros asociados con malignidad, se encontró: Ausencia de cápsula en el 54.84% (17/31 casos); Infiltración epitelial 78.22% (24.24/31 casos); Megalocitosis (anaplasia) en el 90.32% (28/31 casos); Escaso estroma en 90.32% (28/31 casos); Invasión a vasos sanguíneos en el 96.77% (30/31 casos); Anisocitosis en el 93.55% (29/31 casos); Anisocariosis en el 96.77% (30/31 casos); Nucleolos prominentes 93.55% (29/31 casos) y Mitosis aberrantes 67.74% (21 casos).

Se hizo la comparación de medias de grupo (malignidad/benignidad) mediante T de student con un intervalo de confianza de 95%, donde el valor de $P< 0.05$.

En cuanto a la presentación de metástasis, se encontró que de los 31 casos analizados, solo en un animal (3.22%) el tumor metastatizó al Bazo.

DISCUSIÓN

La prevalencia encontrada en el presente trabajo para la ciudad de Toluca, se sitúa en el 1.9%, ubicándose por debajo de la cifra reportada para Mérida, Yuc, estimada en el 2.64% 9. Nosotros encontramos que 1 de cada 51 (51.5) perros capturados en las calles de Toluca tienen TVT, contrario o lo referido por Carlyle, 1984 quien dice que ya prácticamente el tumor ha desaparecido.

Los hallazgos histológicos como ausencia de cápsula (54.84%); Megalocitosis (90.32%); estroma escaso (90.32%); Invasión a vasos sanguíneos (96.77%); Nucleolos prominentes (93.55%); Anisocitosis (93.55%) y Anisocariosis (96.77%) confirman el comportamiento maligno de TVT planteado por Rechavi 1991, Carlyle y Duncan 1984, Jubb 1993, Morris 2001 y estos resultados distan de la

asignación referida por Carlton 1995, Trigo 1998, De Buen 1998 y Flores 1991, quienes le otorgan el calificativo de neoplasia Benigna.

El comportamiento neoplásico infiltrativo hacia las capas del epitelio (78.22%), difiere de los datos reportados por Laging y Kroning, 1989 quienes refieren baja tendencia para infiltrar a tejidos circundantes.

El número de mitosis por campo no es indicador de malignidad, sino de la velocidad de velocidad de recambio de los diversos tejidos, por tanto es más importante como indicador de malignidad la presencia de mitosis atípicas o aberrantes 23, que en éste estudio resultaron 67.74% (21 casos) de Mitosis aberrantes.

Se ha reportado la frecuencia de las metástasis en menos del 5% de los casos 7. En el presente trabajo se alcanzó el 3.22% que dista de lo reportado por Withrow 2001, quien cita que no son comunes y está muy cerca de la cifra referida por Laging 1989 (3.57%).

CONCLUSIÓN

Los hallazgos histopatológicos en las muestras tumorales analizadas, en las que se evaluaron los diez parámetros principales asociados con malignidad, aunados al comportamiento clínico, aportan un sustento suficientemente para evidenciar el comportamiento maligno del TVT.

REFERENCIAS

1. Laging C, Kroning T. Observations on the transmissible venereal tumor (sticker) in the dog. A review of the tumors sent into the Institute for Animal Pathology of Ludwig-Maximilian University, Munich, from 1975 to 1987. Tierarztl Prax. 1989; 17(1):85-7.
2. Moulton J. Tumors in Domestic Animals. 3th edition. USA: University of California Press. 1990
3. Mukaratirwa S, Chimonyo M, Obwolo M, Gruys E, Nederbragt H. Stromal cells and extracellular matrix components in spontaneous canine transmissible venereal tumor at different stages of growth. Histol Histopathol. 2004, 19(4):1117-23
4. Jubb, KV, Kennedy PC, Palmer N. Pathology of Domestic Animals. 4 th edition, Volume 3. Inc. USA: Academic Press. 1993
5. Carlton W, McGavin, D. Special Veterinary Pathology. 2th edition. USA: Mosby.1995.
6. Morales SE, González CG. Frecuencia de tumor venéreo transmisible en perros de la ciudad de México entre 1985 y 1993. Vet. Méx., 1995,26(3):273-275
7. Kenita RK, Walker MA, Dillon HB. Transmissible Venereal Tumor: a Retrospective Study of 29 Cases. Departments of small animal medicine & Surgery & large animal medicine & Surgery. College of Veterinary Medicine. Texas A&M. University Journal of the American Animal Hospital Association. 1998,34:463-70.
8. Rechavi AU, Katzir NA, Ramot BA. Kaposi's sarcoma among AIDS patients: transmissible venereal tumor by cell engraftment? Med Hypotheses. 1991,34(4):338-41.

9. Ortega PA, Acevedo AM, Sauri AC, Bolio GM, Gutierrez BE. Prevalencia de TVT en perros callejeros de la Ciudad de Mérida, Yucatán, México. Rev. Biomed. 2003, 14 (2):83-87.
10. Withrow K, MacEwen G. Small Animal Clinical Oncology. 3ª Ed. USA: Saunders Company. 2001
11. De Buen AN, Candanosa AE, Castillo AG. Diagnóstico citológico en veterinaria, análisis de 3563 casos. Vet. Mex. 1988,19: 211-215.
12. Flores PE, Cattaneo Ug, Gonzàlez R.C. Tumor venereo transmisible canino. Registro de neoplasias. 1986 a 1991. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile Santiago Chile.
13. Colin FRF, De Buen AN, Trigo TF. Histogénesis del tumor venéreo transmisible de los perros. (Tesis de Maestría). D.F. (México). México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1995..
14. Mozos E, Méndez A, Gómez- Villamandos JC, Martín de las Mulas J, Pérez J. Immunohistochemical Characterization of Canine Transmissible Venereal Tumor. Vet Pathol 1996, 33:257-263.
15. Marchal T, Chabanne L, Kaplanski C, Rigal D, Mangnol JP. Immunophenotype of the canine transmissible venereal tumor. Vet Immunol Immunopathol 1997, 57:1-11.
16. Albanese F, Poli A, Millanta F, Abramo F. Primary cutaneous extragenital canine transmissible venereal tumour with *Leishmania*-laden neoplastic cells: a further suggestion of histiocytic origin? Veterinary Dermatology. 2002, 13:243-246.
17. Duncan JR, Prasse KW. Cytology of canine cutaneous round cell tumors. Mast cell tumor, histiocytoma, lymphosarcoma and transmissible venereal tumor. American College of Veterinary Pathologists. 1979; Vol 16, Issue 6 673-679.
18. Rechavi AU, Katzir NAU, Ramot BAD. Kaposi's sarcoma among AIDS patients: transmissible venereal tumor by cell engraftment? Med Hypotheses; 1991; 34(4):338-41.
19. Trigo TF. Patología Sistémica Veterinaria. 3ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana. 1998
20. Atmore SH, Carlyle JT, Duncan HR. Veterinary Pathology. 4th ed. USA: Philadelphia. 1972
21. Morris J, Dobson J. Small Animal Oncology. United Kindom: Blackwell Science. London. 2001
22. Moulton JE. Tumors in Domestic Animals. 2th edition. USA: University of California Press 1978
23. Cotran R, Kumar V, Collins T. Patología Estructural y funcional. 6° ed. México: Mc Graw-Hill Interamericana. 2000
24. Carlyle JT, Duncan HR. Patología veterinaria. 1ª ed. en español. Vol. 3. Argentina: Hemisferio Sur. 1990.

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA CARACTERIZACIÓN PATOLÓGICA DE LAS NEOPLASIAS CANINAS REMITIDAS AL CIESA-FMVZ DE LA UAEM

Raúl C. Fajardo Muñoz[1]; Aidé Alpízar Pérez[3], Claudia Alejandri[1]; Valente Velásquez Ordoñez[1]; Lemuel León Lara[1]; Benjamín Valladares Carranza[1]; José Luis Zamora Espinosa[1]; Simón Martínez Castañeda[1]; Marco Antonio Barbosa Mireles[2]; Ada Elia Díaz González Borja[1].
[1]Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, FMVZ- UAEM. Carretera Toluca-Atlacomulco Km. 15.5. C.P. 50200. Toluca, México.
[2]Hospital Veterinario de Pequeñas Especies FVMZ-UAEM. Toluca, México.
[3] Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia- UAEM.

RESUMEN

Cada vez se están recibiendo más casos de perros con tumores en las clínicas veterinarias y en los Laboratorios de Diagnóstico. Esto sugiere que se está incrementando la casuística de tumores así como la aparición temprana de neoplasias en perros. En el valle de Toluca se carece de datos epidemiológicos en oncología veterinaria. El objetivo del presente trabajo es el de conocer las razas, edades, sexos, tejidos afectados y tipos de tumores en perros afectados por la aparición de neoplasias. Además de comenzar a establecer un banco de tejidos tumorales para estudios posteriores sobre algunas mutaciones que pudieran estar asociadas a algunos tumores. Aquí se discuten los datos clínico-patológicos de los perros con tumores que se remitieron al Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) de la FMVZ de la UAEM en la ciudad de Toluca, del año 2000 al 2006.
Los resultados demuestran que la aparición de tumores en perros no es una patología rara o poco frecuente y que posiblemente la frecuencia está a la alza. También la aparición de tumores en perros jóvenes es frecuente y sugiere la posibilidad que los factores de riesgo se están presentando a una edad más temprana. Es importante que se continúen este tipo de estudios para conocer más sobre los factores de riesgo y compararlos con los factores de riesgo en la salud pública.

PALABRAS CLAVE

Neoplasias, caninos, epidemiología, Toluca, CIESA

DESCRIPTIVE STUDY OF THE PATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE CANINE TUMORS REMITTED TO CIESA-FMVZ-UAEM

ABSTRACT
Every time, more cases of dogs with tumors are receiving in the veterinary clinics and in the Laboratories of Diagnosis. This suggests that the casuistry of tumors is increasing as well as the early appearance of tumors in dogs. In the valley of Toluca, it lacks of epidemic data in veterinary oncology. Here, we wanted to know

the breeds, ages, sexes, affected tissues and types of tumors in dogs, besides beginning to establish a bank of tissues for later studies on some mutations that could be associated to some types of tumors. Here the clinical-pathological data of the dogs affected that were remitted to the Center of Investigation and Advanced Studies in Animal Health (CIESA)-FMVZ-UAEM in Toluca city, from the year 2000 at the 2006 are discussed. These results demonstrate that the occurrence of tumors in dogs is not uncommon pathology and that the frequency is possibly to the rise. Also the occurrence of tumors in young dogs is frequent and it suggests the possibility that, the risk factors are showing up to an earlier age. It is important to continue this kind of studies to know more about the risk factors in pets and to compare them with those factors in the public health.

Keywords: Dogs, Neoplasms, Epidemiology, Toluca, CIESA

INTRODUCCION

La aparición de neoplasias es causada por una proliferación continua no controlada de las células debido a que estas no son capaces de responder apropiadamente a las señales que rigen el comportamiento normal celular, crecen y se dividen de manera incontrolada, invadiendo los tejidos y órganos sanos, y finalmente se diseminan por todo el cuerpo. Existen diversos factores que favorecen y predisponen a la aparición de las neoplasias entre las cuales se pueden mencionar la edad, la raza, factores ambientales como los rayos solares y la alimentación por solo mencionar algunos.

En la clínica veterinaria ya no es raro encontrar procesos tumorales, inclusive en pacientes de corta edad, pero las biopsias de estos tumores rara vez son remitidos a laboratorios especializados para realizar el diagnostico histopatológico, y esto representa una gran barrera para conocer y establecer estadísticas reales sobre los procesos tumorales, determinar frecuencias de edad, sexo, raza en las que los caninos son mas propensos a presentar neoplasias, también conocer el tipo histológico de estas neoplasias ayudaría en gran medida a establecer una terapia adecuada.

En la actualidad es cada vez mas frecuente el diagnostico de neoplasias en caninos, esto se refleja mundialmente en las clínicas veterinarias y en los laboratorios de diagnostico, donde día con día se reciben y se diagnostican mas casos. Esto sugiere que se está incrementando la casuística de tumores así como la aparición temprana de neoplasias en perros. En la ciudad de Toluca se carecen de datos epidemiológicos sobre oncología veterinaria. Por tal razón es indispensable comenzar a establecer estadísticas en esta ciudad para conocer la forma en que se comportan estos procesos neoplásicos, así como difundir tales datos y poder brindar un tratamiento adecuado a cada tipo de neoplasia.

OBJETIVO

Conocer las razas, edades, sexos, tejidos afectados y tipos de tumores en perros. Además de comenzar a establecer un banco de tejidos tumorales para estudios posteriores sobre algunas mutaciones que pudieran estar asociadas a algunos tumores.

MATERIAL Y METÓDOS.
Todas las muestras remitidas fueron fijadas durante 24hrs. en formalina buferada al 10%, incluidas en parafina, cortadas a 6µm y teñidas con hematoxilina-eosina (HE) y con coloraciones especiales según el tipo de tumor (Tricrómica de Masson, PAS y Von Kossa). Todas las neoplasias fueron examinadas por histopatología y clasificadas según la clasificación histológica internacional de la OMS y del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas con cooperación del Registro Americano de Patología.

RESULTADOS.
De un total de 77 muestras estudiadas, 46 (59.7 %) se presentaron en perras, 31 (40.3 %) en perros, 9 (11.7 %) en animales menores de dos años de edad, 27 (35.1 %) en animales de dos años a siete años, y 41 (53.2 %) en animales de siete a catorce años. Las razas mas frecuentes remitidas que presentaron tumoraciones fueron el Pastor Alemán (11.7 %) y el Labrador (11.7 %). De acuerdo al sitio de aparición se presentaron 36 (46.8 %) tumores cutáneos, 20 (26 %) tumores mamarios, 8 (10.3 %) tumores reproductivos, 6 (7.8 %) linfoides, 5 (6.5 %) digestivos (1 en glándula salival, 1 en hígado, 1 en colon y 2 en ano), y 2 (2.6%) de hueso. De los 46 tumores que se presentaron en hembras, según el sitio de aparición se registraron 19 (41.3%) tumores cutáneos, 19 (41.3%) tumores mamarios, 4 (8.6%) tumores reproductivos, 2 (4.4%) de hueso y 1 (2.2%) linfoide, y en relación a los 31 tumores en machos 17 (54.9%) tumores cutáneos, 1 (3.2%) tumor mamario, 4 (12.9 %) tumores reproductivos, 5 (16.1%) linfoides y 4 (12.9 %) digestivos. Del total de los tumores 36 (46.8%) fueron malignos y 41 (53..2%) fueron benignos. Con respecto a los 36 tumores malignos se presentaron 23 63.9%) en animales de siete a catorce años, 11 (30.6%) en animales de dos a siete años y 2 (5.5%) en animales menores de dos años de edad. El tumor más frecuentemente diagnosticado fue el carcinoma seguido del fibroma.
DISCUSION
Estos resultados demuestran que la aparición de tumores en perros jóvenes no es una patología rara o poco frecuente y que posiblemente la frecuencia está a la alza, esto sugiere que la posibilidad que los factores de riesgo se están presentando a una edad mas temprana. La frecuencia de aparición de tumores en el Labrador y el Pastor Alemán posiblemente se deba a que en la ciudad de Toluca sean las razas mas comunes. La repetida aparición de tumores en hembras probablemente se deba a factores hormonales, ya que el tumor mas frecuente en hembras fue el de glándula mamaria. La elevada frecuencia de tumores cutáneos puede estar asociada a que la piel es un órgano expuesto a diversas condiciones ambientales, a que está compuesta de varios tipos celulares capaces de desarrollar un tumor y también debido a que es un órgano fácilmente explorable.

CONCLUSIONES
- La frecuencia de aparición de tumores y la frecuencia de tumores malignos se incrementa con la edad de los caninos.

- La aparición de tumores se observó mayoritariamente en hembras y los tumores mas frecuentes fueron los de glándula mamaria junto con los cutáneos.
- En los machos los tumores mas frecuentes fueron los cutáneos, seguido de los del aparato reproductor.
- En animales menores de dos años la frecuencia de tumores no es una patología rara.
- Con la creación del Banco de tejido tumoral esperamos poder estudiar y determinar las mutaciones mas frecuentes de los genes asociados a las neoplasias caninas.
- Es importante que se continúen este tipo de estudios para conocer más sobre los factores de riesgo y compararlos con los factores de riesgo en la salud pública.

REFERENCIAS

1.-Armed Forces Institute of Pathology in cooperation with the American Registry of Pathology and The World Health Organization collaborating Center for Comparative Oncology. International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. 2nd Series. 2004. Washington, DC.
2.-Jubb K. V. F.; Kennedy P.C., Palmer N. Pathology of Domestic Animals. Fourth Edition. Vol. 1, 2, 3. 1993 Academic Press, INC. USA.
3.-Moulton J. E. Tumors in Domestic Animals. Third Edition. 1990. University of California Press; USA.

CARDIOMIOPATÍA EXPERIMENTAL INDUCIDA CON DIGOXINA Y FUROSEMIDA EN CANIDEOS.

1*Francisco Daniel Martínez Jiménez, [2]Maximiliano Zamora Ensastegui, [3]Yazmín Hernández González, [4]Valente Velázquez Ordóñez, [5]José Luis Borques Gastelum, [6]Marco Antonio Barbosa Míreles.
[1]Universidad Autónoma del Estado de México, [2]Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, [3]Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, [4]Hospital Veterinario para Pequeñas Especies. FMVZ-UAEM

CANINE EXPERIMENTAL CARDIOMYOPATHY INDUCED WITH DIGOXINE AND FUROSEMIDE.

Summary
An experimental cardiomyopathy model in canine was evaluated through the administration of digoxine and furosemide. The clinical findings showed failure in the heart function, arrhythmias, tachycardia and prolonged cardiac pauses. The Electrocardiogram showed an extension in the QRS complex longer to 0.06 seconds, compatible with left atrial dilatation; as well as a progressive prolongation of the interval P-T with 2 focal escapes and a CVP compatible with an atrioventricular blockade of II grade Movitz I, in different treatments. The Exercise Tolerance Test indicated a time lag in the cardiac frequency for furosemide, digoxine and furosemide plus digoxine. The weigh relation of felt ventricle plus atrioventricular septal divided by right ventricle, for digoxine plus furosemide and digoxine treatments, showed a possible right ventricular hypertrophy. The anatomopathologic test suggested a cardiopathy, in which were observed histopathology changes, such as cardiomyocytes Ondulation with nuclear pleomorphism and perimicial cells with nuclear hilaration. The evaluation of these parameters could permit the development of a dilatation cardiomyopathy and a concentric hypertrophic cardiomyopathy. It is considered that the canine model is useful in order to develop an experimental cardiomyoparhy.

Key words: cardiomyopathy, canine, digoxine, furosemide, biologic model.

RESUMEN
Se evaluó un modelo de cardiomiopatía experimental inducido en cánidos mediante la administración de Digoxina y Furosemida. Al examen clínico se aprecio; arritmia, taquicardia y pausas cardiacas prolongadas. El Electrocardiograma revelo una prolongación del segmento QRS compatible con un una dilatación del ventrículo izquierdo; así como prolongación progresiva del intervalo P-R con 2 focos de escape y un CVP compatible con un Bloqueo atrioventricular de II grado Movitz I, en los diferentes tratamientos. La prueba de tolerancia al ejercicio indico un desfase en la Frecuencia Cardiaca en todos los grupos. El estudio anatomopatológico sugirió una cardiopatía. Al evaluar la relación de los pesos del ventrículo izquierdo mas tabique interventricular entre ventrículo derecho, de los tratamientos digoxina y furosemida, y digoxina mas furosemida, mostraron una posible hipertrofia de ventrículo derecho. Los cambios histopatológicos revelan hipertrofia y ondulación de cardiomiocitos con pleomorfismo nuclear y células perimiciales con hileración nuclear. La evaluación de los parámetros estudiados permitió establecer el desarrollo de cardiomiopatía

dilatada y cardiomiopatía hipertrofica concéntrica. Se considera que el modelo canino es útil para evaluar el desarrollo de u cardiomiopatía en forma experimental.

Palabras Claves: cardiomiopatía, caninos, digoxina, furosemida, modelo experimental.

INTRODUCCIÓN

La cardiomiopatía (CM) agrupa a las enfermedades del miocárdico que no son explicadas por las cardiopatías congénitas y adquiridas, además de la enfermedad coronaria. Cuándo la enfermedad se desarrolla se producen trastornos sistémicos relacionados con la insuficiencia cardiaca, manifestando un cuadro clínico caracterizado por taquicardia, cardiomegalia, congestión pulmonar y edema, el cual puede afectar perros y gatos. (1).

El cuadro clínico patológico de la afección en los cánidos se evidencia por los datos ecocardiográficos y electrocardiográficos de la estructura y su función ventricular. Además de los cambios anatómicos presentes en el corazón en el ventrículo izquierdo al efectuar el estudio posmostem. Clínicamente la CM se clasifica en los siguientes tipos: *Cardiomiopatía Dilatada Congestiva* (CDC) se caracteriza por una dilatación marcada de las cámaras cardiacas, con disminución de la contractilidad del miocardio, que afectan la función ventricular sistólica, ocasionada entre otras causas, por una deficiencia de sustratos metabólicos del miocardio (taurina, l-carnitina, selenio), miocarditis y necrosis de células cardiacas, isquemia miocárdica global intensa, y cardiomiotoxicosis, la cual ocurre asociada a cierta predisposición genética. *La Cardiomiopatía Hipertrofica* (CMH): se observa principalmente en gatos, asociada a la hipertrofia concéntrica idiopatica de la pared posterior del ventrículo izquierdo y del tabique interventricular, que disminuye la capacidad ventricular diastolita repercutiendo sobre la fracción de eyección de ventrículo y el tabique. En *la Cardiomiopatía Obstructiva* (CMO) provoca gradientes de presión durante la sístole en el ventrículo izquierdo; entre el tabique interventricular y la válvula mitral anterior, causando estenosis subaortica dinámica desarrollada a partir de la hipertrofia miocárdica del tabique asimétrico del ventrículo izquierdo. *La Cardiomiopatía Restrictiva* (CMR) se considera un trastorno intermedio del miocardio que afecta principalmente al gato. En la cual se observa hipertrofia con fibrosis moderada del miocardio (1).

En uso de glucósidos digitálicos y salíuréticos en la CM mejora el cuadro clínico y la esperanza se vida de los animales (2). La inhibición que provoca la furosemida sobre el transporte activo iónico y la reabsorción de agua en la asa de Henle. Produce la diuresis al bloquear el cotransporte de Na^{++}, K^{+}, Cl^{-}. Sin embargo el uso prolongado de la droga afecta la concentración de potasio repercutiendo en la función cardiaca (3).

La digoxina incrementar el flujo de Ca^{++} a la fibra miocárdica mejorando el inotropismo positivo del corazón. En la cardiotoxicidad es frecuente observar; bradicardia, taquiarritmia, anorexia, vómito y diarrea. (4). El uso de modelos biológicos favorece el estudio de la patología comparada entre los animales y el hombre. Para explicar los mecanismos de desarrollo de la enfermedad y sus posibles intervenciones terapéuticas (4).

El presente estudio se realizo para evaluar el modelo biológico canino para la inducir experimentalmente CM con el empleo prolongado de digoxina y furosemida.

MATERIAL Y MÉTODO.

Animales experimentales

Se estudiaron 4 cachorros criollos de la misma camada, de talla media con 1 meses de edad y un peso promedio de 1.2 Kg. previamente desparasitados y vacunados contra distemper y parvovirus canino, alimentados con una dieta doméstica baja en sodio; formulada a partir de soya, arroz hervido; administrada 2 veces/día y agua a libre acceso. Los cánidos fueron mantenidos en espacios individuales bajo condiciones de temperatura confortable y un espacio adecuado. Los cuales tuvieron un periodo de adaptación de 5 días.

Grupos experimentales y tratamientos

Cada uno de los animales se distribuyeron al azar en los siguientes grupos considerando a cada animal como unidad experimental; A tratado con Furosemida a una dosis de 4mg//Kg. PV/24 hrs. B tratado con Digoxina a dosis de 0.28 mg/Kg. PV/24 hrs., C dosificado con Digoxina a dosis de 0.28 mg/Kg. PV/24 hrs. y Furosemida a una dosis de 4mg//Kg. PV/24 hrs. y D considerado como control que recibió un placebo consistente en azúcar comprimida bajo el mismo esquema de administración. La dosis total para cada tratamiento fue administrado por vía peroral durante un periodo de 45 días.

Evaluación clínica y patológica.

La inspección se realizo cada 4 días, registrando la frecuencia cardiaca en reposo (FC).Los animales fueron sometidos a una prueba de esfuerzo durante 5 minutos para evaluar el tiempo de recuperación basal de la FC. Al finalizar el estudio a cada uno se los animales se les realizo un electrocardiograma y finalmente se sometieron a la eutanasia por sobredosis de pentobarbital sódico 6.3 % administrado por vía intravenosa. El estudio post mortem se efectuó siguiendo la técnica descrita por Aluja (1980). La fijación del corazón fue en una solución de formalina amortiguado al 10% pH 7.4; después de 5 días de fijación se desbridaron los grandes vasos de la base del corazón, y la grasa del surco y rodete coronario. Posteriormente se separaron las cámaras ventriculares derecha (VD) e izquierda (VI) del tabique interventricular (TIV) siguiendo la técnica de Alexander para estimar las proporciones de peso total (T), de las cámaras y del TIV (VD/T, VI/T y TIV/T) y la relación entre (VI+TIV/VD).

Los resultados se evaluaron a partir de las observaciones, utilizando un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos con 11 repeticiones considerando una covarianza igual a latidos iniciales en la prueba de esfuerzo para medir una variable de respuesta igual a FC final con un valor de (α igual 0.05) realizado mediante el Statistical Analysis System (SAS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El examen clínico del corazón en los tratamientos mostró una alteración de la función cardiaca; arritmias y taquicardias seguidas de pausas cardiacas, en los grupos A, B y C comparado con el grupo C el cual no mostró alteraciones evidentes. La comparación de medias entre las 4 unidades experimentales nos revela que fueron diferentes significativamente los grupos B y C respecto a los

grupos A y D, esto significa que las unidades experimentales que presentaron mayor alteración en el funcionamiento cardiaco fueron los tratamientos con digoxina y furosemida /digoxina. Utilizando un valor de 15.377 para la diferencia mínima significativa. (Cuadro 1)

En el electrocardiograma de la unidad A se observó una prolongación progresiva del intervalo P-R con 2 focos de escape y un CVP compatible con un Bloqueo atrioventricular de II grado Movitz I; para el grupo C el diagnóstico fue un Bloqueo sinusal, con una prolongación del segmento QRS mayor a los 0.06 segundos, lo que sugiere una dilatación del VI; en el caso del grupo D el electrocardiograma no mostró cambios electrocardiográficos aparentes.

Los hallazgos al estudio postmortem indicaron nefromegalia y hepatomegalia, en los grupos A, B y C. El corazón de las unidades B y C mostraron flacidez, mientras que el grupo A presento una contracción y aparente engrosamiento del ventrículo derecho. En todos los grupos de tratamiento se observo hipervascularización así como el redondeo del ápice del corazón; la unidad D no mostró cambios anatomopatológicos significativos. Los estimadores y relación del peso del corazón fueron relevantes debido a que muestran el desfase en la proporción normal (4:1) del ventrículo derecho respecto a la suma de ventrículo izquierdo más tabique interventricular (5). En la cual los grupos A y C muestran una relación del VD >25% lo que hace pensar en una hipertrofia de éste, sin embargo la proporción del grupo A muestra un desfase <25%; en el grupo D no se observó alteración significativa en esta relación. (Cuadro2)

El estudio histopatológico reveló la presencia de cardiomocitos hipertrofiados y filamentosos así como sus núcleos en la unidad A, compatible con una CMH; en el caso del grupo B se observaron células cardiacas y núcleos elongados comparables con una CMD; en la unidad C se apreciaron cardiomiocitos y núcleos elongados, con presencia de vasos filamentosos relacionad con una CMD, acompañada de una hipertrofia. la unidad D no mostró cambios histopatológicos aparentes.

Comparación de medias

Trat	Mean	Tukey Grouping
B	166.182	a
C	158.000	a
A	138.545	b
D	136.909	b

Cuadro 1.Relación de pesos.

PROPORCIÓN	A	B	C	D
VI/T	0.36	0.48	0.417	0.414
TIV/T	0.36	0.38	0.311	0.379
VD/T	0.27	0.14	0.271	0.207
TOTAL	1	1	1	1
RELACIÓN				
VI+TIV	0.73	0.86	0.729	0.793
VD	0.27	0.14	0.271	0.207

Cuadro 2. Nótese la diferencia de las relaciones con respecto al grupo D

La administración crónica de digoxina y furosemida permitió desarrollar una cardiomiopatía en el modelo propuesto; comparable con una cardiomiopatía dilatada e hipertrófica concéntrica. En la CMD se trata de una enfermedad cardiaca crónica subclínica que cursa después del daño al miocardio de curso terminal con ICC (6). La CMH se desarrolla en ventrículo derecho debido al incremento de la sensibilidad y excitabilidad de la fibra miocárdica a la onda sanguínea, modificando la contractibilidad, aptitud para la contracción, conductividad y sobre la propagación de la onda contráctil a la musculatura del corazón para favorecer el GC. Por un refuerzo de la sístole y una prolongación de la diástole (7,8).

El principal efecto de la digoxina se centra en la competencia de los receptores que ocupa el potasio a la unión de las bombas Na/K/ATPasa de las membranas celulares, una menor cantidad de potasio incrementa los sitios libres para la acción de la digoxina. El incremento de la toxicidad afecta la actividad eléctrica quimiorreceptora del trígono en la médula. Debido a una sobrecarga de calcio intracelular, el potencial de membrana oscila y eventualmente alcanza el umbral de despolarización ocasionando un latido prematuro (7).

La acción de la furosemida reduce los niveles de K^+ produciendo hipovolemia que de forma crónica hace que el corazón tenga un gasto cardiaco mayor, que predispone al paciente sano a manifestar alguna alteración cardiaca bajo el tratamiento con digoxina, induciendo una cardiomiopatía tóxica (9).

La utilidad el modelo biológico permitirá estructurar y comparar las aplicaciones clínicos patológicos y terapéuticos en pacientes caninos manejados experimentalmente para unidades de aprendizaje.

Se concluye que la digoxina y la furosemida permiten desarrollar experimentalmente una cardiomiopatía en el modelo canino, tomando en cuenta los hallazgos clínicos, histológicos y patológicos.

BIBLIOGRAFÍA:

1) Birchard S., J.; Sherding R., G. (2002): Manual clínico de procedimientos en pequeñas especies. 2ª ed. Vol. I. McGraw Hill-Interamericana. España.
2) Kirk R.W; Bonagura J. D. (1994): Terapéutica veterinaria de pequeños animales. Vol.XI. McGraw Hill-Interamericana. España.
3) Boyce, P. et al.; (2000): Applied Pharmacology for the Veterinary Technician. Second edition. Saunders.
4) Oto Z.; Merle A. S. (1999): Handbook of animal models of infection. Academic press. Great Britain.
5) Aluja A. S. (1980): Necropsias en mamíferos domésticos. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, México.
6) Kirk R. W. Bonagura J. D. (1994): Terapéutica veterinaria de pequeños animales. Vol. XI. McGraw Hill-Interamericana, España.
7) Ocampo C. L.; Sumano L. H.; Cárdenas G. P.: Farmacología y toxicología aplicada en animales de compañía. Intervet, México.

8) Runnels R.A.; et al.(1987): Principios de patología veterinaria, Anatomía patológica. CECSA. México.
9) Caro V.A. (2005): Actualizaciones en la terapia de la insuficiencia cardiaca congestiva. Nota informativa. *Vanguardia veterinaria*, 11:(2), Antártida. México.
10) Statistical Analysis System Company (2003) Version 9 series.

DIAGNÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO DE DERMATOSIS INMUNOMEDIADAS EN PERROS DOMÉSTICOS

Bedolla MA, Constantino FC, Salas GG

RESUMEN
Se realizó un estudio retrospectivo de 28 casos (2001-2004) en pieles de perros cuyas muestras histológicas presentaban lesiones y diagnósticos sugerentes de pénfigo o lupus eritematoso. Dichas muestras se revaluaron mediante inmunohistoquímica identificando el depósito intercelular de IgG canina. Se obtuvieron reacciones inmunopositivas en el 57.14% (16 casos) de las muestras procesadas. La distribución de la inmunopositividad en el espacio intersticial de epidermis y/o membrana basal fue de ayuda para diferenciar entre pénfigo (y sus diferentes presentaciones) y lupus eritematoso. De los casos inmunopositivos el 50% (8 casos) fueron consistentes con pénfigo foliáceo, el 35.25% (5 casos) fueron consistentes con pénfigo vulgar, el 12.5% (2 casos) fueron consistentes con pénfigo eritematoso y el 6.25% (1 caso) fue consistente con lupus eritematoso. La inmunohistoquímica es una herramienta diagnóstica de gran ayuda para confirmar el diagnóstico de pénfigo y lupus eritematoso.

Palabras clave: Immunohistochemistry, pemphigus, lupus erythematosus, dogs, skin.

IMMUNOHISTOCHEMICAL DIAGNOSIS OF IMMUNE-MEDIATED DERMATOSIS IN DOMESTIC DOGS

We carried out a retrospective study of 28 skin biopsies from dogs received in our laboratory between 2001 and 2004, and histopathologically diagnosed as pemphigus or lupus erythematosus. The samples were re-evaluated by immunohistochemistry to identify intratissular deposits of canine IgG. Only 57.14% (16 cases) were immunopositive, from which 50% (8 cases) were consistent with pemphigus foliaceus, 35.25% (5 cases) with pemphigus vulgaris, 12.5% (2 cases) with pemphigus erythematosus, and 6.25% (1 case) with lupus erythematosus. The location of IgG in the interstice or in the basal membrane was helpful to differentiate among the different forms of pemphigus, and lupus erythematosus. Immunohistochemistry is a valuable diagnostic tool to confirm the diagnosis of immunomediated skin conditions, such as pemphigus and lupus erythematosus.

Keys words: Immunohistochemistry, pemphigus, lupus erythematosus, dogs, skin.

INTRODUCCIÓN

Las dermatosis inmunomediadas se caracterizan por la producción de autoanticuerpos contra componentes de la piel.[1] Se ha informado que ocupan aproximadamente el 1.4% de todas las dermatosis caninas examinadas por el servicio de dermatología de la Universidad de Cornell, Nueva York.[2,3] Las más frecuentemente diagnosticadas son pénfigo y lupus eritematoso.[2,3]

PÉNFIGO

Las enfermedades que constituyen el complejo pénfigo se asocian con la formación de autoanticuerpos contra moléculas de los queratinocitos (desmogleína 1 y 3).[1,4,5] La unión de los autoanticuerpos a los antígenos intercelulares induce que los queratinocitos endociten el complejo antígeno-anticuerpo, lo que provoca que las células afectadas sinteticen y secreten el activador del plasminógeno (una proteasa extracelular), esta enzima convierte el plasminógeno en plasmina la cual cataliza la hidrólisis de los enlaces peptídicos de las proteínas conduciendo a la destrucción de las uniones entre las células, causando su separación y llegando a la formación de acantolisis, vesículas y pústulas.[1,4,5,6,7]

El complejo pénfigo consta de cuatro enfermedades cutáneas raras que ocurren en seres humanos, perros, gatos, caballos y cabras. Estas variantes son: pénfigo foliáceo, pénfigo vulgar, pénfigo eritematoso y pénfigo vegetante.[2,4]

LUPUS ERITEMATOSO

Ocurre en dos formas: Lupus Eritematoso Sistémico (LES), que afecta múltiples órganos y tejidos, incluyendo la piel y el Lupus Eritematoso Discoidal (LED), el cual se localiza en la piel.[8]

El LES es una enfermedad multisistémica caracterizada por la presencia de hiperactividad de los linfocitos B debido a una disminución en la actividad de las células T supresoras.[1,3,9,10] La pérdida de la autorregulación inmune resulta en la producción de una gran variedad de anticuerpos dirigidos contra múltiples órganos y tejidos normales, incluyendo la piel.[8,9]

El LED es una variante leve y poco frecuente de LES.[3] La luz ultravioleta está involucrada en la patogenia de la enfermedad.[1]

En la patogenia de las lesiones cutáneas de ambas presentaciones de lupus eritematoso esta involucrada la radiación solar, la cual induce que los queratinocitos expresen en su superficie antígenos nucleares, de este modo anticuerpos específicos contra estos antígenos se unen a los queratinocitos induciendo necrosis de estos, por medio de citotoxicidad dependiente de anticuerpos. Los queratinocitos dañados liberan citocinas que promueven la infiltración de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos.[1,8]

OBJETIVOS

1. Identificar las lesiones microscópicas características de pénfigo y lupus eritematoso en muestras de piel remitidas al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

2. Utilizar la inmunohistoquímica para localizar las inmunoglobulinas en secciones de piel con dermatopatías autoinmunes en perros domésticos.

3. Determinar la frecuencia de lupus eritematoso y pénfigo en secciones de piel de perros remitidas al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

4. Establecer una correlación entre casos diagnosticados como dermatopatía autoinmune en secciones procesadas por el método convencional de histología y por inmunohistoquímica.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo corresponde a un estudio retrospectivo, observacional, descriptivo, comparativo y transversal. Se utilizaron casos pertenecientes al acervo del servicio de diagnóstico del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.
Se seleccionaron un total de 28 biopsias de piel de perros con lesiones microscópicas y diagnósticos sugerentes a pénfigo o lupus eritematoso, tomadas entre los años 2001 al 2004.

Las biopsias de piel incluidas en parafina fueron cortadas a 5 µm en un microtomo, realizando 2 cortes seriados, uno de los cuales fue teñido con la tinción de rutina de hematoxilina y eosina para su observación microscópica y el otro corte se procesó por inmunohistoquímica (IHQ) a través del método avidina-biotina-peroxidasa (ABC).

Se utilizó un anticuerpo policlonal de conejo Anti-IgG canino a una dilución 1/250.

Testigo positivo: sección de piel diagnosticada por inmunohistoquímica como pénfigo foliáceo. Testigo donado por el Dr. Alfonso López Mayagoitia de la Universidad de la Isla del Príncipe Eduardo, Canadá.

Testigos negativos: fueron dos testigos negativos, el primero correspondió a una sección de piel inmunopositivo, sin la aplicación del anticuerpo primario. El segundo, se utilizó una sección de piel sin lesiones al cual se le aplicó anticuerpo primario.

RESULTADOS

Los 28 casos se sometieron a la técnica de inmunohistoquímica avidina-biotina-peroxidasa y se encontró que el 57.14 % (16 casos) presentaron inmunopositividad en el espacio intercelular de la epidermis y/o membrana basal.

La distribución de la inmunopositividad en el espacio intercelular de la porción superficial de la epidermis fue en 8 casos (50%), los cuales fueron consistentes

con pénfigo foliáceo. En 5 casos (31.25%) se observó la inmunopositividad en el espacio intercelular de la porción basal de la epidermis, lo cual fue consistente con pénfigo vulgar. En dos casos (12.5%) se apreció la inmunopositividad en el espacio intercelular y membrana basal de la epidermis, lo cual fue consistente con pénfigo eritematoso. En un caso (6,25%) hubo inmunopositividad en la membrana basal de la epidermis, el cual fue consistente con lupus eritematoso.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados del estudio inmunohistoquímico, el 57.14% de los casos fueron positivos a esta técnica, este porcentaje es menor a los estudios realizados por Haines et al.[11] sin embargo, Bradley et al.[12] obtuvo un porcentaje similar 59% al que se realizó en este estudio.

Bradley et al. ocuparon otro anticuerpo anti-IgM canina y observó inmunopositividad en un caso (4.5%) lo que sugiere que en enfermedades autoinmunes es más conveniente usar anticuerpos contra IgG.

Las muestras de piel tampoco fueron evaluadas para la detección de C_3 no obstante, la contribución de C_3 en las enfermedades cutáneas autoinmunes es mínima y ocurre sólo en áreas de acantolisis y esta siempre acompañada por la inmunopositividad de un anticuerpo.[14]

Un aspecto crítico en la técnica de inmunohistoquímica fue la recuperación antigénica, la cual se efectuó por medio de pronasa al 0.1%. El tratamiento de los tejidos con esta enzima es esencial para restablecer la antigenicidad de los depósitos de inmunoglobulina.[35] Otra enzima que puede utilizarse para este propósito es la tripsina al 0.25%.[11,12]

La distribución de la inmunopositividad en el espacio intercelular de la epidermis y/o membrana basal fue útil para diferenciar los diferentes tipos de pénfigo y entre pénfigo y lupus eritematoso.[5,11,12,13] La distribución en el espacio intercelular en la epidermis superficial es un patrón consistente con pénfigo foliáceo.[5,11,12,13] La distribución en el espacio intercelular en la epidermis profunda es consistente con pénfigo vulgar.[8,11,12,13] En el caso de pénfigo eritematoso es consistente una inmunopositividad en el espacio intercelular y membrana basal.[5,11,12,13] En lupus eritematoso es consistente una inmunopositividad en la membrana basal.[8,11,12,13]

CONCLUSIONES

1. Fue posible detectar la presencia de autoanticuerpos (IgG) por la técnica de inmunohistoquímica en los casos sospechosos diagnosticados por histopatología.
2. La distribución de la inmunopositividad en la epidermis y/o membrana basal aunado a las lesiones histopatológicas fue de utilidad para diferenciar las diferentes presentaciones de pénfigo y entre pénfigo y lupus eritematoso.
3. La enfermedad autoinmune que más se presentó fue el pénfigo foliáceo, lo cual coincide con la literatura.
4. La técnica de inmunohistoquímica es una herramienta necesaria para realizar un diagnóstico correcto de pénfigo y lupus eritematoso, esto permite al clínico establecer un tratamiento específico para las dermatosis autoinmunes.

REFERENCIAS

1. Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Immunologic skin disease en: Muller and Kirk's small animal dermatology. 5th edition. Philadelphia; WB Saunders Company, 1995. pp. 556-588.
2. Scott DW, Walton DK, Slater MR, Smith CA, Lewis RM. Immune-mediated dermatosis in domestic animals: Ten years after-Part I. Comp Cont Educ 1987; 9:424-435.
3. Scott DW, Walton DK, Slater MR, Smith CA, Lewis RM. Immune-mediated dermatosis in domestic animals: Ten years after-Part II. Comp Cont Educ 1987; 9:539-551.
4. Tizard IR. Organ specific autoinmmune diseases en: Veterinary immunology. An introduction. 6th adition. Philadelphia; WB Saunders Company, 2000. pp. 375-377.
5. Lee GT. Superficial pustular diseases of the epidermis en Veterinary dermatopathology St. Louis; Mosby, 1992. pp. 16-20.
6. Yager JA, Scott DW. The skin appendages en: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N (eds). Pathology of domestic animals, vol. I. 4th edition. New York; Academic Press, 1993. pp. 617-623.
7. Stannard AA, Gribblw DH, Baker BB. A mucocutaneous disease in the dog, resembling pemphigus vulgaris in man. JAVMA 1975; 166:575-584.
8. Lee GT. Bullous and vesicular diseases of the epidermis and dermal-apidermal junction en: Veterinary dermatopathology. St. Louis; Mosby, 1992. pp. 22-33.
9. Tizard IR. The systemic immunological diseases en: Veterinary immunology. An introduction. 6th edtion. Philadelphia; WB Saunders Company, 2000. pp. 386-390.
10. Hubert B, Teichner M, Fournel C, Monier JC. Spontaneus familial systemic lupus erythematosus in a canine breeding colony. J Comp Path 1988; 98:81-89.
11. Haines DM, Cooke EM, Clark EG. Avidin-Biotin-Peroxidase complex immunohistochemistry to detect immunoglobulin in formalin fixed skin biopsies in canine autoimmune skin disease. Can J Vet Res 1987; 51:104-109.
12. Bradley GA, Calderwood MB. Immunoperoxidase staining for the detection of autoantibodies in canine autoimmune skin disease; comparison to immunofluorescence results. Vet Immunol Immunopathol 1990; 26:105-113.
13. Pérez J, Arce C, Moreno A, Mozos E, Rodríguez F, Llanes D. Comparison of three monoclonal and three policlonal antibodies in the immunohistochemical diagnosis of canine autoimmune skin diseases. Vet Dermatol 2002; 13:231-236.
14. Scott DW, Manning TO, Smith CA, Lewis RM. Observations on the immunopathology and therapy of canine pemphigus and pemphigoid. JAVMA 1982; 180:48-52.

Dirofilaria immitis en el municipio de Santa Maria del Oro Nayarit.

GlezMorteo C.A[1]., P. Arteaga Nochebuena[1], C.O. De la Cruz Moreno[1].
1. Universidad Autónoma de Nayarit.

Resumen: Dirofilaria immitis, es un parasito nematodo que puede estar presente en su forma adulta alojado principalmente en aurícula y ventrículo derecho y la arteria pulmonar, en su forma larvaria se le llama microfilaria ésta circula en el torrente sanguíneo en donde es tomada por los mosquitos cuando se alimentan, para a través de ellos infestar otros individuos susceptibles, en el trabajo se establece por primer ves la prevalencia de esta enfermedad en el municipio de Santa Maria del Oro Nayarit, además de establecer un análisis comparativo entre dos técnicas de diagnostico para las microfilarias. Por medio de la estadística se estableció como tamaño de la muestra 156 perros en cuatro de las principales poblaciones del municipio. Se les tomo una muestra de sangre con anticoagulante, de ella se realizo un frotis sanguíneo, y un análisis directo del total del plasma. De las dos técnicas de diagnostico se encontraron solo diferencias numéricas que en el análisis estadístico no fueron significativas entre las técnicas de diagnostico (frotis 18 positivos, plasma total 20 positivos) la prevalencia total fue de 13% para el municipio.

Palabras clave *Dirofilaria immitis*, dogs, Heart Worm Disease.

INTRODUCCION: La Dirofilariasis de los perros ha cobrado gran importancia entre otras cosas por la posibilidad de contagio al ser humano. De las diversas enfermedades que padecen los perros, las parasitosis son las más frecuentes (Nuñez A.J 1991). Desde que fuera observada por Leidy en 1856, la enfermedad se ha estudiado ampliamente en los Estados Unidos de América y se ha dispersado a partir de las franjas costeras del Atlántico y del Golfo de México, llegando hasta el Canadá (Fukushima K., 1996). En México, la Dirofilariasis canina fue detectada desde 1940 cuando se encontró en la ciudad de México, posteriormente se encontraría en otras ciudades de la República como son: Victoria, Tamaulipas en 1965, Veracruz, Veracruz en 1969, En Nayarit se encontró por primera vez en la ciudad de Tepic en 1958 (Rivero M.J.1982). En Nayarit ya hay indicios de animales enfermos, por lo que es de gran importancia cuantificar y determinar el grado o nivel de dispersión de la enfermedad en la actualidad. La Dirofilariasis es una enfermedad parasitaria provocada por helmintos nematodos, los cuales en México pertenecen principalmente a la especie *Dirofilaria immitis*, los cuales se alojan especialmente en el ventrículo derecho y en la arteria pulmonar, aunque pueden también encontrarse en la cavidad peritoneal, bronquios, cerebro, ojos, riñones así como en otros órganos y tejidos (Jacobo D.E. 1991). *Dirofilaria immitis* ha sido aislado en cánidos salvajes, hombres, caballos, osos negros, gatos, zorros, leones marinos de California de la especie *Zalophus californianus*, focas hooded de la especie *Cystophora cristata,* focas de litoral, y mas recientemente se ha descubierto también en delfines "pinnipedos comunes" de la especie *Tursiops truncatus* (aunque solo en aquellos que se encuentran en cautiverio) y por supuesto de los perros domésticos de

diferentes razas, edades o sexo descartando por lo tanto el efecto de susceptibilidad (Dierauf L.A. 1990). En la *Dirofilaria immitis,* los machos miden de 12 a 16 cm. Mientras que las hembras miden de 25 a 30 cm. Son gusanos delgados y de color blanco. El esófago mide de 1.25 a 1.5 mm. El extremo final del macho está curvado en espiral, y la cola tiene unas proyecciones con forma de alas laterales pequeñas Hay de cuatro a seis, (generalmente cinco), pares de papilas ovales, uno de los cuales es post-cloacal, dos pares digitiformes laterales y posteriores al orificio cloacal, y tres o cuatro pares de pequeñas papilas cónicas próximas al extremo de la cola. La espícula izquierda mide de 0.324 a 0.375 mm, y es de forma aguzada. La derecha de 0.19 a 0.229, de terminación roma. La vulva se sitúa justo detrás del final del esófago. Estos organismos se caracterizan por tener una cola larga y delgada (Quiroz R.H. 1984). Las hembras son ovivíparas, y las microfilarias pueden encontrarse en la sangre en cualquier momento aunque existe una tendencia marcada de presentarse una periodicidad. Esta al parecer presenta una variación diferente de acuerdo a los distintos países en que se ha estudiado esta periodicidad, De tal modo que por ejemplo; en los E.U.A. se ha observado un mínimo de microfilaremia a las 11:00 horas y un máximo a las 16:30 horas; en Francia, se encontró el número más bajo a las 8:00 horas, mientras que el más elevado fue a las 20:00 horas (Quiroz R.H. 1984). Para completar su ciclo *Dirofilaria immitis* requiere de hospedadores intermediarios que suelen ser por lo general mosquitos de los géneros *Culex, Aedes, Anopheles, Armigeres, Myzorhynchus* y *Taeniorhynchus.* Cabe mencionar acerca de *Dirofilaria immitis* que hasta donde se conoce nadie a reportado su posible desarrollo en pulgas. En el mosquito durante las primeras 24 hrs. Tras la toma de sangre, las microfilarias se encuentran en el estómago del insecto; durante las 24 hrs. siguientes, emigran a los túbulos de Malpighio, en donde se desarrollan alojándose ahí durante los siguientes 15 o 16 días. Aproximadamente en los primeros 6 o 7 días, las larvas en desarrollo se encuentran localizadas dentro de las células de los túbulos. Hacia el cuarto día tras la infestación del mosquito, aparece la larva "estado de salchicha", que es la larva del segundo estado; esta mide de 220 a 240 µm. de longitud, por 20 a 25 µm. de diámetro. En ese estado ha aumentado el número de células excretoras e intestinales que, finalmente, producen sus órganos respectivos que son evidentes cuando esta ya se encuentra bajo la apariencia de "salchicha alargada" la cual aparece posteriormente hacia el día noveno tras la Infestación. En este momento mide 500 por 20 µm. Durante este último estadio se alimenta sobre las células de los tubos de Malpighio y penetra en la cavidad corporal, desde allí, las larvas migrarán a través del tórax, terminando en los espacios cefálicos de la cabeza o en la cavidad del labium. El estadio final, denominado infestante, se forma en el labium y mide de 800 a 900 µm. El lapso de tiempo para completar su desarrollo es de unos 15 a 17 días en países templados, mientras que en países tropicales puede llegar a acortarse este tiempo de 8 ó 10 días (Soulsby E.J. 1987). La infestación a el perro tiene lugar cuando *Dirofilaria immitis*, una vez que es larva infectante, emigra hacia los órganos bucales del hospedador intermediario, durante la succión rompe la membrana quitina de la probosis y así llega al hospedador definitivo. Inicialmente, la migración en el perro es adyacente al sitio de la infestación, encontrándose la mayor parte de las larvas en las membranas

submusculares y pocas en el tejido subcutáneo. Estas alcanzan su localización definitiva a través de la vía hemática y linfática. A partir del día 85 hasta el 120 post-infestación se localizan los estados de desarrollo en el corazón o arteria pulmonar, teniendo en ese momento la microfilaria una longitud de 3.2 a 11 cm. Durante el transcurso de los dos meses siguientes alcanza su madurez sexual, y depositándose a continuación las microfilarias en la sangre, y al cabo de un periodo de 7 a 10 meses después ya se encontrarán alojándose en el corazón. Las infestación por microfilarias pueden comprobarse en muestras de sangre después de 28 a 40 semanas de ocurrida la infestación. Los mosquitos (huésped intermediario) son susceptibles a las microfilarias y un gran número de ellos mueren. Las microfilarias circulantes en el perro pueden sobrevivir hasta dos años, y puede darse el caso de ocurrir una transmisión transplacentaria, encontrándose así microfilarias en cachorros recién nacidos (Hoskins J.D. 1993). Los objetivos del trabajo fueron Determinar la prevalencia de Microfilarias de *Dirofilaria Immitis* en la sangre de perros de las cuatro poblaciones con mayor densidad de habitantes en el Municipio de Santa María del Oro, Nayarit. Durante el cuarto trimestre del año de 1992, así como evaluar dos técnicas simples para el diagnostico de la dirofilariasis

MATERIAL Y METODOS: El trabajo se realizó en el Municipio de Santa María del Oro, Nayarit, que se encuentra en las coordenadas extremas con longitud Oeste del meridiano 104º23' al meridiano 104º49' y con latitud Norte del paralelo 21º34' al paralelo 21º09' (INEGI 1991). Se tomaron muestras de sangre de perros en las cuatro poblaciones más importantes por el número de habitantes en el Municipio de Nayarit, éstas son; Santa María del Oro con 3,024 habitantes, La Labor con 1,909 habitantes, San José de Mojarras con 1,610 habitantes y El Ahualamo con 1,602 habitantes. Tomando en cuenta los datos de la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) en donde calculan que en las poblaciones de la América Latina existe una proporción un perro por cada diez personas. Por otra parte en un trabajo presentado durante el Curso de Zoonosis Parasitarias realizado en la ciudad de México, D.F. En el cual la proporción de perros por habitante en la República Mexicana se estimó en uno por cada seis. De tal modo que para los fines que se persiguieron con el presente trabajo se consideró una población media de un perro por cada ocho habitantes (Pan American Health Organization1991). En el municipio de Santa Ma. del Oro se tiene una población total de 3,024 habitantes en la cabecera municipal, de 1,909 en el poblado de La Labor, de 1,610 en el de San José de Mojarras, y de 1,602 en el de El Ahualamo. Al sacar la proporción estimada de perros se obtuvo una población total estimada para perros de 1,018 divididos de la siguiente manera entre las cuatro poblaciones; Santa María del Oro: 378 perros, La labor: 239 perros, San José de Mojarras: 201 perros y por último El Ahualamo: 200 perros. Los cuales se aplicaron para obtener el tamaño necesario de una muestra representativa para todo el Municipio mediante la siguiente formula;

$$n = \frac{N Z^2 P q}{d^2 (N-1) + Z^2 P q}$$

Al sustituir los valores de la misma se obtiene como tamaño de muestra un total de 156 perros para cubrir de manera representativa el total de los individuos presentes en el Municipio (11).

$$n = \frac{. \quad (1018) \quad (3.84) \quad (.40x60) \quad .}{(.0005)\ (1017) + (3.84)\ (.40x.60)} = 156 \text{ Perros}$$

En donde;
N = Población total estimada
Z = Coeficiente de confianza
P = Proporción esperada
q = 1 - P
d = Error esperado (la mitad del intervalo deseado)

Se organizaron 5 grupos de edad de los perros y dos horarios de muestreo

RESULTADOS: Fueron detectados un total de 20 casos positivos a *Dirofilaria immitis* de entre 156 perros muestreados. La correspondiente distribución fue de la siguiente manera; En Santa María del Oro, de 58 perros muestreados se encontraron 8 casos positivos. En la Labor, de 36 perros muestreados, se encontraron 5 positivos. En San José de Mojarras de 31 perros muestreados, se encontraron 4 positivos. Y por último en el Ahualamo, de 31 perros muestreados se encontraron 3 positivos. Estos resultados se obtuvieron con la técnica de la revisión total del plasma, y solo difirieron en dos casos con la técnica del frotis sanguíneo. Se realizo un análisis por grupo de edad y la hora de la muestra para establecer si existía una correlación entre con estos parámetros.
DISCUSION: Se hicieron 5 grupos de edad, en donde se encontró animales positivos con mayor frecuencia en los grupos de edad de 6 a nueve años y de 9 a 12 años. Se hicieron dos periodos de muestreo de 9:00 a 13:00 y de 13:00 a 17:00 horas, se encontró que los resultados concuerdan con lo encontrado por otros autores con respecto a la cantidad de positivos ya que el horario en que mas se encontraron fue el de las horas de la tarde (13 a 17 hrs). 80 % de los positivos (Quiroz R.H. 1984).

LITERATURA CITADA:

Dierauf L.A.: Handbook of Marine Mammal Medicine: Health, Disease, and Reabilitation., CRC Press, Inc., Boca Ratón, Florida. (1990).

Fukushima K., Hustell D., Patton S. And Carlson S.: Aberrant Dirofilariosis in a cat., J. Am. Vet. Med. Ass. 184: (1996).

Hoskins J.D.: Pediatría Veterinaria Perros y Gatos. (Desde el nacimiento a los seis meses). Ed. Interamericana, Mc. Graw-Hill., México, D.F. (1993)

INEGI.: Nayarit Resultados Definitivos, Datos por Localidad (integración territorial) XI Censo general de población y vivienda 1990. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática., Aguascalientes, Ag., México. (1991)

Jacobo D.E. and Fox M.T.: Endoparasites, canine medicine and therapeutics. Edited by Chandler E.A., Thompson D.J., Sutton J.B. and Price C.J. Blackwell Scientific Publications., London, England. (1991)

Nuñez A.J.: Búsqueda de la Dirofilariosis canina en los Estados de Chiapas, Yucatán y Morelos. Tesis de licenciatura, Fac. Med. Vet. Zoo. U.N.A.M., México, D.F. (1981).

Pan American Health Organization.: Programa regional de eliminación de la rabia urbana: Informe de la evaluación de la década 1980-1989 (informe preliminar) VII Inter-American Meeting, at the ministerial level, on animal health. World Health Organization. Washington, D.C., E.U.A. (1991)

Quiroz R.H.: Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos. Ed. Limusa., México, D.F. (1984).

Rivero M.J.: Frecuencia estacional de Dirofilaria immitis en perros de la Ciudad de Chetumal, Quintana Roo. Tesis de licenciatura, Fac. Med. Vet. Zoo. U.N.A.M., México, D.F. (1982).

Soulsby E.J.: Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos 7a. Edición.: Nueva editorial interamericana., México D.F. (1987)

SARCOMA HISTIOCÍTICO DISEMINADO ASOCIADO A SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICO EN UN PERRO

Luis Enrique García Ortuño[1], Enrique Aburto Fernández[1], Karla Sombra[2]
1. Departamento de Patología, 2.Hospital Veterinario de Especialidades.
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

Resumen

El sarcoma histiocítico diseminado es una enfermedad neoplásica rápidamente progresiva que se presenta en perros y otras especies domésticas y se caracterizada por la extensa proliferación de histiocitos atípicos en diferentes órganos. Se presenta el caso clínico de una perra la cual presentó depresión, hiporexia, mucosas pálidas, hipertermia, dolor abdominal y esplenomegalia. En las pruebas de laboratorio se observó anemia y leucopenia grave, así como un proceso inflamatorio crónico. Debido a la poca respuesta al tratamiento y al deterioro progresivo de la condición física del perro se decidió la eutanasia. En la necropsia se apreció linfadenomegalia generalizada y esplenomegalia, así como hemorragias en la primera porción del intestino. Microscópicamente los linfonodos estaban infiltrados por células neoplásicas de aspecto histiocítico y con evidente eritrofagocitosis. Dichas células se encontraron también en bazo, hígado, ovario y médula ósea, por lo cual se estableció el diagnóstico de histiocitosis maligna. En el presente trabajo se discuten los diferentes procesos proliferativos (benignos y malignos) de tipo histiocítico que pueden suceder en el perro y las características particulares para poder diferenciarlos adecuadamente, haciendo énfasis en el sarcoma histiocítico maligno y su asociación al síndrome hemofagocítico que rara vez se presenta en esta entidad.

Palabras clave: Hemophagocytosis, neoplasia, histiocitos, perro, maligna.

HEMOPHAGOCYTIC SYNDROME ASSOCIATED TO DISSEMINATED HISTIOCYTIC SARCOMA IN A DOG

Abstract
Disseminates sarcoma histiocytic is a rapidly progressive disease, which has been described in dogs and other domestic species. It is characterized by extensive proliferation of atypical histiocytes in different organs. This work describes the case of a bitch was referred with history of depression, anorexia, marked paleness of mucous membranes, hyperthermia, splenomegaly and abdominal pain. Laboratory tests reveled marked anemia and leucopenia, as well as a chronic inflammatory process. Euthanasia was elected due to the poor response and the progressive deterioration of the patient. Necropsy examination exhibited generalized lymph node enlargement and splenomegaly. The first third of the small intestine showed fresh blood covering the mucosal surface. Microscopically lymph nodes were diffusely infiltrated by atypical histiocytic which often showed erythrophagocytosis. Similar cells found in the spleen, liver, ovary and bone marrow sections. Gross and histomorphologic features were consistent with a disseminated histiocytic sarcoma. This paper discusses the different histiocytic

proliferative diseases in dogs in order to be able to differentiate them appropriately. It also wakes emphasis in disseminated histiocytic sarcoma and its association with an uncommon hemophagocytic syndrome which occasionally occurs in this neoplastic disease.

Key words: Hemophagocytosis, neoplastic, histiocytes, dog, malignant.

Introducción

Las células histiocíticas se originan de células precursoras de la médula ósea y pueden diferenciarse en macrófagos o células dendríticas. Los macrófagos están involucrados principalmente en la fagocitosis y secreción de sustancias que tienen influencia en el proceso inflamatorio, mientras que las células dendríticas funcionan para procesar y presentar antígenos a los linfocitos T, por lo cual se les ha llamado células presentadoras de antígenos.[1] Las dos últimas son también consideradas como proliferaciones reactivas, no neoplásicas que pueden llegar a tener mal pronóstico por su recidiva.

Las anormalidades proliferativas histiocíticas incluyen un amplio espectro de enfermedades caracterizadas por diferentes comportamientos biológicos.[2] Las enfermedades proliferativas benignas de los histiocitos corresponden a histiocitoma cutáneo, histiocitosis cutánea e histiocitosis sistémica.[1-3]

El histiocitoma cutáneo es un tumor de piel benigno que se origina de células epidérmicas dendríticas (células de Langerhans). Es principalmente un tumor solitario, de crecimiento rápido que se presenta en perros jóvenes y que cursa con regresión espontánea.[4-6] Los sitios frecuentemente afectados pueden ser extremidades distales, rostro, cuello, y escroto.[5] Histológicamente involucra dermis superficial y profunda y las células neoplásicas se extienden a la epidermis. La epidermis se puede observar hiperplásica y ulcerada. Los histiocitos tienen núcleos de moderado tamaño y generalmente redondos a ovales o ligeramente identados con apariencia vesicular y usualmente hay numerosas mitosis. El nucléolo suele ser pequeño e inconspicuo. Se ha informado con poca frecuencia múltiples histiocitomas cutáneos cuyas células inclusive pueden migrar a linfonodos locales, clínicamente pueden confundirse con histiocitosis cutánea, sin embargo, morfológicamente en los histiocitomas es frecuente la invasión epiteliotrópica intraepidérmica lo cual no es una característica de la histiocitosis cutánea.[1,7]

La histiocitosis cutánea es una enfermedad rara que ocurre en perros jóvenes y adultos, no hay predilección de razas o sexo y es causada por proliferación multifocal de células dendríticas dérmicas activadas.[1,5] Las lesiones cutáneas usualmente involucran a la dermis profunda, subcutáneo y ocasionalmente algunas células drenan hacia linfonodos. En contraste con el histiocitoma cutáneo la invasión de la dermis superficial y el epiteliotropismo no son observados. Las lesiones de la histiocitosis cutánea se desarrollan alrededor de los vasos sanguíneos (angiocéntrico) y consiste de infiltrado perivascular conteniendo histiocitos y otras células inflamatorias en variable proporción y en ocasiones puede también invadir la pared de los vasos sanguíneos (angioinvasivo). Las células tienen núcleo oval, pleomórfico o vesicular, con nucléolo no evidente o

muy pequeño y abundante citoplasma de bordes no definidos. Las lesiones con patrón histológico similar que involucran piel, mucosas (nasal, cojuntival) y otros tejidos deben ser consideradas como histiocitosis sistémica.[7]

La histiocitosis sistémica (HS) es encontrada principalmente en perros como el Bernés de la montaña y rotweiler machos, otras razas como labrador, pastor belga, border collie, poodles, mestizos y de ambos sexos pueden verse afectados, siendo la edad promedio entre 2 y 5 años.[5] La HS es una enfermedad que se caracteriza por proliferación multifocal de células dendríticas intersticiales activadas. La piel casi siempre está involucrada y las lesiones son histológicamente idénticas a la histiocitosis cutánea con infiltrado angiocéntrico y angioinvasivo de histiocitos, linfocitos y neutrófilos, otros sitios que pueden verse afectados corresponden a mucosa nasal y conjuntival, linfonodos, pulmones, bazo, hígado y médula ósea.[1,5-7]

Las formas malignas de las anormalidades histiocíticas proliferativas corresponden a dos variedades de sarcoma histiocítico que son localizado y diseminado.[7-9] El sarcoma histiocítico localizado (SHL) es una lesión solitaria o múltiple que se extiende rápidamente y por lo tanto muchas veces es difícil de diferenciar del sarcoma histiocítico diseminado (SHD),[2] el cual por definición tiene origen multicéntrico y puede tener un patrón de crecimiento difuso y perivascular en varios órganos.[7] El SHL ocurre más frecuentemente en perros adultos y viejos y se ha presentado en rottweiler, labrador y cobrador dorado. Las lesiones aparecen como masas solitarias de crecimiento rápido en sitios cutáneos, subcutáneos y comúnmente en la región distal del miembro y adyacente a las articulaciones. Ocasionalmente los tumores pueden encontrarse en bazo, hígado, pared gástrica y lengua. Las células son grandes y pleomórficas con formas redondas, poligonales y fusiformes. Los tumores son localmente invasivos y destructivos. Los tumores que deben ser distinguidos de SHL son tumores de la vaina nerviosa, hemangiopericitoma, hemangiosarcoma, tumor de células plasmáticas y mastocitoma.[1]

El sarcoma histiocítico diseminado, llamado también histiocitosis maligna (HM) se caracteriza por una proliferación de histiocitos malignos y atípicos que es rápidamente progresiva y altamente metastásica.[3,5,10-13] El SHM se ha informado en perros Bernés de la montaña, cobrador dorado, labrador, rottweiler y doberman pinscher[2,3,13] aunque también se ha descrio en otras especies domésticas y pueden verse afectados ambos sexos.[11] Particularmente en el Bernés de la Montaña se conoce un factor hereditario involucrando un gen poligénico.[1] La edad de los perros afectados está en un rango entre 2 y 13[2] con un promedio de 6 años.[12] La presentación de los signos clínicos no es específica y están incluidos: letargia, debilidad, hiporexia, pérdida de peso, disnea y signos neurológicos, ocasionalmente se presenta anemia de tipo no regenerativa.[2,5] En estudios radiográficos y ultrasonográficos puede verse esplenomegalia y hepatomegalia producto de la diseminación del tumor.[5,12] El curso clínico es rápido y comúnmente fatal, la respuesta a la terapia es pobre y por lo tanto el pronóstico es malo.[12]

Caso clínico

Reseña: Perra, Coker Spaniel, 9 años de edad.
Historia clínica: El 4 de enero amaneció inconsciente y presentó distensión abdominal, 8 días después presentó depresión, hipertermia, taquicardia, hiporexia e hipodipsia. Cinco días después continuó con los mismos signos los cuales se agravaban progresivamente, por lo cual se remite al Hospital Veterinario de Especialidades de la FMVZ-UNAM.
Examen clínico: Mucosas pálidas, hipertermia (39.8°C), linfoadenomegalia generalizada, dolor a la palpación abdominal, esplenomegalia y deshidratación del 6%.
Pruebas complementarias
Se realizó hemograma observándose anemia no regenerativa (hematocrito 0.14 L/L) y leucopenia (2.7 $X10^9$).
En el estudio radiográfico se apreció esplenomegalia.
Al tercer día de hospitalización la perra no presentó ninguna mejoría por lo que el propietario decide la eutanasia y se remite al Departamento de Patología FMVZ-UNAM para realizar la necropsia.

Hallazgos macroscópicos
En la inspección externa las mucosas orales se encontraron marcadamente pálidas. En la base de la rama derecha de la mandíbula había una masa subcutánea lobulada que mide 5.5 x 4.5 x 1.8 cm. Al corte se distinguían varios nódulos linfáticos aumentados de tamaño con áreas de necrosis y hemorragia.
En la inspección interna los hallazgos más relevantes fueron los siguientes:
la mucosa de la región pilórica estaba cubierta por sangre negra digerida (hematina ácida). En duodeno y la primera mitad de yeyuno la mucosa se encontraba enrojecida. Ileon y colon presentaban sangre oscura digerida.
El bazo estaba congestionado y ligeramente aumentado de tamaño. En la porción central presentaba una placa elevada blanca–amarillenta sobre la cápsula que midió aproximadamente 10 x 7 cm. Los linfonodos cervicales se observaron aumentados de tamaño y medían 5.5 cm (izquierdo) y 6 cm (derecho) de eje mayor. La médula roja a nivel del fémur era de color rojo oscuro.

Hallazgos microscópicos
En las secciones de linfonodos su arquitectura estaba parcialmente reemplazada por la presencia de mantos densamente poblados de células redondas, sin cohesión y marcada anisocitosis. Dichas células tenían moderada cantidad de citoplasma eosinofílico con bordes bien definidos. Los núcleos eran redondos o pleomórficos, excéntricos, hipercromáticos y con frecuencia exhibían uno o varios nucléolos evidentes y marcada anisocariosis. Se observaron de 0-3 figuras mitósicas generalmente atípicas, por campo aleatorio con el objetivo 40x. Con frecuencia se apreciaban células gigantes multinucleadas y binucleadas, así como células con eritrocitos y pigmento café (hemosiderina) en su interior (hemofagocitosis). Los nódulos submandibulares exhibían extensas áreas de necrosis coagulativa (infartos).

Las secciones revisadas de hígado, bazo y ovarios presentaron infiltrado celular difuso de células neoplásicas con las características anteriormente descritas en linfonodos. El diagnóstico histopatológico fue sarcoma histiocítico diseminado (histiocitosis maligna).
En el estudio de médula ósea se apreció hipercelular, la línea eritrocítica y mielocítica estaban reducidas en cantidad y remplazadas por células neoplásicas con las características anteriormente descritas.

Discusión
En el caso que se presenta el criterio para obtener el diagnóstico de sarcoma histiocítico diseminado (SHD) se obtuvo con base al estudio de diversos factores que corresponden al curso de la enfermedad, el comportamiento biológico y fisiopatológico de la neoplasia y los hallazgos histopatológicos.
El curso de la enfermedad en este perro fue agudo puesto que a partir de la presentación de los primeros signos hasta la necropsia transcurrieron solamente 16 días. En un estudio de 20 perros con histiocitosis maligna demostró el comportamiento muy agresivo, agudo y de pobre pronóstico de la enfermedad, en 7 de los perros se observó un deterioro demasiado rápido y falta de respuesta total a la quimioterapia, uno de los perros murió espontáneamente y los otros 6 fueron eutanasiados a petición de los propietarios. En otros 7 perros estaban en una muy pobre condición corporal al momento de la presentación por lo cual fueron eutanasiados. En los últimos 6 perros no hubo seguimiento clínico.[2]
El comportamiento biológico y fisiopatológico de la neoplasia en este perro corresponde a lo descrito en la literatura. Los sitios primarios de diseminación del SHD corresponden a bazo, hígado, médula ósea, linfonodos y pulmones principalmente, sin embargo, piel, subcutáneo, riñones, miocardio, cavidad oral y nasal, cerebro, próstata, glándulas adrenales, testículos entre otros pueden verse también afectados,[2,7-10] en este caso con excepción de los pulmones el resto de los órganos principales se vieron afectados con células neoplásicas diseminadas.
Los signos clínicos presentados por el animal relacionados con mucosas pálidas, anemia y leucopenia es un hallazgo raro pero característico en el SHD y esto sucede por la destrucción masiva de los eritrocitos y algunas veces de leucocitos, debido a la extensa hemofagocitosis mediada por los histiocitos neoplásicos[1,7,13] aunado a esto, en las fases terminales se sugiere eritropoyesis ineficaz,[14] aunque no puede excluirse supresión hematopoyética por mieloptisis, debido a que gran parte de las células precursoras sanguíneas de médula ósea se encontraban desplazadas por las células neoplásicas.
Los hallazgos histopatológicos observados en este perro, fueron consistentes con SHD. El origen de las células no se conoce con precisión, muchos investigadores sugieren que las células neoplásicas tienen diversos inmunofenotipos, algunas expresan antígenos consistentes con células dendríticas mientras que otros expresan antígenos consistentes con monocitos originados en médula ósea (macrófagos).[13] El SHD puede por lo tanto ser dividido funcionalmente en tumores de células dendríticas y tumores de macrófagos. Las células tumorales exhiben marcado pleomorfismo incluyendo grandes células mononucleares y multinucleadas[3,7,9-11,13,14] como se observó en este caso. El núcleo varía en forma y tamaño, suele ser redondo a poligonal y algunas células pueden ser también

fusiformes, el tamaño del núcleo se aproxima al de diez eritrocitos en diámetro, con variable hipercromasia y nucléolo grande. Las diferencias principales con su contraparte benigna se aprecian en el tamaño nuclear y la forma individual de las células.[7] La mayoría de los SHD se tratan de tumores de células dendríticas presentadoras de antígeno. En una variante menos común se presentan hemofagocitosis prominente[14,11] estas células expresan marcadores característicos de los macrófagos residentes.[7]
Las características morfológicas celulares más importantes que observamos en esta neoplasia y que se tomaron en cuenta para el diagnóstico definitivo corresponden a histiocitos atípicos, evidente hemofagocitosis y presencia de células gigantes multinucleadas.

Conclusiones

Para los autores resulta interesante exponer y discutir este caso, ya que se presenta en una raza en la que no se ha descrito y por otro lado el diagnóstico clínico puede representar cierta dificultad debido a que los signos suelen ser inespecíficos. Así mismo resaltar el síndrome hemofagocítico asociado ya que si bien es característico de ese tipo de proliferaciones no se presenta con frecuencia.

Referencias

1. Jacobs RM, Messick JB, Valli VE. Tumors of the hemolymphatic System in: Meuten DJ, editor. Tumors in domestic animals. 5a ed, Iowa:Iowa State Press, 2002:119-198.
2. Affolter VK, Moore PF. Localized and disseminated hitiocytic sarcoma of dendritic cell origin in dog. Vet Pathol 2002, 39:74-83.
3. Weiss JD. Cytologic evaluation of benign and malignant hemophagocytic disorders in canine bone marrow. Vet Clin Pathol 2001, 30:28-34.
4.Thomas RC, Fox LE. Tumors of the skin and subcutis in: Morrison WB, editor. Cancer in dogs and cat. Pennsylvania:Williams and Wilkins, 1998:489-507.
5. JonesTH, Hunt RD, King NW. Veterinary pathology. 6a ed. USA:Lippincott Williams and Wilkins, 1997.
6. Yager AJ, Scott WD, Wilcock BP. Neoplastic diseases of skin and mammary gland in: Jubb FV, Kennedy CP, Palmer N. Pathology of domestic animals. 4a ed, Vol I, California:Academic Press, 1993:729-730.
7. Valli VE, Jacobs RM, Parodi AL, Vernau W, Moore PF. Histological classification of hematopoietic tumors of domestic animals. World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. Vol VIII. Washington:Armed Forces Institute of Pathology, 2002.
8. Uchida K, Morozumi M, Yamaguchi R, Tateyama S. Diffuse leptomeningeal malignant histiocitosis in the brain and spinal cord of a tibetan terrier. Vet Pathol 2001, 38:219-222.
9. Suzuki M, Uchida K, Morozumi, Yanai T, Nakayama H, Yamaguchi R, Tateyama S. Acomparative pathological study on granulomatous meningoencephalomielitis and central malignant histiocitosis in dog. J Vet Med Sci 2003, 65:1319-1324.

10. Chandra AMS, Gin PE. Primary malignant histiocyosis of the brain in a dog. J Comp Phat 1999, 121:77-82.
11. Anjiki T, Wada Y, Honma H, Niizeki Hiro, Shibahara T, Kadota K. Malignant histiocitosis in Cattle. J Med Sci 2000, 62:1235-1240.
12. Vail MD. Histiocitic disorders, in: Withrow JS, McGwen GE, editors. Small animall clinical oncology. 3a ed. Philadelphia:W.B.Saunders Company, 2001:667-671.
13. Goldschmidt MH, Hendrick MJ. Tumors of the skin and soft tissues in: Meuten DJ, editor. Tumors in domestic animals. 5a ed, Iowa:Iowa State Press, 2002:119-198.110-111.
14. Valli VE, Parry BW. Myeloproliferative disease in: Jubb FV, Kennedy CP, Palmer N. Pathology of domestic animals. 4a ed, Vol III, California:Academic Press, 1993:121-122.

ESTUDIO CLÍNICO RESTROSPECTIVO DE ESPIROQUETOSIS EN HECES CANINAS DE PACIENTES SOSPECHOSOS A *Leptospira sp* ASISTIDO CON LA TINCIÓN DE ROJO CONGO

M.V.Z. Flor Ivette Robledo Alvarado, M en C. Carlos Emilio Baldwin Sevilla , D.Ph. Juan José de Jesús Chávez

Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Zacatecas

Abstract
A retrospective study was carried out between June 29 and July 22 2004. the study was carried out in the hospital of small species in the city of San Luis Potosi to 49 canines. The canines consisted of different race, age, and sex all of which were suspected to have Leptospira sp. The canines produced the same clinical manifestations such as vomit, dehydration, bloody manure, lack of appetite and fever ranging from 39.5 to 40 C. The study consisted in taking canine manure samples from these patients suspected to have leptospirosis which were submitted to a dye using the red Congo technic to observe spiroquetes. 36 cases were found to be positive. The red Congo dye technique in manure conducted in the cases of presumptive signals of leptospirosis confirm a 65% spiroquetosis in manure. The results obtained were submitted to a correlation of clinical diagnosis and the positive dye of espiroquetosis obtaining a R2=0.9417 (P<0.05). We concluded that the technique is a complementary tool of clinical diagnosis in observing spiroquetes in manure of patients suspicious of leptospira.

Resumen
Se realizó un estudio retrospectivo en el periodo comprendido del 29 de junio de 1996 al 22 de julio de 2004, en el hospital de pequeñas especies de la ciudad de san Luis Potosí a 49 canideos de distintas razas, edad, sexo, todos ellos sospechosos a *Leptospira sp*., con las mismas manifestaciones clínicas, como son: vomito, deshidratación, melena, inapetencia y fiebre de 39.5 a 40 ° C. El estudio consistió en tomar muestras de heces caninas de estos pacientes sospechosos a leptospirosis, las cuales fueron sometidas a una tinción con la técnica de rojo Congo, para observar espiroquetas. Se encontraron un total de 36 casos positivos. La técnica de tinción de rojo congo en heces realizada a los casos con signología presuntiva a leptospirosis confirma un 65% de la espiroquetosis en heces. Los resultados obtenidos se sometieron a una correlación de diagnóstico clínico y la tinción positiva a espiroquetosis obteniéndose una R2=0.9417 (P<0.05), concluimos que la técnica es una herramienta complementaria al diagnóstico clínico observando espiroquetas en heces de pacientes sospechosos a *leptospira sp.*

Palabras clave (Key words)
Leptospira, espiroqueta, caninos, diagnóstico.

Introducción

La leptospirosis es la mayor enfermedad zoonótica de distribución mundial, que afecta a los animales domésticos y salvajes, así como al hombre (2, 3, 5, 8, 9, 10, 15, 17, 18). Esta enfermedad es causada por gérmenes de la familia de los treponemas entre los que destacan él generó Leptospira y al orden de las espiroquetas (11, 14) En los perros la infección es referida cómo leptospirosis, sin considerar la cepa que la causa, tiene una gran importancia en la salud pública, (1) en la salud animal y en la industria pecuaria, se propaga ampliamente en una gran variedad de portadores y en el ambiente (7) Su gran incidencia, se debe a que abundan superficies de agua en el ambiente, aunado a la falta de métodos de diagnostico y un buen control.

En tiempo de lluvias las leptospiras son arrastradas de las madrigueras de las ratas esparciéndose en el ambiente cercano. De esta manera las leptospiras contaminan las superficies de agua, constituyendo una fuente potencial de diseminación de leptospiras para los animales domésticos y el hombre (13). Los perros son afectados frecuentemente por una variedad de serotipos como por ejemplo: canicola, grippotyphosa, icteroahemorragiae (6). Otros serotipos como automalis, pomona y hardjo se han aislado en forma ocasional. Las infecciones por leptospira atacan a poblaciones de perros y de animales domésticos libres de esta enfermedad o que no habían sido vacunadas. Acto seguido se produce una infección aguda, algunos animales se recuperan rápidamente, y los perros que se recuperan excretan microorganismos por la orina en forma intermitente durante meses después de la infección, (4) otros producen aglutininas por muchos años. Por lo que en exposiciones futuras estos animales no mostraran signos clínicos de la enfermedad y a menudo en el laboratorio muestran solo pequeñas evidencias de la enfermedad que puede pasar subclínica.

Las leptospiras penetran en los animales a través de la piel erosionada ó macerada por el agua e inclusive atraviesa la piel y las mucosas sanas. Se ha descrito también la transmisión mediante aerosoles, vía transplancentaria y la vía digestiva (6, 12, 16).

Una vez que atraviesan las barreras de defensa del hospedador las leptospiras son acarreadas a través de la sangre del punto de entrada al hígado donde ocurre la multiplicación primaria, diseminándose y multiplicándose a riñones, bazo, ojos, SNC, aparato genital (12, 16).El compromiso renal se produce por diferentes mecanismos; toxicidad directa de la espiroqueta y de sus antígenos produciendo: nefritis interticial y necrosis tubular aguda (16). Se expresa por poliuria e hipopotacemia por secreción aumentada de potasio a nivel del túbulo con escasa absorción de sodio a nivel proximal. La falla renal aguda es un indicador de enfermedad severa y cuando este presente se acompaña de compromiso multiparenquimatoso (6) Durante la bacteremia el primer signo es el incremento de la temperatura corporal inapetencia, inyección de los vasos de la episclerotica, amigdalitis, vómitos, y se produce la leptospiremia generalizada que dura de 2 a 8 idas y depende de la gravedad de los sintamos y es en este momento en donde podemos encontrar leptospiras en la mayoría de los tejidos, especialmente en el cerebro, riñón, pulmones, útero, y glándula mamaria en las perras y en los testículos de los perros y se hace evidente en las heces (19).

El objetivo del presente trabajo fue determinar la frecuencia de espiroquetas en caninos sospechosos a leptospirosis con base a la tinción de heces caninas con rojo congo, en el municipio de San Luís Potosí

Material y Método.

El estudio se realizo en el Hospital Veterinario de Pequeñas Especies ubicado en la zona centro de la ciudad de San Luis Potosí, cuya localización geográfica latitud norte 22º 09' con una altura de 1860 metros sobre el nivel del mar (msnm).

El clima de esta ciudad es seco templado, presenta lluvias en verano y un porcentaje de lluvia invernal de 5 a 10.2 mm. La temperatura media anual ocila entre 22 y 24 ºC, y la máxima temperatura corresponde a junio con un valor promedio de 24 ºC y la mínima se presenta en enero, con menos de 11.6 ºC (INEGI,1991).

Población a estudio

Se utilizarón un total de 49 animales, los cuales ingresaron al hospital en el periodo comprendido del 29 de junio de 1996 al 22 de julio de 2004, en el hospital de pequeñas especies de la ciudad de san Luis Potosí a 49 canideos de distintas razas, edad, sexo, todos ellos sospechosos a *Leptospira sp*., con las mismas manifestaciones clínicas, como son: vomito, deshidratación, melena, inapetencia y fiebre de 39.5 a 40° C, hiperemia conjuntival, sensibilidad muscular, ictericia, y dolor abdominal a la palpación. Después del examen clínico se colectaron muestras de heces de cada uno de los pacientes para ser sometidos a la tinción de rojo congo con el propósito de confirmar la presencia de espiroquetas. El procesamiento de las muestras se realizo insitu al momento de realizar el diagnóstico clínico.

Análisis Estadístico

Se utilizó un análisis Proc GLM, y un análisis de correlación lineal simple utilizando el programa estadístico SAS (1986)

Toma de Muestra

Se colecto de cada animal aproximadamente 10 ml de heces diarreicas en tubos de ensaye con rosca. Manteniendo la muestra a temperatura ambiente durante su transporte hasta su procesamiento por un período máximo de 4 horas después de tomada la muestra o refrigerada de 4-8 ºC por un período máximo de 6 horas, hasta su procesamiento de acuerdo al manual de procedimientos bacteriológicos y serologicos para el diagnóstico de la leptospirosis del ministerio de salud de Perú 2002.

Resultados

Cuadro 1. Frecuencia anual de espiroquetosis positivas en heces caninas de pacientes sospechosos a *leptospiras, sp.* Identificados con la tinción de rojo congo, en la región centro de la ciudad de San Luis Potosí

Año	Frecuencia	Frecuencia cumulada
1996	1	1
1997	1	2
1998	3	5
1999	4	9
2000	5	14
2001	2	16
2002	2	18
2003	3	21
2004	11	32
TOTAL	**32**	

Cuadro 2. Frecuencia mensual de espiroquetosis en heces de pacientes sospechosos a *leptospira sp.* Identificados con la tinción de rojo congo, en la región centro de la ciudad de San Luis Potosí.

Mes	Frecuencia	Frecuencia cumulada
Enero	6	6
Febrero	1	7
Marzo	4	11
Abril	5	16
Mayo	11	27
Junio	7	34
Julio	3	37
Agosto	1	38
Septiembre	0	38
Octubre	4	42
Noviembre	0	42
Diciembre	3	45
Total	**45**	

Cuadro 3. Coeficiente de correlación de espiroquetosis en heces de pacientes sospechosos a *leptospira sp.* identificados con la tinción de rojo congo, en la región centro de la ciudad de San Luis Potosí.

	Pacientes Positivos	Pacientes Sospechosos
Pacientes Positivos	1.00000 0.00001	0.92417 0.0004
Pacientes Sospechosos	0.92417 0.0004	1.00000 0.00001

Discusión

El Cuadro 1 muestra la frecuencia anual de espiroquetosis positivas en heces caninas de pacientes sospechosos a *leptospiras, sp.* Identificados con la tinción de rojo congo, en la región centro de la ciudad de San Luis Potosí, con una frecuencia acumulada de 32 que corresponden al 65% de los 49 pacientes analizados en los nueve años de estudio retrospectivo, siendo el año 2000 y 2004 los que mayor frecuencia de casos positivos presentaron, lo que nos demuestra que la frecuencia de esta enfermedad es alta. Este resultado es diferente en términos absolutos al reportado por rivera en 1998 en su estudio de 135 caninos callejeros, donde 52 resultaron positivos a espiroquetosis, siendo mayor en 20 puntos porcentuales en la frecuencia respecto a nuestro estudio, sin embargo cabe destacar que el ultimo año presento la mayor frecuencia debido a que los pacientes fueron atendidos en forma oportuna y a la mayor afluencia de pacientes consultados. El cuadro 2 muestra la frecuencia mensual de espiroquetosis en heces de pacientes sospechosos a *leptospira sp.* identificados con la tinción de rojo congo, en la región centro de la ciudad de San Luis Potosí. Con una frecuencia cumulada de 45, siendo los meses de abril, mayo y junio, los que presentan mayor frecuencia probablemente debido a que en estos meses se presenta mayor humedad relativa y temperatura,. Condiciones propicias para la multiplicación de las espiroquetas lo que concuerda con lo reportado por Victoria et al. 2002. quienes reportan que las condiciones ambientales como lluvias abundantes y temperatura son factores que favorecen la transmisión, sin embargo nosotros detectamos los meses de dicembre y enero como meses claves para la presentación de casos clínicos, probablemente debido a que se favorece el aislamiento en las tiendas de mascotas y la venta de cachorros para presentes. El cuadro 3, muestra el coeficiente de correlación de espiroquetosis en heces de pacientes sospechosos a *leptospira sp.* identificados con la tinción de rojo congo, en la región centro de la ciudad de San Luis Potosí, demostrando que esta técnica esta altamente correlacionada de manera positiva con el diagnóstico clínico mostrando una $R^2 = 0.92417$ ($P<0.001$), por lo que al ser utilizada junto con el diagnóstico se convierte en una herramienta valiosa para el medico veterinario en su ejercicio libre de la profesión .

Conclusión y Recomendación

La tinción de Rojo Congo permite el diagnóstico en un 65% de los pacientes sospechosos a enfermedades causadas por espiroquetas, este trabajo demuestra que los meses climáticamente críticos que favorecen la prevalencia de espiroquetosis son marzo, abril, mayo y junio. El trabajo evidencia que la presencia de espiroquetosis se comporta de manera ondulante respecto a los años. Siendo esta una técnica sencilla, económica y de rápida realización la recomendamos ampliamente, se recomienda realizar estudios de ELISA y/o MAT para determinar el serovariedad.

Literatura Citada

1) Acha, P. N. Szyfres, B. 1989. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales "ed. Washington DC: OPS:112-120.
2) Alexander, A.D. Benenson, A.S. Byrne, R.J. y Diaz-Rivera, R.S. 1963. Leptospirosis in Puerto Rico. Zoonoses Res; 2: 152-227.
3) Baranton, G. 1995. The spirochaetes: a different way of life. Bull Inst. Pasteur; 93: 63-95
4) Brown, C.A. Roberts, A.W. y Miller M.A. 1996. Leptospira interrogans serovar grippotyphosa infection in dogs. J. Am. Vet. Med. Asoc. 209: 1265-1267.
5) Caballero, S.A. y Romero, G.J. 1993. Leptospirosis en zonas rurales y urbanas. Porcirama; 3: 75- 86
6) Greene, E. C. 1998. Enfermedades infecciosas en perros y gatos.Mc Gras-Hill. Interamericana, 2ª ed. Pp. 302-311.
7) Herver, D. Dupont, D.P. Perie, J.L. y Hanson, S.Z. 1997. Leptospires pronostic factor associated with mortality. Clin infect. Dis; 25: 720-4.
8) Ido, Y. Hok, H. Ito, H. y Wani, H. 1917. The rat as carrier of Spirocheta icterohaemorrhagiae, the causative agent of Weil's disease (spirochaetosis icterohaemorrhagica) J Exp Med; 26: 341-353.
9) Jacobs, R.A. 2000. Enfermedades infecciosas: espiroquetas. En: Tierney L.M. Mc Phee S.J. y Papadakis M.A. Diagnostico Clinico y Tratamiento. 35 ed, Mexico DF: El Manual Moderno: 1358-9.
10) Karaseva, E.V. Chernuka, Y.G. y Piskunova, L.A. 1973. Realts of studying the time of survival of pathogenic Leptospira under natural. Condutions Jhyg Epidemiol Microbiol Inmunol; 17: 339-45.
11) Mc Donough, P.L. 2001. Leptospirosis en caninos-estado actual international veterinary information service, ithaca NY (www.ivis.org) A0112.0701. Es.
12) Midwinter, A. Vinh T. y Faine S. 1994. Caracterization of an antigenic oligosaccharide from Leptospira interrogans serovar pomona and its role in immunity. Infect Immun 62:5477-5 Craig, 2002.
13) Seijo, A. 1997. "Leptospirosis". Div Vet 34-36.
14) Sulzer, C.R. y Jones, W.L.1976. Leptospirosis. Methods in labotratory diagnosis.Departament of Health, Education and Welfare Publication (CDC) ; 176:82.
15) Ting-zuo, C.H.1986. Development and present status of leptospiral vaccine in china. Ann Inmunol Hung; 26:125-51.
16) Tompson, J.C. 1986. F.com. Pathol., 96,517 & 529.
17) Torten, M. Stoenner, H. y Kaplan, W.1979. Leptospirosis in Handbook seriesin zoonosis Florida; CRC Press, P.363-421.
18) Watt, G. 1992. Leptospirosis. curr opin Infect. Dis; 5:659-63.
19) Zaki, S.R. Shieh, W. J. 1995-1996. and the Epidemic Working Group. At the Ministry of Health in Nicaragua, Pan American. Health organization, us

Department of Agriculture, and center for Disese control and Prevention. Leptospirosis associated with outbreak of acute febrile illness and pulmonary haemorrhage, Nicaragua. Lancet, 347.

EVALUACIÓN CITOLÓGICA DE *Malassezia pachydermatis* EN EL CONDUCTO AUDITIVO EXTERNO DE PERROS.

Sandy Martínez Reyes[1*], Eugenia Candanosa Aranda[2]

[1] Programa de Especialización en Diagnóstico Veterinario: Patología Clínica. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.
[2]Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

RESUMEN

El objetivo fue determinar la cantidad de *Malassezia sp.* en conducto auditivo externo de perros sin evidencia de otitis. Se realizaron frotis de hisopados del conducto auditivo derecho e izquierdo de 25 perros callejeros y 25 referidos a una clínica veterinaria particular. Las muestras fueron teñidas con la técnica de Papanicolaou y Diff Quick para ser observadas en el microscopio óptico a 400 aumentos, reconociendo a las levaduras por su forma característica de "huella de zapato". Se observaron 20 campos al azar y se obtuvo el promedio. En el caso de perros callejeros se encontraron positivos a *Malassezia sp* en un 48% (12 perros) y en los perros caseros el 40% (10 perros).En ninguno de los especimenes fueron observados cambios inflamatorios. De acuerdo a los resultados obtenidos se corroboró que la levadura *Malassezia pachydermatis* se encuentra en forma normal en el conducto auditivo externo de perros sanos y que una cuenta mayor a 10 levaduras por campo a 400 aumentos no necesariamente indican otitis externa; ya que en este trabajo se encontraron en algunos casos más de 10 levaduras por campo a 400 aumentos. La presencia de estas levaduras no tiene una relación directa con los hábitos de higiene que se le proporcione al perro, ya que se observaron en perros caseros y callejeros. Se concluye que en las evaluaciones citológicas de conducto auditivo de perros sanos es frecuente encontrar gran cantidad de *Malassezia pachydermatis* como parte de la microflora normal y no necesariamente como la causa de un proceso inflamatorio.

Palabras claves: *Malassezia pachydermatis*, conducto auditivo, perro.

ABSTRACT

The goal of this study was to evaluate the amount of *Malassezia sp*. in the external ear canal in dogs without evidence of otitis. Smears from swabs of the left and right ear canals of 25 stray dogs and 25 household dogs referred to a private practice.The smears were dyed with Papanicolau and Diff-Quick stains and evaluated with a light microscope at 400X magnification, recognizing the yeasts for their particular "shoe-sole" shape. Twenty random fields were scanned and an average was obtained. From the stray dogs 48% (12 dogs) and 40% (10 dogs) of the household dogs were positive for *Malassezia sp.* None of the samples showed evidence of inflamatory changes. According to the results it was confirmed that the yeast *Malassezia pachydermatis* can be found in the external ear canal of the healthy dogs. A count of over 10 yeasts per 400X field is not necessarily indicative of external otitis, since this research showed 400X fields with more than 10 yeasts

without evidence of otitis. The presence of the yeast had no relation with the hygiene of the animal, since it was found in both stray and household dogs.In conclusion, citologic evaluation of the ear canal of healthy dogs can frequently show numerous *Malassezia pachydermatis* as part of the normal microflora and is not necessarily the cause of an inflamatory process.
Key words: *Malassezia pachydermatis*, ear canal, dog.

INTRODUCCIÓN

La *Malassezia pachydermatis* fue descrita por Wiedman en el año 1925, en una muestra obtenida de un rinoceronte con dermatitis exfoliativa, recibiendo inicialmente el nombre de *Pityrosporum pachydermatis*, debido a su parecido con *Pityrosporum ovale*. Este microorganismo creció en medios ordinarios sin suplementación de lípidos, las características del cultivo incluyeron crecimiento lento y color amarillo oscuro. Sin embargo, no había coincidencia en el tamaño, el *Pityrosporum ovale* mide de 3-8 µm, mientras que *Mallassezia* es menor de 2 a 3 µm.
El género *Malassezia* incluye levaduras lipófilicas que forman parte de la microflora normal de la piel de vertebrados de gran variedad de mamíferos y aves. El género *Malassezia* se considera formado por dos especies, la especie lipodependiente como *Malassezia furfur,* característico de la piel del hombre; y la especie no lipodependiente *Malassezia pachydermatis,* asociada a los animales. Produce un cimógeno, el cual activa al complemento e induce inflamación, así como también la producción de proteasas, lipasas, ureasas y fosfatasas; con frecuencia produce signos clínicos en concurrencia con bacterias.
Malassezia pachydermatis es una levadura de base ancha, con gemación, que se encuentra en forma normal en el canal auditivo externo, sacos anales, vaginal, área interdigital y recto de los perros. Se le considera un residente normal de la piel y un patógeno oportunista que ocasiona una infección secundaria y tiende a complicar otros problemas, especialmente alergias, desórdenes de la queratinización, dermatitis de los pliegues cutáneos e inmunodeficiencias como la secreción defectuosa de IgA. Las razas con mayor riesgo son el Basset hound, Dachshound, Cocker spaniel, Boxer, Springer spaniel, Lhasa Apso, Bloodhound, Maltés, Poodle y Pastor alemán, entre otros.

La otitis por *Malassezia pachydermatis* no es únicamente un fenómeno primario, debido a la patogenicidad del organismo. Debe haber una condición subyacente como alergias y desórdenes de la queratinización, entre otros, que permitan que exista una sobrepoblación de levaduras sobre la piel. En el aspecto clínico, las infecciones por levaduras son pruríticas y olorosas e involucran a menudo las orejas, la cara (especialmente alrededor de la boca), los pies, el abdomen, los muslos y el cuello. El sobrecrecimiento de esta levadura lleva al desarrollo de hipersensibilidad fúngica; a menudo se detectan infecciones bacterianas, especialmente por cocos Gram positivos.
El diagnóstico de la presencia de *Malassezia sp.* se realiza a través de la evaluación citológica del exudado para identificar la levadura. Al observarse a 400 aumentos, si se encuentran más de 10 por campo, esto sugiere un exceso de

levaduras, en cuyo caso debe considerarse como un contribuyente a la otitis externa. La infección exclusiva con *Malassezia sp.* suele provocar la formación de un exudado marrón oscuro. Con la práctica pueden identificarse rápidamente en preparaciones sin teñir.
Se debe considerar que la literatura consultada refiere que un incremento en número de levaduras se debe asociar con otitis crónica, sin embargo en el servicio de diagnóstico de Citopatología del Departamento de Patología de la FMVZ de la UNAM, esto no ha sido siempre relacionado.

OBJETIVO
El objetivo del presente trabajo fue determinar la cantidad de *Malassezia pachydermatis* en el conducto auditivo externo de perros sin evidencia clínica de otitis.

MATERIAL Y MÉTODOS
Se realizaron frotis del conducto auditivo de 25 perros que se consideraron callejeros, obtenidos del Centro Antirrábico, ubicado en Tláhuac, DF y 25 de una clínica veterinaria particular, en ambos casos los animales no presentaron signología de otitis externa. Las muestras se procesaron en el laboratorio de Citopatología del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.
Para realizar la toma de muestra del conducto auditivo, se utilizaron hisopos de 20 cm de largo con punta de algodón; estos se humedecieron ligeramente con solución salina fisiológica y después se introdujeron en el conducto auditivo frotando suavemente para obtener muestra del epitelio a nivel del conducto horizontal, esto se realizó en oreja derecha e izquierda de cada perro.
El conducto auditivo vertical esta formado y sostenido por el cartílago auricular en forma de cono. El conducto vertical tiene una trayectoria ventral y ligeramente rostral, hasta que forma una curva en posición medial dentro del conducto horizontal.
Posteriormente, el hisopo se rodó sobre un portaobjetos limpio y después algunas laminillas fueron colocadas en alcohol al 96% y otras fueron fijadas al aire libre. De cada perro se tomaron cuatro laminillas, dos de conducto auditivo derecho y dos del izquierdo. Las muestras se tiñeron por medio de la técnica de Papanicolau y Diff Quick; para ser observadas en el microscopio óptico a 400 aumentos. Reconociendo a las levaduras por su forma característica de "huella de zapato". En caso de que la citología presentara *Malassezia sp*, se cuantificaron 20 campos al azar y se saco un promedio de levaduras por laminilla, con el fin de determinar que cantidad de levadura se encuentra en el hisopado.

RESULTADOS
En el caso de perros callejeros se encontró *Malassezia sp* en un 48% (12 perros) mientras que en los perros caseros el 40% (10 perros).

Cuadro 1. Promedio obtenido de la cuenta de 20 campos del número de *Malassezia sp* obtenidas de conducto auditivo de perros sin evidencia de otitis externa.

Número de caso	Centro antirrábico		Clínica privada	
	conducto auditivo derecho	conducto auditivo izquierdo	conducto auditivo derecho	conducto auditivo izquierdo
1	1.0	5.0	1.0	1.0
2	-	3.0	2.0	-
3	1.0	3.0	1.0	-
4	1.0	10.0	29	22.0
5	34.0	-	1.0	-
6	4.0	20.0	10	3.0
7	11.0	32.0	-	2.0
8	4.0	-	1.0	2.0
9	1.0	123	1.0	250
10	1.0	0.25	1.0	25
11	11.0	1.0		
12	4.0	1.0		

En este estudio en la cuantificación de la *Malassezia sp* se observó una mayor cantidad sobre todo en los perros que fueron referidos en la clínica privada; sin embargo, un mayor número de perros callejeros resultaron positivos a la levadura.

Cabe señalar, que en ninguna de las muestras hubo evidencia de respuesta inflamatoria o la presencia de microorganismos. Los hallazgos citológicos observados además de las levaduras, fueron células de epitelio plano queratinizadas y escasos detritus celulares. En el caso de los perros caseros que presentaron más de 10 levaduras por campo, se les dio seguimiento clínico por dos semanas, para observar si en este período presentaban alguna signología de otitis por la cantidad de levaduras por campo observadas en la toma previa; al término de este periodo no hubo evidencia de otitis.

Los perros que se utilizaron en el caso de los callejeros, todos fueron mestizos y en el caso de perros caseros las razas que se emplearon fueron: Cocker, Pastor Alemán, Rottweiler, Poodle, Chihuahueño, Schnauzer y Cobrador dorado entre 1 y 8 años de edad.

Tanto en perros caseros como en callejeros, cuando se presentaron las levaduras, se encontró un mayor número en el conducto auditivo izquierdo.

DISCUSIÓN

A pesar de que la literatura menciona que hay razas en las que es más común encontrar la levadura, en este trabajo se observó que tanto en perros mestizos como de raza, se encuentra presente la levadura, es evidente que los perros con orejas caídas serán los que la presenten en mayor número.

En el año 2001 en la Universidad de Barcelona, se realizó un estudio donde se analizaron muestras de conducto auditivo de 264 perros con y sin otitis externa en un período de 11 años, con el fin de determinar la presencia de *Malassezia,*

donde se encontró que el 62.2% de los casos con otitis presentaban *Malassezia pachydermatis* en el conducto auditivo externo y en un 50% en los perros que no la presentaban, sin embargo no es estadísticamente significativo. Por lo tanto, de acuerdo a lo citado en la literatura, se menciona que la levadura *Malassezia* se encuentra presente en el canal auditivo externo del 20 al 50% de los perros sanos. En el presente estudio, se encontraron resultados similares a lo informado, y además se observó que tanto en los perros callejeros como en los caseros, se presentó la levadura entre 40% al 48% de los casos estudiados.

Malassezia pachydermatis es capaz de inducir por si sola cambios inflamatorios en el canal auditivo, sin embargo la acción principal es de agente oportunista y puede volverse patógena, donde el extracto córneo se ve comprometido. Algunos de los cambios que favorecen la acción patógena de *Malassezia* son el microclima del oído como por ejemplo un incremento en la humedad.

En este estudio, no hubo evidencia de respuesta inflamatoria producida por este microorganismo. Sin embargo la literatura menciona que si al observar con el objetivo a 400 aumentos se encuentran más de 10 levaduras por campo, esto sugiere un exceso de levaduras, en cuyo caso debe considerarse esta levadura como un contribuyente a otitis externa, sin embargo en este estudio algunos de los perros muestreados sin evidencia de otitis presentaron más de 10 levaduras por campo a 400 aumentos, por lo que es importante considerar que no siempre al encontrar más de 10 levaduras por campo, el paciente presente otitis.

Al realizar el muestreo de perros callejeros y caseros, permitió evaluar el conducto auditivo de perros con diferentes medidas de higiene, estas diferencias se consideran que no son una condición para que la levadura este presente en el conducto auditivo y/o ocasione alguna patología.

A pesar de que se mencionan razas en las que es más común encontrar la levadura, se observó que puede estar presente en todas las razas de perros, incluyendo los mestizo, sin embargo si es importante mencionar que las razas de orejas largas son más susceptibles a desarrollar la otomicosis a diferencia de otras razas. La patogenia no esta bien clara, pero se relaciona con una escasa circulación del aire, acumulación ceruminosas, agua y la presencia de bacterias oportunistas.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en este trabajo, se comprobó que *Malassezia pachydermatis* se encuentra en forma normal en el conducto auditivo externo de perros sanos; sin embargo, sería importante determinar que cantidad de la levadura por campo se considera normal, ya que no más de 10 levaduras por campo nos indican otitis externa. Debido a que en este trabajo se encontraron en algunos casos más de 10 levaduras por campo a 400 aumentos sin evidencia de otitis.

La presencia de estas levaduras no tiene una relación directa con los hábitos de higiene que se le proporcione al perro, ya que se observaron pacientes con propietario y callejeros. Considerando, que estos últimos no tenían evidencia de haber recibido una limpieza general reciente. Existiendo cierta tendencia a encontrarse con mayor frecuencia en la oreja izquierda de los animales empleados en este estudio.

Es práctica común la evaluación citológica de las otitis en perros; sin embargo, es frecuente que en los frotis de conducto auditivo de perros se observen una gran cantidad de levaduras como parte de la microflora normal y no necesariamente estén involucradas en el proceso inflamatorio.

Literatura consultada

1. J. Guillot: Malassezia pachydermatis: a review. *Medical Mycology*., 1999; 37 (5): 295 – 306.
2. R. Bond: Factors associated with elevated cutaneous *Malassezia pachydermatis* populations in dogs with pruritic skin disease. Jornal of small animal practice, 1996, 37 (3): 10 – 107.
3. Crespo- M- J: Ocurrente of *Malassezia spp*. In the external ear canals of dogs and cats with and without otitis externa.Medical Mycology. April, 2002; 40 (2): 115- 121.
4. Bruner, Stephanie Reberg: Malassezia dermatitis in dogs. Veterinary Medicine v 94, no. 7, July 1999: 613 – 622.
5. Rick L. Cowell, DVM, MS. Citología y hematología diagnóstica en el perro y el gato. Barcelona – España : 2da ed. Multimédica, 1999.
6. Trigo Tavera Francisco: Patología sistémica veterinaria. México: Mc Graw- Hill Interamericana, 1998.
7. Sandra R. Merchant. Atlas clínico de enfermedades del oído, naríz y garganta en pequeños animales. Buenos Aires, Argentina: Intermédica, 2002.
8. Richard Stephen: Manual clínico de pequeñas especies. México: Mc Graw- Hill Interamericana, 1996.
9. Gene H. Nesbitt, DVM, MS. Dermatología canina y felina. Buenos Aires , Argentina: Intermédica, 2001.
10. Louis N. Gottheld. Enfermedades del oído en animales de compañía. Buenos Aires Argentina: Intermédica , 2001.

AGRADECIMIENTOS

- Clínica Veterinaria Cooper, Ecatepec Estado de México. MVZ Hugo Cerón Yañez
- Centro antirrábico Heberto Castillo s/n. MVZ Juan Carlos Toribio
- Estancia en Diagnóstico Veterinario: Patología Clínica. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. MV Javier Coen Alfaro

Estudio de los trastornos del comportamiento, y presentación de signos neurofisiopatológicos en el cerdo cisticercosis, relacionados con la localización anatomotopográfica del metacéstodo de *Taenia solium* en el sistema nervioso central.

*Humberto Cisneros Murillo. **Dra. Aline S. de Aluja.
** Dr. José Ramírez Lezama. ***Dr.Luis Felipe Rodarte Cobarrubias.
*Estudiante de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. Cd. Universitaria, Coyoacan. C.P.04510.
** Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. Cd. Universitaria, Coyoacan. C.P.04510.
*** Departamento de Etología y Comportamiento Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M. Cd. Universitaria, Coyoacan. C.P.04510

Abstract.

Study of behavior disturbance and neuropathological signs in pigs with cysticercosis related to anatotophographical localization of the *Taenia solium* metacestode in the central nervous system". The Cysticercosis is an important zoonosis that is frecuent in Mexico and extends to all Latinoamerica and other continents like Africa and Asia. The incidence of this disease in humans is variable and is related with sociocultural and economic factors.
This parasitical disease is caused by the *Taenia solium* metacestode in the tissues of humans and swine and the scientific term is *Cisticercus cellulosae*.
There are a few data of the signs associated with Cisticercus cellulosae in swine,
In the present study were used 14 common pigs, with different sex and age that were infected naturally with metacestode the age of the infection is unknow.
The swines were obtained in rural areas in the states of Morelos and Guerrero.
They were transportated to the investigation area of the Faculty of Veterinarian Medicine, kept in corrals and separated in according to the date of their arrival: 4 pigs in the first group, 6 in the second and 4 in the third.
While they were she confined we studied their behavior neurogical signs. After euthanasia. Then the necropsies was dine and the brains were extracted and fixed formalin 10 % during 7 days, the brains were they washed with tap water during 10 to 15 minutes. Coronal sections of approximaly 1cm were done to study the neuroanatomical localization of the metacestode in the brain.
Sections of difference anatomical area with metacestode were processed and stained white
haematoxilin- eosine (H-E) and observed with a fotonic microscope.
Of the 14 pigs 5 of have been studied to date. One sow presented muscular tremors in the
neck and rigge region. An other sow manifested paralysis of the tongue and tics in the legs.
It´s brain has not been studied to date.
In the brain of their second animal a metacestode was found in the caudate nucleus, one in the right and the theird in the left cingulus.

Introducción:

La cisticercosis es una importante zoonosis muy frecuente en México y en otros países de Latinoamérica, África y Asia. La incidencia de esta enfermedad es variable y esta relacionada con factores socioculturales y económicos.
En la actualidad se han detectado casos de cisticercosis en países desarrollados, principalmente en las regiones que presentan mayor afluencia de migrantes procedentes de áreas donde la enfermedad es endémica. (1)
Esta enfermedad es causada por la presencia de las larvas de *Taenia solium* en los tejidos, que afecta principalmente al hombre y al cerdo y cuyo nombre científico es *Cisticercus cellulosae,* (actualmente: metacéstodo de *Taenia solium*. (2)
El hombre y el cerdo adquieren la cisticercosis al ingerir los huevos de *Taenia solium;* el hombre a través de alimentos o agua contaminada y el cerdo cuando ingiere materia fecal de seres humanos portadores del parásito adulto. (3)
La localización más frecuente del cisticerco es en el sistema nervioso central y es la que puede producir una serie de signos clínicos en seres humanos. (1)

En Medicina Veterinaria existen escasos datos sobre los signos producidos por *Cisticercus cellulosae* en cerdos, en especial en aquellos animales en los que el parásito se aloja en el encéfalo.

Hipótesis:

La distribución anatomo-topográfica de los metacéstodos de *Taenia solium* en el encéfalo de los cerdos esta relacionada con alteraciones fisiopatológicas en el comportamiento y es causante de cuadros neurológicos tales como convulsiones, ataques epilépticos, tremores musculares y pérdida de las funciones sensoriales de los porcinos.

Objetivos generales:

1) Demostrar que las funciones sensoriales y fisiológicas, así como los patrones de comportamiento de los cerdos se ven modificados a consecuencia de la presencia de cisticercos en diferentes regiones anatómicas del sistema nervioso central.
2) Identificar signos nerviosos en los animales infectados con cisticercosis, clasificarlos y correlacionarlos a la necropsia con la localización anatómica en el sistema nervioso central.
3) Mediante la utilización de técnicas de diagnóstico tales como: hemograma y bioquímica sanguínea, determinar que tipo de alteraciones patológicas presentan los animales, según la prueba de diagnóstico utilizada.

Objetivos específicos:

1) Observar e identificar los patrones de comportamiento de cerdos infectados con cisticercos en condiciones de semiconfinamiento y compararlos con los resultados de estudios previos en cerdos sanos en diferentes sistemas de crianza.
2) Identificar manifestaciones de signos neurológicos como convulsiones, ataques epilépticos y perdidos o alteración de funciones sensoriales y fisiológicas en los animales infectados.
3) Relacionar las alteraciones fisiológicas, sensoriales y neurológicas con la afectación de las funciones de las diferentes regiones anatómicas por el enquistamiento de los metacéstodos de *Taenia solium.*
4) Realizar pruebas de diagnóstico de patología clínica tales como: hemograma y bioquímica sanguínea para determinar procesos inflamatorios, alteraciones hematopoyeticas, función renal y hepática.

Material y Métodos.

Se usaron 14 cerdos mestizos infectados de forma natural con cisticercos de distinta edad, sexo y tiempo de infección, dichos animales fueron obtenidos de zonas rurales de los estados de Morelos y Guerrero. Es importante señalar que los cerdos en este estudio, son usados primordialmente para el proyecto de investigación sobre el efecto terapéutico de la vacuna de péptidos contra la teniasis-cisticercosis. Los animales estuvieron albergados en corrales de experimentación de cisticercosis de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (transgénicos) de la U.N.A.M. Los 14 cerdos se dividirán en 3 grupos, conforme a la fecha en que hayan arribado a las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, se les asigno un nombre y número de identificación.

Los animales se observaron durante diferentes períodos del año abarcando el día y la noche para describir patrones de conducta por medio de la elaboración de ecogramas como establecimiento de jerarquías, conductas filiativas y se identifico la presentación de signos neurológicos de los cerdos, los cuales también se clasificaron de acuerdo a lo referido en humanos con neurocisticercosis

a) Un termómetro electrónico, un estetoscopio,
b) Métodos adecuados de eutanasia para evitar el sufrimiento de los animales, sala de necropsias de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia, un laboratorio equipado para la preparación de laminillas para estudio histopatológicos.

2) Los animales se evaluaron desde un punto de vista etológico y etopatológico, posteriormente dichos animales se tranquilizaron con Azaperona dosis 1mg/Kg. vía intramuscular y anestesiados con Zoletil dosis 2 a 6mg/Kg. vía intramuscular, para posteriormente ser eutanasiados mediante el uso de descargas eléctricas. Se realizó las necropsias y se obtuvieron los encéfalos de dichos animales, los cuales se colocaron en cubetas con formalina al 10% con un pH. de 7.5 y permanecieron por 10 días en dichos recipientes.
Después de este tiempo se extrajo los encéfalos del formol y se lavaron con agua corriente entre 10-15 min. Posteriormente se realizó cortes coronales para establecer la localización neuroanatómica de los metacestodos de la *Taenia solium,* dichos datos obtenidos serán registrados.

Posteriormente se realizó cortes de dichas áreas anatómicas seleccionadas, se colocaron en cápsulas previamente identificadas y en parafina y se cortaron a 3 micrómetros de diámetro a través de un micrótomo y posteriormente serán teñidos con tinción de rutina hematoxilina y eosina H-E para posteriormente ser observados e interpretados bajo un microscopio fotónico.

Resultados preliminares:

De los 14 cerdos estudiados se observó:

- Una cerda presentó tremores musculares en la región del cuello y lomo, así como tics en la cabeza en forma de movimientos afirmativos durante los períodos de descanso y sueño.
- Una cerda presentó flacidez de la lengua, tics en los miembros posteriores al estar de pie, lo cual ha avanzando hasta un cuadro clínico de paraplejía parcial.
- Una cerda presentó convulsiones y movimientos de carrera durante los períodos de descanso y de sueño.

En relación a los cortes neuroanatómicos (coronales) de una cerda en este presente estudio, se apreció un metacéstodo en el núcleo caudado posterior izquierdo, otro en el cíngulo del lado derecho y en el cíngulo izquierdo, que corresponde al cuadro clínico de flacidez de la lengua que manifestó la cerda antes mencionada.

Literatura Consultada.

1. Del Bruto Oscar H. Neurocysticercosis: An Update. Reviews of Infectious Diseases. Vol. 10, no. 6 noviembre diciembre 1988. división de investigación, instituto nacional de neurología y neurocirugía de México.

2. Aluja Aline, et al. Cisticercosis: una recopilación actualizada de los conocimientos básicos para el manejo y control de la cisticercosis causada por Taenia solium. Fondo de Cultura Económica. México DF. 1987.

3. Shenone H. La cisticercosis como problema de salud humana y animal. VII reunión interamericana sobre el control de fiebre aftosa y otras zoonosis. Publicación científica No 295. Organización Panamericana de la salud. 1975

EVALUACIÓN DEL NITRATO DE PLOMO EN EL MODELO BIOLÓGICO DE TRUCHA ARCOIRIS (*Oncorhynchus mikiss*).

Valladares, C.B. [1]; Palomares, S.M.E.[1]; Aguilar, H.J.C.[1]; Castro, M.J.[1]; Zamora, E.J.L.[1]; Talavera, R.M.[1]; Zaragoza, B.A.[1]; Pedraza, S.F. [1]: Vega, C.L.F. [1]

[1]Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. Tel/Fax 01 722 29 6 55 55. e mail: benvac2004@yahoo.com.mx.

RESUMEN

Con el objeto de evaluar el efecto y las lesiones histopatológicas en organismos acuáticos ocasionadas por el nitrato de plomo, se utilizaron 21 especímenes de la Trucha arcoiris (*Oncorhynchus mikiss*), las cuales se agruparon en forma aleatoria en tres grupos y un grupo control, colocándolos en peceras con capacidad de 20 L de agua; la cantidad adicionada de nitrato de plomo fue: G1, con 0,87 mg; G2 con 1,17 mg; al G3 (dosis alta) 3,51 mg de nitrato de plomo/L de agua, y al GC se le adicionaron 0,5 g de cloruro de sodio/L de agua como placebo. Adicionalmente, también se determinaron las concentraciones de plomo en los especímenes a través del Kit: Leat Trak Fast Column Extraction Method. El comportamiento de los especímenes de los tratamientos durante el período de estudio (1 mes), fue en forma general para los grupos de tratamiento, una disminución del consumo de alimento e hiperactividad. No se observaron lesiones macroscópicas significativas, salvo la pigmentación más notoria en el G2 y G3. Los hallazgos histopatológicos se concentraron en lesiones a nivel de branquias, como: desprendimiento de la lamela secundaria, congestión y telangiectasia, áreas de necrosis, deposición de fibrina; en riñón: proliferación de centros melanomacrófagos y degeneración hidrópica de túbulos renales; en hígado: congestión y áreas de necrosis; sacos pilóricos: atrofia de vellosidades, y en piel: migración de melanocitos a la superficie y degeneración de fibras musculares. Las concentraciones detectadas de plomo, tanto en agua como en los especímenes del G1, fueron 15 mg/L y 110 mg/L; en el G2 20 mg/L y 130 mg/L respectivamente, y en el G3 25 mg/L en el agua y más de 150 mg/L en los tejidos. Considerando las lesiones histopatológicas observadas, así como las concentraciones de plomo en los organismos acuáticos, sólo éstas evidenciaron la presencia o alteración por el compuesto utilizado; el cual representa un estado acumulativo. Por lo que seria conveniente realizar estudios actuales que permitan evaluar la condición del plomo, así como de otros metales pesados de importancia en la producción de la Trucha arcoiris, y de otros organismos acuáticos.

Palabras clave: Trucha arcoiris (*Oncorhynchus mikiss*), nitrato de plomo.

SUMMARY

To evaluate the clinicopathological effects and the histopatologic histologic changes in aquatic organisms by exposure to lead nitrate, 21 rainbow trout in 3 groups (6 units each) were exposed to the next lead nitrate concentrations: G1 (low dose) 0,87 mg, G2 (medium dose) 1,17 mg, G3 (high dose) 3,51 mg, and the control group added with 0,5 mg of sodium chloride per liter of water. Also lead nitrate concentrations were examined by Leat Trak Fast Column Extraction Method Test. During 1 – month exposure fish with treatment showed a decreased food intake and hyperactivity. No important gross lesions were found, just an increased pigmentation in G2 and G3. The histologic examination revealed next feactures at gills: necrosis and separation of the respiratory epithelial cells covering secondary lamellae, congestion, telangiectasia and fibrinous exudates; at kidney: hydropic swelling of the tubules epithelium cells and melanomacrophage centers increased in number; at liver: congestion and necrosis areas; at skin: melanocytes migration toward the surface of the skin and degeneration of skeletal muscle fibers; at pyloric cecae: villus atrophy. Lead nitrate concentrations detected both water and fish tissues were respectively: G1 15 mg/L – 110 mg/ kg; G2 20 mg/L - 130 mg/kg; G3 25 mg/L - > 150 mg/kg. Histologic findings and lead nitrate concentrations suggest the bio-accumulative nature of this pollutant so we suggest the necessity to develop studies to evaluate lead contamination in rainbow trout production and other water animals considering that this chemical contaminant persist in sediments for relatively long periods where they are accumulated by bottom dwelling animals and pass up the food chain to fish, and that concentrations in the tissues of aquatic organisms may be increased at such successive level.

Key words: Rainbow trout (*Oncorhynchus mikiss*), lead nitrate

INTRODUCCIÓN

El plomo es un elemento que se origina en la superficie de la tierra. Cuando pasa al medio ambiente con frecuencia encuentra iones negativos con los que forma compuestos como nitrato de plomo ($Pb(NO_3)_2$) y acetato de plomo ($Pb(CH_3O_2)_2$, no siempre tienen la forma metálica y sus propiedades pueden diferir de las de dicho elemento [1, 2, 3.]

Como grave contaminante del ambiente, persiste y puede ser acumulado por los tejidos biológicos y almacenarse en ellos. Además, puede incorporarse a la cadena alimenticia cuando se deposita en el suelo, en aguas superficiales y en las plantas. Las emisiones antropogénicas de plomo a la atmósfera constituyen la principal fuente de este elemento en el medio ambiente. Gran parte del plomo descargado en el aire regresa al suelo o a las aguas superficiales por medio de deposición húmeda o seca, lo que significa que las emisiones atmosféricas actuales o anteriores contribuyen a la cantidad del metal presente en los suelos[3, 4]. Las áreas con alto flujo vehicular o cercanas a fuentes industriales pueden tener mayor concentración de plomo en los suelos y en el polvo que áreas más

remotas. Procesos químicos y físicos naturales como la acción corrosiva de los elementos, escurrimientos y precipitaciones permiten que el plomo se mueva incesantemente entre el aire, el agua y el suelo [6].

En Medicina Veterinaria los principales efectos tóxicos debidos al plomo son conocidos desde hace más de 2.000 años, debido a las múltiples fuentes de exposición que los animales domésticos tienen dentro de instalaciones y la contaminación ambiental producida sobre todo por la industrialización. En el agua, los niveles de plomo están determinados por la acidez y la salinidad. Las concentraciones de plomo disuelto en aguas subterráneas son más bien bajas, ya que el metal forma compuestos como carbonatos, sulfatos y fosfatos cuando encuentra iones negativos en el vital líquido y estos compuestos tienden entonces a precipitarse fuera de la columna de agua. La solubilidad total del plomo en aguas duras es de alrededor de 30 µg/L, en comparación con cerca de 500 µg/L en aguas blandas. Por lo general, la acidez elevada resulta de la actividad humana, como la minería. Diversas investigaciones se han centrado en el potencial relativamente alto de las aguas con baja alcalinidad para causar efectos de deposición ácida y a incrementar la bioacumulación de plomo en los peces. Debido a los escurrimientos, el suelo contaminado puede contribuir a la contaminación de sedimentos cercanos. El plomo en los sedimentos, incluidos los depósitos del metal generados por actividades industriales y de navegación realizadas en el pasado y que actualmente continúan, puede llegar a ser un problema cuando se le moviliza gracias a corrientes fuertes y a dragado o cambios en los ecosistemas [5]. Los efectos en sitios contaminados van desde los indetectables hasta efectos a decenas de kilómetros corriente abajo. La soldadura y tuberías de plomo, que anteriormente se utilizaban en hogares y sistemas de infraestructura de aguas municipales, representan una fuente potencial de contaminación del medio ambiente mediante las aguas del drenaje [6, 7].

Los animales de los lugares más altos de la cadena alimenticia son más susceptibles a consumir alimentos contaminados con plomo que otras especies. El plomo se biomagnifica o bioacumula en los organismos; por ello, aun cuando las concentraciones de plomo son por lo general más altas en organismos bénticos y algas; se han encontrado cantidades importantes de plomo (>1,0 mg/kg) en organismos superiores, como pez mosquito, tortugas verdes, tortugas *pseudemys texana*, carpas cabeza de toro, cangrejos de río y tortugas de orejas rojas en el río Trinity en Colorado [7, 9, 10, 11]. El plomo tiende a acumularse con el tiempo, por lo que muchas especies incrementan sus cargas corporales de este metal a medida que envejecen. Los animales jóvenes son más vulnerables que los viejos debido a sus procesos de desarrollo. Diversos estudios también señalan que las variaciones de temporada pueden ser un factor importante en la exposición al plomo. Por ejemplo, de los casos estudiados de envenenamiento con plomo en el ganado en Escocia, más de la mitad ocurrieron en primavera, efectos similares se han observado en perros [12].

La Trucha arcoiris se ha tomado dentro de la alimentación humana como una alternativa de alimento cárnico, razón por la cual en el Estado de México han

surgido numerosos criaderos de esta especie animal. Dentro de la acuacultura, no se han reportado estudios específicos que proporcionen conocimientos acerca de los procesos toxicológicos, así como la concentración de plomo en estanques de producción de peces que se destinan a consumo humano; como en el caso de la Trucha arcoiris (*Oncorhynchus mikiss*) [8,12].

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 21 especímenes de la Trucha arcoiris (*Oncorhynchus mikiss*), de una talla promedio de 9 cm y un peso promedio de 19 gramos. Se distribuyeron en forma aleatoria en tres grupos de 6 en cada pecera y 3 animales para el grupo control. Se alojaron en peceras de capacidad de 30 l, utilizando solo 20 L de agua a temperatura ambiental (12 ºC ± 3º) durante el periodo experimental de un mes.

La adición del compuesto al agua se basa en el reporte emitido por la FAO, la cual menciona que una DL 50 1,70 mg/L de nitrato de plomo en truchas de talla comercial (250 g) era letal en 96 hrs.

Las dosis utilizadas, fueron G1 (dosis baja), con 0,87 mg; G2 con 1,17 mg (dosis media); al G3 (dosis alta) 3,51 mg de nitrato de plomo / L de agua, y al grupo control se le adicionaron 0,5 g de cloruro de sodio / L de agua como placebo.

Se realizó la observación clínica durante el período de estudio, al final se sacrificaron a todos los especímenes, efectuándose el estudio anatomopatológico e histopatológico, y adicionalmente se determinaron las concentraciones de plomo a través del Kit: Leat Trak Fast Column Extraction Method.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Al estudio anatomopatológico de los tratamientos con nitrato de plomo no se observaron alteraciones significativas. Sin embargo, las principales lesiones al estudio histopatológico de los tejidos colectados, fueron, en branquias: desprendimiento de la lámela secundaria, congestión y telangiectasia, áreas de necrosis, deposición de fibrina; en riñón: proliferación de centros melanomacrófagos y degeneración hidrópica de túbulos renales; en hígado: congestión y áreas de necrosis; sacos pilóricos: atrofia de vellosidades, y en piel: migración de melanocitos a la superficie y degeneración de fibras musculares.

Se comparo las lesiones ocasionadas por el plomo en otras especies como las observadas al estudio histológico, determinándose que afecta a tejidos u órganos característicos (cerebro, hígado, riñón, intestinos). En los datos recabados en la revisión bibliografica, no se obtuvieron resultados de estudios anteriores realizados en esta especie, en cuanto a intoxicación por plomo. En el modelo biológico realizado se obtuvieron datos importantes de las lesiones causada por el plomo en la especie acuática *Oncorhychus mikiss*.

Los signos clínicos que presentaron los especimenes en relación con los reportados por la OMS y la FAO fueron semejantes, a lo observado en el presente trabajo, como la hiperactividad y la escoliosis, además de la mala oxigenación, cambio de coloración de piel.

Las concentraciones detectadas de plomo, tanto en agua como en los especimenes del G1, fueron 15 mg/L y 110 mg/kg en el G2 20 mg/L y 130 mg/kg respectivamente, y en el G3 25 mg/L en el agua y más de 150 mg/kg en los tejidos.

El plomo es un contaminante del ambiente, persistente y que puede acumularse en los tejidos biológicos, además de que existe el riesgo de incorporarse en los alimentos durante la producción, procesamiento o comercialización de los productos alimenticios y representar un serio problema de salud pública.

Los estudios emitidos por la Comunión Europea sobre la ingesta diaria de plomo por los humanos arrojan el dato de 28 µg / día sin causar intoxicación en el humano, razón por la cual se determina la absorción del metal en los tejidos; las truchas podrían resistir la intoxicación, pero la concentración de este metal en los tejidos del pez pueden afectar la salud humada al consumir y rebasar la dosis mencionada por la Comunidad Europea, pudiendo causar la presentación de la enfermedad en los humanos [5, 7].

Respecto a las dosis de nitrato de plomo utilizadas, con relación a la reportada por la FAO, es de gran relevancia ya que se menciona que a una dosis de 1,17 mg / L las truchas morirían en 96 horas; la dosis utilizada fue duplicada, similar y la mitad de la dosis mencionada resistiendo los peces la dosis adicionada durante más tiempo, dato importante para considerar que las truchas pueden resistir la contaminación de agua por plomo [8].

En la actualidad, México inicia un repunte en el desarrollo de la acuacultura, debido al incremento en el número de granjas acuícolas y en la diversidad de especies cultivables como: carpa *(Cyprinus spp.)*, tilapia *(Oreochromis spp.)*, bagre *(Ictalurus punctatus)* y la trucha arcoiris *(Oncorhynchus mykiss)*, siendo esta ultima el principal recurso acuacultural de México [2].

REFERENCIAS

1.- Brito G, Diaz G, Galindo LR, Hardison A, Laguna SD. Concentration levels of Cd, Pb, Cu, Zn, Fe, Ni, and Mn in canned meat products. Intermetallic correlations. Bull Environ Con Tox 1997; 44: 309-316.

2. Villa RB, Paez OF. Concentraciones de metales pesados en el tejido cardiaco, hepático y renal de la vaquita (Phocoena sinus) Mammalia: Phocoenidae. UNAM, México 1993.

3. Yang HF, Luo XY, Shen W, Zhou ZF, Jin CY. National food contamination monitoring programmes levels of mercury, lead and cadmium in chenese foods. Bio En Sci 1997; 7: 362-368.

4. Cescco Unah. Determinación de plomo y cobre en peces y manejo de sus residuos en el lago de Yojoa, Honduras. Tegucigalpa. Honduras, C.A. 1994.

5. Gerhardsson L, Englyst V, Lundstrom NG. Lead in tissues of deseased lead smelter workere. J Trace Elem Med Bio 1997; 9: 136-143.

6. Halliwell D, Turoczy N, Stagnitti F. Lead concentrations in Eucalyptus sp. In a small coastal town. Bull Environ Con Tox 2000; 65: 583-590.

7. Laws EA. Aquatic Pollution. An introductory text.. 2ª. ed. John Wyley and Sons, Inc. U.S.A 1993.

8. Corey G. Salud Pública de México: Programa de Salud Ambiental (OMS) 1991; 37: 92-95.

9. Rodríguez LMA, Navarro M, Cabrera C, López MC. Elementos tóxicos en alimentos, bebidas y envases. Alimentaria 2001; 21:23-31.

10. Sanin LH, González CT, Todd AC. Acumulación de plomo en hueso y sus efectos en la salud. S Púb Méx 1998; 40: 359-368.

11. Rubio C, Gutiérrez AJ. El plomo como contaminante alimentario, Área de Toxicología, Facultad de Medicina, Universidad de la Laguna, México 2004.

11. Wittmers L, Aufderheide A. Lead in bone. Distribution of lead in the human skeleton. Arch. Environ H 1998; 43: 381-391.

ENFERMEDADES ENCONTRADAS EN EL CULTIVO DE LA TILAPIA EN EL ESTADO DE COLIMA, MÉXICO.

Luis Jorge García Márquez[1, 2, 3] José Luis Vázquez García[1] Omar Francisco Prado Rebolledo[1] Fernando Constantino Casas[4] David Osorio Sarabia[5] Edmundo Urcelay Gonzalez[2] Erika Alejandra Macias Hernández[2] Sihomara Sharon Ortíz Guardado[2]

1. Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario (CUIDA), Universidad de Colima. Tecomán, Colima. CP: 28100.
2. Departamento de Patología, FMVZ, Universidad de Colima. Av. Universidad 333, Colonia las víboras, CP: 28040, Colima, Colima. Telefono: 313 32 29407, 313 32 29413 E-mail: ljgm_cmv@hotmail.com y ljgm_cmv@ucol.mx
3. Laboratorio de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Guadalajara, Barra de Navidad, Jalisco.
4. Departamento de Patología, FMVZ, Universidad Nacional Autónoma de México. CP: 04510, México, D.F.
5. Laboratorio de Helmintología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, CP: 04510, México, D.F.

RESUMEN

El propósito del trabajo fue describir las enfermedades que afectan a las tilapias cultivadas en el Estado de Colima, México, durante 15 años (1990-2005). Se colectaron 60 peces de cada unidad de producción, se sacrificaron y se realizaron las necropsias para tomar 20 organismos para estudios: bacteriológicos, parasitológicos e histopatológicos; se procesaron con las técnicas y metodologías de rutina para cada estudio. Los últimos 15 años la producción de tilapia se ha desarrollado en dos sistemas de cultivo: pesquería acuacultural y sistemas controlados, con un peso promedio de 500 gramos a los 8 meses con un 70-80% de sobrevivencia, conversión alimenticia 1.8:1; producción de 25 kilos por m^3. las enfermedades fueron: patógenos bacterianos con presentación esporádica y 10% de mortalidad crónica en 3 granjas (10%) con cuadro septicémico hemorrágico, aislándose *Aeromonas, Pseudomonas y Edwarsiella*. Un cuadro granulomatoso en 2 granjas (8%) aislándose *Streptococcus.* Patógenos micóticos: 8 granjas (30%) con problemas de dermatomicosis, identificándose los micelios de *Saprolegnia*. Patógenos parasitarios: estos fueron los más frecuentes con 20 granjas (80%) parasitados con las siguientes prevalencias: 6-12% *Argulus,* 10-35% *Microsporidium*, *Costia y Ichthyophthirius*. 33-40% de *Gyrodactylus, Dactylogyrus y Cichlidogyrus*, 25% *Diplostomum*, 6% *Posthodiplostomum*, 13% *Clinostomum*, 13% *Centrocestum*, 10% *Bothriocephalus*, 15% *Contracaecum*, 8% *Eustrogyloides* y 5% *Spirocamallanus*. Todos los patógenos causaron lesiones de congestión, hemorragias, necrosis, hiperplasia celular, infiltración inflamatoria heterofílica y lesiones granulomatosas. Las enfermedades encontradas son importantes por que causan pérdidas económicas y son una amenaza sanitaria

por lo que se deben tomar medidas preventivas y algunos gérmenes representan un problema de salud pública.

Palabras claves: Ictiopatología, Patología de peces, Tilapias, Peces, *Oreochromis*, Bacteriología, Parasitología, Micología, Histopatología, Colima.

DISEASES FOUND IN CULTIVATING TILAPIA IN THE STATE OF COLIMA, MEXICO

ABSTRACT

The purpose of this work was to discover the diseases that affect cultivated tilapia over a 15 year period (1990-2005) in the state of Colima, Mexico. From each production unit, 60 fish were collected, sacrificed and necropsies were performed to remove 20 organisms for study: bacteriological, parasitological and histopathological. These were processed according to routine techniques and methods for each type of study. During this last 15 years, there has developed two systems of cultivating in the production of tilapia: fishery and a control system. Weighing an average of 500 grams at 8 months with a 70-80% survival rate, feed conversion 1.8:1 and a production of 25 kilos per m^3. The diseases were: bacteriological pathogens with sporadic presentation and 10% chronic mortality rate in 3 farms (10%) with squaret septicemic hemorrhagic, isolating *Aeromonas, Pseudomonas* and *Edwarsiella*. Pathogens micotic: 8 farms (30%) with problems of dermatomicosis, identifying the micelios of *Saprolegnia*. Pathogens parasitic: which were the most frequent in the 20 farms (80%) with infection parasitic, with the following incidence: 6-12% *Argulus,* 10-35% *Microsporidium*, *Costia* and *Ichthyophthirius*. 33-40% of *Gyrodactylus, Dactylogyrus* and *Cichlidogyrus*, 25% *Diplostomum*, 6% *Posthodiplostomum*, 13% *Clinostomum*, 13% *Centrocestum*, 10% *Bothriocephalus*, 15% *Contracaecum*, 8% *Eustrogyloides* and 5% *Spirocamallanus*. All of the pathogens caused congestion lesions, hemorrhaging, necrosis, cellular hyperplasic, inflammatory heterophilic and lesions granulomatosas. These diseases are important due to lost revenue and as health threats so preventative measures should be taken and some represent a public health problem.

Key words: Ictiopathology, Fish Pathology, Tilapias, Fish, *Oreochromis*, Bacteriology, Parasitology, Mycology, Histopathology, Colima.

Introducción

La Tilapia posee gran importancia en la producción de proteína de origen animal, en las aguas tropicales y subtropicales de todo el mundo, particularmente en los países en desarrollo. Los atributos que la convierten en uno de los organismos más importantes para la piscicultura son su rápido crecimiento, resistencia a enfermedades, elevada productividad, tolerancia a desarrollarse en condiciones de alta densidad, capacidad para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno y a diferentes salinidades; así como, a la habilidad de nutrirse a partir de una amplia

gama de alimentos naturales y artificiales. Además, la calidad de su carne es excelente, puesto que su textura es firme, de color blanco y sin huesos intermusculares, lo cual hace que constituya un pescado altamente apetecible para el consumidor.[1]

La producción mundial de tilapia cultivada y pescada en ambientes naturales, sobrepasa las 890,000 TM, ubicándose hoy en día, como la segunda especie más importante en la acuacultura y el tercer producto de importación en los Estados Unidos de Norteamérica, después del camarón marino y el salmón del Atlántico; posicionándose no solo como producto, sino como industria en ese país, convirtiéndose en uno de los más populares en su mercado y prueba de ello, es la acelerada tasa de importación observada en los últimos años. [2,3]

La producción pesquera nacional es de 1,554,452 toneladas, de las cuales 1,366,967 son de pesquería marina y 187,485 son de acuacultura, de las cuales 53,298 son de sistemas controlados y 134,187 son de pesquerías acuaculturales. El volumen de producción nacional de la tilapia es de 70,000 toneladas anuales y Colima participa con 996 de ellas. Los principales estados que producen tilapia son: Chiapas, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Sinaloa, Tabasco, Colima y Veracruz. En el año de 2004 el valor de importación de la tilapia hacia los Estados Unidos fue de 41,943,236 dólares en filete fresco y 31,906,827 dólares en filete congelado y entero fue de 19,585,239 dando un total en dólares de 93,435,302 [2,3]

Las enfermedades en las tilapias pueden aparecer en los métodos de cultivo intensivos, en donde se cultivan a grandes densidades con sistemas de recirculación de agua y un método adecuado de alimentación; si se descuidan algunos de estos factores entonces aparecerán los agentes patógenos causando gran morbilidad y mortalidad de la especie.[4,5,6,7,8]

Existen factores del medio ambiente que tienen mayor repercusión sobre la salud de los peces y estos son: temperatura, sobresaturaciones gaseosas, déficit de oxígeno por proliferación de algas de superficie, sustancias tóxicas que pueden secretar algunas algas o derrames accidentales de sustancias químicas, presencia de micotoxinas en los alimentos, traumatismos y agresiones que conlleva la tecnología de la explotación y ellos pueden predisponer a las micosis, bacteriosis y parasitosis generando porcentajes altos de morbilidad y mortalidad de los peces.[9,10]

Un problema técnico importante que se debe controlar en los cultivos de tilapia es la sanidad acuícola, ya que se han reportado en México diversas enfermedades que afectan a las tilapias, entre ellas podemos mencionar a las producidas por bacterias, hongos y parásitos. Estos bioagresores afectan a los cultivos de peces en los estanques de agua dulce, salobre y temperatura cálida. Los virus no constituyen los principales agentes patógenos, las bacterias constituyen los principales agentes patógenos y es una amenaza mucho más general que los virus; entre ellas se encuentran las bacterias oportunistas cosmopolitas, como: *Aeromonas, Pseudomonas, Edwardsiella, Vibrio, Pasteurella* y *Estreptococos,* se comportan a menudo como oportunistas invadiendo a los peces en sus heridas, estados de estrés y tras su proliferación en el agua, se mantienen cierto tiempo, cuando la calidad del agua es mala. Los hongos se consideran como etiologías secundarias a estados de debilitamiento o inmunodepresivos de los peces y al igual que las bacterias están íntimamente ligados a medios ambientes

desfavorables. Los principales hongos patógenos son: *Saprolegnia y Branchiomyces*. Existen parásitos que afectan a los peces como: flagelados, ciliados, monogénicos, anélidos, crustáceos, nemátodos, céstodos y acantocéfalos, perpetuándose por escisiparidad, viviparidad u oviparidad sin metamorfosis, son omnipresentes y especialmente peligrosos para los alevines o para los individuos mal nutridos o de poca talla.[4,5,6,7,8]
Existen además numerosas especies de invertebrados y vertebrados susceptibles de ser hospedadores intermediarios y de esta manera aparecen las infestaciones de parásitos, especialmente los helmintos. Los más peligrosos para los peces pertenecen a los géneros *Diplostomum*, *Caryophyllaeus, Ligula, Bothriocephalus, Khawia, Capillaria* y *Camallanus*. Es evidente e importante el diagnóstico de los helmintos en las zoonosis, incluso aunque no sean más que excepcionalmente patógeno para los peces.[7,8,9,10]

Objetivo

El propósito de este trabajo de investigación es describir las principales enfermedades que afectan a las tilapias cultivadas en el Estado de Colima, México, durante un periodo de 15 años (1990-2005).

Material y Métodos
Área de estudio: el presente trabajo se realizó en el Estado de Colima, que se localiza en la parte occidental de la República Mexicana, en la costa meridional del Océano Pacífico entre los 103°29'20" y los 104°41'42" de longitud oeste y entre los 18°41'17" y los 19°31" de latitud norte. Limita al norte, noroeste y poniente con el Estado de Jalisco y al este con Michoacán. Al sur y suroeste limita con el Océano Pacífico. Tiene una superficie de 5542 km^2 y cuenta con clima cálido subhumedo con lluvias en verano con precipitaciones de 900-1500 mm, con temperaturas de los 22-26 °C; seco semicálido con precipitaciones de 600-800 mm con temperaturas de 24-27°C. [11]
Metodología: el trabajo de campo se realizó desde el año de 1990 al 15 de marzo del 2005, el muestreo y obtención de los organismos fue de los tres centro acuícolas dedicados a la producción de crías de tilapia y de 30 granjas dedicadas a la cría, desarrollo y engorda de tilapia en el Estado de Colima. Los muestreos forman parte del programa de sanidad acuícola del Estado de Colima, para notificar granjas libres de enfermedades. De cada unidad de producción se tomaron 60 peces, de los cuales se destinaron 20 para estudio bacteriológico, 20 para parasitológico y 20 para estudio histopatológico. Los ejemplares se sacrificaron humanitariamente por la técnica de sección medular y se obtuvo su morfometría, la cual incluyó la longitud total, longitud patrón y altura; así como el peso y el sexo del animal. Una vez sacrificados los ejemplares se procedió a un examen minucioso y cuidadoso del tegumento de los organismos con el fin de observar y anotar la presencia de cualquier anormalidad macroscópica. Después del examen externo se realizó la inspección interna, se colocó el ejemplar en decúbito lateral derecho sobre una charola de disección, se efectuó un corte transversal desde la cloaca por línea recta llegando hacia el itsmo a la altura de las branquias, la otra incisión realizada fue por el punto donde se hizo la incisión

inicial arriba en forma semi-circular para cortar la pared dorsal de la musculatura que cubre la cavidad abdominal, volviendo a unir los dos puntos donde se había realizado la incisión primaria y poder dejar expuestas la vísceras *in situ*. A continuación se cortó el opérculo para dejar descubiertas las branquias. Una vez realizado este paso, se efectuó un examen macroscópico para detectar algunas anormalidades en los órganos y tejidos.[4,5,6]

Para el examen parasitológico, se procedió a extraer el hígado, páncreas, músculo, piel, branquias, cerebro, riñón, gónada, bazo, ojo, intestino, corazón y vejiga natatoria los cuales fueron colocados en vidrios de reloj, añadiéndoles solución salina fisiológica al 0.65%. Se utilizaron agujas de disección para separar y abrir los tejidos así como dos placas de vidrio para hacer presión sobre los distintos órganos para revisarlos bajo el microscopio estereoscópico y posteriormente exponer y colectar parásitos metazoarios por medio de un pincel de doble cero. Los parásitos externos e internos fueron fijados en formalina amortiguada a un pH de 7.4 al 10% para después ser identificados taxonómicamente en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Asímismo se obtuvieron los parámetros de infección para los parásitos (prevalencia, intensidad de infección y abundancia)[7,9,10,12]

Las muestras recolectadas para el examen histopatológico, se fijaron en formalina al 10% amortiguada a un pH de 7.4 tomando muestras de hígado, páncreas, músculo, cerebro, gónada, bazo, ojo, intestino, corazón, y vejiga natatoria. Las muestras se procesaron en el departamento de patología de la FMVZ de la Universidad de Colima, se tiñeron con la técnica de rutina de hematoxilina-eosina (H/E) y tinciones especiales para aquellos casos en que fue necesario.[13]

Las muestra para estudios bacteriológicos se realizaron de aquellos peces que presentaron úlceras, hemorragias, hiperplasia branquial, ascitis y distención intestinal. Se tomaron secciones de tejidos afectados y se sembraron en los medios de agar tripticasa soja (TSA), agar infusión corazón-cerebro, gelosa sangre, agar Mac Conkey. Se incubaron entre 20 y 26 °C durante 48 a 72 horas. Para la identificación de la bacteria aislada se baso en análisis de los caracteres de cultivo, morfología bacteriana y caracteres bioquímicos.[7,9,10]

Resultados

En los últimos 15 años el desarrollo de la producción de la tilapia cultivada en Colima se obtiene a partir de dos sistemas de cultivos: pesquería acuacultural y sistemas controlados.

Las pesquería acuacultural, de la que se obtiene la mayor parte de la producción, se practica en embalses mayores como presas, lagunas y en pequeños cuerpos de agua naturales y artificiales.

La producción de sistemas controlados se realiza en estanques rústicos de 2000 a 5000 m^3 de capacidad promedio, en estanques circulares de 250 a 300 m^3 de capacidad, construidos con membranas plásticas, de concreto y ladrillo. Por lo regular, la producción en estanques rústicos es a nivel semi-intensivo, caracterizándose por manejar tres etapas de crecimiento: desarrollo, pre-engorda y engorda. Al final, los rendimientos promedio son: peces de 500 gramos, 75% de

sobrevivencia, conversión alimenticia 1.65:1, volumen de producción hasta de 25 toneladas por hectárea y dura 8 meses.
En estanques circulares, que se caracterizan por tener de 250 a 300 m^3 de capacidad, la producción es intensiva, manejándola en tres etapas de crecimiento: desarrollo, pre-engorda y engorda. En este tipo de sistema, los rendimientos finales promedio son: peces de 500 gramos, 80% de sobrevivencia, conversión alimenticia 1.8:1, volumen de producción de 25 kilos por m^3 y dura 8 meses. El cultivo en jaulas se efectúa en embalses mayores (presas y lagunas). Este tipo de infraestructura es construida empleando materiales de diversos tipos y de dimensiones que van desde 1 hasta 100 m^3 de capacidad. El cultivo se maneja de manera similar a la metodología seguida en los estanques circulares, y la duración es de 8 meses en promedio, pero la densidad de siembra está en función a la calidad y dinámica del agua prevaleciente en el embalse y al tamaño de la jaula, siendo en las más pequeñas donde se obtienen mayores rendimientos. Así, es común registrar producciones que van desde los 20 kg/m^3 hasta los 130 kg/m^3, conversiones alimenticias $\leq$ 1.5:1 pues se aprovecha en gran medida la productividad del agua del embalse y sobrevivencias del 75%.

Los parámetros registrados para la calidad del agua en los cultivos de tilapia en Colima son:

Parámetro	Mínimo	Promedio	Máximo
Concentración O_2 mg/L	3	5	8
PH	6.5	7-8	9
Amonio NH_3 mg/L	0.05	0.09	0.15
Temperatura °C	24	28-30	34
Dureza total ($CaCo_3$) mg/L	200	250	350
Transparencia (cm)	15-20	35-40	100

En los últimos 15 años se estudiaron las distintas enfermedades de las tilapias en los centros piscícolas y producción acuícola del Estado de Colima. Las enfermedades encontradas en los cultivos fueron clasificadas en tres categorías de patógenos: bacterianas, micóticas y parasitarias.
Enfermedades bacterianas: tres granjas de tilapias (10%) de *O. aureus* y *O niloticus* presentaron una mortalidad acumulada del 8%, los signos clínicos que presentaron fueron: oscurecimiento de la piel, exoftalmia, pérdida del apetito, anorexia, áreas de hemorragias, necrosis, úlceras en piel, aletas pectorales y ventrales; hemorragias y opacidad córneal. A la necropsia se encontraron pálidez de branquias e hígado con focos de hemorragias. A la histopatología: infiltración inflamatoria compuesta por neutrófilos heterofilos y áreas de necrosis en hígado, corazón, bazo, músculo esquelético, tejido renal hematopoyético; branquias con necrosis, hiperplasia y trombosis. En el estudio bacteriológico se aislaron : *Aeromonas, Pseudomonas* y *Edwardsiella* produciendo el síndrome conocido como septicemia hemorrágica bacteriana.
Dos granjas de tilapias (8%) *O. niloticus* presentaron morbilidad y mortalidad en tilapias, con signos de oscurecimiento de piel, exoftalmia, anorexia y úlceras en piel. La histopatología se caracterizó por producir lesiones granulomatosas en bazo, hígado y riñón. Aislándose la bacteria de *Estreptococcus* spp.

Enfermedades micóticas: Se presentó en ocho granjas de tilapia (30%) *O. niloticus* con una morbilidad de 40% de peces con dermatomicosis. La enfermedad se manifiesta por la presencia de lesiones tipo algodonosa en piel, boca y aletas. Identificándose en frotis los micelios del hongo *Saprolegnia* spp.

Tipo	Parásito	Tilapia	Prevalencia %	Intensidad	Órgano
Ectoparásito crustáceo	*Argulus*	*O. aureus*	6	1	Piel
		O.mossambicus	12	8	Piel
Protozoario	*Microsporidium*	*O.mossambicus*	35	12	Branquias
Ectoflagelado	*Costia*	*O.mossambicus*	10	16	Piel/branquias
		O. niloticus			
Ciliados	*Ichthyophthirius*	*O. aureus*	20	21	Piel/branquias
		O.mossambicus			
		O. niloticus			
Trematodos monogéneos	*Gyrodactylus*	*O.mosambicus*	40	17	Branquias
	Dactylogyrus	*O. aureus*			
		O. niloticus			
	Cichlidogyrus	*O.mossambicus*			
		O. niloticus			
Trematodos digeneos	*Diplostomum*	*O. aureus*	25	16	Ojo/cerebro
		O.mossambicus			
		O. niloticus			
	Posthodiplostomum	*O. niloticus*	6	3	Hígado
	Clinostomum	*O. niloticus*	13	8	Piel/vísceras
		O.mossambicus			
	Centrocestum	*O. aureus*	13	7	Branquias
		O. niloticus			
Céstodo	*Bothriocephalus*	*O. aureus*	10	25	Intestino
		O.mossambicus			
		O. niloticus			
Nemátodo	*Contraceacum*	*O. aureus*	15	3	Cavidad abdominal
		O. niloticus			
	Eustrogyloides	*O. aureus*	8	6	Músculo/Cavidad abdominal
		O. niloticus			
	Spirocamallanus	*O. aureus*	5	3	Intestino

Enfermedades parasitarias: en 20 granjas de tilapias (80%) presentaron al menos un tipo de parásito, sin registrarse cuadros de morbilidad y mortalidad.

Estos parásitos causaron lesiones en los tejidos en diferentes grados: hiperemia, congestión, edema, hemorragias, úlceras, hiperplasia, necrosis, infiltración inflamatoria heterofílica por neutrófilos y eosinófilos hasta lesiones granulomatosas, predominando la proliferación de tejido conjuntivo fibroso, células como: linfocitos, monocitos, plasmáticas, epitelioides y gigantes.

Discusión

Es de gran relevancia conocer la especie cultivada, la calidad de agua y las enfermedades que afectan a las tilapias cultivadas; pues de esto dependerá la toma de decisiones en el establecimiento de las medidas preventivas, evitando así la utilización de fármacos o sustancias químicas que sólo en caso necesario puedan ser utilizadas sin causar deterioro en el ecosistema.

Las enfermedades bacterianas constituyen un conjunto considerable en la patología de peces, su importancia es debido a las pérdidas económicas que

ocasiona en el cultivo y la amenaza sanitaria que, directa o potencialmente, representan algunos gérmenes en la salud pública. Las micosis de los peces constituyen ciertamente el aspecto más confuso y el menos explorado de la ictiopatología y es necesario conocer que los hongos son microorganismos dotados de poder infeccioso. Los parásitos son un fenómeno frecuente y constante en los peces, las enfermedades parasitarias se manifiestan cuando las condiciones del medio ambiente permiten la proliferación del parásito, por ello, las parasitosis clínicas son escasas en estado natural, en las unidades de producción están mucho más extendidas en la medida en que el habitat favorezca la trasmisión de los parásitos, la persistencia de los portadores o de los hospederos intermediarios. Es importante señalar que muchos parásitos que afectan a los peces dan origen a helmintiasis humana (zoonosis) de origen piscícola.

Las enfermedades encontradas en las tilapias cultivadas del Estado de Colima, también se han reportado en tilapias en América Latina principalmente en Costa Rica, Ecuador, Honduras y Panamá.[14,15,16]

Las enfermedades bacterianas que afectan a las tilapias cultivadas en Colima, también han sido reportadas[17,18] y concuerdan que son problemas secundarios seguidos a estrés y mala calidad del agua.[17,18]

Las enfermedades parasitarias encontradas en los cultivos de tilapia en Colima, se han estudiado y reportado también en tilapias de Colima y otros estados[17,18,19,20,21,22] quienes concuerdan que los helmintos son los patógenos más frecuentes registrados parasitando a varias especies de tilapias. Una de las limitantes de la producción de tilapia son las enfermedades, por lo anterior, los productores y profesionales ligados a la actividad acuicultural deben capacitarse en el conocimiento de los principales agentes etiológicos de las enfermedades que puedan en un momento dado disminuir el rendimiento de la producción.

Referencias

1.Morales, D. A., Castañeda C. A, De la Paz O. C., H. H. Olmedo S., J. R. Galván U., J. M. Montoya M., M. Pérez Galicia., y Cabañas L. P., 1988. Manual técnico para el cultivo de Tilapia en los Centros Acuícolas de la Secretaría de Pesca. Secretaría de Pesca, México. 202 pp.

2. Anuario estadístico pesquero CONAPESCA, 2002.

3. Alceste, C. and D.E. Jory, T.R. Cabrera. The US Tilapia Market. Global Aquaculture Advocate. (4) 1: 92-94, 2001.

4. Reichenback-Kline, H.H. Enfermedades de los peces. Ed. Acribia, Zaragoza, España. 1982.

5. Ribelin, W.E and Migaki, G. Pathology of fishes, University of Wisconsin, Press. Wisconsin, 1975.

6. Anhe, W. Fish diseases. Ed. Slpringer-Verlag, Nueva York, USA. 1980.

7. Roberts, R. J. Patología de Peces. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España, 1982.

8. Roberts, R. J. Microbial diseases of fish. Academic Press. London. 1982.

9. Reichenback-Kline, H.H. Clave para el diagnóstico de los peces. Ed. Acribia, Zaragoza, España. 1976.

10. Kinkelin, P., Michel, Ch., Ghitino, P. Tratado de las enfermedades de los peces. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1985.
11. INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, Síntesis Geográfica del Estado de Colima, México, 2004.
12. Margolis, L., Esch, G. W., Colmes, J. C. Kumo, A. M and Schald, G. A. The use of ecological terms in parasitology, Journ. Parasitol. 68:131-133. (1982).
13. Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J.B., Sobin, L.H. 1995 Métodos histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. (AFIP) Washington, D.C.
14. Conroy, G. Diseases found in tilapia culture in Latin América. The Advocate, December 2001.
15. Alceste, C. and Illingworth. Tilapia Farming in Ecuador. Rapid Development of a new Industry the Advocate, December 2001.
16. Pérez , A. H. Commercial tilapia Production in Panama. The Advocate, December 2001.
17. García, M.L.J. Estudio de la patología y parasitológico y bacteriología en tilapias (*O. aureus y O. mossambicus*) en la Laguna de Amela de Colima, México. Tesis de Maestría, FMVZ, UNAM, 1991.
18. Ramírez, L.J. Ictiopatología de las especies nativas de importancia comercial en la Laguna de Amela. Tecomán, Colima. Tesis de Maestría, FMVZ, UNAM, 1995.
19. Orduña, S.J.A. Estudio patológico y parasitológico en tilapias (*O. aureus y O. mossambicus*) en los tres centros acuícolas de Colima, México. Tesis de Licenciatura, FMVZ, UNAM, 1997.
20. Jiménez, G.F. Enfermedades de las tilapias ocasionadas por parásitos. Primer curso internacional de producción de tilapias. 20 al 22 de junio 1996. FMVZ, UNAM y SEMARNAP. México
21. Osorio, S.D. La tilapia como reservorio de *Gnathostoma*, una zoonosis presente en México. Primer curso internacional de producción de tilapias. 20 al 22 de junio 1996. FMVZ, UNAM y SEMARNAP. México
12. 22. García, M.L.J. Enfermedades bacterianas de la tilapia. Primer curso Internacional de producción de tilapias 20 al 22 de junio 1996. FMVZ, UNAM y SEMARNAP. México D.F.

LINFOMA INTESTINAL EN UN CABALLO: HALLAZGOS CITOLÓGICOS, HISTOPATÓLOGICOS Y ULTRAESTRUCTURALES

Luis E García O*[1], Carlos Cedillo P[1**], Félix Sánchez G[1], Luis I Montesinos R[1], Irma E Candanosa A[1], Guadalupe Ramírez[1], Ramiro Calderon[2]

1. Departamento de Patología, 2. Hospital de Equinos Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM *mvz_luisenrique@.yahoo.com.mx, **z.carlos@mailcity.com

Resumen

El linfoma es una neoplasia originada de la línea linfoide con comportamiento biológico maligno, que se ha descrito en todas las especies doméstica. En los equinos representa la neoplasia de mayor frecuencia del sistema hemolinfático. El caso corresponde a un caballo castrado de 15 años, el cual presentaba cólicos intermitentes, dolor, fiebre, reflujo e hiporexia. Se realizaron pruebas de laboratorio y análisis de líquido peritoneal en donde se sugiere proceso neoplásico en cavidad abdominal. Se realizó laparotomía exploratoria en donde se confirma un tejido de neoformación en yeyuno que medía 35 x 20 x 15 y pesaba 7 kg, por lo cual se decide retirar el tumor efectuando enteroanastomosis término-terminal. Se remiten biopsias para estudio histopatológico y se diagnosticó linfoma de alto grado de malignidad. Diez días después de la cirugía y debido al pobre pronóstico y mala condición corporal del animal se decide la eutanasia. En la necropsia se observaron múltiples nódulos neoplásicos en el músculo diafragmático, cardias y yeyuno, cuyas características histopatológicas fueron similares a la biopsia. Se realizó microscopía electrónica en donde se observaron células neoplásicas marcadamente pleomórficas y de aspecto cerebroide, por lo cual el diagnóstico de acuerdo a las características morfológicas celulares fue linfoma histiocítico. El objetivo de este trabajo es describir los hallazgos citológicos, histopatológicos y ultraestructurales de un caso de linfoma intestinal en un caballo, así como la discusión de los criterios diagnóstico utilizados para la clasificación del linfoma.

Palabras clave: caballo, linfoma, intestinal, hipercalcemia, ultraestructura

Abstract

The lymphoma is a neoplastic originated of the lymphoid line with malign biological behavior that has been described in all the domestic species. In the equine is the most common neoplasm of the system hemolymphatic.
This work describes the case of a 15 year-old castrated horse was referred with history of intermittent colics, pain, fever, reflux and hyporexia.
Laboratory tests and analysis of peritoneal fluid were suggested a neoplastic process in abdominal cavity. Exploratory laparotomy was carried out and confirms a mass of neoplastic tissue in jejune about 35 x 20 x 15 in diameter and 7 kg in

weighed, for this reason was decided to move away the tumor making term-terminal enteroanastomosis. Biopsy was remitted for histopathologic study and lymphoma of high grade of malignancy was diagnosed. Ten days after the surgery and due to the poor prognostic and bad corporal condition of the animal the euthanasia was decided. In the necropsy multiple neoplastic nodules were observed in the diaphragmatic muscle, cardias and jejune whose histopathologic characteristic were similar to the biopsy. Microscopy electronic reveled pleomorphic neoplastic cells, and with cerebroide aspect, the ultrastructural diagnosis according to the cellular morphological characteristics was histiocytic lymphoma. The goal of this work is describe the cytological, histopathologic and ultrastructure finding of a case of intestinal lymphoma in a horse, as well as discuss the diagnosis criteria of the classification of a lymphoma.

Key words: horse, lymphoma, intestinal, hypercalcaemia, ultrastructure

Introducción

El linfoma es una neoplasia originada de la línea linfoide con comportamiento biológico maligno, que se ha descrito en todas las especies domésticas y algunas de fauna silvestre.[1-3] Particularmente, en los equinos representa la neoplasia de mayor frecuencia del sistema hemolinfático,[4-8] variando su prevalencia dentro de un rango del 2 al 5% en diferentes estudios recapitulativos postmortem.[8,9] En la Universidad de Davis California, el linfoma fue la quinta neoplasia más común después de carcinoma de células escamosas, fibrosarcoma dérmico, melanoma y tumor ovárico de células de la granulosa.[1]No existe predilección de raza o sexo y se presenta con mayor frecuencia en animales entre 5 y 10 años, sin embargo, en la literatura refieren casos de entre 1 a 25 años.[2,7,9]
Los linfomas en animales domésticos se pueden clasificar de acuerdo a su distribución anatómica en, mediastínico o tímico, intestinal, multicéntrico o generalizado, cutáneo y extranodal.[1,2,5,7,8,10] aunque otros órganos que pueden verse afectados son: hígado, bazo, riñones, corazón, hueso y médula ósea.[1]
En la actualidad en no se ha podido establecer una clasificación histológica que pueda ser empleada de manera universal para clasificar los linfomas. Histopatológicamente, una de las clasificaciones más empleadas en medicina veterinaria ha sido la formulación del trabajo del Instituto Nacional de Cancerología,[1,11,12] la cual fue tomada de la experiencia en medicina humana y de manera general contempla tres factores: a) el grado de malignidad, que se puede dividir en bajo, intermedio y alto, esto con base al número de figuras mitósicas observadas por campo de 400 aumentos b) la caracterización de la arquitectura tisular en donde se ha clasificado en folicular o difuso y c) el tamaño y forma celular, que corresponden linfoma de células grandes y pequeñas, así como núcleos hendidos y no hendidos.[1]
Se han descrito otras clasificaciones para caracterizar linfomas como es el sistema de Kiel, ampliamente utilizado en Europa y que contempla el subtipo de células B y células T, por otro lado, el sistema de la Organización Mundial de la Salud para la clasificación de tumores hematopoyéticos y tejidos linfoides es una lista completa que incluye además enfermedades mieloproliferativas.[12] Con la

adición de nuevas y más sofisticadas técnicas diagnósticas, se crea un nuevo sistema de clasificación de neoplasias linfoides que es la Revisión Europea Americana de Linfomas (REAL), la cual combina morfología, inmunofenotipo y genotipo, de neoplasias tanto sólidas como leucémicas.[12]
Así mismo, existen clasificaciones citológicas, inmunohistoquímicas,[13] fenotípicas e incluso ultraestructurales para este tipo de neoplasias, cuyo pronóstico dependerá del tipo de linfoma clasificado.[1,11]
El objetivo de este trabajo es describir los hallazgos citológicos, histopatológicos y ultraestructurales de un caso de linfoma intestinal en un caballo, así como la discusión de los criterios diagnóstico empleados y la revisión de la literatura de las clasificaciones empleadas en medicina veterinaria.

Descripción del caso

Historia clínica
Fue remitido al Hospital de Equinos de la FMVZ de la UNAM, un equino Warm Blood, macho castrado, de 15 años. Los signos clínicos iniciaron con cólicos ligeros y continuos, 26 días después presentó síndrome abdominal agudo con manifestaciones de fiebre, dolor, hiporexia y reflujo, 34 días después, se mantuvo el reflujo con presencia de mucosas congestionadas y dolor. Al examen clínico se encontró hipertermia, taquipnea, taquicardia, dolor, depresión, mucosas congestionadas y deshidratación del 7%.
Con base en los signos clínicos manifestados, se procedió a la obtención de muestras para estudios hematológicos y de bioquímica sanguínea mediante venopunción de la yugular, así mismo, se recolectó líquido peritoneal, por punción abdominal. Una vez recolectadas las muestras, fueron remitidas a la Sección de Patología clínica y citopatología del Departamento de Patología de la FMVZ de la UNAM, para su procesamiento.

Resultados de hematología, bioquímica sanguínea y líquido peritoneal
Los hallazgos mas relevantes en el hemograma fueron: leucocitosis ($13.6x10^9$) neutrofílica ($12.2x10^9$) con desviación a la izquierda (bandas, $0.3\ x10^9$), hiperfibrinogenemia (7 g/L) asociado a inflamación grave y linfopenia por acción de corticosteroides endógenos.
En la bioquímica sanguínea los valores mas representativos fueron: hiperproteinemia (91 g/L) por hiperglobulinemia (66 g/L) asociado a inflamación crónica e hipercalcemia (3.69 mmol/L) secundaria a síndrome paraneoplásico.
En análisis del líquido peritoneal se observó turbio y de color amarillo rojizo, el conteo de células nucleadas fue de $48\ x10^9$ y las proteínas se encontraban en 60 g/L. Citológicamente, se observó abundante celularidad, el 70% de las células corresponden a neutrófilos en su mayoría bien conservados. El resto de las células son mononucleares las cuales tienen moderado a abundante citoplasma ligeramente basofílico de bordes irregulares, marcada anisocitosis y evidente pleomorfismo celular, el núcleo es de cromatina fina granular, presenta marcada anisocariosis, 2 a 6 nucléolos evidentes y abundantes mitosis atípicas, dichas células están entremezcladas con escasos linfocitos atípicos y de diversos

tamaños. El diagnóstico citológico fue exudado no séptico, el cual se asoció a un probable proceso neoplásico compatible con linfoma en cavidad abdominal.
Con base en los resultados obtenidos, se consideró llevar a cabo el abordaje quirúrgico de la cavidad abdominal, para descartar o confirmar la presencia de una neoplasia.

Laparotomía exploratoria medial
Se realizó el procedimiento quirúrgico detectándose a nivel de yeyuno un tejido de neoformación de consistencia firme, el cual pesaba 7 kg, medía 35x20x15 cm y se encontraba obstruyendo casi en su totalidad la luz intestinal, al corte era de color blanco, de superficie irregular y presentaba extensas áreas de hemorragia y necrosis. En otras secciones del tubo digestivo se encontraron nódulos blancos cuyas dimensiones oscilan entre 2 y 7 cm de diámetro. Con base en la exploración efectuada se decidió la resección quirúrgica del tumor por medio de anastomosis término terminal, retirándose aproximadamente 8 m de intestino y se remite la pieza para su estudio histopatológico a la Sección de Histopatología del Departamento de Patología, de la FMVZ-UNAM

Biopsia quirúrgica y resultado histopatológico
La muestra remitida fue fijada en formalina amortiguada al 10% y se procesó con la técnica de inclusión en parafina, utilizando las tinciones rutinarias de H&E. Se revisaron varias secciones de intestino delgado, en donde se aprecian áreas hipercelulares mal delimitadas no encapsuladas, compuestas por células neoplásicas de la línea linfoide, que se encuentran infiltrando la mucosa, muscular y serosa, dichas células presentan de moderada a abundante cantidad de citoplasma ligeramente eosinofílico con bordes bien definidos. El núcleo es grande de redondo a poligonal y con identaciones, presentan cromatina gruesa granular con uno a tres nucléolos evidentes y marcado pleomorfismo nuclear. Se aprecian abundantes figuras mitósicas (6 a 8 por campo de 40x). Una gran cantidad de células neoplásicas se encuentran en proceso de necrosis y apoptosis. El diagnóstico histopatológico fue: Linfoma de alto grado de malignidad.

Estudio postmortem
Debido al mal pronóstico y al progresivo deterioro de la condición física del animal, 10 días después de la cirugía se decide la eutanasia. En la necropsia, los hallazgos más relevantes fueron los siguientes: En el abdomen se apreció una incisión quirúrgica semiabierta por dehiscencia de puntos apreciándose salida de vísceras abdominales. En el estómago a nivel del cardias se observó tejido de nueva formación de color blanco amarillento de consistencia firme y superficie exterior lisa, el cual media 12 cm de diámetro aproximadamente, así mismo, en yeyuno se encontraron múltiples nódulos compuestos por el mismo tejido. Histológicamente los hallazgos encontrados fueron similares a los descritos en la biopsia anteriormente referida.

Microscopía electrónica de transmisión

Debido a la falta de diferenciación de las células neoplásicas y para clasificar de una forma más específica al linfoma se remitieron a la Unidad de Microscopia Electrónica del Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM muestras de tejido de neformación fijado en formalina amortiguada al 10%, cortándose fragmentos de 2 a 3 mm^3 para su refijación en glutaraldehido al 2.5% (amortiguado con buffer de cacodilatos con pH de 7.2), posteriormente las muestras se posfijaron con tetraóxido de osmio, embebiéndose en resinas sintéticas (Epon). Una vez procesadas las muestras, se realizaron cortes semifinos de 0.10 a 0.12 µm teñidos con azul de metileno y cortes finos de 70 a 80 nm, contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo. El material procesado se revisó en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss 900. Ultraestructuralmente, se apreciaron células pleomórficas (21 x 16 µm en promedio) con moderado citoplasma, el cual presentaba discretas proyecciones, los núcleos tenían formas ovales, arriñonadas y pleomórficas con identaciones y de aspecto cerebriforme, con uno a dos nucléolos y conglomerados de cromatina a la periferia nuclear, compatibles con células tipo histiocíticas. Así mismo, también se observaron células de menor tamaño, de escaso citoplasma y núcleo redondo a oval con cromatina granular y un nucléolo prominente, compatibles con linfocitos neoplásicos. El diagnóstico ultraestructural fue de linfoma histiocítico.

Discusión

Entre las neoplasias que se han diagnosticado en cavidad abdominal, el linfoma se encuentra en segundo lugar, siendo el primero el carcinoma de células escamosas.[7,8]

Los signos clínicos son extremadamente variables y dependen de la localización, los órganos afectados y el comportamiento biológico de la neoplasia,[4,8,9,14] asimismo, pueden ser resultado de diversos mecanismos: a) infiltrado de linfocitos neoplásicos originando pérdida en la función normal del órgano, b) obstrucción física por el tumor y c) actividad o síntesis de interleucinas.[1]

En este caballo, el aparato digestivo fue el que se vio primordialmente afectado debido a que la neoplasia obstruía notablemente la luz intestinal, por lo cual se pueden atribuir los signos clínicos de cólico, síndrome abdominal agudo, dolor y reflujo. Otros signos que se observan comúnmente son pérdida de peso, letargia, anorexia, edema ventral, fiebre de origen desconocido y en algunos casos linfoadenomagalia generalizada.[8,9,10]

Los hallazgos en el laboratorio son variables y muchas veces inespecíficos, sin embargo, son de utilidad para evaluar la condición general del animal y algunas veces para determinar síndromes paraneoplásicos secundarios, en este caso, los resultados de laboratorio nos indicaban un proceso inflamatorio de tipo crónico, el cual se encuentra comúnmente en caballos con linfoma.[2,7,8,14] Un hallazgo importante como síndrome paraneoplásico que se observó en este caso y que se presenta con poca frecuencia en caballos corresponde a la hipercalcemia. La hipercalcemia es altamente sugerente de un proceso neoplásico y se encuentra con mayor frecuencia en linfoma mediastínico a diferencia del intestinal. Los mecanismos por la cual se presenta son complejos y diversos, asociándose principalmente a la síntesis de factores humorales como proteína relacionada con

la parathormona, prostaglandina E2, vitamina D, factor activador de osteoclastos y diversos factores de crecimiento.[15] Otros hallazgos asociados a linfoma pueden ser: leucemia, anemia y trombocitopenia inmunomediada, anemia por cuerpos de heinz y eosinofilia.[16,17]

El diagnóstico de linfoma, se realiza con base a la presencia de linfocitos neoplásicos en tejidos o líquidos corporales.[2,8,14] El análisis de líquido peritoneal y torácico puede aportar información importante para el diagnóstico, en un estudio de linfoma mediastínico la evaluación citológica de líquido torácico fue exitosa en 10 de 12 caballos.[8] En este caso, el criterio diagnóstico citológico se realizó con base al conteo de células nucleadas y a la morfología celular, ya que se encontraron células con características compatibles con la línea linfoide y con señales de malignidad como es atipia, pleomorfismo, variable relación núcleo citoplasma, nucléolos evidentes y mitosis atípicas.

Para la clasificación histológica del linfoma se utilizó la formulación del trabajo, en donde se determinó con base a la arquitectura tisular y al número de mitosis atípicas que correspondía a un linfoma difuso de alto grado. Las características morfológicas celulares indicaban linfocitos inmaduros, poco diferenciados, de diversas formas y tamaños predominando los grandes, por lo cual se clasificó como linfoblástico. Aunque en caballos no se ha determinado con precisión, en perros los linfomas linfoblásticos están comúnmente asociados a células T, tienen un comportamiento biológico altamente agresivo; no superando los 90 días de sobrevida aún con tratamiento y es el más comúnmente asociado con hipercalcemia.[1]

Ultraestructuralmente, los esquemas de clasificación pueden tener características particulares, en este caso, la mayoría de las células linfoides eran de gran tamaño y presentaban características que recuerdan a histiocitos, por lo cual se clasificó como linfoma histiocítico. El linfoma histiocítico está compuesto por células de tamaños variables hendidas o no hendidas entremezcladas con células pequeñas que corresponden a linfocitos hendidos.[18] Aunque el linfoma histiocítico ha sido descrito en caballos y humanos[18] algunos autores refieren que es un tumor compuesto de células mixtas de tipo B y T, y que por lo tanto, usar el término "histiocítico" para describirlo puede crear confusión innecesaria.[1]

Conclusiones

Es necesario implementar un sistema integral y universal de clasificación de linfomas, que contemple las diferentes áreas diagnósticas como la citología, histopatología, ultraestructura, inmunohistoquímica e inmunofenotipo. En la actualidad, un diagnóstico "simple" de linfoma no es suficiente para llevar a cabo una interpretación de la condición clínica del animal, por lo tanto existe la necesidad de clasificar estas neoplasias, con el fin de proporcionar los elementos suficientes para la toma de decisiones clínicas que permitan un pronóstico adecuado para cada paciente.

Referencias

1. Jacobs RM, Messick JB, Valli VE. Tumors of the hemolymphatic System in: Meuten DJ, editor. Tumors in domestic animals. 5a ed, Iowa:Iowa State Press, 2002:119-198.
2. Sellon DC. Diseases of the hematopoyetic system in: Kobluk CN, Ames TR y Geor RJ, editors. The horse diseases and clinical management. :Saunders Company, 1995:1123-1124.
3. JonesTH, Hunt RD, King NW. Veterinary pathology. 6a ed. USA:Lippincott Williams and Wilkins, 1997.
4. Dabarenier MR, Sullins EK, Goodrich RL. Large colon resection for treatment of limphosarcoma in two horses. J Am Vet Med Assoc 1996;208:895-897.
5. Detilleux PG, Cheville NF, Sheahan BJ. Ultraestructure and lectin histochemistry of equine cutaneous histiolimphocytic lymphosarcomas. Vet Pathol 1989, 26:409-419.
6. Ducket MW, Matthews KH. Hypereosinophilia in a horse with intestinal limphosarcoma. Can Vet J 1997, 38:719-720.
7. Tylor FG, Hillyer MH. Técnicas diagnósticas de medicina equina, Madrid, España:Acribia, 1999:196-199.
8. Morris DD, Barton HM. Lymphosarcoma in: Colahan PT, Mayhew IG, Merrit AM, editors. Equine Medicine and Surgery. St. Louis, Missouri:Mosby, 1999:2009-2111.
9. Morris DD. Diseases of the hematopoyetic system in: Reed SM, Bayly WM, editors. Equine internal medicine. Saunders Company, 1998:575-576.
10. Marr MC. Clinical manifestations of neoplasia. Equine Vet Edu 1994; 6:65-71.
11. Searcy GP. The hemopoietic system in: McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF, editors Thomson's Special veterinary pathology. 3a. ed, Philadelphia:Mosby, 2001:370-373
12. Valli VE, Jacobs RM, Parodi AL, Vernau W, Moore PF. Histological classification of hematopoietic tumors of domestic animals. World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. Vol VIII. Washington:Armed Forces Institute of Pathology, 2002.
13. Kelley LC, Mahaffey EA. Equine malignant lymphomas: morphologic and inmunohistochemical classification. Vet Pathol, 35:241-252.
14- Radostist OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW, Medicina veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino, Madrid, España:McGraw-Hill, 2002:194-495.
15. Mair TS, Yeo SP, Lucke VM. Hypercalcemia and soft tissue mineralization associated with lymphosarcoma in two horses 1990, 126:99-101.
16. Rollins JB, Wigton DH, Clement TH. Heinz body anemia associated with lymphosarcoma in a horse. Equine practice 1991,13:20-23.
17. Furr OM, Crisman MV, Robertson J, Barta O, Swecker SW. Inmmunodeficiency associated with lymphosarcoma in a a horse. JAVMA 1992, 201:307-309.
18. Erlandson RA. Diagnostic transmission electron microscopy of tumors. NewYork:Raven Press, 1994.

BIOACUMULACIÓN Y ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS DEL CLORHIDRATO DE CLENBUTEROL EN MODELO CONEJO

Valladares, C.B.[1]*; Pedraza, S.F.[1]; Zaragoza, B.A.[1]; Castro, M.J.[1]; Zamora, E.J.L[1]; Talavera, R.M.[1]; Velázquez, O.V.[1]; Hinojosa, G.J.L[1].; Palomares, S.M.E.[1]; Aguilar, H.J.C.[1]

[1] Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. Tel/Fax 01 722 29 6 55 55. e mail: benvac2004@yahoo.com.mx.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar las alteraciones histopatológicas y el efecto acumulativo del clorhidrato de clenbuterol en el modelo conejo. Los animales en experimentación, fueron colocados en jaulas individuales diferenciándose por grupos de acuerdo a la dosis adicionada al agua de bebida; a los animales del T1 se les administró una dosis de 6 g, a los del T2 9 g y al T3 12 g del compuesto; al grupo control (GC) se le administró como placebo 2 g de azúcar. Al término del período de experimentación (1 mes), se realizó el estudio anatomopatológico e histopatológico, se evaluó el peso de los animales y obtuvo la concentración de clenbuterol por medio de la prueba de ELISA Ridascreen Clenbuterol FAST® en suero sanguíneo. A la necropsia no se apreciaron alteraciones significativas importantes; al estudio histopatológico se observó una hipertrofia generalizada de músculos, en hígado se apreció tumefacción celular, degeneración hidrópica, fibrosis y congestión. Hubo un incremento significativo de peso de los tratamientos en comparación al GC. Los valores promedio detectados de clorhidrato de clenbuterol en los conejos del T1 fueron de 2469 ± 0,2689 ppt; en los del T2 3125 ± 0,3456 ppt, y de 6999 ± 0,2198 ppt. en los del T3, mientras que en los del GC no se detecto valor alguno. Con respecto al efecto anabólico observado, éste pudo ser similar a lo que se ha detectado en otras especies animales, sin embargo a mayor cantidad administrada, se tiene un efecto negativo en los especímenes utilizados por las alteraciones y disfunción hepática observada, posiblemente por la deposición del compuesto.

Palabras clave: Clorhidrato de clenbuterol, conejos, hipertrofia.

BIO – ACUMULATIVE AND HISTOPATHOLOGICAL EFFECTS OF THE CLORHIDRATE OF CLENBUTEROL IN A RABBIT MODEL.

SUMMARY

The main of this experimental work was to evaluate histopathological changes and the bio-accumulative effect of the clorhidrate of clenbuterol in the rabbit

model. The animals were housed in individual cages and grouped according to the dose administered, rabbits of group T1 received a 6g dose, T2 group 9g and T3 12g of clorhidrate of clenbuterol and the control group (GC) 2g of sugar. After one month treatment rabbits were evaluated by weigh, necropsy and histopathological examination, and serum clorhidrate of clenbuterol concentration by ELISA Ridascreen Clenbuterol FAST® test. At necropsy no relevant gross lessions were found, histologic findings were: muscle general hypertrophy; in liver: celular swelling, hydropic degeneration, fibrosis and congestion. There was a marked weigh increase in treatment groups. Average concentrations of clenbuterol found were for T1 2469.8±0.2689 ppt; T2 3125.7±0.3456 ppt; T3 6999±0.2198 ppt, and for GC no presence of the compound was found. In relation with the anabolic effect it could be similar to what it had been observed in other animal species, nevertheless as concentration administered is increased a negative effect is evaluated in rabbits evident by the liver changes and damage caused probably for the bio-accumulation of the compound in study.

Key words: Clorhidrate of clenbuterol, rabbits, hypertrophy

INTRODUCCION.

El clorhidrato de clenbuterol es un aditivo sintético perteneciente a la clase de medicamentos análogos fisiológicamente a la adrenalina; de color blanco, anhidro, muy soluble en agua y altamente estable a temperatura ambiente, su punto de fusión es de 174 a 175 ºC. Terapéuticamente es un potente simpáticomimético con gran afinidad por los receptores β_2 de la zona bronquial, por lo que los efectos más importantes son; dilatación bronquial, eliminación del bronco espasmo, estimulación de la vibración de los cilios bronquiales, facilita la expectoración y aumenta la ventilación pulmonar con efecto prolongado [1, 2, 3].

Su administración oral modifica el crecimiento de la masa muscular y disminuye la acumulación de grasa. En condiciones fisiológicas el crecimiento del músculo esquelético es el resultado primario de una hipertrofia, un aumento de la síntesis proteica muscular y una disminución en la degradación de proteína muscular. Este puede incrementar el flujo sanguíneo a ciertas regiones del cuerpo, lo que permite el proceso de hipertrofia en el músculo esquelético, al transportar mayores cantidades de sustratos y fuentes de energía para la síntesis de proteína. Otra acción de este compuesto es la disminución de la cantidad de grasa en la canal, este efecto anabólico se logra aumentando 10 veces su dosis terapéutica (0.8 µg/kg)[2, 4].

Actualmente ganaderos y productores con la intención de mejorar parámetros productivos en conversión y eficiencia alimenticia en las diversas especies animales (bovinos, ovinos, porcinos y aves), recurren al uso de sustancias como hormonas, anabólicos y aditivos, entre otros, siendo uno de estos el clorhidrato de clenbuterol [5, 6, 7]. Sin embargo éste ha traído repercusiones en salud pública; por lo que desde el 1 de marzo del 2002, en el Diario Oficial de la Federación,

la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentacion (SAGARPA) prohibió la administración para el ganado, expidiendo la Norma NOM-EM-015-ZOO-2002 especificaciones técnicas para el control del uso de beta-agonista en los animales.

El consumo oral de la mayoría de los compuestos, tiene una biotransformación y punto final en el hígado, el cual metaboliza los compuestos que a él llegan, eliminando una parte por la bilis; los sitios de bioacumulación reportados de este compuesto de mayor a menor capacidad de acumulación en las diferentes especies son: cornea, pelo, plumas, hígado, músculo y riñón, entre otros (por la afinidad a la melanina); además de acuerdo a esta característica y al propio metabolismo de este compuesto, puede detectarse en suero sanguíneo u orina [2, 7, 9].

A la fecha no se tiene reporte alguno en el que se relacione la condición de deposición y alteración a nivel hepático de este compuesto, pese a que el hígado de bovino es un tejido consumible y que se han registrado intoxicaciones colectivas atribuidas al consumo de este tejido; por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto bioacumulable en conejos, así como los posibles cambios u alteraciones referenciadas en la literatura.

Debido al reporte de casos de intoxicación en humanos por el consumo de productos y subproductos contaminados (vísceras: hígado), de origen bovino principalmente, es importante conocer el riesgo que implica para la salud pública. Está referido que los signos clínicos de intoxicación en humanos, son: cefalea, vómito, temblores, incremento en la presión sanguínea y taquicardia la cual puede terminar en la muerte; por lo que es importante el implementar programas para el control y erradicación de esta sustancia a nivel nacional, ya que a pesar de sus restricciones se sigue registrando su empleo de manera clandestina, encontrando residuos tóxicos en productos cárnicos que constituyen un riesgo potencial para la salud de los consumidores [3, 5, 8].

MATERIAL Y MÉTODO

En el presente modelo biológico, se utilizaron 21 conejos de la raza Nueva Zelanda, distribuidos en 3 grupos (6 animales por tratamiento), más el grupo control (3 conejos). Los animales en experimentación, fueron colocados en jaulas individuales diferenciándose por grupos de acuerdo a la dosis adicionada al agua de bebida; a los animales del T1 se les administró una dosis de 6 g, a los del T2 9 g y al T3 12 g del compuesto (adquirido en la presentación que se vende de manera clandestina en el mercado) y al grupo control (GC) se le administró como placebo 2 g de azúcar.

Al término del período de experimentación (1 mes) se realizo el estudio anatomopatológico e histopatológico, se evaluó el peso de los animales y obtuvo la concentración de clenbuterol por medio de la prueba de ELISA Ridascreen Clenbuterol FAST® en muestras de suero sanguíneo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al estudio anatomopatológico, no se observaron lesiones macroscópicas aparentes en general en los animales bajo estudio, salvo el aumento de volumen de la masa corporal o tejido muscular. El peso promedio por grupos de tratamiento fueron: de 1685 ± 0,2367 g. en el T1; T2 con 1657 ± 0,1321; de 1615 ± 0,1171 g en el T3 y el GC fue de 1290 ± 0,1439 g. De acuerdo a algunos autores el incremento de la masa muscular a efecto del clorhidrato de clenbuterol es variable en cada especie; produciendo un mayor incremento en bovinos, ovinos, cerdos y aves; sin embargo en conejos no existe reporte alguno [4].

De acuerdo a lo observado del efecto anabólico, este pudo ser similar a lo que se ha detectado en otras especies animales, sin embargo a mayor cantidad administrada tiene un efecto negativo en los especímenes utilizados por las alteraciones y disfunción hepática observada, posiblemente por la deposición del compuesto a nivel hepático.

Al estudio histopatológico se observó una hipertrofia generalizada de los músculos (semitendinoso y semimembranoso), en hígado se apreció tumefacción celular, degeneración hidrópica, fibrosis y congestión.

Con respecto a los valores promedio generales detectados de clorhidrato de clenbuterol (partes por trillón), se obtuvieron las siguientes concentraciones, en los animales del T1: 2469 ± 0,2689 ppt; en los del T2: 3125 ± 0,3456 ppt, y de 6999 ± 0,2198 ppt. de los conejos del T3, mientras que en los animales del GC no se detecto valor alguno. Con el fin de tener un mejor control sobre el uso ilegal de este compuesto, se cuenta con la aprobación metodológica para su detección la técnica de ELISA, y la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrofotómetro de masas, utilizando muestras de globo ocular (cornea), hígado, riñón, músculo, suero sanguíneo y orina [1, 7, 8, 9].

En un estudio realizado en ratas que recibieron la misma dosis en el mismo lapso de tiempo se reporto un aumento en la incidencia de Leiomiomas meso ováricos; y tras una serie de estudios tanto *in vitro* como *in vivo* investigadores han llegado a la conclusión de que esta clase de tumores se debe a la estimulación adrenérgica y no a un mecanismo genotoxico. En conejos se han observado signos de fetotoxicidad (retraso de la osificación y paladar hendido), tras la administración de dosis altas de clenbuterol [6].

Por la condición y ejercicio de todos los sectores involucrados en el sector salud es importante enfatizar y trabajar en beneficio de la salud pública para garantizar la calidad e inocuidad alimentaría. Actualmente el abuso en el uso del clorhidrato

de clenbuterol repercute tanto en el bienestar de los animales tratados con esta sustancia como en la salud pública.

En México, los datos Oficiales del Centro de Vigilancia Epidemiológica se ha reportado a la fecha 27 brotes que afectaron a 132 personas, en todos los eventos se tuvo en común como antecedente el consumo de hígado de res. En un muestreo realizado en el Rastro Municipal de Pachuca en el año 2000, de 100 muestras de hígado colectadas, 63 fueron positivas a la detección de clorhidrato de clenbuterol, por lo que se considera como un factor de riesgo importante para la salud pública el consumo de vísceras (hígado) y productos o subproductos cárnicos de bovinos que se engordan con este compuesto; por lo que a nivel nacional se deben actualizar y poner en marcha normas para la prohibición de este tipo de productos dentro del proceso de engorda de las especies domesticas [5].

REFERENCIAS

1. Elliot CT, Mc Evoy JD, ShortT HD, Crooks SRH. Effective laboratory monitoring the abuse of the beta agonist clenbuterol in cattle. Analyst 1993; 18:447-8.

2. Abraham G, Brodde OE, Ungemach FR. Pharmacological an biochemical characterization of the β-adrenergic signal transduction pathway in different segments of the respiratory trac. Biochem Pharm 2003; 66: 1067-1081.

3. Branbilla G, Cenci T, Franconl F, Galarini R, Macri A, Rondoni F, Srozzi M, Loizzo A. Clinical and pharmacological profile in a clenbuterol epidemic poisoning of contaminated beef meat in Italy. Tox Lett 2000; 114: 47-53.

4. Courtheyn D, Moermans R, Schilt R, Boenke A. Beta-agonists in animal feed. II. Optimization of the extraction. Food Add Contam 1996; 13:493-509

5. García LA. Alerta epidemiológica por la intoxicación en humanos con clenbuterol y su empleo en la alimentación del ganado. Rev San Mil Méx 2002; 56: 131-134.

6. Badino P, Odore, R, Re G. Are so many adrenergic receptor subtypes really present in domestic animal tissues? A pharmacological perspective. Vet. J 2005; 170: 163-174.

7. Meyer HHD, Rinde LM. The pharmacokinetics and residues of clenbuterol in veal calves. J Anim Sci 1999; 69:4538-4544.

8. NOM-EM-015-ZOO-2002: Especificaciones técnicas de emergencia para el control del uso de beta-agonistas en los animales. Diario Oficial de la Federación. 57-65. 1 de Mayo del 2002. México.

9. Friori M, CartonI C, Bocca B, Brambilla G. The use of nonendcapped C18 columns un de cleanup of clenbuterol and a new adrenergic agonist from bovine liver by gas chromatography-tandem mass spectrometry analysis. J Chorm Sci 2002; 40:92-96.

Diseño y aplicaciones de péptidos sintéticos en medicina veterinaria (La proteína TV LEGU-1 de *Trichomonas vaginalis* como modelo)

Salas Garrido Gerardo [1] / [3], Ortega López Jaime [2], Arroyo Verástegui Rossana [1]
[1]Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV-IPN). Av. IPN #2508, Col. San Pedro Zacatenco, CP 07360. México, DF
Departamento de Patología Experimental, [2] Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, [3] Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad 3000, Circuito Exterior, Del. Coyoacán CP 04510. México, DF. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Patología.
E-mails: salas.ger@ gmail.com/ rarroyo@cinvestav.mx
Palabras clave: Péptido sintético, *Trichomonas vaginalis*, Inmunodiagnóstico.

RESUMEN
El diseño y uso de péptidos sinteticos de múltiples patógenos es una importante herramienta en la investigación, diagnóstico y profilaxis en las diversas enfermedades infecciosas en medicina veterinaria, en el presente estudio se diseñó un péptido sintético de la cisteín proteinasa tipo legumaína TV LEGU-1 de *T. vaginalis* como modelo de estudio. El objetivo de este trabajo fue la identificación y localización de la de la TV LEGU-1; para lo cual diseñamos un péptido sintético para TV LEGU-1 con la finalidad de producir anticuerpos específicos que nos permitieron identificar y localizar esta CP en *T. vaginalis*. Para seleccionar el péptido más divergente de TV LEGU-1, se buscaron los genes de legumaínas en la base de datos del Proyecto del Genoma de *T. vaginalis*. Basado en el análisis de TVLEGU-1 con la escala Hopp-Woods (de hidropatía y antigenicidad) y considerando su modelo teórico en 3-D, se eligió un dodecapéptido cuya predicción en el modelo en 3-D de TV LEGU-1 podría estar expuesto. El péptido sintético fue acoplado a MAP-8 y con éste se inmunizaron cinco ratones Balb/c machos para producir los anticuerpos. El antisuero anti-TVLEGU-1 reaccionó con el péptido sintético, con extractos totales de proteínas y de proteinasas de trichomonas en ensayos de Dot Blot. Por ensayos de Western Blot identificamos dos bandas de reconocimiento, de 60 kDa y de 50 kDa en extractos parasitarios y de proteinasas. Por inmunocitoquímica localizamos a la TVLEGU-1 en la superficie de parásitos no permeabilizados y en el interior de parásitos permeabilizados, principalmente en aquellos crecidos en altas concentraciones de hierro. En conclusión, la TVLEGU-1 es otra proteína de *T. vaginalis* que se regula positivamente por hierro a nivel de transcripción y de traducción como las adhesinas de trichomonas.

ABSTRACT
APLICATIONS AND DESIGN OF SYNTHETIC PEPTIDE IN VETERINARY MEDICINE (THE TV LEGU-1 PROTEIN OF *Trichomonas vaginalis* AS A MODEL).

The design and use of a specifical synthetic peptide of multiple microorganism is a powerfull tool in the investigation, diagnostic and profilaxis in the differents

infectious diseases in animals, in the present research we designed a specific synthetic peptide of a Cistein Proteinase, legumain-like TV LEGU-1 of the protozooan *Trichomonas vaginalis*, as a model of study. The aim of this work was to identify and localize the TVLEGU-1 CP in *T. vaginalis* using a specific polyclonal antibody. We Immunizing 5 male Balb/c mice with a synthetic dodecapeptide coupled to 8-MAP produced specific antibodies to TVLEGU-1. This dodecapeptide was designed by selecting the 258-388 amino acid (aa) residues of TVLEGU-1; the most divergent aa sequence among the ten legumain-like encoding genes identified in the *T. vaginalis* Genome. Additionally, the TVLEGU-1 analysis by Hopp-Woods hydrophilicity scale predicted that this dodecapeptide is antigenic and exposed on the 3-D TVLEGU-1 theoretical reconstruction model. Two protein bands of 50 and 60 kDa were identified by Western blot analysis on cell extracts of *T vaginalis* grown at high iron concentration while no band were present in parasites grown in iron depleted medium. Immunolocalization experiments showed that TV LEGU-1 is indeed in the parasite surface and the percentage of stained cells as a function of iron concentration is consistent with the Western blot analysis. Thus, our results show that TV LEGU-1 is another protein up-regulated by iron at the transcription, translation and surface expression levels as the trichomonad adhesins.

Key words: Synthetic peptide, *Trichomonas vaginalis*, Immunodiagnostic

INTRODUCCIÓN

El uso de péptidos sintéticos específicos derivados de la secuencias proteínicas de diversos organismos (virus, bacterias, parásitos, etc) es una herramienta útil para el diagnóstico patológico (Western blot, ELISA, inmunohistoquímica) [1,2] así como en la creación de vacunas [3,4] que prevengan algunas enfermedades en medicina veterinaria. En este sentido, el diseño del péptido es esencial para que éste resulte inmunogénico al ser inoculado a animales de laboratorio y que promueva el desarrollo de anticuerpos que reconozcan específicamente la proteína que deseamos identificar.

En el presente estudio se trabajó con *Trichomonas vaginalis* que es un protozoario flagelado que ocasiona la principal enfermedad parasitaria de ciclo directo y de transmisión sexual en el humano [5]. La tricomonosis afecta el tracto urogenital, siendo las mujeres las más afectadas causándoles vaginitis, prurito, disuria, leucorrea espumosa mal oliente eritema y friabilidad cervical [6]. Este protozoario posee múltiples mecanismos para ocasionar daño celular y tisular, dentro de los que destacan la participación de diversas proteinasas cuya mayoría son de tipo cisteína del clan CA, de la familia C1 de tipo papaína y subfamilia catepsinas L; pero también tiene CPs que pertenecen al clan CD de la familia C13 de las legumaínas en el 2004. León-Felix y col [7]., al analizar geles de doble dimensión en la región de 30 kDa identificaron y clonaron dos genes de CPs del clan CD, de tipo legumaína de la subfamilia asparaginil endopeptidasas. Este tipo de legumaínas no había sido descrita hasta entonces en ningún protozoario, por lo que se desconoce su función.

Con el fin de identificar a la TV LEGU-1 en T. vaginalis se diseñó un péptido sintético, para la producción de anticuerpos que ayuden a identificar a esta proteinasa en el parásito.

OBJETIVO GENERAL

Identificar y localizar a la proteinasa de tipo legumaína TV LEGU-1 de T. vaginalis

Objetivos Particulares

- Búsqueda de genes de legumaína en el genoma de T. vaginalis.
- Seleccionar un péptido sintético de una región divergente de la proteinasa TV LEGU 1 (TV LEGU-1PS).
- Obtener anticuerpos policlonales de ratón contra e péptido divergente de la TV LEGU-1.

-Localizar a la TV LEGU-1 en T. vaginalis mediante Western blot e inmunocitoquímica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del péptido sintético

Con el fin de identificar los genes que codifican para legumaínas en T. vaginalis se buscó en la base de datos del proyecto del genoma de T. vaginalis del TIGR (www.tigr.org) genes homólogos a *tvlegu-1* mediante BLAST. Enseguida, se realizó un alineamiento múltiple con el programa CLUSTAL W para buscar regiones divergentes.

La presencia de sitios transmembranales, peso molecular y punto isoeléctrico en las proteínas teóricas que codifican los genes tipo legumaína de T. vaginalis se buscó in silico, con los programas T MAP-Algorithm (http://bioinfo.limbo.ifm.liv.se/tmap/) y Prot Param (http://au.expasy.org/tools/protparam/). Para la predicción de fosforilaciones y miristilaciones, así como solubilidad y globularidad de TV LEGU-1 se usaron los programas, PROSITE motif (http://au.expasy.org/tools/scanprosite/), SOSUI (http://sosui.proteome.bio.tuat.ac.jp/) y GLOBPLOT 2 (http://globplot.embl.de/cgiDict.py).

El análisis de hidropatía y antigenicidad de TV LEGU-1 se hizo con el programa Hopp-Woods (http://arbl.cvmbs.colostate.edu/), la presencia de O-glicosilaciones y segmentos transmembranales en los genes que codifican para legumaínas en T. vaginalis se analizó con los programas YinOYang 1.2 (http://au.cbs.dtu.dk/services/YingOYang) y PROSITE motif (http://au.expasy.org/tools/scanprosite/). En el diseño tridimensional de TV LEGU-1 se usó el programa basado en reconocimiento de pliegues LOOPP V3.00 (http://loopp@tc.cornell.edu), la vista del diseño en 3-D y las mediciones fueron realizadas con los programas pyMol y 3D Molecule Viewer.

Obtención de anticuerpos anti- TV LEGU-1.

Para la obtención de anticuerpos policlonales contra la TV LEGU-1 se seleccionó un dodecapéptido específico de TV LEGU-1, se acopló a MAP 8 (Invitrogen®) y se inmunizaron cinco ratones Balb/c machos de cuatro semanas de edad, acorde un esquema de inmunización. Los sueros anti TV LEGU-1 se probaron y titularon mediante ensayos de dot-blot.

Identificación y localización de de la TV LEGU-1 en *T. vaginalis*

Con los sueros hiperinmunes anti TV LEGU-1 se realizaron ensayos de Western blot e Inmunocitoquímica.

RESULTADOS

Identificación de los genes de legumaínas en el genoma de *T. vaginalis*

En el genoma de *T. vaginalis* existen diez genes de tipo legumaína, entre los que se incluyen los dos genes reportados por León Félix y col., (2004) *tvlegu-1* y *tvlegu-2*, cuatro más identificados a partir de cDNA por el Dr. Tang, *tvlegu-3* a *tvlegu-6* (comunicación personal), así como otros cuatro genes, cuya nomenclatura se continuó en orden ascendente *tvlegu-7 – tvlegu-10*. El tamaño de estos genes oscila entre 1137 y 1248 pb, los cuales codifican para proteinasas inmaduras de entre 378 a 405 aminoácidos, con pesos moleculares teóricos que oscilan entre 43.4 y 47.2 kDa y puntos isoeléctricos entre 5.4 y 6.9. Las legumaínas 3, 4, 6, 7 y 9 poseen posibles señales transmembranales, todas las legumaínas tienen su diada catalítica H-C, exceptuando la legumaína 9, por lo que si se transcribe y traduce probablemente no sea funcional.

La legumaína TV LEGU-1 posee nueve sitios putativos de O-glicosilación en los residuos: 102-T, 108-T, 189-S, 190-S, 197-S, 235-T, 283-T, 290-S y 291-T, posee seis sitios teóricos de fosforilación en Protein Cinasa C y Casein Cinasa II , en los residuos: 72-TLK, 82-SSK, 103-TLK y 107-TTSD; 258-TPNE, 319-SIAE, respectivamente. Tiene seis sitios de miristilación en las posiciones: 126-GVPDGV, 160-GIEACY, 167-GSVAAV, 200-GVYLSN, 224-GNLYTK y 236-GSHVCY. Además, la TV LEGU-1 es una proteína hipotéticamente globular e hidrosoluble, con posible localización externa.

En el alineamiento múltiple de la secuencia de aminoácidos de las diferentes legumaínas de *T. vaginalis* se observó que la región más divergente entre ellas corresponde al extremo carboxilo terminal, de los residuos 257 a 388 en TV LEGU-1 incluyendo una parte de la proteinasa madura y el fragmento carboxilo que se perdería en el procesamiento.

Diseño del péptido sintético de una región divergente de la proteinasa TV LEGU-1 (TV LEGU- 1PS)

Se eligieron doce aminoácidos divergentes de la proteinasa madura TV LEGU-1 que abarca de los residuos 260 al 271 (**NEVVAPKADAKI**), que son únicos para esta legumaína.

El fragmento divergente de doce aminoácidos, bajo la escala Hopp-Woods, predice que el péptido es hidrofílico, potencialmente es inmunogénico y al analizarlo mediante BLAST en el genoma de *T. vaginalis* indica que posee 100% de identidad únicamente con la TV LEGU-1.

Para confirmar que el péptido seleccionado en la proteína se encontraba expuesto, se realizó un modelaje teórico de la proteína en tercera dimensión (3-D), con el programa Loopp version 3.00 basado en el reconocimiento de pliegues dado que a la fecha ninguna legumaína se ha cristalizado. En la estructura teórica de la TV LEGU-1, la diada catalítica (H-C) se encuentra separada por aproximadamente 7.32 Á . Para fines de nuestro trabajo y con la intención de conocer que tan aproximado era el modelo en 3-D a de la TV LEGU-1, se comparó la distancia entre la cisteína e histidina catalítica de la TV LEGU-1 y la diada catalítica de la caspasa-7 (PDB 1K86) que es una CP del clan CD ya cristalizada; obteniendo una distancia de 10.56 Á entre ambos residuos catalíticos.

En la estructura teórica de la TV LEGU-1 el péptido seleccionado NEVVAPKADAKI se localiza expuesto y está localizado del aminoácido 260 al 271 cuya longitud aproximada es de 44.39 Á, con un ángulo de torción de 67.52° en su pliegue.

Titulación de los anticuerpos policlonales de ratón contra la TV LEGU-1.
En la obtención de anticuerpos contra la TV LEGU-1, de los ratones Balb/c inmunizados con el péptido sintético, se obtuvieron diversos sangrados acorde a un cronograma de sangrado y por ensayos de Dot Blot. se confirmó la reactividad de los sueros hiperinmunes hacia el péptido fijado en membranas de nitrocelulosa y hacia extractos citoplásmicos de *T. vaginalis*. El título máximo obtenido en los sueros fue entre 1/300 y 1/600.

Identificación de la TV LEGU-1 en el parásito.
Con el fin de identificar a la TV LEGU-1 en extractos de proteínas totales y de proteinasas de *T. vaginalis* crecidas en concentraciones bajas, normales y altas de hierro, se realizaron ensayos de Western Blot de geles preparativos de poliacrilamida al 9% transferidos a membrana de nitrocelulosa, donde se identificó una banda de proteína de alrededor de 60 kDa siendo de mayor intensidad en alto hierro, que en bajo hierro y únicamente una banda de alrededor de 50 kDa en parásitos crecidos en alto hierro En extractos de proteinasas de parásitos crecidos en alto hierro se observan dos bandas de reconocimiento de 60 y 50 kDa, mientras que en parásitos en bajo hierro solo se observó una banda débil de 30 kDa.

Localización de la TVLEGU-1 en *T. vaginalis*.
Para conocer la localización celular de TV LEGU-1 en parásitos permeabilizados y no permeabilizados, se realizaron ensayos de inmunolocalización mediante la técnica citoquímica de estreptavidina-biotina-peroxidasa (AEC) Como control negativo se utilizó el suero preinmune de ratón como anticuerpo primario, done los parásitos se encuentran teñidos de azul (colorante de contraste). Como control positivo se utilizó suero de conejo anti-CP30, un anticuerpo dirigido contra las CPs de la región de 30 kDa. Todos los parásitos se observaron con un anillo rojo en su superficie.
En parásitos no permeabilizados, crecidos en altas concentraciones de hierro, se observa fuerte positividad rodeando la membrana celular en el 80% de los parásitos, mientras que los parásitos crecidos en bajas concentraciones de hierro, la positividad disminuyó considerablemente (35%), encontrándose tenuemente en forma de parches sobre la membrana plasmática. En parásitos crecidos en altas concentraciones de hierro y permeabilizados se observó positividad homogénea en su interior en el 71% de los mismos. Cuando las tricomonas crecen en concentraciones bajas de hierro se observó escasa positividad (23%) en su interior en forma de puntos. Estos datos muestran que la presencia de la TV LEGU-1 en la superficie de los parásitos aumenta en altas concentraciones de hierro.

DISCUSIÓN

El presente trabajo tuvo como objetivo la identificación y localización de la TV LEGU-1 en *T. vaginalis* y el efecto del hierro en su expresión, para lo cual se diseñó un péptido sintético único de doce aminoácidos (aa) que sirviera de inmunógeno para obtener anticuerpos policlonales específicos que reconozcan a la TV LEGU-1.

El péptido seleccionado para TV LEGU-1 (NEVVAPKADAKI) se eligió por encontrarse dentro de la región carboxilo terminal de la proteinasa madura, lo que permite localizar formas inmaduras y maduras de la proteinasa, además de que cumple con los requerimientos de un péptido expuesto, hidrofílico y antigénico [8] (Harlow y Lane,1988). Para estimar adicionalmente si el péptido seleccionado se encuentra expuesto, se realizó un modelo teórico en 3-D; donde habitualmente se toma como molde la proteína problema cristalizada o algún homologo ya cristalizado que permita predecir de manera confiable la exposición del péptido en la proteína. En nuestro caso no existe ningún homologo cristalizado, por ello se decidió realizar el modelo de TV LEGU-1 en 3-D con el programa Loopp V.3.00, que fragmentó *in silico* a la proteinasa y la reconstruyó con base a fragmentos homólogos de otras proteínas cristalizadas; si bien no podemos saber que tan confiable es el modelo en 3-D de TV LEGU-1, con base en nuestros resultados experimentales podemos recomendar esta estrategia como una herramienta adicional al análisis de Hopp-Woods (basado únicamente en un índice de hidrofilicidad de los residuos de la estructura primaria de la proteína) que permita inferir la localización del péptido seleccionado en proteínas que no hayan sido cristalizadas.

cristalizadas.

El péptido sintético seleccionado, por si solo es insuficiente para desarrollar una respuesta inmune, debido a esto es necesario que se sintetice acoplado a una matriz inerte ramificada (MAP) [9], cuyas ramas contengan la secuencia de aminoácidos elegida (NEVVAPKADAKI). En este caso se eligió un MAP de ocho ramificaciones (MAP-8) que ha mostrado ser efectivo en la generación de respuesta inmune [10,11]. Los anticuerpos anti-TVLEGU-1 probados en membranas de nitrocelulosa conteniendo extractos proteicos totales y de proteinasas de *T. vaginalis* crecidas en condiciones normales y transferidos a membranas de nitrocelulosa reconocieron bandas de ~60 y ~50 kDa. Los pesos moleculares de las proteinasas detectadas por el anticuerpo no coinciden con los esperados para esta proteinasa (con la excepción de los extractos de proteinasas de parásitos crecidos en bajas concentraciones de hierro), cuyo precursor putativo debería de corresponder a una banda de ~42.8 kDa; sin embargo, sabemos que genera una proteinasa madura de ~34 kDa a partir de la cual se obtuvo la secuencia amino-terminal de la TV LEGU-1 [7]. La razón de estas diferencias de pesos puede deberse a que el precursor de esta proteína se encuentre con modificaciones postraduccionales como glicosilaciones y/o fosforilaciones, como ocurre con la legumaína purificada de riñón de cerdo (LPR), que pesa 35 kDa y es detectada, como dos bandas proteicas de 57 y 46 kDa ; y en los extractos celulares al ser tratados con glicosidasas y en condiciones de activación (24 h a pH 4.5) se identifican las dos bandas antes mencionadas y una tercera banda de procesamiento de 36 kDa [12], lo que sugiere que los pesos por arriba de lo esperado en la TV LEGU-1, son ocasionados por modificaciones

postraduccionales. Asimismo una legumaína de riñón, hígado y testículo de rata que pesan 34 kDa, se han identificado como dos bandas de proteína de 59 y 55 kDa [13]. Con base en estos reportes, los datos obtenidos con el anticuerpo anti-péptido sintético específico de la TV LEGU-1 son consistentes con otras legumaínas y sugieren que la TV LEGU-1 se encuentra glicosilada en *T. vaginalis* y las diferentes bandas de proteína detectadas por el anticuerpo podrían corresponder a diferentes etapas de procesamiento de la proteína.

El hecho de encontrar mayor reactividad en la inmunolocalización de la TVLEGU-1 en parásitos crecidos en alto hierro concuerda con lo observado en los ensayos de Western Blot donde también hay mayor intensidad de reconocimiento de las bandas protéicas en extractos de parásitos crecidos en alto hierro. similar a la expresión de las adhesinas de superficie en *T. vaginalis* que se expresan más en presencia de alto hierro [14,15]. Altas concentraciones de hierro favorecen la adhesión del parásito y a su vez la adhesión promueve la expresión de múltiples genes en *T. vaginalis* [16]; lo anterior puede ser una explicación del comportamiento a nivel de expresión de la TVLEGU-1 y debido a que la TVLEGU-1 fue localizada de forma activa en la región de 30 kDa [7] y esta región se encuentra relacionada con la citoadherencia del parásito con la célula blanco, posiblemente la TVLEGU-1 participa en la adhesión.

CONCLUSIONES

A) El péptido sintético NEVVAPKADAKI específico para TVLEGU-1 fue eficaz para desencadenar una respuesta inmune en ratones, obteniéndose anticuerpos policlonales específicos contra la TV LEGU-1, que se localiza en la superficie de *T. vaginalis*.

B) Las bandas de reconocimiento de la TVLEGU-1, sugieren la presencia en el parásito de una proteinasa inmadura de 60 kDa, un intermediario de 50 kDa y una proteinasa madura de 30 kDa, posiblemente glicosiladas que fueron detectadas con el anticuerpo anti-péptido sintético.

C) La TVLEGU-1 se regula positivamente por hierro en *T. vaginalis* a nivel de expresión de superficie, de cantidad de proteínas y de transcrito.

D) La TVLEGU-1 de *T. vaginalis*, entonces es una CP de superficie que se regula positivamente por hierro como las adhesinas.

E) El diseño de péptidos sintéticos específicos de algún organismo acoplados a una matriz inmunogénica nos permiten producir anticuerpos específicos que sirven para realizar ensayos en inmunodiagnóstico e investigación de enfermedades en diferentes especies animales.

REFERENCIAS

1.- Ndongmo C. B., Switzer W. M., Pau C. P., Zeh C., Schaefer A., Pieniazek D., Folks T. M.,. Kalish M. L. 2004. New Multiple Antigenic Peptide-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Simian Immunodeficiency Virus Infection in Nonhuman Primates and Humans. J. Clin. Microbiol. 42, 5161–169.

2.- Kim P., Pau C.-P. 2001. Comparing tandem repeats and multiple antigenic peptides as the antigens to detect antibodies by enzyme immunoassay. J. Immunol. Methods.257, 51-54.

3.- Olive C., Toth I., Jackson D. 2001. Technological Advances in Antigen Delivery and Synthetic Peptide Vaccine Developmental Strategies. Mini Rev Med Chem.1,429-438.

4.- Ryu D. D. Y., Nam D.-H. 2000. Recent Progress in Biomolecular Engineering. Biotechnol. Prog. 16, 2-16.

5.-Bowden F.J., Garnett G.P. 2000. *Trichomonas vaginalis* epidemiology: parameterising and analysis a model of treatment interventions. Sex. Trans. Inf. 76, 248-256.

6.- Swygard H., Seña A.C., Hobbs M.M., Cohen M.S. 2003. Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management. Sex Trans Infect. 80, 91-95.

7.- León-Félix J., Ortega-López J., Orozco Solís R., Arroyo R. 2004. Two novel asparaginyl endopeptidase–like cysteine proteinases from the protist *Trichomonas vaginalis*: their evolutionary relationship within the clan CD cysteine proteinases. Gene 335, 25-35.

8.- Harlow E., Lane D. 1988. Inmunizations. In: Antibodies a laboratory manual. (Ed.Cold Spring Harbor Laboratory), pp. 72-78.

9.- Tam J.P. 1988. Synthetic peptide vaccine design: Synthesis and properties of a high-density multiple antigenic peptide system. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 85, 5409-5413.

10.- Geysen H.M., Meloent R.H., Bartelingt J.S. 1984. Use of peptide synthesis to probe viral antigens for epitopes to a resolution of a single amino acid. Proc. Nati. Acad. Sci. USA. 81, 3998-4002.

11.- Posnett N.D., Helen McGrath H., Tam J.P. 1988. A Novel Method for Producing Anti-peptide Antibodies. The Journal of Biological Chemistry. 263, 1719-1725.

12.- Chen J.M., Fortunato M., Barret A.J. 2000. Activation of human prolegumain by cleavage at a C-terminal asparagines residue. Biochem. J. 352, 327-334.

13.- Yamane T., Takeuchi K., Yamamoto Y., Li Y-H., Fujiwara M., Nishi K., Takahashi S., Ohkubo I. 2002. Legumain from bovine kidney: its purification, molecular cloning, immunohistochemical localization and degradation of annexin II and vitamin D-binding protein. Biochimica et Biophysica Acta. 36588, 1-13.

14.- Lehker, M.W., Arroyo, R., Alderete, J.F. 1991.The regulation by iron of the synthesis of adhesins and cytoadherence levels in the protozoan *Trichomonas vaginalis*. J. Exp. Med. 174, 311-318.

15.- García A.F., Chang TH., Benchimol M., Klumpp D.J., Lehker M.W., Alderete J.F. 2003. Iron and contact with host cells induce expression of adhesions on surface of *Trichomonas vaginalis*. Mol. Micro. 47(5), 1207-1224.

16.- Kucknoor A.S., Mundodi V., Alderete J.F. 2005. Adherence to human vaginal epithelial cells signals for increased expression of Trichomonas vaginalis genes.Infect Immun.73, 6472-6478.

UTILIDAD DE LA BIOPSIA POR ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA EN HÍGADO, EN EL HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO.

Miriam Damián Sandoval[1], Reynaldo Gurrola Quezada[2], Jesús Aguirre García[3] y Patricia Alonso de Ruiz[1]
1 División de Estudios Superiores e Investigación, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).2 Laboratorio de Citología, Unidad de Anatomía Patológica,Hospital General de México, Secretaría de Salud. 3 Unidad de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, UNAM y Hospital General de México, Secretaría de Salud.

RESUMEN
Introducción: La biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF) ha sido empleada con éxito para establecer el diagnóstico de lesiones hepáticas nodulares de diversos tipos. Su uso es habitual y generalizado. El citopatólogo debe contar con conocimiento y experiencia, de acuerdo a los criterios diagnósticos, los cuales ya están bien establecidos, mismos que se pueden emplear en la práctica de citología veterinaria.
Objetivo: Conocer la utilidad de la BAAF para el diagnóstico de lesiones hepáticas nodulares en el Hospital General de México.
Material y métodos: Fueron estudiados 39 casos, excluyéndose seis porque los frotis mostraron material inadecuado para diagnóstico. Éstos se obtuvieron del Archivo de Citopatología de un período de 21 años, los cuales contaban con estudio histopatológico y/o datos clínicos de seguimiento. Participaron dos observadores para la revisión de casos citológicos y el experto en patología hepática para la revisión del estudio histopatológico (estándar de oro).
Resultados: De los 33 casos, 21 (63.6%) fueron malignos y 12 (36.3%) resultaron con lesiones benignas con confirmación histológica, un (3%) caso fue falso positivo y uno (3%) fue falso negativo. Se obtuvo sensibilidad de 95.2% y especificidad de 91.6%, valor predictivo positivo 95.2% y valor predictivo negativo de 91.6%. La exactitud diagnóstica fue 93.9%.
Conclusiones: La precisión diagnóstica se basa en muestras adecuadas, criterios morfológicos bien aplicados y experiencia del citopatólogo. Se debe tener precaución en la evaluación de lesiones metastásicas y procesos regenerativos que se sobreponen en criterios morfológicos del hepatocarcinoma, en algunos casos se deben utilizar marcadores tumorales.

Palabras Clave: Hígado, biopsia aspiración con aguja fina.

UTILITY OF THE BIOPSY BY ASPIRATION WITH FINE NEEDLE IN LIVER, AT THE GENERAL HOSPITAL OF MEXICO.

ABSTRACT

Fine needle aspiration biopsy has been used with success to diagnose liver tumors of

different types. Its use is now common and widespread. The cytopathologist must count on knowledge and experience, according to the criteria diagnostics, which already are well established and can be used actually at the practice of veterinary cytology. Objective: To learn the utility of liver fine needle aspiration biopsy at the Mexico City General Hospital. Method: 39 cases with clinical follow up or histological confirmation were select from the files of the Pathology Unit of the Mexico City General Hospital over a 21 years period. Six cases were excluded because the smears were inadequate. Two cytopathologists reviewed the smears and liver pathology expert reviewed the tissue sections (gold standard. Results: 21 (63.6%) cases were malignant, 12 (36.3%) cases were benign. One case was a false positive and 1 case was a false negative. Sensitivity and specificity obtained were 95.2% and 91.6% respectively, with PPV and PNV of 95.2% and 91.6%. Diagnostic accuracy was 93.9%. Conclusions: Diagnostic accuracy is based on adequated smears, strict morphologic criteria and reviewer´s experience. Caution must been taken when evaluating nodular regenerative lesions and metastatic tumors which can be confused with liver carcinoma. Tumor markers are needed in some cases.

Key words: Liver, fine needle aspiration biopsy.

INTRODUCCIÒN

La biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF) ha sido empleada con éxito para establecer el diagnóstico de lesiones neoplásicas benignas y malignas, así como de lesiones inflamatorias, en prácticamente todos los órganos. Este procedimiento es seguro, exacto y puede establecer un diagnóstico sin necesidad de una intervención quirúrgica o un procedimiento invasivo, como puede ser la obtención de una biopsia tradicional. El ultrasonido, la tomografía computarizada y la resonancia magnética, así como la angiografía informan sobre la ubicación y tamaño de la lesión y guían el procedimiento.[1,2]

Además, esta técnica es de bajo costo y en hígado su aplicación es definitiva en lesiones nodulares.[1]

Precisamente por estas cualidades un gran numero de centros hospitalarios la utilizan rutinariamente.[2,3] Desgraciadamente, en nuestro hospital su uso es todavía limitado y en la práctica veterinaria es poco frecuente, esto se debe a que las patologías nodulares, aunque son diversas, en animales se reportan de manera escasa.

Es necesario señalar que la obtención adecuada de la muestra, sobre todo si la lesión es pequeña, así como algunos artificios producidos durante su manejo técnico, la elaboración del frotis y su fijación inmediata y correcta, son limitantes del procedimiento, por lo que deben cumplirse todas las indicaciones para obtener un espécimen óptimo.

La evaluación del espécimen debe realizarse con conocimientos y experiencia.[2] Las contraindicaciones son pocas. Antes de proceder a la intervención, se debe contar con pruebas de laboratorio ya que no debe realizarse en enfermos con trastornos de la coagulación y, si se sospechan lesiones vasculares, deben extremarse precauciones. Se debe evaluar el tamaño y la

localización de la lesión y además, de manera importante, se debe contar con la plena colaboración del paciente. [4,5]

El hígado es un órgano accesible, debido a ello, la BAAF está indicada en lesiones nodulares de cualquier naturaleza, ya sea neoplásica o infecciosa. Una limitante es que no aporta información sobre la arquitectura del hígado, por lo que su utilidad en lesiones difusas, como la hepatitis y la cirrosis, es escasa.

Dentro de la patología inflamatoria susceptible de ser diagnosticada se incluyen abscesos piógenos, amibianos, colangíticos y parasitarios no amibianos. Cuando se sospecha la existencia de un quiste hidatídico, repetidamente se señala en la literatura,[1,2] que el procedimiento puede tener el riesgo de lesionar la pared del quiste, lo que podría propiciar un choque anafiláctico; sin embargo, hay numerosos artículos en los que se reporta el diagnóstico de esta lesión mediante BAAF ya que la identificación del parásito es extremadamente sencilla al observarse los ganchos característicos de este céstodo; no se informan complicaciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Del archivo del laboratorio de citopatología, de la Unidad Patología en el Hospital General de México, fueron seleccionados los casos con BAAF del hígado guiada por estudio de tomografía en el lapso comprendido entre 1983 a 2004, que contaban con estudio histopatológico y/o datos clínicos de seguimiento.

Se encontraron 39 casos, seis de los cuales fueron excluidos ya que el material era muy escaso. Se efectuó una evaluación del material citológico por dos observadores independientes y de forma ciega; el material de biopsia que se considero estándar de oro fue revisado por un experto en patología hepática. En vista de la cantidad de nuestra casuística, no se tomó el calculó de la concordancia interobservadores.

Se determinó la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo y exactitud diagnóstica.[11]

RESULTADOS

De los 33 casos útiles para este estudio, 22 se presentaron en mujeres y 11 en hombres. La edad estuvo comprendida entre la de un recién nacido y los 71 años (promedio de 35.5 años).

De los 33 casos, útiles, 12 correspondieron a lesiones benignas, el resto a patología maligna, tanto primaria como a lesiones metastásicas *(Cuadro I)*.

El diagnóstico de las lesiones benignas se indica en el *cuadro II.* (12 casos, 36.3 %).

En el grupo de las lesiones benignas, se efectuó un diagnóstico equivocado en un caso, correspondió a un absceso en el que se observaron escasos grupos celulares mal preservados y con autólisis, células erróneamente interpretadas como neoplásicas, lo que constituyó un falso positivo (3%).

En los restantes 11 casos, la evaluación correcta de este material, constituido fundamentalmente por exudado inflamatorio y necrosis, descartó la presencia de lesión maligna.

El diagnóstico más sencillo fue el efectuado en el caso del quiste parasitario, en el cuál se identificaron perfectamente conservados los ganchos del equinococo.

En el caso del hemangioma, el dato clínico y la obtención de sangre en abundancia guiaron el diagnóstico definitivo. En otros tres casos de absceso piógeno o en vías de cicatrización se observó material purulento, fragmentos de tejido conjuntivo, algunos conductillos y linfocitos.

Veintiún (63.6%) casos correspondieron a lesiones malignas. Este grupo estuvo constituido por neoplasias heterogéneas, como tumores metastásicos de tipo adenocarcinoma, tumores neuroendocrinos, tumores germinales, carcinoma de células escamosas, un sarcoma y hepatocarcinomas *(Cuadro III)*.

En los nueve adenocarcinomas metastáticos, las localizaciones del tumor primario fueron: tres de páncreas, dos de vesícula biliar, y cuatro de sitio desconocido. El carcinoma epidermoide metastásico fue primario de cuello uterino. De los tres tumores neuroendocrinos, uno se originó en glándula suprarrenal, otro fue carcinoide de intestino y el otro en vesícula biliar. Hubo dos tumores germinales y un mesenquimatoso, y se contaron cinco hepatocarcinomas.

En el grupo de los tumores epiteliales metastásicos (incluyendo los tres neuroendocrinos), casi todos fueron correctamente diagnosticados ya que en el examen citológico se reconocieron como malignos; sin embargo, no se señaló correctamente su origen histológico porque se confundieron con hepatocarcinomas: dos casos que correspondían a neoplasias malignas glandulares, en el resto se señaló la variedad histológica correcta.

En un caso que histológicamente correspondió a adenocarcinoma, debido a la necrosis no se reconocieron las células malignas, por lo que fue clasificado como un falso negativo (3%).

De los cinco tumores primarios de hígado, todos se clasificaron citológicamente como malignos; tres de ellos se identificaron correctamente como hepatocarcinomas, los dos restantes pertenecían a la variedad poco diferenciada, por lo que se confundieron en citología con adenocarcinomas metastásicos.

Los dos tumores germinales fueron diagnosticados correctamente, incluso por su tipo histológico; uno correspondió a un tumor germinal mixto, y el otro a un coriocarcinoma, claramente caracterisada su morfología.

Los resultados globales de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, así como exactitud diagnóstica se resumen en el *Cuadro IV.*

DISCUSIÓN

La BAAF de órganos profundos es un procedimiento de diagnóstico que se ha desarrollado de forma considerable en los últimos años y paralelamente al desarrollo de las técnicas de imagen.[12] Su indicación precisa es en las lesiones nodulares del hígado.[1-3]

Lo más importante en el diagnóstico de lesiones nodulares hepáticas es establecer si la neoplasia es primaria o metastásica, debido a que el tratamiento y pronóstico no es igual en cada uno de ellos.[13,15-18.]

La patología hepática es diversa y presenta patrones morfológicos heterogéneos, lo que en ocasiones amerita la utilización de estudios especiales

como técnicas de inmunohistoquímica y tinciones histoquímicas que permiten identificar con exactitud el tipo histológico, además de la alfa-fetoproteína. Existen marcadores como el CD10 y CD34 que en combinación son útiles para distinguir tumores primarios de tumores metastásicos, debido a que tienen una alta sensibilidad y especificidad; el CD34 discrimina a hepatocarcinomas y no a tumores metastáticos.[18]

Sin embargo, en algunos casos los datos morfológicos característicos son determinantes para establecer un diagnóstico certero;[1,2,4] en este trabajo solamente utilizamos la morfología.

Las lesiones malignas más frecuentes en el hígado[1] corresponden a las neoplasias metastásicas (36.3%) y de ellas los tumores epiteliales son los que habitualmente se diseminan a este órgano por vía hematógena. En nuestra casuística hubo 16 lesiones metastásicas, de las cuales nueve correspondieron a adenocarcinoma con tumor primario en páncreas, vesícula biliar e incluso primario no identificado. La gran celularidad, la disposición en grupos tridimensionales o identificar estructuras glandulares e incluso con presencia de moco o queratina son criterios útiles para clasificar a estas neoplasias.[10] Dos casos de adenocarcinoma se confundieron con un tumor primario de hígado.

El único caso de carcinoma cérvico uterino epidermoide con metástasis en hígado fue de muy fácil diagnóstico. El diagnóstico citológico fue fácil en los tres tumores neuroendocrinos originados en glándula suprarrenal, intestino y vesícula biliar. En dos casos su aspecto morfológico fue muy evidente, como la presencia de células aisladas de diversos tamaños con cromatina peculiar en "sal y pimienta".[14] Solamente un caso con mala preservación del material y presencia de conglomerados celulares nos orientó a diagnosticar un hepatocarcinoma.

Hubo dos tumores germinales, un coriocarcinoma y un tumor germinal mixto cuya morfología fue claramente identificable.[17]

Se encontró un tumor mesenquimatoso de alto grado que fue de fácil interpretación.

El diagnóstico citológico de los cinco casos de hepatocarcinoma no fue sencillo. Solamente en los tres casos bien diferenciados, el diagnóstico fue correcto; los dos restantes se fueron mal clasificados ya que se les catalogó como adenocarcinomas. Esta falla se debió a que eran de la variedad poco diferenciada y contenían numerosas células sueltas, sin que formaran ningún patrón especial. Los criterios citológicos útiles en los casos correctamente identificados fueron: celularidad abundante, pleomorfismo nuclear, núcleos desnudos atípicos y macronucléolo. En nuestro material no se observaron los vasos transgresores, ni el patrón trabecular, ni células poliédricas, [5,9] criterios de gran utilidad como se menciona en la literatura.

En los tumores metastáticos, sobre todo de origen glandular o poco diferenciados, la evaluación citológica debe de ser muy cuidadosa ya que en la mayoría de los casos se sobreponen los criterios diagnósticos con hepatocarcinoma moderadamente diferenciado y en ocasiones con hepatocitos en regeneración. Es indispensable tener una historia clínica completa, antecedentes del tumor primario y estudios de gabinete.[10]

En el grupo de lesiones benignas, los datos clínicos son de gran ayuda, en las muestras de lesiones quísticas predominaba el fondo proteináceo y la presencia de macrófagos espumosos.

En los casos de absceso piógeno o en vías de cicatrización, el material estaba constituido fundamentalmente por exudado inflamatorio y necrosis, así como fragmentos de tejido conjuntivo, algunos ductillos y linfocitos. En un caso de absceso piógeno, se realizó un diagnóstico erróneo, al observarse escasos grupos celulares mal preservados y con autólisis; la errónea interpretación de algunos de estos elementos llevó al diagnóstico de células neoplásicas (falso positivo).

El diagnóstico más sencillo fue el efectuado en el caso del quiste parasitario, en el cuál se identificaron perfectamente conservados los ganchos (escólices) del equinococo.[2,4]

En el caso del hemangioma, el dato clínico y la imagen así como la obtención de sangre guiaron hacia el diagnóstico final.

En nuestro material, al igual que lo que ha sido señalado en la literatura, observamos que la buena conservación del espécimen es indispensable para lograr un diagnóstico correcto. Nuestras fallas diagnósticas se debieron a la mala calidad de la muestra. Es por esta razón que la aspiración deberá efectuarse con la participación del patólogo al momento de la toma de la muestra, para evaluar microscópicamente la calidad del material obtenido, como se lleva acabo en la obtención de muestras de tiroides y mama.

Finalmente, los valores obtenidos por ambos observadores fueron: sensibilidad 95.2% y especificidad 91.6%, lo que coincide con otros estudios, que reportan una cifra de 78 al 100% y del 84.3 al 100%, respectivamente, con valores predictivos positivos del 92%.[5,7,8,13]

Ante estos buenos resultados, concluimos que la BAAF de hígado debería utilizarse más frecuentemente en nuestro hospital, así también en la práctica de citología hepática veterinaria, como método de diagnóstico auxiliado por las técnicas de imagen.[1,2,12-14]

La ayuda de los marcadores de inmunohistoquímica deberá utilizarse en material bien conservado y cuando existan dudas al tratar de clasificar la lesión sobre todo neoplásica.

CONCLUSIONES:

La precisión diagnóstica se basa en muestras adecuadas, criterios morfológicos bien aplicados y la experiencia del observador. Mismos que se pueden emplear en la práctica de citología hepática veterinaria.

Se debe tener precaución en la evaluación de lesiones metastásicas y procesos regenerativos, que sobreponen sus criterios diagnósticos, en algunos casos con lesiones malignas primarias.

Si es posible, en casos difíciles se deben utilizar marcadores tumorales y tinciones histoquímicas, que pueden dilucidar el diagnóstico final.

El procedimiento diagnóstico de BAAF en el Hospital General de México es útil al proporcionar un diagnóstico preciso, por lo que debe ser utilizado en todos los pacientes que tengan lesiones hepáticas cuya naturaleza debe dilucidarse.

Cuadro I. Número total de casos.

Tipo de Lesión	*n*
Lesiones benignas	12
Lesiones malignas	21
Total	33

Cuadro II. Lesiones Benignas.

Diagnóstico histológico	*n*
Quistes congénitos	4
Cirrosis	2
Absceso en vías de cicatrización	3
Absceso piógeno	1
Quiste parasitario (hidatídico)	1
Hemangioma	1
Total	12

Cuadro III. Tipos de lesión maligna determinados mediante estudio histopatológico.

Diagnóstico histológico	*n*
Carcinoma metastático	
Adenocarcinoma	9
Epidermoide	1
Tumores neuroendocrinos metastásicos	3
Tumor mesenquimal maligno	1
Tumores germinales metastásicos	
Coriocarcinoma	1
Tumor mixto	1
Hepatocarcinoma	5
Total	21

Cuadro IV. Valores obtenidos en la evaluación de los 33 casos de biopsia por aspiración con aguja fina (BAAF).

	Casos	
	n	*%*
Sensibilidad		95.2
Especificidad		91.6
VPP		95.2
VPN		91.6
Tasa de FN	1	4.7
Tasa de FP	1	8.3
Exactitud diagnóstica		93.9

Abreviaturas: VPP = Valor predictivo positivo.
VPN = Valor predictivo negativo.

FN = Falsos negativos. FP = Falsos positivos

REFERENCIAS

1. Hidvegi DF. Guides to Clinical Aspiration Biopsy. Liver and Pancreas. IGAKU-SHOIN Medical Publishers, New York, N.Y. 1988.
2. Angeles AA. Biopsia por aspiración con aguja delgada. Edit. Angeles. Mexico, 1994.
3. Torres RME. Rodríguez VA, Santiesteban MG. Biopsia por aspiración con aguja fina en la enfermedad neoplásica de hígado. Experiencia de cinco años.
Patología 1995; 33:171-176.
4. De Agustín DAP. Manual de Diagnóstico por punción aspiración con aguja fina. Emilio Muñoz, 15. Madrid, 1996.
5. Bishop PM., Wanda SM. Significance of Endothelium in the Fine-Needle Aspiration Biopsy Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. Diagn Cytopathol 1995; 12:208-214.
6. Tao LC, Ho CS, Mc Loughlin MJ, Evans WK, Donat EE. Cytologic diagnosis of hepatocellular carcinoma by fine-needle aspiration biopsy. Cancer 1984 Feb 1; 53(3):547-52.
7. Cohen MB, Haber MM, Holly EA, Ahn DK, Bottles K, Stoloff AC. Cytologic criteria to distinguish hepatocellular carcinoma from nonneoplastic liver. Am J Clin Pathol. 1991 Feb; 95(2):125-30.
8. Solé M, Calvet X. Value and limitations of cytologic criteria for the diagnosis of hepatocellular carcinoma by FNAB. Acta Cytol 1993; 37:309-316.
9. Silverman FJ, Geisinger RK. Ancillary studies in FNA of liver and pancreas. Diag Cyto 1996;13: 396-409.
10. Dilip KD. Cytodiagnosis of hepatocellular carcinoma in fine-needle aspirates of the liver: Its differentiation from reactive hepatocytes and metastatic adenocarcinoma. Diagn. Cytopathol. 1999; 21:370-377.
11. Romero GH, Faure FA, González GA, García BC. Metodología de la investigación en la salud. McGraw-Hill Interamericana. México, D.F., 1999.
12. Viguer JM. Punción aspiración de hígado y páncreas. Memorias del 1er. Congreso Nacional de la Academia Mexicana de Citopatología. Dic. 5-9, 2004. Monterrey, México.
13. Kuo FY, Chen WJ, Lu SN, Wang JH, Eng HL. Fine needle aspiration cytodiagnosis of liver tumors. Acta Cytol. 2004 Mar-Apr; 48(2):142-8.
14. Crapanzano PJ, Cytology of low-grade endocrine neoplasms involving liver: A series of 24 specimens, including 4 with hepatoid or glandular features. Diagn Cytopathol 2004; 30:31-38.
15. Suen KC. Diagnosis of primary hepatic neoplasms by fine-needle aspiration cytology. Diagn Cytopathol 1986 Apr-Jun;2 (2):99-109
16. Ma KCh, Zarbo JR, Frierson FH, Lee WM. Comparative immunohistochemical study of primary and metastatic carcinomas of the liver. Am J Clin Pathol 1993; 99: 551-557.
17. Balslev E, Francis D, Jacobsen GK: Testicular Germ Cell Tumors: Classification Based on Fine Needle Aspiration Biopsy. Acta Cytol 34: 690-694, 1990.

18. Zimmerman LR, Logani S, Baloch Z. Evaluation of the CD34 and CD10 immunostains using a two-color staining protocol in liver fine needle aspiration biopsies. Diagn Cytopathol 2005; 32: 88-91.

Cas IIgli induce apoptosis *in vitro* en células de carcinoma de colon humano y tiene efectos antiproliferativos *in vivo* en un modelo de xenotransplantación.

Francisco Carvallo Chaigneau[1], Isabel Gracia Mora[2],Ernesto Rodríguez Aguilera[3], Carlos Cedillo Peláez[1], Lucía Macías Rosales[2], Celedonio Gómez Ruiz[2], Vicente Madrid Marina[4], Lena Ruiz Azuara[2], Fernando Constantino Casas[1].

[1]Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México, México DF 04510, México;
[2]Unidad de Experimentación Animal, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF 04510, México;
[3]Departamento de Ciencias Biológicas y de la salud, Universidad Autónoma Metropolitana, México DF 09340, México;
[4]Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca Morelos 62508, México.

RESUMEN

El Nuevo agente quimioterapéutico Cas IIgli fue probado en la línea celular de colon HCT-15 (p53 -/-), tanto *in vitro* como *in viv*o. La exhibición de células en cultivo a concentraciones en incremento de la droga demostró reducir la viabilidad e inducir necrosis y apoptosis de manera dosis dependiente. Asimismo, estudios en ratones desnudos xenotransplantados con HCT-15 verificaron su acción antiproliferativa. En este trabajo mostramos que la Cas IIgli es altamente activo en esta línea celular, lo que la postula como un buen candidato para el tratamiento de tumores de colon refractarios a la quimioterapia.

ABSTRACT

Cas IIgli induce apoptosis *in vitro* in human carcinoma colon cells and exerts antiproliferative effects *in vivo* in a xenotransplantation model

The new chemotherapy agent Cas IIgli was evaluated in the colon cellular line HCT-15 (p53 -/-), *in vitro* and *in vivo*. The exposure of cultured cells to increasing concentrations of the drug demonstrated to reduce the viability and to induce necrosis and apoptosis The studies of HCT-15 xenotransplanted to the nude mouse verified their antiproliferative action. In this work we show that the novel antineoplastic agent Cas IIgli is highly active on this tumor line, setting out as well as a good candidate for the treatment of colon refractory tumors to chemotherapy.

INTRODUCCIÓN

La quimioterapia es y probablemente seguirá siendo por un buen tiempo más, la mejor opción de tratamiento para el cáncer. Es por esta razón que se continúa con la búsqueda de compuestos con potencial anticancerígeno pero que

presenten una baja toxicidad para evitar efectos secundarios graves, así como de menor costo y que no presenten resistencia cruzada.[1]

La mayoría de los agentes quimioterapéuticos inducen tanto necrosis como apoptosis, dependiendo de la dosis. No obstante, a pesar de existir una gran cantidad de blancos intracelulares para los distintos fármacos, muchos de estos agentes inducen apoptosis a través de la activación de unas pocas vías comunes.[2]

Apoptosis o muerte celular programada, se define como un proceso activo de muerte celular mediado por genes, la que cursa con activación de caspasas, mismas que son responsables de producir las alteraciones morfológicas características de este tipo de muerte, como son la formación de vesículas (*blebs*) de membrana y la condensación de cromatina en la periferia de la membrana nuclear en forma de media luna.[3,4,5] Sin embargo, durante la ejecución de este mecanismo de muerte los componentes citoplasmáticos, así como la membrana celular no sufren de mayores alteraciones, salvo por la distribución asimétrica de fosfolípidos de membrana, la que es una característica fundamental en aquellas células cuyos disturbios son incompatibles con su función fisiológica. En etapas tempranas de este mecanismo de muerte, la célula expone fosfatidilserina, la que fisiológicamente será reconocida por glicoproteínas producidas por macrófagos activados, facilitando el reconocimiento de células que cursan con apoptosis.[6] Otro efecto de la activación de caspasas, y tal vez el más grave de ellos, es la escisión de la cromatina en fragmento de 180 a 200 pares de bases.[7] Sin embargo, existe un mecanismo de apoptosis que es independiente a activación de caspasas, que cursa con la formación de fragmentos de 50 a 100 kilobases aunado a todos los cambios morfológicos antes mencionados.[8]

5-Fluorouracilo y oxaliplatino han sido los tratamientos de elección para cáncer avanzado de colon, mostrando limitada actividad en entre el 20 y 30% de los pacientes tratados.[9,10] Por ende, en la búsqueda de nuevos agentes se concibió el uso de drogas con base en metales esenciales como el cobre en compuestos antineoplásicos, apuntando hacia la disminución de los efectos tóxicos colaterales. Ya se demostró que algunos compuestos de esta familia con base en cobre, como Cas IIgli, muestran una gran actividad antiproliferativa en carcinoma ovárico (CH1), leucemia murina (L1210) varios carcinomas cérvico uterinos y en glioma de ratón (C6).[11,12,2] Es por esta razón que se decide llevar a cabo el siguiente estudio en un tumor de colon, el cual busca establecer el efecto antiproliferativo y apoptótico *in vitro* y su actividad *in vivo*. Nuestros datos muestran que Cas IIgli induce apoptosis *in vitro* en células de carcinoma de colon humano, cuya particularidad es la mutación del gen p53. Asimismo, ejerce actividad antineoplásica *in vivo*, al transplantar estas células al ratón desnudo.

MATERIAL Y MÉTODO

Reactivos: Cas IIgli (Peso Molecular=443.9 g/mol)se disolvió en agua estéril (1mg/mL) y se conservó refrigerada en la oscuridad durante una semana. Cis-diamino-dicloro platino (CDDP) (Alpha Aesar, Ward Hill, MA) fue disuelto en agua estéril y utilizado inmediatamente después de preparada.

Células**:** La línea celular HCT-15 fue obtenida del ATCC (American Tissue Culture Collection, Rockville, MD) y mantenidas a 37°C bajo condiciones estériles en

Eagle´s modified medium (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) suplementado con 5% de suero fetal bovino (Sigma Chemical Co.) y 5% de CO_2. Los tratamientos duraron 24 horas con concentraciones en incremento de Cas III-ia (0, 1.25, 2.5, 5.0, 10, 15 µg/mL).

Viabilidad celular**:** Las células HCT-15 fueron sembradas en placas de 96 pozos con las concentraciones en incremento ya mencionadas durante 24 horas y evaluadas como fue descrito por Skehan y col., (1990).[13] Los cultivos se fijaron con ácido tricloroacético y fueron teñidos con sulforrodamina B (Sigma Chemical Co) al 0.4 % (peso/volumen) disuelta en ácido acético al 1%. Las células no fijadas fueron removidad por 4 lavados con ácido acético al 1%. Luego, la proteína teñida se solubilizó con 10 mM de Tris base [tris (hidroximetil) aminometano]. Una vez solubilizada, se determinó la densidad óptica en un lector de placa con una longitud de onda de 564 nm.

Alteraciones morfológicas: Para este fin, las células tratadas bajo los distintos esquemas fueron desprendidas de forma mecánica, lavadas dos veces en PBS, y separadas en dos grupos. Con uno de ellos, se hizo extendido en laminilla y se dejó secar a temperatura ambiente, para luego ser teñidas con Diff Quick (Grupo Hyesa, México DF). El otro grupo fue fijado en glutaraldehído 2.5% (diluida en solución amortiguadora de cacodilatos pH 7.2, 0.1M) por 4 horas a 4°C. Posteriormente, las células fueron post fijadas en tetraóxido de osmio por 1 h e incluidas en resina *Epon*. Se realizaron, cortes ultrafinos de 70 a 80 nm y se contrastaron con acetato de uranilo y con citrato de plomo antes de examinarlas bajo microscopio de transmisión Zeiss EM 900 (Stuttgart, Alemania). Se observaron más de 50 células por tratamiento, describiéndose las alteraciones morfológicas más frecuentes.

Determinación de apoptosis: Se determinó apoptosis con Anexina V por citometría de flujo como fue previamente descrito.[14] El método se basa en la unión de anexina V a fosfatidilserina que se transloca tempranamente desde membrana interna a la externa en células que cursan con apoptosis. Seguido el tratamiento de las células con las dosis ya mencionadas durante 24 horas, éstas fueron cosechadas y centrifugadas dos veces (200 g/5 min) en PBS frío y resuspendidas en 100 µL de buffer de incubación (10 mM HEPES/NaOH pH 7.4, NaCl 140 mM, 5 mM $CaCl_2$). Tras este último lavado, las suspensiones celulares (100 µL) fueron pasadas a nuevos tubos con 5 µL de Annexin-V-Fluos y 10 µL de solución stock de ioduro de propidio (50 µg/mL). Después de 20 minutos de incubación se agregó 400 µL de Buffer HEPES y las muestras fueron analizadas inmediatamente en un citómetro de flujo FACSCalibur (Beckton Dickinson, San Jose, CA) usando excitación de 488 nm, filtro de 515 nm para detección de fluoresceína y un filtro de > 560 nm para detección de yoduro de propidio.

Experimentos in vivo

Actividad antitumoral: Se inocularon 1 x 10^6 células de carcinoma de colon HCT-15 subcutáneamente en el área del flanco izquierdo inferior de 25 ratones desnudos nu/nu (Harlan México, S.A. de C.V.). Se consideró día de inicio de tratamientos (día 0) aquel en el que el tumor midiera 3 mm de diámetro. Los animales fueron distribuidos al azar en los distintos grupos: Testigo (n=10); Cas IIgli 0.5 mg/kg (n=5) en dosis diaria por 21 días; Cas IIgli 1.0 mg/kg (n=5) cada 4

días por 6 dosis; Cisplatino 4 mg/kg (n=5) cada 7 días por 4 dosis. Los animales fueron pesados y los tumores medidos a lo largo y ancho usando calibradores Vernier diariamente. Usando una fórmula establecida, las medidas fueron convertidas en tamaño tumoral (cm^3).

$$[\text{largo (cm)} \times \text{ancho}^2 \text{ (cm)} \times \pi] / 6$$

Usando las medias de los volúmenes relativos tumorales (VRT) (Vol. día X / Vol. día 0) x 100 para cada grupo, se calculó la función del fármaco como posible antitumoral como sigue:

$$(\text{VRT tratado} / \text{VRT testigo}) \times 100$$

Este índice debe ser menor a 42 para considerar el fármaco con actividad antineoplásica.

Asimismo, se calculó el retraso del crecimiento específico considerando la media de los días que demora el tumor en doblar su tamaño (D), en los distintos grupos como sigue:

$$(D \text{ tratado} - D \text{ testigo}) / D \text{ testigo}$$

Para considerar que el fármaco posee potencial antineoplásico, este índice debe ser menor o igual a 2.

El experimento terminó 24 horas después de la última aplicación del fármaco en cada grupo, día en que los ratones fueron eutanasiados en una cámara de CO_2. Se realizó necropsia a cada uno de los animales, obteniéndose muestras de hígado, riñón, corazón, pulmón, bazo, intestino, cerebro y la mitad del tumor e inmediatamente fueron inmersas en una solución de formalina al 10% amortiguada a pH 7.4 por un tiempo mínimo de 24 horas. Las muestras se procesaron mediante las técnicas histológicas de rutina y se tiñeron con hematoxilina-eosina (H-E). El índice mitótico fue determinado por la media de mitosis atípicas en 10 campos de gran aumento.

El porcentaje de pérdida de peso, como indicador de toxicidad, fue calculado para cada animal como sigue

$$[(\text{peso al día 21}/\text{peso al día 0})-1] \times 100$$

Análisis estadístico: Todos los estudios *in vitro* fueron realizados en triplicado. Los datos obtenidos desde los experimentos *in vitro* fueron analizados con la prueba no paramétrica de Kruskal-Walis. Los datos obtenidos de los estudios *in vivo* fueron analizados con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con excepción del porcentaje de pérdida de peso, que fue evaluado por análisis de varianza seguida de Tukey.

RESULTADOS

Cas IIgli inhibe la viabilidad celular de manera dosis dependiente e induce apoptosis y oncosis.

Los tratamientos con Cas IIgli indujeron inhibición del crecimiento y cambios morfológicos de una manera dosis dependiente. La figura A muestra que la viabilidad celular disminuyó de manera dosis dependiente y se hizo estadísticamente significativo a partir de la primera dosis (P=0.039). Sin embargo, al exponer las células a 10 mM/L de N-acetil cisteína (captador de especies reactivas de oxígeno) 2 horas previas al tratamiento, ésta demostró inhibir la

muerte celular en un 50%, existiendo diferencia estadísticamente significativa entre las viabilidad con y sin NAC con la dosis de 1.25 µg/mL (P=0.043).
La formación de agregados cromatínicos en la membrana nuclear junto con la formación de cuerpos apoptóticos, son las características más relevantes en la inducción de apoptosis; la observación de organelos y células tumefactas es característico de oncosis.[15] Para investigar si la disminución en la viabilidad celular era debida a apoptosis, oncosis o ambos mecanismos, se realizaron estudios citológicos y ultraestructurales en búsqueda de alteraciones asociadas a estos tipos de muerte. En la citología, unas células exhibieron núcleos con cromatina en grumos y menor tamaño de la célula. También se observaron células tumefactas, con pérdida de la estructura nuclear (Figura B). Ultraestructuralmente las células HCT-15 sin tratamiento son pleomórficas, de núcleo redondo a oval, muchas veces identado, con la presencia de estructuras remanentes de vellosidades en la superficie celular (Figura C). Con este fármaco, a partir de la primera dosis, se aprecian muchas células tumefactas, citoplasma vacuolado y mitocondrias tumefactas con pérdida de estructura de las crestas mitocondriales, más pérdida de la morfología celular y de la membrana plasmática, lo que es compatible con oncosis y necrosis (Figura D). En otras células, los núcleos muestran cromatina adosada a la membrana nuclear interna (Figura E) formando una alteración conocida como medialuna nuclear, cambio característico de apoptosis. Las alteraciones antes mencionadas se hacen más evidentes a medida que aumenta la dosis de tratamiento.
Una de las características del mecanismo de apoptosis es la exposición en la superficie celular de fosfatidilserina, fosfolípido que sólo puede ser encontrado en la cara interna de la membrana celular intacta y que es expuesta en la cara externa donde puede ser detectado por la unión selectiva de Anexina V.[14] El tratamiento con Cas IIgli resultó en disminución de la viabilidad (P=0.049) e inducción de apoptosis (P=0.049) a partir de la primera dosis utilizada (Figura F).

Con estos datos se puede concluir que Cas IIgli disminuyen la viabilidad de manera dosis dependiente y que apoptosis y oncosis son mecanismos involucrados en la inducción de muerte por este fármaco.

Cas IIgli posee actividad antineoplásica in vivo a través de la inhibición de la proliferación.

Para determinar si Cas IIgli ejercía acción antitumoral, se procedió a analizar los volúmenes relativos tumorales (VRT), la función antitumoral, índice mitótico, los días en doblar el tamaño y la inhibición específica del crecimiento (Cuadro 1), El análisis de VRT reveló que los tumores de los animales tratados al día 21 crecieron más lentamente de una forma dosis dependiente, siendo la dosis de Cas IIgli 1 mg/kg en esquema qd 4x6, el único grupo que demostró inhibir estadísticamente el crecimiento tumoral (P=0.01) con relación al testigo (Cuadro 1). Con el análisis de los días que demora el tumor en doblar de tamaño, sólo aquellos animales tratados con Cas-IIgli 1.0 mg/kg evidenciaron retardar estadísticamente el crecimiento tumoral (P=0.009). El mismo comportamiento se observó al analizar el índice mitótico, mismo que disminuyó de una forma significativa hasta en un 50 % con relación al grupo testigo en el mismo grupo (P=0.006). Con respecto al retraso específico del crecimiento con respecto al testigo, el único grupo que alcanzó el requerimiento (igual o mayor a dos) fue

aquel tratado con Cas IIgli 1.0 mg/kg. No obstante, los tumores fueron negativos a la prueba de TUNEL. Además, no se observaron muertes asociadas a la aplicación del fármaco durante el período de tratamiento.
Con respecto al peso de los animales, como indicador de toxicidad, el único grupo que demostró disminuir de peso de manera estadísticamente significativa fue CDDP (cuadro 1). A la necropsia se observaron ligeras adherencias peritoneales entre las asas intestinales en los animales tratados con Cas IIgli 1.0 mg/kg (datos no mostrados). En el análisis histológico, se observó moderada fibrina y la presencia de macrófagos y linfocitos entre las asas intestinales (datos no mostrados). Con estos datos podemos concluir que Cas IIgli ejerce actividad antineoplásica a través de inhibición de la proliferación y que en la vía de aplicación utilizada, este fármaco ejerce un efecto irritativo crónico en la serosa peritoneal, de manera dosis dependiente.

DISCUSIÓN

La mayoría de las drogas antineoplásicas son capaces de inducir apoptosis. Dentro de éstas, se encuentran las drogas que contienen centro metálico, como CDDP. En el presente estudio se muestra una actividad apoptótica contundente *in vitro* sobre la línea celular de colon HCT-15 de un compuesto antineoplásico con base de cobre. Los hallazgos que sustentan esto son: 1) la disminución de la viabilidad de manera dosis dependiente (Figura A), hallazgo que se comprueba con los cambios morfológicos citológicos y ultraestructurales (Figuras B, C, D, E), y la exposición de fosfatidilserina evaluada por citometría de flujo (Figura F).
Se sabe que la inducción de apoptosis por agentes quimioterapéuticos es una forma bien establecida de muerte celular en células transformadas. Varios tipos de estrés inducen apoptosis a través de la vía intrínseca, lo que envuelve la liberación de citocromo c desde mitocondria, el que se une a Apaf 1 (*apoptotic protease activating factor 1*) y activa caspasa 9.[16] El supresor tumoral p53 tiene un papel esencial en la señalización de apoptosis, ya que regula la expresión de múltiples proteínas inductoras de apoptosis, como bax, puma, noxa y p53AIP1.[17] Sin embargo, el status de p53 en las células HCT-15 es defectuoso[18] por lo que se postula su mecanismo de acción a través de la producción de especies reactivas de oxígeno (Figura A) y daño mitocondrial, la que puede iniciar apoptosis de una forma dependiente e independiente de caspasas y estar también, relacionados con la exposición de fosfatidilserina.[19] Así mismo, cabe la posibilidad de la activación de otros mediadores transcripcionales, como p73.[20]
La administración de las distintas dosis de Cas IIgli *in vivo* demostraron disminuir estadísticamente y dosis dependiente el volumen relativo tumoral, índice mitótico y por ende, aumentar los días en que el tumor dobla su tamaño. El único fármaco que alcanzó los requerimientos internacionales de retraso específico de crecimiento y que mostró actividad antitumoral sin tener efectos negativos en el peso del animal, fue Cas IIgli en dosis de 1.0 mg/kg en esquema qd4x7. Con estos datos se puede correlacionar el efecto *in vitro* con el efecto *in vivo.* Sin embargo, una población celular adquiere alteraciones genéticas en forma desproporcionada, no respondiendo todas células de igual forma frente a un estímulo.[21] Aparte, se debe considerar el efecto irritativo crónico ejercida por el

fármaco por la vía intraperitoneal y la influencia de las células del estroma tumoral, las que alteran el microambiente y la progresión de carcinomas.[22]

Nuestros resultados indican que Cas IIgli es una opción prometedora contra carcinoma de colon. Cas IIgli mostró gran actividad *in vitro* e *in vivo* y baja toxicidad *in vivo*, por lo que sería un gran avance para establecer la fase 1 clínica en humanos.

AGRADECIMIENTOS

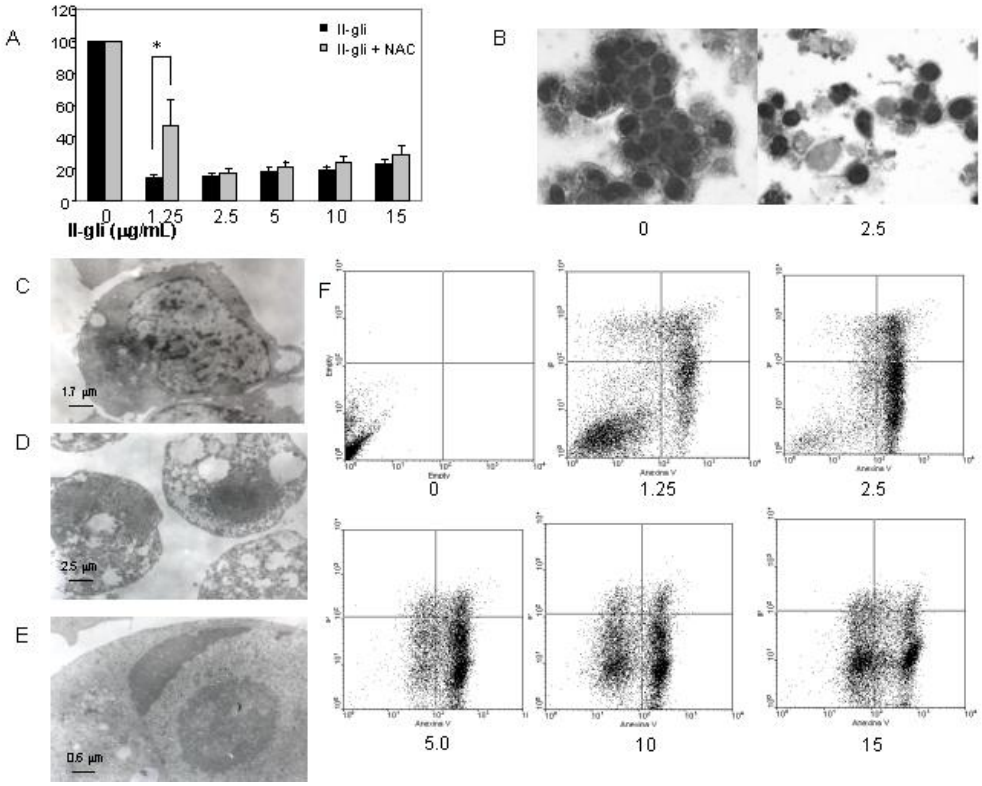
Se agradece el apoyo otorgado por el proyecto sectorial CONACYT-2002-SALUD-C01-7677 y CONACYT U-41997-MA1, por la Dirección General de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México para la realización de este trabajo. Se agradece también a María Elena Gómez Bravo por la síntesis de la Cas IIgli y a Emma Serrano Sánchez por elaboración del material fotográfico.

REFERENCIAS

1. Pratt W, Ruddon R W. "The cancer problem" En: The anticancer drugs, New York: Oxford University Press, pp. 3-11, 1979.
2. Trejo-Solís C., Palencia-Hernández G., Zúñiga-Sánchez S., Rodríguez-Ropón A., Osorio-Rico L., Sánchez-Torres L, Gracia-Mora I., Márquez-Rosado L., Sánchez García A., Moreno-García M., Cruz-Salgado A., Bravo-Gómez M.E., Ruiz-Ramírez L., Rodríguez-Enríquez S, Sotelo-Morales J. Cas IIgli induces apoptosis in glioma C6 in vitro and in vivo through caspase-dependent and caspase-independent mechanisms . *Neoplasia* (2005) 7:563-574.
3. Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytology* (1980) 68:251–306.
4. Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. *Nature* (1992) 356: 397-400.
5. Steller H. Mechanisms and genes of cell suicide. *Science* (1995) 267:1445–449.
6. Hanayama R, Tanaka M, Miwa A, Shinohara A, Iwamatsu A, Nagata S. Identification of a factor that links apoptotic cells to phagocytes. *Nature* (2002) 417:182-187
7. Zhang J, Xu M. Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis. *Trends in Cell Biology* (2001) 12:84-89.
8. Daugas E, Susin S, Zamzami M, Ferri K, Ironopoulou T, Larochette N, Prévost MC, Leber B, Andrews D, Penninger J, Kroemer G. Mitochondrio-nuclear tanslocation of AIF in apoptosis and necrosis. *Faseb J* (2000) 14:729–739.
9. International Multicentre Pooled Analysis of Colon Cancer Trials (IMPACT) investigators. Efficacy of adjuvant fluorouracil and folinic acid in colon cancer. *Lancet* (1995) 345:939-944
10. Cvitkovic E, Bekradda M. Oxaliplatin: a new therapeutic option in colorectal cancer. *Semin Oncol* (1999) 26:647-662.
11. De Vizcaya-Ruiz A, Rivero-Muller L, Ruiz-Ramirez L, Kass GEN, Kelland LR, Orr RM, Dobrota M. Induction of apoptosis by a novel Copper-based anticancer compound, Casiopeina II, in L1210 murine Leukaemia and CH1 human ovarian carcinoma cells. *Toxicol in vitro* (2000)14:1-5.

12. Gracia-Mora I, Ruiz-Ramírez L, Tinoco-Méndez M, Márquez-Quiñones A, Romero-De Lira M, Marín-Hernández A, Macías-Rosales M, Bravo-Gomez ME. Knight´s move in the periodic table, from copper to platinum, novel antitumor mixed chelate copper compounds, casiopeinas, evaluated by an in vitro human and murine cancer cell line panel. *Metal Based Drug* (2001) 8:19-28.
13. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bockesch H, Kenney S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Can Inst* (1990) 82:1107-1112.
14. Vermes I, Haanen C, Steffens-Nakken H, Reutelingsperger C. A novel assay for apoptosis. Flow cytometrix detection of phosphatidylserine on early apoptotic cells using fluorescein labeled Annexin V. *J Immunol Methods* (1995) 184:39-51.
15. Ziegler U, Gloscurth P. Morphological features of cell death. *News Physiol Sci* (2004) 19:124-128.
16. Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* (1999)15:269-290.
17. Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. *Oncogene* (2003) 22:9030-9040
18. Mashima T, Oh-hara T, Sato S, Mochizuki M, Sugimoto Y, Yamazaki K, Hamada J, Tada M, Moriuchi T, Ishikawa Y, Kato Y, Tomoda H, yamori T, Tsuruo T. p-53 defective tumors with a functional apoptosome-mediated pathway: A new therapeutic target. *J Natl Cancer Inst* (2005) 97:765-777.
19. Ferraro-Peyret C, Quemeneur L, Flacher M, revillard JP, Genestier L. Caspase-idependent phosphatidilserine exposure during apoptosis of primary T Lymphocytes. *J Immunol* (2002) 169:4805-4810.
20. Ramadan S, Terrinoni A, Catani MV, Sayan E, Knight RA, Mueller M, Krammer PH, Melino G, Candi E. p73 induces apoptosis by different mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun* (2005) 331:713-717.
21. Igney F, Krammer PH. Death and anti death: Tumour resistance to apoptosis. *Nature Reviews in cancer* (2002) 2:277-287.
22. Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblast in cancer initiation and progression. *Nature* (2004) 432:332-337.

Figuras



ras.

Figura A. Porcentaje de viabilidad de HCT-15 después de 24 horas de tratamiento con Cas IIgli en dosis de 0, 1.25, 2.5, 5.0, 10, 15 µg/mL a través de la prueba de Sulforrodamina; los datos representan la media ± error estándar (*P <0.05) de 3 experimentos independientes. **B**. Citología de HCT-15 después de 24 horas con 2.5 µg/mL (derecha) y su testigo sin tratamiento (izquierda). **C**. Ultraestructura de HCT-15 sin tratamiento. **D**. Ultraestructura de HCT-15 después de 24 horas de 2.5 µg/mL, con aumento de espacios electrolúcidos, tumefacción celular y de organelos. **E**. Ultraestructura de HCT-15 después de 24 horas de 2.5 µg/mL, con cromatina dispuesta en media luna y adherida a la cara interna nuclear. **F**. Citometría de flujo de HCT-15 después de 24 horas de tratamiento con IIgli, en donde se grafica el número de eventos positivos a Anexina V (eje de X) y el número de eventos positivos a yoduro de propidio (Eje de Y). Se midieron 10.000 eventos por dosis.

Cuadro 1

Tratamiento	n	Volumen Relativo Tumoral día 21 ± ee	Función Antitumoral días 7, 14, 21	Días en Doblar tamaño ± ee	Retraso Específico del Crecimiento	Índice Mitótico ± ee	Peso relativo ± ee
Testigo	10	8205.5 ± 1753.8	NA	4.3 ± 0.6	NA	8.5 ± 0.7	3.8 ± 1.2
CDDP 4 mg/kg qd 4x7	5	2755.1 ± 342.9*	74.8 82.2 84.3	5.4 ± 0.5	0.1	8.4 ± 2.1	- 8.2 ± 3.9*
Cas II-gli 0.5 mg/kg qd 21	5	4768.2 ± 1990.9	134.4 130.5 145.9	6.4 ± 2.4	0.3	9.4 ± 0.2	8.4 ± 8.14
Cas II-gli 1.0 mg/kg qd 4x6	5	866.8 ± 455.3*	35.07 25.11 26.53	15.2 ± 3.5*	2.0	3.2 ± 0.8*	6.8 ± 3.8

Cuadro 1. Efectos in vivo en la proliferación y en el peso de los animales, tras 21 días de aplicación de CDDP y Cas IIgli en los distintos esquemas. * P <0.05; e.e: error estándar; qd: cada.; CDDP: Cisplatino.

CITOLOGÍA DE ORINA Y ESTUDIO MICROSCÓPICO DEL SEDIMENTO URINARIO. CORRELACIÓN CLÍNICO PATOLÓGICA

Nuria de Buen de Argüero, Asela Berenice Meza León, Larisa Chávez Soriano
Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

RESUMEN.
Se correlacionaron los hallazgos encontrados en el estudio microscópico del sedimento urinario y la citología de orina, se evaluaron los resultados de ambos estudios, se relacionaron con los datos clínicos y se determinó su valor diagnóstico. Se utilizaron 44 muestras de orina de perro y gato de diferentes razas, edades y métodos de obtención a las cuales se les realizó urianálisis completo y examen citológico. De las historias clínicas solo 11 hacían énfasis en alteración del tracto urinario y las demás correspondían a diversas patologías. Se reportó 45% de orinas normales, 38.6% con proceso inflamatorio, 9% con hematuria, 4.5% con cristaluria y 2.27% con neoplasia. La correlación entre el sedimento, la citología y los datos clínicos se encontró en el 65.9% de los casos y en el 79.5 % entre el cuadro clínico y los hallazgos citológicos. La correlación entre el sedimento y la citología se logro en el 79.5% de los casos. No se estableció correlación diagnóstica sobre la base de los hallazgos: entre la clínica, el sedimento y la citología en 9 casos (20.4%); entre la clínica y la citología 9 casos (20.4%); entre el sedimento y la citología 9 casos (20.4%) y por ultimo entre la clínica el sedimento y la citología en un caso (2.2%).
Palabras clave: orina, sedimento urinario, citología de orina, correlación clínica.

ABSTRACT.
CYTOLOGY OF URINE AND MICROSCOPIC STUDY OF URINARY SEDIMENT. CLINIC PATHOLOGICAL CORRELATION
The findings found in the microscopic study of urinary sediment and the cytological study were compared, both results were evaluated and the clinical data was correlated and the diagnostic value was determinate. The 44 urines of dogs and cats of different breeds, ages and the collection methods of the urine, in the laboratory were made the complete urinalysis and the cytological exam. Of the clinical histories 11 make emphasis in having an alteration of the urinary tract and the rest corresponded to many pathologies. The 45% of the urines were normal, 38.6% with inflammation, 9% with hematuria, 4.5% with cristaluria and 2.27% with neoplasias. The correlation with all the sediments, the cytology and the clinical data were founded in the 65.9% of the samples and in 79.5% in between the clinical history and the cytological findings. The correlation of the sediment and the cytology was made in 79.5% of the cases. There was no diagnostic correlation with the findings between clinical, sediment observation and in 9 cytological samples (20.4%); among the clinical findings and the cytology 9 samples (20.4%), between the sediments and the cytology 9 samples (20.9%) and at last the correlation with the sediment and the cytological study was in one case (2.2%).
Key words: urine, urinary sediment, and cytological examination of the urine, clinical correlation.

INTRODUCCIÓN.

Se han realizado numerosas publicaciones sobre citología de orina en el hombre donde se señalan las diferencias que existen con el estudio tradicional del sedimento en el análisis general de orina. Beale en 1858 tras varios años de dar mayor importancia a la presencia de leucocitos y eritrocitos en el sedimento urinario, señala la posibilidad de observar células epiteliales del tracto urinario e identificar células malignas. El examen microscópico del sedimento sin teñir se utilizó hasta que Papanicolaou y Mashall en 1945 introdujeron la citología de orina como método diagnóstico para procesos inflamatorios y sobre todo para neoplasias de vejiga en medicina humana. A partir de esto se ha convertido en un método diagnostico de rutina. En la actualidad, en Medicina humana el estudio citológico de orina es un método diagnóstico que ha demostrado ser de gran utilidad para determinar diversas patologías del tracto urinario como infecciones bacterianas, virales, parasitarias, micóticas, malacoplaquia, metaplasia escamosa, cálculos urinarios, hiperplasia, entre otros. Además de todas las anteriores, es indiscutible el valor diagnóstico que tiene la citología urinaria en lo que se refiere a neoplasias, Koss lo considera el único método diagnóstico no invasivo para detección de neoplasias de vejiga y tracto urinario bajo. En medicina veterinaria la patología urinaria al igual que en el hombre, es extensa, sin embargo no se utiliza la citología de orina con frecuencia, a pesar de que en algunos de los libros de citología veterinaria se habla de la citología de orina y sus aplicaciones. Sin embargo son escasas las publicaciones sobre este tema. El urianálisis es el método de estudio rutinario para evaluar riñón y vías urinarias además de ser utilizado para detección de enfermedades sistémicas o metabólicas. Este estudio consta de evaluación macroscópica que incluye determinaciones físico químicas, y observación microscópica, para la interpretación morfológica de los elementos del sedimento, Generalmente no se utiliza ninguna tinción, lo que ocasiona que se pierdan detalles celulares importantes.

OBJETIVO.

El objetivo de este trabajo es correlacionar los hallazgos encontrados en el estudio microscópico del sedimento urinario, la citología de orina, evaluar los resultados de ambos estudios relacionarlos con los datos clínicos y determinar su valor diagnóstico.

MATERIAL Y METODOS.

Se estudiaron 44 muestras de orina remitidas al Departamento de Patología de la FMVZ, UNAM, de las cuales 41 provienen de perro y 3 de gato. De las 41 muestras de orina obtenidas de perro provinieron de diferentes razas, las más frecuentes fueron el mestizo, Cocker spaniel, Schnauzer, Rottweiler y Poodle. En los gatos a Europeo doméstico y a la raza Siamés. En cuanto al género de los perros 20 muestras correspondieron a hembras, 19 a machos y en 2 casos no se refirió. En los gatos fueron 2 hembras y 1 macho. Las edades variaron desde los 7 meses hasta los 16 años en perro y entre 13 y 17 años en gato. El mayor número de muestras se obtuvo por micción 22 casos 6 por cistocentesis, 7 por cateterismo en 9 casos no se refirió el dato. Del total de las orinas solo 11 fueron

remitidas con anamnesis sugerente de alteración en el tracto urinario y las demás correspondían a estudios prequirúrgicos u otras patologías. En todas las muestras se realizó urianálisis completo y examen citológico. El examen microscópico del sedimento se realizó siguiendo las técnicas de rutina y evaluado conforme a lo descrito, para su posterior observación con el microscopio fotonico Para el estudio citológico se siguió el método de rutina para el proceso de líquidos mediante el uso de la citocentrifuga, fijación y posterior tinción con la técnica de Papanicolaou para ser observadas con el microscopio fotonico.

RESULTADOS.

Los resultados del urianálisis se reportaron como sin alteraciones, inflamación o infección del tracto urinario, cristaluria y hematuria. En citología se reportó orina normal, alteración inflamatoria, cristaluria, hematuria o neoplasia. Los resultados obtenidos en las 44 muestras en ambos estudios fueron: normales 20 casos (45%,) inflamatorios 17 (38.6 %,) hematuria 4, (9%,) cristaluria 2. (4.5%) y neoplasia en 1 caso (2.27%). La correlación diagnostica sobre la base de la interpretación del estudio del sedimento y la citología de los diferentes grupos fue el siguiente: En el grupo de los normales existió correlación en 17 casos (85%), y 3 sin correlación (15%,) en los casos reportados como inflamatorios (58.8%) es decir en 10 casos hubo correlación y en 7 (41%) no existió, en los 4 casos de hematuria en 3 hubo correlación (75%,) y en 1 no existió (15%,) En los diagnosticados como cristaluria se obtuvo correlación en el (50%). En el caso de la neoplasia diagnosticado en citología no hubo correlación con el estudio del sedimento. Cabe mencionar que hubo un grupo en el que consideramos existió discrepancia entre el estudio del sedimento y la citología en un total de 13 casos es decir (29.5%) que correspondieron 3 (23%,) a casos normales, Inflamatorios 7 (53.8%), cristaluria, hematuria y neoplasia en un caso respectivamente, cada uno con el (7.6%). El grupo en su totalidad permitió en base a los datos clínicos, los hallazgos del sedimento y la citología establecer correlación diagnostica en el (65.9%) es decir en 29 casos. En 35 casos (79.5%) se estableció correlación estrecha entre el cuadro clínico y los hallazgos citológicos. En los 4 casos de hematuria se correlacionó el 100% entre el sedimento y la citología; en términos generales se observó correlación entre el sedimento y la citología en 35 casos (79.5%); finalmente en 10 casos (22.7%), se estableció correlación entre el cuadro clínico infeccioso, el sedimento y la citología. No se estableció correlación diagnostica en base a los hallazgos: entre la clínica, el sedimento y la citología en 9 casos (20.4%); entre la clínica y la citología 9 casos (20.4%); entre el sedimento y la citología 9 casos (20.4%) y por ultimo entre la clínica el sedimento y la citología en un caso (2.2%).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.

El 65.9% de correlación entre ambos estudios indica la certeza diagnostica en general de ambos métodos, sin embargo se encontraron algunas diferencias con la interpretación que deben señalarse. Los procesos inflamatorios se diagnosticaron con mayor facilidad en el estudio citológico debido a que la tinción permite con mayor precisión determinar células inflamatorias células de epitelio plano, transicionales y renales así como los cambios que se encuentran en las

transaccionales debidos a los procesos inflamatorios como fue la reactividad de las células la hiperplasia y metaplasia y en caso de las renales, necrosis tubular aguda o los cuerpos amiláceos Desde luego y tal como se ha demostrado en medicina humana el diagnostico citológico de orina es el método idóneo para el diagnostico de neoplasias como se comprobó en este estudio. El estudio microscópico del sedimento no permite identificar con tanta precisión los componentes celulares ya que la observación se hace por lo general de forma directa en preparaciones no teñidas. Seguramente el tiempo transcurrido desde la toma de la muestra, su proceso, interpretación, historia clínicas deficientes pueden haber sido factores determinantes en los casos sin correlación. Sin embargo debe tomarse en cuenta tal como se menciona en la literatura que el examen microscópico del sedimento urinario y la citología de orina son 2 diferentes técnicas complementarias para la valoración de orina de hay la importancia que para mejorar la eficiencia diagnostica y por consecuencia disminución en los costos de operación, estos puntos guardan relación de acuerdo con otros autores con los programas de formación de recursos humanos y educación continua. Se debe enfatizar en la importancia de contar con una historia clínica completa y cuando exista sospecha de patología de vías urinarias, ya sea infecciosa o neoplásica el clínico debe solicitar el estudio general de orina así como el estudio citológico de la misma.

REFERENCIAS.

1. Colin,A.L., and Howard,R.S. Asyntomatic microscopic hematuria. J Urol 1980; 124:389-91.
2. Highman,W., and Wilson,E. Urine cytology in patients with calculi. J Clin Pathol 1982; 35:350-356.
3. Koss,L.G. Urinary tract cytology. In Connoly, J.C.editors. Carcinoma of the Bladder. Raven Press New York 1981: 159-163.
4. Rasmussen, K., Petersen, B.L., Jacobo. E., Penick, G.D., and Sall, J. Cytology effects of thiotepa and adramycin on normal canine urothelium. Acta Cytol 1980; 24:237-243.
5. Papanicolaou, G.N., and Marshall, V.F. Urine sediment smears as diagnostic procedure in cancers of urine tract. Science 1945; 101:519-520.
6. Bunge, R.G., Kraushaar,O.F. Abnormal renal cytology. J Urol 1950; 63: 475.
7. Voogth, H.J. de Wielinga, G. Clinical aspects of urinary cytology. Acta cytol 1972; 16: 349-351.
8. Schumann, G.B. Cytodiagnostic urinalysis of renal and lower urinary tract disorders. Igaku-Shoin New York 1995.
9. Osborne, C.A. and Stevens, J. B. Urinalysis: a clinical guide to compassionate patient care. Bayer 1999.
10. Hendrix, C. M. Laboratory procedures for veterinary technicians. Mosby, 4a ed, USA. 2002.
11. De Voogt, H.J., Rathert, P. Urinary cytology phase contrast microscopy and analysis of stained smears. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1977.
12. De Buen A.N. Citología diagnóstica veterinaria. Manual Moderno México, D.F. 2001.

13. Militerno, G., Bazzo, R., Bevilacqua, D., Bettini, G., Marcato, P.S. Transitional cell carcinoma of the renal pelvis in two dogs. : Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 2003; 9:457-459.
14. Seguin, M.A., Vaden, S. L., Altier, C., Stone, E., Levine, J.F. Persistent urinary tract infections and reinfections in 100 dogs (1989-1999). J Vet Intern Med. 2003; 17:622-631.
15. Foot, N.C., Papanicolaou, G.N., Holmquist, N.D., Seybolt, J.F. Exfoliative cytology of urinary sediment: A review of 2829 cases. Cancer 1958;11:127.

CORRELACIÓN CITOHISTOLÓGICA. IMPORTANCIA EN EL DIAGNÓSTICO

* Bedolla MA, Romero LR, De Buen NA

RESUMEN

Se hizo el estudio citológico de 31 biopsias quirúrgicas remitidas al Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM, y se realizó la correlación con el estudio histopatológico. Encontramos que el diagnóstico citológico tiene una alta especificidad, de 100%, y una sensibilidad moderada, de 63%, con un valor predictivo positivo de 63% y una probabilidad de obtener resultados falsos positivos de 0%. Existen diferentes factores que modifican la morfología celular tales como la toma de muestra, fijación del tejido, concentración y proporción adecuada del fijador, lo cual altera la correlación cito-histopatólogica.

Palabras clave: Citología, histopatología, correlación, perros, tumores.

CYTO-HISTOPATHOLOGICAL CORRELATION AND ITS VALUE IN DIAGNOSIS

ABSTRACT

The cytological study from 31 surgical biopsies received in the Department of Pathology was performed, as well as the correlation with histopathology. We determined that the cytologic examination has a high specificity and a moderate sensitivity, as has been reported by other authors. There are many factors that influence the cellular morphology and its evaluation, such as the sampling method and tissue fixation, which can alter the cyto-histopathological correlation.

Key words: Cytology, histopathology, correlation, canine, tumors.

INTRODUCCIÓN

El estudio citológico se ha convertido en un procedimiento diagnóstico de rutina debido a que es un método no invasivo, fácil de realizar, de bajo costo, que en la mayoría de los casos no requiere anestesia, y cuyo resultado puede emitirse normalmente antes de 24 horas, o como se hace en algunos hospitales de medicina humana, antes de 2 horas. Esto permite por un lado evitar angustia en el paciente ya que el diagnóstico es inmediato, y por otro lado, que el médico proceda a establecer el manejo clínico adecuado. Sin embargo, lo más importante es que ha demostrado tener una alta efectividad, como se puede confirmar en la literatura con numerosos trabajos publicados sobre correlación citohistológica. La utilidad del diagnóstico citológico es indiscutible, prueba de ello es que desde 1989 el American Board of Pathology ofrece el examen de especialidad en esta disciplina, y a la fecha son numerosos los patólogos que se dedican a ello.

La citología se basa en el estudio de células aisladas, lo cual requiere que el diagnóstico se realice por citopatólogos entrenados, aún así, es importante confirmar el diagnóstico citológico con el estudio histopatológico. Además, la correlación se considera indispensable como control de calidad y es una forma de entrenamiento imprescindible en la formación constante del personal dedicado a la citopatología.

A pesar de la mayor aceptación del estudio citológico en medicina veterinaria y de que actualmente existen numerosas publicaciones en esta área, ha sido difícil contar con la correlación histopatológica, debido a que en la gran mayoría de los casos, no se remite la pieza quirúrgica. Por esto, es indispensable sensibilizar al clínico, que forma parte sustancial en el estudio de los especimenes citológicos, acerca de la importancia de la correlación histopatológica de las muestras remitidas a nuestro laboratorio, tanto para el paciente, como para la formación continua de nuestro personal.

OBJETIVOS

Realizar la correlación citohistológica de las biopsias remitidas al Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM, con el fin de lograr el entrenamiento del personal involucrado en el área de citopatología, así como para analizar la especificidad y sensibilidad de esta técnica diagnóstica en nuestro laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó la evaluación citológica de 31 piezas quirúrgicas remitidas de enero a marzo del 2006, al Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM.

Para el estudio citológico la muestra se tomó mediante un raspado de la superficie de corte de la biopsia. Se hicieron frotis, los cuales se tiñeron con Hematoxilina y Eosina para su observación microscópica.

Para la evaluación histopatológica, se incluyeron fragmentos representativos del tejido para su procesamiento mediante la técnica de rutina de H.E.

Se revisaron por microscopía óptica las laminillas de los frotis para su diagnóstico citológico. Posteriormente, se realizó la correlación con el estudio histopatológico de la biopsia.

Se aplicaron diferentes pruebas estadísticas para determinar la exactitud del estudio citológico con base al estudio histopatológico.

RESULTADOS

Se observó que en nuestro laboratorio el diagnóstico citológico tiene una alta especificidad, de 100%, y una sensibilidad moderada, de 63%, con un valor

predictivo positivo de 63% y una probabilidad de obtener resultados falsos positivos de 0%.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo pueden estar sujetos a diferentes factores. Uno de ellos es la toma de la muestra; la realización de un raspado brusco de la superficie de corte de la pieza quirúrgica puede alterar la morfología de las células e incluso dejar únicamente núcleos desnudos. Por otro lado, una impronta del tejido no permite obtener material representativo de toda la pieza quirúrgica para su evaluación citológica. En la mayoría de los tumores fue posible obtener material adecuado para su examen citológico, sin embargo, de los tumores de hueso no se obtuvo suficiente material, probablemente debido a la dureza del tejido.

Otro factor importante es la fijación adecuada de la biopsia, esto puede deberse a una inadecuada concentración de formaldehído, o a una mala proporción de la sustancia fijadora con el tejido, lo cual se refleja en una pobre conservación de la muestra que la hace inadecuada para su evaluación citológica, ya que la mayoría de las células muestran autólisis.

También hay que considerar que algunos tumores presentan extensas zonas de necrosis, y en ocasiones las células tumorales se encuentran en diferente localización. Por esto, es importante realizar un muestreo citológico adecuado de la pieza quirúrgica y asegurar que se han obtenido células representativas de toda la biopsia.

A pesar de que rutinariamente el examen citológico se realiza utilizando tinciones como Diff Quick y Papanicolau, en este trabajo se usó la tinción de rutina para histología (H-E) debido a que las piezas quirúrgicas estaban fijadas en formaldehído. Sin embargo, encontramos que las células no mostraron cambios importantes en su morfología, por lo que determinamos que la tinción de H-E es de utilidad en el estudio citológico.

CONCLUSIONES

1. Es posible realizar la evaluación citológica de piezas quirúrgicas, y utilizar la correlación hitopatológica para el entrenamiento del personal.

2. La fijación y toma de la muestra son factores importantes que pueden alterar la morfología celular.

3. La tinción de Hematoxilina y Eosina puede ser utilizada para estudios citológicos, cuando el tejido esté previamente fijado en formaldehído.

REFERENCIAS

1. Masserdoti C, Ubbiali FA. Fine needle aspiration cytology of pilomatricoma in three dogs. Vet Clin Pathol 2002; 31: 22-5.
2. Cohen M, Bohling MW, Wrigth JC Welles EA, Spano JS. Evaluation of sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases (1999-2000). J Am Vet Med Assoc 2003; 222: 964-7.
3. Vos JH, van den Ingh TS, van Mil FN. Non-exfoliative canine cytology: the value of fine needle aspiration and scraping cytology. Vet Q 1989; 11: 222-31.
4. Platt SR, Allegan AR, Lanz OI, Chrisman CL. Comparison of fine-needle aspiration and surgical-tissue biopsy in the diagnosis of canine brain tumors. Vet Surg 2002; 31: 65-9.
5. Kulkarni DR, Kokandakar HR, Kumbhakarna NR, Bhople KS. Fine needle aspiration cytology of soft tissue tumors in correlation with histopathology. Indian J Pathol Microbiol 2002; 45: 45-8.
6. Griffiths GL, Lumsden JH, Valli VE. Fine needle aspiration cytology and histologic correlation in canine tumors. Vet Clin Pathol 1984; 13: 13-7.

DIAGNOSTICO ULTRAESTRUCTURAL DE AGENTES VIRALES: ESTUDIO RECAPITULATIVO DE 1996 A 2005

Carlos Cedillo P, Gerardo Salas G, Fernando Constantino C*

Unidad de Microscopia Electrónica, Departamento de Patología,
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
*z.carlos@mailcity.com

RESUMEN

Se seleccionaron 229 casos para la identificación ultraestructural de agentes virales, remitidos a la Unidad de Microscopia Electrónica del Departamento de Patología de la FMVZ, UNAM, entre los años de 1996 a 2005. Las muestras remitidas incluyeron cultivos celulares, intestino delgado, tejido de neoformación, hígado, encéfalo, sangre periférica, linfonodo, riñón, proventrículo, páncreas y pulmón, entre otros, provenientes de diferentes animales domésticos y silvestres. En varios casos, se solicito la búsqueda de virus particulares, mientras que en la mayoría se solicito la búsqueda de partículas virales. De los 229 casos remitidos, solamente en 88 casos se estableció diagnóstico ultraestructural, en 19 casos se observaron partículas virales sin identificar a que familia correspondían y 127 casos no fueron concluyentes o las muestras se consideraron inadecuadas. Los criterios para la identificación viral fueron los siguientes: 1) morfología de las partículas virales, 2) presencia de envoltura, 3) arreglo y distribución de las partículas virales, 4) tamaño de las partículas y 5) localización nuclear y/o citoplasmática. Los principales virus identificados fueron parvovirus, coronavirus, adenovirus, papilomavirus, circovirus, birnavirus, paramixovirus, ortomixovirus, herpesvirus e iridovirus. Con el desarrollo y progreso de las técnicas moleculares, el estudio de dichos agentes se ha incrementado extensamente y ha permitido un mejor entendimiento de su interacción con las diferentes especies domésticas y silvestres que afectan, sin embargo, en muchas ocasiones dichas técnicas no permiten la visualización o reconocimiento directo y contundente del agente involucrado, debido a esto, dependiendo de las necesidades diagnósticas o de investigación, es posible optar por una técnica complementaria como es la microscopia electrónica veterinaria.

Palabras clave: virus, microscopia electrónica, animales domésticos, fauna silvestre.

ULTRASTRUCTURAL DIAGNOSIS OF VIRAL AGENTS: RECAPITULATIVE STUDY BETWEEN 1996-2005.

ABSTRACT

229 cases recived between 1996-2005 in the Electronic Microscopy Unity of the Pathology Deparment of Veterinary Medicine Faculty-UNAM, were selected for ultrastructural identification of viral particles. The samples submited were cellular cultures, small intestines, neoplastic tissues, livers, encephalus, periferic blood, lymph nodes, kidneys, proventriculus, pancreas, lungs, etc. Tissues were from wild or domestic animal species with suspect of viral infection. Only in 88 out off all cases could be identified viral structures, of them 19 were not identified the viral

family. The restant samples (127 cases) were not concluded or the samples were inadequate. The viral identification criteria was: 1) viral morphology, 2) presence of viral capsid, 3) viral arrangement and distribution, 4) particule size, and 5) localization (cytoplasmic and / or nuclear). The mainly viruses identified were: parvovirus, coronavirus, adenovirus, papilomavirus, circovirus, birnavirus, paramixovirus, orthomyxovirus, herpesvirus and iridovirus. With the progress and development of molecular techniques the study of virus has been increasing and has permitted a better understanding of the viral pathobiology, nevertheless many tecniques do not permit the visualization or direct recognition of the agent involved in the different viral illnesses due to this. It is possible to opt for a electronic microscopy to complement the virus studies in veterinary medicine.

Key words: virus, electronic microscopy, domestic animal, wild animal.

INTRODUCCIÓN

El estudio de los virus y las enfermedades que desencadenan ha representado un reto y una necesidad para el avance de las ciencias biológicas, dentro de las cuales se encuentra la Medicina Veterinaria. Al final de los años sesenta, la microscopia electrónica (ME) fue empleada para el diagnóstico rápido de poxvirus humano, con base en su morfología, lo cual permitió diferenciarlo de los herpesvirus, causante de lesiones cutáneas ligeras. Subsecuentemente, la técnica fue empleada para el diagnóstico de la hepatitis B y parvovirus B19, en medicina humana. La ME ha permitido el descubrimiento e identificación de muchos virus, relacionados con cuadros de gastroenteritis, tanto en medicina humana como en veterinaria, llegando incluso a contemplarse como la técnica de elección para la identificación de dichos agentes. El desarrollo de técnicas moleculares, las cuales ofrecen gran sensibilidad y frecuentemente permiten el procesamiento de varias muestras en corto tiempo, han venido a remplazar a la ME en el diagnóstico de enfermedades virales. A la fecha, la ME sigue siendo una herramienta primordial para muchas investigaciones relacionadas con enfermedades emergentes como el síndrome agudo respiratorio severo (SARS), la fiebre del Nilo y la Influenza aviar, entre otras entidades. El Departamento de Patología de la FMVZ, a través de la Unidad de Microscopia Electrónica (UME), ha servido de herramienta diagnóstica a través de los años, para la identificación y confirmación de agentes virales que afectan a las diferentes especies domésticas y silvestres de nuestro país.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo, es el de analizar y discutir los resultados ultraestucturales de los casos remitidos para la identificación de agentes virales por medio de microscopia electrónica, estudiados entre los años de 1996 a 2005.

REVISION DE CASOS

Se revisaron los formatos de diagnóstico e investigación de la UME del Departamento de Patología, entre los años 1996 a 2005, seleccionándose para este estudio, los casos que cumplieran alguno de los siguientes criterios: 1) casos remitidos para la identificación o confirmación de agentes virales, 2) casos

remitidos con diagnóstico diferencial de alguna enfermedad viral y 3) casos remitidos cuyo diagnóstico ultraestructural correspondiera a la identificación de algún agente viral.
Del total de formatos revisados, se seleccionaron 229 casos remitidos entre los años de 1996 a 2005, descartándose aquellos casos donde los datos de registro fueran incompletos o dudosos.
De los diferentes casos seleccionados, las muestras remitidas fueron fijadas con glutaraldehído al 2.5% (amortiguado con solución de cacodilatos pH 7.2, 0.1 M) o en formalina amortiguada al 10%, así mismo, algunas muestras se recuperaron a partir de bloques de parafina o de biológicos comerciales.

PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Las muestras fijadas en glutaraldehído, se procesaron con la metodología de rutina para ME de transmisión. Una vez fijadas las muestras, se lavaron con la misma solución amortiguadora y se posfijaron con OsO_4 1%, embebiéndose en resinas epóxicas (Epon 812). Una vez procesadas las muestras, se realizaron cortes semifinos de 0.12 a 0.15 μm teñidos con azul de Tolouidina y cortes finos de 60 a 80 nm, contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo.
De las muestras fijadas en formalina, se recuperaron los tejidos y se cortaron fragmentos de 2 a 3 mm^3 para su refijación en glutaraldehído al 2.5 % (amortiguado con solución de cacodilatos pH 7.2, 0.1M). De aquellos casos en bloques de parafina, se extrajo el material a estudiar, cortándose fragmentos de tejido de 2 a 3 mm^3, los fragmentos obtenidos se desparafinaron con xilol (dos tiempos de una hora) y se pasaron por serie decreciente de etanoles (de absoluto a 50%). En ambos tipos de muestras, el procesamiento se continuó con la metodología descrita paras las muestras fijadas en glutaraldehído. Todas las muestras fueron revisadas en un microscopio electrónico de transmisión, Zeiss EM 900 a 50kv.

ANÁLISIS DE LOS CASOS

De los 229 casos estudiados, 38 casos fueron de biológicos y cultivos celulares de diferentes especies, 31 casos de muestras de tejido de caninos, 29 de lepóridos, 27 de aves de producción, 27 de peces comerciales, 18 de suinos, 39 de fauna silvestre y el restante de diferentes especies domésticas y animales de laboratorio (20 casos).
Las muestras remitidas totalizaron 243 tejidos remitidos, siendo 38 casos de cultivo celular de diferentes líneas celulares y biológicos, 34 de intestino delgado (duodeno o yeyuno), 19 de tejido de neoformación, 16 de hígado, 13 de encéfalo, 13 de sangre periférica, 12 de linfonodo, 11 de riñón, 10 de proventrículo, 8 de páncreas, 6 de pulmón y 63 casos más de diferentes tejidos y tejidos no referidos. En algunos casos, fueron remitidas más de una muestra de tejido.
Los diagnósticos presuntivos o estudios solicitados incluyeron 67 casos solicitando la identificación de partículas virales, 21 casos para birnavirus (identificación del virus de la necrosis pancreática infecciosa), 14 de parvovirus, 14 para circovirus, 14 de influenza aviar, 11 de coronavirus, 8 para el virus de moquillo canino, 5 de rubulavirus, 5 de retrovirus, 4 para el virus de la rabia, 4 de rotavirus, 3 de herpesvirus y 19 casos más para la identificación de otros agentes virales.

VIRUS DIAGNOSTICADOS

De los 229 casos remitidos, solamente se estableció diagnóstico ultraestructural en 88 casos, en 19 casos más se identificaron partículas virales sin poder determinarse a que familia correspondían. 127 casos no fueron concluyentes o las muestras se consideraron inadecuadas.

Los criterios para la identificación de los agentes virales fueron los siguientes: 1) morfología de las partículas virales, 2) presencia de envoltura, 3) arreglo y distribución de las partículas virales, 4) tamaño de las partículas y 5) localización nuclear y/o citoplasmática. Los principales virus identificados fueron:

Parvovirus

Virus ADN, icosaédricos, no envueltos, miden de 18 a 22 nm de diámetro, con replicación nuclear. Son virus que presentan un genoma de cadena sencilla, con tropismos para su replicación en tejidos fetales o de animales neonatos. La rápida división celular de la medula ósea, intestino y placenta, favorece su susceptibilidad para la replicación viral. Ultraestructuralmente se pueden observar cambios nucleares como son el alargamiento y desintegración del nucleolo, condensación o lisis de la cromatina, agregación de proteinas en el interior del núcleo. En medicina veterinaria, estos virus desencadenan la parvovirosis canina, panleucopenia viral felina, enfermedad Aleutiana del mink y la parvovirosis porcina, entre otras.

Coronavirus

Virus ADN, pleomorficos, , envueltos, midiendo la nucleocapside de 6 a 11 nm de diámetro y con la envoltura llegan a medir de 80 a 160 nm de largo. Los viriones rara vez se aprecian sin su envoltura nuclear. La mayoría de los virus de esta familia generan enfermedades entericas por replicarse en enterocitos, a nivel del citoplasma, donde ultraestructuralemente se aprecian dentro de estructuras vacuolares, formadas por la distensión de las cisternas del retículo endoplasmaico o aparato de Golgi generalmente. Los viriones se replican en la mayoría de los casos dentro de lisosomas y de ahí se distribuyen a otros organelos. Algunas enfermedades causadas por estos virus son la bronquitis infecciosa aviar, la gastroenteritis transmisible porcina, peritonitis infecciosa felina; enteritis en leporidos, felinos, caninos, roderores y becerros.

Adenovirus

Virus ADN, icosaedricos, no envueltos, de 70 a 90 nm de diámetro, con replicación nuclear. Los adenovirus pueden tener tres diferentes interacciones con el hospedador: 1) infección litica, que involucra completamente su ciclo de replicación, 2) latente o infección cronica de tejido linfoide y 3) transformación oncogénica. Los adenovirus comúnmente afectan tracto respiratorio y enterico, seguido de parénquima hepático y ocasionalmente el páncreas. Algunas enfermedades que causan en medicina veterinaria son el complejo respiratorio canino, hepatitis viral canina, enteritis en varias especies de mamíferos y hepatitis viral en aves.

Papilomavirus
Virus ADN, icosaedricos, no envueltos, se replican lentamente en el núcleo de las células afectadas y causan infecciones latentes y crónicas. La familia cuenta con dos generos: *Papillomavirus* (papilomatosis bovina, papilomatosis canina cutánea y oral, papilomatosis equina, etc.) y el genero Polyomavirus (poliomavirus macaco, poliomavirus muris, etc.)

Circovirus
Virus ADN, icosaedricos, no envueltos, de 14 a 17 nm de diámetro. Causan principalmente tres enfermedades: anemia infecciosa aviar, enfermedad del plumón en psitacidos y la circovirosis porcina, con su amplia gama de síndromes donde las entidades más descritas son el síndrome de desmedro-desgaste porcino y el síndrome de dermatitis nefropatia porcina. Ultraestructuralemente los viriones se disponen en arreglo paracristalino, cadenas concentricas continuas de viriones, dentro del núcleo de células epiteliales o a nivel del citoplasma en macrófagos.

Birnavirus
Virus ARN, icosaedrico, no envuelto, de 60 nm de diámetro, con ubicación en citoplasma. Estos virus afectan a aves, peces e insectos. Son causantes de las enfermedades de la infección de la bolsa de fabricio y de la necrosis pancreática infecciosa. Esta ultima enfermedad, se presenta de forma aguda en salmonidos jóvenes, causando degeneración y necrosis de los acinis pancreáticos con episodios de alta mortalidad. Los viriones se localizan en el citoplasma, disponiéndose en estructuras tubulares tipicas.

Paramixovirus
Virus, no envueltos, midiendo de 120 a 300 nm de largo, de forma pleomorfica (de esféricos a filamentosos) con replicación en citoplasma. La familia de los paramixovirus incluyen los siguientes generos: *Paramyxovirus* (Ej.: virus de parainfluenza y de la enfermedad de Newcastle), *Morbillivirus* (Ej.: virus del moquillo canino, peste bovina y virus de mamíferos acuáticos) y *Pneumovirus* (Ej.: virus respiratorios sincitiales en varias especies).

Herpesvirus
Virus ADN, icosaedricos, con envoltura triple (cubierta interna, media y externa), midiendo el virión de 100 a 120 nm. Los herpesvirus se replican en el núcleo, acumulandose abundantes partículas desnudas, generando cambios nucleares severos, los cuales inician con la tumefacción nuclear, seguida por la contracción de este, así como plegamiento periférico de la cromatina y su disolución. Posteriormente, al salir las partículas del núcleo hacia el citoplasma, adquieren su envoltura o tegumento externo, llegando a alcanzar más de 250 nm de diámetro. Son los virus con mayor cantidad de géneros que afectan a los animales domésticos y silvestres. Dentro de las enfermedades que desencadenan se encuentra la rinoneumonitis viral equina, rinotraqueitis infecciosa bovina, fiebre catarral maligna, enfermedad de Marek, enteritis de los patos, enfermedad de Pacheco, infección por citomegalovirus, enfermedad de Aujeszky, entre otras.

Iridovirus
Son virus ADN, icosaédricos, envueltos, miden de 120 a 300 nm de diámetro, con replicación en citoplasma. Existen varios géneros causantes de diversas enfermedades, como en el caso de los ranavirus que afectan a anfibios y diversos iridovirus que afectan a los peces. En estos últimos, los virus son causantes de enfermedades graves con gran mortalidad y perdidas económicas en granjas comerciales y de ornato, siendo un ejemplo de estos el virus de la linfoquistosis. La linfoquistosis es una enfermedad frecuente en varias familias de peces dulceacuicolas y marinos, donde los virus actúan induciendo una desmedida hipertrofia de fibroblastos a nivel de la piel, asemejando clínicamente enfermedad tumoral diseminada.

Los virus catalogados como "virus no identificados", se presentaron en algunas ocasiones dentro de células epiteliales de piel o entericas, los cuales eran viriones de redondos a ovales, desnudos, electrodensos, de 100 a 180 nm de diámetro, intranucleares o citoplasmáticos; en otros casos se apreciaron en cultivos celulares, considerándose la mayoría como contaminantes.
En cinco casos no hubo presencia de partículas virales y se encontraron otros microorganismos relacionados con las lesiones presentes en células y tejidos.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES
A través de los años, la ME ha jugado un papel fundamental para el conocimiento y entendimiento de diferentes microorganismos, particularmente en el caso de los virus. El poder de resolución de los microscopios electrónicos ha permitido la observación y estudio detallado de estos agentes, lo cual era limitado con métodos convencionales de microscopia de luz. Los virus se clasifican en distintas familias, basado en la morfología viral y son las variaciones que presentan, la base para su identificación por ME.
La replicación de los virus dentro de las células que afectan, causan cambios degenerativos o de muerte celular, lo cual se manifiesta con diferentes lesiones o enfermedades en animales domésticos o silvestres. Los viriones, que son partículas infectantes, carecen de ribosomas para llevar a cabo síntesis proteica y generar diferentes componentes de su envoltura, por lo cual emplean los organelos de la célula huésped para poder replicarse. Esta replicación, genera alteraciones en los organelos involucrados, siendo reemplazados gradualmente por el acumulo de proteínas virales y otras estructuras, las cuales son utilizadas para la formación de nuevos virus.
El proceso de replicación viral, produce varios tipos de proteínas empleadas para el ensamblaje de nuevos viriones. La producción abúndate de proteínas virales y otros componentes, se puede acumular excesivamente y generar inclusiones (cuerpos de inclusión) que distorsionaran la morfología celular, declinando la formación de energía, las bombas electrolíticas en la superficie celular y desequilibrando el pH interno. El resultado final de este proceso conlleva a la lisis celular con liberación de detritus celulares y nuevos virus (en algunas familias virales) a los espacios titulares, dándose manifestación clínica de enfermedad. El efecto de la lisis celular por los virus, se retroalimenta con la respuesta celular

inflamatoria, tanto para la presencia de los virus como retroalimentada por los detritus celulares.

En los casos estudiados, las alteraciones celulares fueron variadas, encontrándose casos con lisis o necrosis celular franca, como en las herpesvirosis, mientras que otros casos la morfología celular se mantenía casi integra, como en algunas infecciones por papilomavirus.

Cheville (1994) describe que algunos virus causan enfermedades sistemicas , debido a su replicación en leucocitos y endotelios, generando una "señal celular" (liberación y producción de citoquinas, prostaglandinas y leucotrienos), que inducen fiebre, anorexia, mialgia o dolor muscular. Dentro de los casos revisados, en algunas muestras de sangre se apreciaron partículas virales dentro leucocitos circulantes.

La literatura describe varias publicaciones donde se emplea la ME para la identificación de enfermedades particulares, como es el caso de Finlaison (1995), donde trabajó 112 muestras de materia de fecal de canino con o sin diarrea, para la búsqueda de partículas virales, así como para confirmar o descartar la presencia de parvovirus. Finlaison, identifico diferentes partículas virales con base en su morfología: coronavirus, rotavirus, papovavirus, torovirus, picornavirus, parvovirus y un virus no determinado.

Nieddu y colaboradores (2000) llevaron acabo una revisión de la detección de agentes virales en casos de enteropatia en conejos, entre los años 1982 a 1999, examinándose 1067 muestras de conejos con enterotiflitis catarral, hemorrágica o necrótica, o enteropatia mucoide e impactación cecal. Del total de las muestras, solamente 387 presentaron por lo menos un tipo de virus, presentandose casos con presenica de dos (29 casos) o hasta tres virus (un caso). Se identificaron rotavirus, parvovirus, coronavirus, enterovirus, reovirus, adenovirus y calicivirus.

En nuestro caso, durante estos años se ha podido estudiar muestras similares a las antes referidas, identificando agentes similares e incluso observando virus desnudos intracitoplasmaticos no descritos para el epitelio intestinal de conejos.

La mayoría de los casos remitidos corresponden a estudios de posgrado u otras investigaciones, como fueron las muestras de cultivos celulares, mas de la mitad de las muestras de canideos y aves de producción, contándose con la ventaja de que se conocía el agente que se quería estudiar; en el caso de los casos remitidos para diagnóstico, las especies de donde provenían las muestras fueron variables, así como el servicio solicitado, siendo en la mayoría de los casos, la identificación de partículas virales, y en menor frecuencia, la búsqueda de un virus en particular.

Con base en el tipo de muestra remitida, los cultivos celulares fueron el mayor tipo de "tejido" procesado, seguido de muestras de intestino delgado, tejido de deformación, hígado, sistema nervioso y sangre periférica.

La solicitud de servicio en varias ocasiones fue dirigida para un agente en particular o bien para su confirmación como en el caso del birnavirus responsable de la pancreatitis necrótica infecciosa de las truchas, donde en la mayoría de los casos fue posible evidenciar al virus. Sin embargo, en otros casos, la confirmación de algún agente en particular no fue posible, como en los recientes casos de fibropapilomas en tortugas marinas, donde se solicito la búsqueda de herpesvirus

resultando todos los casos negativos, y en su lugar se encontraron partículas virales compatibles con iridovirus en la mayoría de los casos.

La mayoría de los casos no fueron concluyentes debido a un sin fin de situaciones: selección inadecuada del material de estudio, falta de información por parte del remitente, material mal preservado, falta de recursos o abandono del proyecto de investigación, presencia de otros microorganismos, etc.

Con el desarrollo y progreso de las técnicas moleculares, el estudio de dichos agentes se ha incrementado extensamente y ha permitido un mejor entendimiento de su interacción con las diferentes especies domésticas y silvestres que afectan, sin embargo, en muchas ocasiones dichas técnicas no permiten la visualización o reconocimiento directo y contundente del agente involucrado, debido a esto, dependiendo de las necesidades diagnósticas o de investigación, es posible optar por una técnica complementaria como es la microscopia electrónica veterinaria.

REFERENCIAS

Curry A, Appleton H, Dowsett B. Application of transmission electron microscopy to the clinical study of viral and bacterial infections: present an future. Micron. 2006. 37(2): 91-106.

Hunter E. Practical Electron Microscopy. *Cambridge University Press*. Canada. 1993.

Vazquez NG, Echeverria O. Introducción a la microscopia electrónica aplicada a las ciencias biológicas. *Facultad de Ciencias, UNAM y Fondo de Cultura Económica*. México. 2000.

Cheville NF. Ultrastructure Pathology. *Iowa State University Press*. USA. 1994.

Murphy FA, et al. Veterinary virology. 3th ed.Academic Press. USA. 1999.

Finlaison DS. Faecal viruses of dogs – an electron microscope study. Vet Microb. 1995. 46: 295-305.

Nieddu D, *et al*. Electron microscopy detection of viral agents in rabbits with enteropathy during the period 1982-1999 in Italy. Memories of the 7th World Rabbit Congress, 4-7 July 2000 (Spain), vol.7.

Gibson-Kue S, *et al*. The pathology of systemic iridoviral diseases in fish. J Comp Path. 2003. 129: 111-119.

Dickersin GR. Diagnostic Electron Microscopy. 2nd ed. Springer. USA. 2000.

Lesiones inducidas en ratones transgénicos portadores del gen VPU del VIH-1

Raúl, Fajardo; Christian Lemaire; Gaetan Mayer; Allegria Kessous-Elbaz.
Departamento de Patología y Biología Celular, Universidad de Montreal.
U. de Montreal, Canadá.

Resumen
La infección por el virus VIH-1 afecta severamente el sistema inmune y nervioso. Además, los pacientes sidáticos desarrollan complicaciones pulmonares y renales, cáncer e infecciones oportunistas. Los datos biomoleculares y de patogénesis sobre el VIH-1 sugieren que ciertos genes como env, tat o vpu pueden estar implicados en las lesiones asociadas a este virus. En este trabajo se generaron algunas líneas de ratones transgénicos con el gen vpu del VIH-1. Se establecieron varias colonias transgénicas y se estudió la patogénesis de los efectos de la expresión del gen. Algunas de las lesiones observadas en estos ratones como la linfoproliferación y la nefropatía, son lesiones que se observan en el paciente sidático y que podrían estar asociadas a una desregulación de IL-6. El uso de modelos animales transgénicos para estudiar enfermedades humanas es prometedor, ya que reproducen muchas de las lesiones que se observan en pacientes y que ayudan a entender mejor la patogénesis de enfermedades que afectan al ser humano.

Palabras clave: SIDA, VIH-1, Vpu, Ratón transgénico, Linfoproliferación.

Induced lesions in transgenic mice carrying the Vpu gene of the HIV-1

Summary
The infection by virus HIV-1 affects the immune and nervous systems severely. In addition, the Aids patients develop pulmonary and renal complications, opportunistic infections and cancer. The biomolecular data and pathogenesis on the HIV-1 suggest certain genes like env, tat or vpu can be implied in the injuries associated this virus. In this work, some lines of transgenic mice with the vpu gene of the HIV-1 were generated. Several transgenic mice colonies settled down, the pathogenesis of the effects of the expression of this gene were studied. Some of the injuries observed in these mice like the lymphoproliferation and the nephropathy, are injuries that are observed in the Aids patients and which they could be associated to an IL-6 deregulation. The use of transgenic animal models to study human diseases is promising, since they reproduce many of the injuries that are observed in patients and who help to understand better the pathogenesis of diseases that affect the human being.

Key words: Aids, HIV-1, Vpu, Transgenic mice, Lymphoproliferation.

Introducción
Un síndrome de inmunodeficiencia adquirida (Sida) fue detectado en 1981 en tres hospitales de los Ángeles USA. Diferentes grupos de investigadores aislaron un

retrovirus T-linfotrópico al que hoy conocemos ser el agente causal del Sida 1. El SIDA es causado por dos lentivirus el HIV-1 y el HIV-2. Ambos se aceptan que son de origen zoonótico; el HIV-1 está relacionado al SIV del Chimpancé (SIVcpz) y el HIV-2 Está relacionado al SIV del Mangabes (Cercocebus atys) (SIV-sm sooty mangabeys).
Los SIVs pertenecen a la familia retrovirus y a la subfamilia de los lentivirus.
Los virus de todos los linajes tienen una estructura genómica básica similar: gag, pol, vif, vpr, tat, rev, env y nef. Los virus del linaje SIVcpz/HIV-1 tienen un gen adicional el vpu. Los virus del linaje SIV/HIV-2 tienen un gen central de su genoma el vpx. El VIH-1 presenta dos genes estructurales, gag y env, un gen enzimático pol, dos genes reguladores tat y rev y cuatro genes accesorios: vif, nef, vpr y vpu. Vpu promueve la degradación de CD4 y ayuda a la liberación de virus, formando canales aniónicos en la membrana celular. Para conocer mas sobre los efectos de la expresión solo del gen vpu, sin los otros genes del virus, se crearon líneas de ratones transgénicos y se estudió la patogénesis de su expresión.

Objetivos
El objetivo del presente trabajo es contribuir a definir mejor el papel del gen vpu en la patogénesis inducida por el VIH-1 en un modelo *in vivo* de ratones.

Material y Métodos
Se creó una línea de ratones transgénicos (Tg) portadores de este gen. Se estudió la patogénesis en los animales Tg. Los animales se sacrificaron a diferentes edades en tres grupos: de 1 a 6 meses de edad, de 7 a 12 y de mas de 13 hasta 18 meses de edad. Los animales fueron mantenidos en un ambiente libre de patógenos específicos (aire filtrado, agua y alimento esterilizados). Se les practicó la necropsia y se tomaron muestras para histopatología e inmunohistoquímica para la detección de IL-6 según la técnica de Zhang, L. y Tarleton, R. L (1996) 2. Los resultados fueron comparados con los resultados de ratones normales (Ntg) de la misma línea B6/C3H, a las mismas edades.

Resultados
El 50-65% de los animales transgénicos desarrollaron una esplenomegalia con linfoproliferación en el bazo y alrededor de vasos sanguíneos del riñón y de bronquios. Además estos animales desarrollaron una glomerulopatía mesangioproliferativa. En una cinética de aparición de evolución de estas lesiones se encontró que eran mas frecuentes a la edad de 9-12 meses de edad, y que la hiperplasia linfoide puede evolucionar hacia un linfoma. También se encontró en las linfoproliferaciones, una sobre-expresión de IL-6 en células de tipo dendrítico/macrofágico.

Discusión
La linfoproliferación en varios tejidos principalmente en el bazo, la hiperplasia mesangial y la sobre-expresión de IL-6 sugieren una estimulación del sistema inmune de forma crónica 3,4, 5, que finalmente evoluciona hacia una neoplasia o al desarrollo de la enfermedad de Castleman-like 6,7,8,9 parecida a la observada

en pacientes sidáticos y parecida igualmente a la que desarrollan los ratones transgénicos Knock-out de la proteína reguladora del gen IL-6, la C-EBP-b 4, 10,11. La sobre expresión de IL-6 en nuestros ratones, sugiere que esta citosina pudiera estar implicada en la patogénesis de las linfoproliferaciones 8 y de la neuropatía 2,3, observada en pacientes en estado de SIDA. Por otro lado, no se descarta la posibilidad de participación del proteosoma celular, ya que se ha reportado que la proteína Vpu acarrea a otras proteínas al proteosoma, entre estas podría estar implicada el INF-kappa B, que al ser degradado, libera la forma activa de factor de transcripción NF-kappa B. Este a su vez, se une al ADN y hace que se inicie la transcripción de varias citocinas entre estas IL-6 11.

Conclusiones

En la activación crónica no específica del sistema inmune en este modelo murino, una desregulación de IL-6 podría estar implicada.

Este modelo animal, podrá ser utilizado para determinar el papel de VPU y los mecanismos implicados en la génesis de las lesiones, ya que reprodujo lesiones muy similares a las desarrolladas por los pacientes con SIDA.

Bibliografía:

1.- Greenspan, D., Pindborg, J. J., Greenspan, J. S., Schiodt, M. Dans Pathologie SIDA au cabinet dentaire. Éditions DdP, Paris. Ch 4, p27-34, 1987.

2.- Zhang, L., Tarleton, R. L. Characterization of cytokine production in murine *Trypanosoma cruzi* infection by *in situ* immunochemistry: lack of association between susceptibility and type 2 cytokine production. Eur. J. Immunol. 26: 102-109, 1996.

3.- Alpers, C. E., McClure, J., Burstein, S. L. human mesangial cells are resistant to productive infection by multiple strains of human immunodeficiency virus types 1 and 2 . Am. J. Kid. Dis. 19:126-130, 1992.

4.- Adler, S. G., Cohen, A. H. , Glassock, R. J. 1996. Secondary glomerular diseases (infectious diseases). In: The kidney. Ed by Brenner, B. M. fifth ed. W.B. Saunders Company. ch 31, 1547-1552 .

5.- Boue, F., Wallon, C., Goujard, C., Barré-Sinoussi, F., Galanaud, P., Delfraissy, J.
HIV induces IL-6 production by human lymphocytes. L. Immunol. 148:3761-3767, 1992.

6.- Ishiyama, T., Nakamura, S., Akimoto, Y., *et al*., Immunodeficiency and Castleman's disease. Br. J. Haematol. 86:843-849, 1994.

7.- Larroche, C., Cacoub, P., Godeau, P. La maladie de Castleman. Rev. Méd. Interne. 17:1003-1013, 1996.

8.- Leger-Ravet, M. B., Peuchmaur, M., devergne, O., et al., Interleukin-6 gene expression in Castleman's disease. Blood. 78:2923-2930, 1991.

9.- Miller, R. T., Mukai, K., Banks, P., Frizzera, G. Systemic lymphoproliferative disorder with morphologic features of Castleman's disease. Arch. Pathol. Lab. Med. 108:626-630, 1984.

10.- Kirschning, C. J., Unbehaun, A., Giedler, G., Hallatschek, W., Lamping, N., Pfeil, D., Schumann, R. R. The transcriptional activation pattern of

lipopolysaccharide binding protein (LBP) involving transcription factors AP-1 and C/EBP-b. Immunobiol. 198:124-135, 1997.

11.- Elliott, P.J.,Ross, J.S. The Proteosome: A new target for Novel Drug Therapies. Am J Clin Pathol 116(5)637-646, 2001.

LA ÉTICA EN EL DIAGNÓSTICO *ANTE-MORTEM.*

Beatriz Vanda Cantón.
Depto. de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

Resumen.
En el ejercicio cotidiano de la patología los diagnósticos pueden tener repercusiones graves, por eso primero hay que reflexionar sobre ¿qué es lo más importante al escribir un resultado diagnóstico?: demostrar lo que uno sabe, o contribuir a resolver un problema y ayudar a que se tomen las mejores decisiones tanto para los animales como para quienes los tienen a su cuidado. La ética profesional nos demanda también esto último, por lo que no es suficiente que el informe diagnóstico sea correcto y preciso, sino además que el comentario que se añade sea lo suficientemente claro y práctico, pues de su contenido y de la forma en que está redactado dependerá la reacción emocional de los propietarios, la decisión terapéutica del clínico y para el paciente a veces representa la diferencia entre morir o tener la oportunidad de seguir viviendo.
PALABRAS CLAVE: Ética, diagnóstico, comentario.

ETHICS IN THE *ANTE-MORTEM* DIAGNOSIS

Abstract
In the current diagnosis in pathology practice, sometimes the reports that we make can have bad issues on the owner's emotional state or on the subsecuent therapeutic decisions. Before write the results, we must be careful and responsible, thinking before: what is more important?: demonstrate our knowledge and that we are good pathologists, or help the sick animals contributing to take good decisions about them. The veterinary medical ethics request us to make right diagnosis because that's our responsibility, but furthermore to write a commentary explaining the problem that the patient has.This can represent for the animal the difference between the death or stay alive.
KEY WORDS: Ethics, diagnosis, commentary.

En el ejercicio cotidiano de la patología los diagnósticos emitidos tienen repercusiones de magnitudes que muchas veces ignoramos; por lo que en ocasiones no se piensa en las consecuencias que este diagnóstico traerá a los pacientes.

El patólogo realiza su trabajo de una manera profesional, describiendo e informando con veracidad y precisión las lesiones y alteraciones que ha observado y reconocido, de la manera más objetiva posible; sin embargo, se experimentan dos situaciones muy desalentadoras, una es la escasa o nula información clínica que se tiene acerca de los pacientes o de la lesión, y la otra es que la mayoría de quienes solicitan nuestros servicios como especialistas, no presten demasiada atención a la descripción que con detalle hace el patólogo de la biopsia o de la muestra citológica que se le remite, sino que rápidamente dirigen la mirada en busca del diagnóstico y del comentario adjunto.

Ante la situación de no contar con información sobre el paciente, no resulta ético emitir un diagnóstico, ya que el riesgo de equivocación o imprecisión es muy grande, por lo que siempre que sea posible se debe contactar a la persona que remite el caso con el fin de obtener más información al respecto. Y en cuanto al

informe quirúrgico o citológico hay que pensar: ¿qué es lo más importante al escribir un resultado diagnóstico?, ¿que los clínicos y los clientes se den cuenta de lo mucho que sabe el patólogo y de la certeza y la elegancia que tiene para describir las alteraciones morfológicas?, o realmente se trata de que el informe sea claro y contribuya a tomar las mejores decisiones tanto para los animales como para quienes los tienen a su cuidado; es decir, para los propietarios y los clínicos. Y a veces el comentario no contiene ninguna información relevante, ni de utilidad, en cuyo caso sería más conveniente no escribir nada. Cuando el diagnóstico o el comentario son ambiguos, pueden provocar sufrimiento y angustia en los responsables de los animales, y probablemente estemos firmando una sentencia de muerte anticipada. Por ejemplo, los resultados de neoplasias malignas o de enfermedades infecto-contagiosas, suelen tener para los dueños un significado diferente del que tienen para el patólogo y una interpretación distinta a la que le da un clínico. Para los primeros es una noticia terrible, para el segundo significa un triunfo diagnóstico y un ejercicio descriptivo, para los clínicos puede ser un reto terapéutico y para el paciente significa la diferencia entre seguir vivo o morir. Por lo que no basta la certeza diagnóstica y la corrección al describir, también se debe ser muy cauteloso en la redacción del comentario que sigue al diagnóstico, ya que en ocasiones, aunque se trate de un tumor de comportamiento maligno, éste puede ser pequeño o apenas incipiente sin evidencia de estarse diseminando, o puede tratarse de una neoplasia quimiosensible, por lo que no hay que alarmar a los propietarios; más bien se debe redactar un comentario que les haga ver que hay opciones para conservar a su animal con una calidad de vida aceptable. Hay que pensar que mucha gente tiene mucho miedo de que cualquier enfermedad infecciosa de los animales pueda contagiarse a los seres humanos, por lo que un comentario incompleto puede provocar que eliminen injustamente a sus animales enfermos por miedo al contagio, esto es conveniente aclararlo en el comentario cuando quien remite la muestra es el propietario y no un médico. No es éticamente correcto dar una mala noticia sin ofrecer una alternativa que proporcione esperanza o al menos un consuelo. En el caso de neoplasias no malignas pero que por su tamaño o localización pueden ulcerarse o causar molestias al animal, es conveniente sugerir que por este motivo sean retiradas quirúrgicamente. Cuando se trata de pacientes geriátricos no es prudente recomendar que sean sometidos a cirugías invasivas, porque pueden perder la vida durante la anestesia o padecer más durante su recuperación y resulta irresponsable arriesgarlos innecesariamente; en estos casos lo mejor es recomendar tratamientos conservadores y cuidados paliativos.[i] El patólogo veterinario debe ser capaz de identificar cuándo puede evita una muerte innecesaria y cuándo verdaderamente la eutanasia significaría lo mejor para el paciente, procurando siempre que su habilidad diagnóstica sirva para beneficiar también a aquéllos que son la razón de su profesión: los animales.

Referencias bibliográficas:

1. Rollin BE. Veterinary Medical Ethics. Iowa State University Press: Ames, 1999, 417 pp

EVALUACIÓN Y COMPARACIÓN DE 3 DESPARASITANTES EN LA INFECCIÓN POR *Trichinella spiralis* EN FASE INTESTINAL Y MUSCULAR EN MODELO EXPERIMENTAL MURINO Y SUINO.

*M.V.Z. María Isabel Chávez Ruvalcaba [1,3], M. en B. Gabriela Reveles Hernandez[1], M. en C. Jesús Muñoz Escobedo[2] Dr. en C. Mario Rodolfo Morales Vallarta[3], Dra. en C. María Alejandra Moreno García[1] .

1-Unidad Académica de Biología Experimental 2- Unidad Académica de Odontología de la Universidad Autónoma de Zacatecas, 3-Doctorado en Ciencias Biológicas en la Especialidad de Microbiología de la Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Resumen. La Trichinellosis es una enfermedad parasitaria, zoonótica de distribución mundial que es trasmitida al hombre por consumo de carne infectada deficientemente cocida, donde el cerdo actúa como principal transmisor. En el estado de Zacatecas es una zona endémica, hemos percibido que en los últimos años se ha presentado la enfermedad, en estados donde no existían reportes. Hasta el momento no existe un tratamiento definitivo, por tanto, planteamos el siguiente proyecto con el objetivo de evaluar y comparar la eficacia del albendazol (ABZ), la ivermectina (IVM) y la nitazoxanida (NZX) en 2 modelos experimentales el murino y el suino, ya que ambos participan como portadores y/o trasmisores al humano. Preguntándonos, cuál fármaco es mas eficiente en la infección causada por *T. spiralis* en fase intestinal y muscular en las dos especies. Resultando mas eficiente el albendazol, a continuación la ivermectina y por ultimo la nitazoxanida. Esto fue evaluado por el método de ANOVA, resultando un p. value de < 0.01, que es estadísticamente significativo.

Palabras Claves Trichinellosis, Tratamiento, Albendazol, Ivermectina, Nitazoxanida.

Summary.
The Trichinellosis is a disease parasitic, zoonótica of world distribution that is transmitted the man by meat consumption infected deficiently cooked, where the pig acts as main transmitter. In the Zacatecas state it is an endemic area, we have perceived that in the last years the illness has been presented, in states where reports didn't exist. Until the moment a definitive treatment doesn't exist, therefore, we outline the following project with the objective of to evaluate and to compare the effectiveness of the albendazole (ABZ), the ivermectin (IVM) and the nitazoxanide (NZX) in 2 models experimental the murino and the suino, since both participate as payees y/o trasmisores to the human. Wondering, which drug it is but efficient in the infection caused by *T. spiralis* in intestinal and muscular phase in the two species. Being but efficient the albendazole, next the ivermectin and for I finish the nitazoxanide. This was evaluated by the ANOVA method, being a p.v.<0.01 that it is statistically significant.

Key words Trichinellosis, Treatment, Albendazole, Ivermectin, Nitazoxanide.

Introducción. Trichinellosis es una enfermedad cosmopolita presente en donde el hombre y los animales silvestres y domésticos puedan consumir la carne deficientemente cocida e infectada con *Trichinella spiralis*, donde la rata, por ejemplo, participa como huésped intermediario. Ya que al presentarse la infección, los signos clínicos son confundidos con otros síndromes febriles, por tanto, se dificulta y disminuye la incidencia en la detección de la enfermedad. Es importante aplicar un tratamiento de forma oportuna y eficiente. El albendazol es el más nuevo bencimidazol descubierto, presenta menos efectos adversos que sus congeneres (1), y en México forma parte del cuadro básico de desparasitantes del Sector Salud, ha presentado buena efectividad en algunos estudios realizados (2, 3 y 4). Ivermectina es una lactóna macrocíclica semisintética, compuesta de una mezcla de Avermectina B1a y B1b, derivada del actinomiceto del suelo *Streptomyces avermitilis* (5,6),descubierto a mediados del decenio de los años 70 (1), con potente acción contra diversos parásitos, es poco toxica, relativamente barata mas no de fácil adquisición para uso en humanos, se han realizado análisis en su administración con buenos resultados (6) y la nitazoxanida descubierta en el decenio de los setenta, pero recientemente ha salido al mercado mundial, Rossignol realizó un cambio en la estructura básica de los metronidazoles al sustituir el nitrógeno por el azufre. Presenta mayor eficacia contra muchos parásitos tratados con otro tipo de productos (7). Aunque ya esta en el mercado, aún están realizando estudios porque hay controversia entre sus beneficios en comparación con otros desparasitantes (8,9).

Material y métodos. El modelo experimental consistió en: 18 cerdos de 18 semanas de edad, hembras y machos, raza York, y 90 ratas de 2 meses de edad, hembras y machos cepa Long Evans y Wistar. Ambos modelos fueron tratados en fase intestinal (5 y 7 días después de la infección) y en fase muscular (40 días después de la infección, durante 15 días). Se formaron grupos de la siguiente forma:

2 cerdos y 10 ratas control sano
2 cerdos y 10 ratas control infectado con *T. spiralis* en fase intestinal (FI)
2 cerdos y 10 ratas infectados (I) con *T. spiralis* y tratados con albendazol en FI
2 cerdos y 10 ratas I. con *T. spiralis* y tratados con ivermectina en FI
2 cerdos y 10 ratas I. con *T. spiralis* y tratados con nitazoxanida en FI
2 cerdos y 10 ratas control infectados con *T. spiralis* en fase muscular (FM)
2 cerdos y 10 ratas I. con *T. spiralis* tratados con albendazol en FM
2 cerdos y 10 ratas I. con *T. spiralis* tratados con ivermectina en FM
2 cerdos y 10 ratas I. con *T. spiralis* tratados con nitazoxanida en FM.

Infección, tratamiento y sacrificio de los animales.

Los animales fueron puestos a dieta sólida 24 hrs. antes de la infección, se les administro el paquete de carne infectada con 500 larvas infectantes (LI) a ratas y 10 LI por gramo de peso a los cerdos individualmente. Trascurridos 5 días después de la infección a las ratas y a los cerdos de la fase intestinal, se les administro por vía oral (a través de una cánula a las ratas) Albendazol (ABZ) del

Sector Salud (SSA) a dosis de 15 mg/kg de peso/día por tres días consecutivos, de igual manera se les administro a las ratas y a los cerdos de la fase intestinal, Ivermectina (IVM) por vía subcutánea (S.C.) 200 µg/kg en dosis única (Iverful ® Aranda) y la Nitazoxanida (NZX) (Daxon® Columbia) de igual forma a los grupos comprendidos por ratas y cerdos en la fase intestinal una dosis de 15 mg/kg/ c 12 horas /3 días por vía oral. Para la fase muscular el tratamiento fue de la siguiente forma: trascurridos 2 meses después de la infección a las ratas y a los cerdos, se les administro por vía oral (a través de una cánula a las ratas) ABZ (SSA) a dosis de 15 mg/kg de peso/día por quince días consecutivos, se les administro a las ratas y a los cerdos, IVM (S.C.) 200 µg/kg en dosis única (Iverful ® Aranda) y la NZX (Daxon® Columbia) de igual forma a los grupos comprendidos por ratas y cerdos en la fase muscular una dosis de 15 mg/kg/c 12 horas / 7días por vía oral .
Para el sacrificio de los animales: Las ratas se introdujeron en una cámara de halótan, a la muerte se despielaron, evisceraron y se realizaron cortes de músculos (maseteros, lengua, intercostales, diafragma y pierna) para técnica de compresión, fijación de formol y técnica de digestión artificial, los cerdos se anestesiaron con Pentobarbital®, previa tranquilización con Sural ®, se realizo punción cardiaca, a la muerte se despielaron, evisceraron y se realizaron cortes de los músculos antes mencionados y órganos (cerebro, ojo, corazón, pulmón, hígado, bazo, riñón, útero y/o testículo) para técnica de compresión, fijación de formol y técnica de digestión artificial (excepto los órganos). Se evaluó la carga parasitaria por medio de la técnica de compresión de placa y la técnica de digestión artificial (DAR), (10,11). Para la evaluación de la respuesta inmune se obtuvo del antígeno soluble total de *Trichinella spiralis,* (10), mismo que se uso como antígeno para las diferentes pruebas en el modelo experimental con los sueros problema (Inmunodifusion doble (12) e Inmunoelectrotransferencia (13). Se usaron marcadores de pesos moleculares, como: Fosforilasa (97 kDa), Albúmina sérica bovina (68 kDa), Ovo albúmina (43 kDa), Anhidrasa carbónica (24 kDa) y Lisosima (14 kDa), para identificar el triplete característico de 42,43 y 45 kDa en la Trichinellosis (14,15). Así mismo se evaluaron las características de la célula nodriza por medio de tinción con azul tripan, es decir, de las muestras observadas a compresión se tomaron y se sumergieron en un ependor con aproximadamente 1ml de solución preparada con Azul tripan por 2 4 y 24 horas, se observaron al microscopio nuevamente y se analizo si el colorante ingresaba o no a la LI, evidenciando de esta forma si era viable o no. Al realizar la técnica de hematoxilina-eosina (16) se observaron los cambios en el tejido muscular y la célula nodriza. Finalmente se evaluó si había reproducción del ciclo vital se tomaron porciones de tejido de todos los grupos para ofrecerlas a ratas Long Evans sanas, al cavo de 8 semanas, se sacrificaron, se tomaron tejidos para observarlos al microscopio y verificar la presencia o no del parásito.

Resultados. El modelo lineal estadístico fue asociado a un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial anidado, para ambos modelos.
En cuadro no. 1, observamos los promedios obtenidos y la positividad o negatividad en las técnicas en cerdos y ratas. Cabe señalar que los cerdos tratados con ABZ en fase muscular presentaron alteraciones en la célula nodriza presentándola al corte para compresión un aspecto negruzco, no se recupero

ninguna larva en la DAR, además que en la técnica de tinción con azul tripano, el colorante difundió a la célula nodriza indicando la no viabilidad de esta y al administrar, el tejido tratado a ratas sanas no se reprodujo el ciclo vital del parásito. En fase intestinal en cerdos, presento disminución de las larvas pero si hubo reproducción del ciclo vital. Así mismo, se muestran los promedios obtenidos en el análisis de la respuesta de los murinos, donde se observa tanto en fase intestinal como muscular, que el tratamiento que presento menor número de larvas infectantes fue con ABZ, en fase muscular se presentaron ligeros cambios en la coloración en algunas células nodrizas pero mantuvieron la viabilidad y al administrar a ratas el tejido tratado si se reprodujo el ciclo vital. En la gráfica no.1 al pie de figura se explica como en la interacción tratamiento-fase en ambas especies se observa que el tratamiento con ABZ fue el más efectivo en ambas fases, seguido de la IVM y al final con más número de larva infectantes los animales tratados con nitaxoxanida.

Discusión. Para este análisis el conteo de larvas infectantes en la técnica de compresión de tejido no fue sensible al modelo estadístico (Statgraphics Plus 2.1), sin embargo la técnica de DAR si mostró sensibilidad, similar a lo reportado con Ribicich (17), al realizar una comparación entre la DAR y la triquinoscopía para la detección de *T. spiralis* en carne porcina no mostró diferencia significativa entre los dos métodos (Test para dos proporciones, con el estadístico z, utilizando el software STATISTIX for WINDOWS).
Al evaluar y comparar los tres fármacos en cerdos, el ABZ en FM fue efectivo al encontrar 0 LI en FM por la técnica de DAR, siguiendo de manera ascendente en el número de LI la NZX en FM, ABZ en FI e IVM en FM mostrando el mismo no. de LI, continuando NZX en FI y después IVM en FI. Marinculic (18), menciona efectividad de Febendazol (congenere del ABZ) de un 100% en fase intestinal en cerdos. Y en ratas el ABZ en FI presentó el menor número de LI, seguida por la IVM en FI y después en FM, luego ABZ en FM y continuando con NZX en FI y al final con mayor número de LI NZX en FM, mientras que Chung (19), nos dice que el FBZ es más efectivo que el Albendazol (ABZ) en la fase adulta de *Trichinella spiralis* en ratón a dosis de 20mg/kg /día/5dias con una efectividad de ABZ 46% Y FBZ 99.4%. Mostrando como en ambos modelos se comporto de diferente manera cada uno de los tratamientos, por tanto, es importante recalcar como el fármaco no responde igual en los dos modelos, observando la diversidad de respuesta según la especie.
El análisis estadístico mostró que el tratamiento, la técnica y la especie denotaban p. value< 0.01 indicando que son factores estadísticamente significativos con un 99% de nivel de confidencia.

Conclusión. El ABZ presenta eficiencia al encontrar disminución de la carga parasitaria en los murinos tanto en fase intestinal, como en fase muscular, pero no hay muerte del parásito, y en el cerdo el ABZ en fase digestiva disminuye la carga parasitaria y en fase muscular es 100% efectivo, observándose modificaciones en el implante y no hubo reproducción del ciclo vital, la NZX presenta mayor efecto que la IVM en modelo suino, al disminuir la carga parasitaria, no así en el modelo murino donde se presenta efectiva la IVM principalmente, y no exhibe

modificación del parásito. Los resultados fueron analizados por el método de ANOVA resultando un $p< 0.01$ altamente significativo, en un experimento designado completamente al azar.
De los tres fármacos el albendazol es el mejor antiparasitario, y en fase muscular en cerdo indujo cambios en la célula nodriza y la no reproducción del ciclo vital de *T. spiralis*. En fase intestinal, existe disminución de la carga parasitaria pero sigue siendo viable. Es importante realizar un análisis dosis respuesta en murinos para mostrar a que dosis muere el parásito.

Agradecimientos. En especial al D. en E. Oscar Perez Veyna, por su valiosa aportación en el diseño estadístico.

Referencias

1.-Goodman A., J. Hardman, L. Limbird, P. Molinoff y R. Ruddon. 2002. Las bases ANOVA farmacológicas de la terapéutica,Volumen II. 10º edición, Editorial MC Graw_hill Interamericana. 1138 - 1149. pp
2.-Rossignol J. F. y J. P. Coulaud. 1983. Evaluation de albendazole in Europa, West the Africa and Asia as a single dose anthielmintic: report 1455 patients, Summary of Clinical Trials Worlwide, p:24- 25
3.-McCracken R. O. 1978. Efficacy of Mebendazole and Albendazole against Trichinella spiralis in mice, American Society of Parasitologists J Parasitol 64 (2) : 214-219
4.-Garcia R. J., J. J. Torrado y F. Bolas. 2000. Improving Bioavailability and anthelmintic activity of albendazole by preparing albendazole-cyclodextrin complexes Xth ICT, Parasite, 2001, 8. S 188- S19
5.-Katzung-Beltram G. 2005. Farmacología Básica y Clínica, 9º edición, Editorial Manual Moderno, pp. 873-875.
6.-Sebastiáo A. P. 2001. Sampaio Laboratorios Sintofarma Monografia IVERMECTINA,. San Paulo Brasil.
7.-Eguiza S. L. 1998. Nitazoxanida, una nueva molécula con efecto antiparasitario multiple, Revista de Enfermedades Infecciosas de Pediatria, diciembre, Vol. 10 Issue46, p14, 1p,1bw
8.-Abaza H., A. El-Zayadi, S.M. Kabil, H. Rizk. 1998. Nitazoxanide in the treatment of patients with intestinal protozoan and helminthic infections: a report on 456 patients in Egypt. Curr Ther Res 59: 116-121
9.-Rodríguez G. R. 2000. Más sobre la Nitazoxanida , Carta al Editor. Revista Mexicana de Pediatría, Vol.67, Núm.4, Jul-Agos, 2000 pp192-193
10.-Del Río A., D. R. Herrera y R. Herrera. 1986. Triquinosis experimental: Extracción de antígenos y procedimientos para detectar anticuerpos. Archivos de Investigación Médica. México.17:359-367.
11.-Fragoso R. S. 1981. Un brote de triquinosis en Villanueva, Zacatecas, Salud Publica de México. Epoca V, Volumen XXIIII. Núm.1, Enero-febrero de 1981., p: 25
12.-Ouchterlony O. 1958. Difussion in Gel Methods for Immunological Analysis in: Progress Allergy. Vol. V. Ed. Gallio, P., Basel and New York, Krager, New York. USA. 1 – 78.

13.-Towbin H. T. y T. Sthanlin, Gordon. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrilamide gels to nitrocelulosa sheets, procedure an some application. Proct. Nathl. Acado Sci. USA 76: 4350

14.-García E., R. M. Herrera, J. Muñoz y A. Moreno. 1996. Detection the antibodies in experimental models. Trichinellosis. 9th International Conference Trichinellosis (ICT 9). Edit. Ortega P., Wakelin., 481 – 488.

15.-Moreno A. y J. J. Muñoz. 1993. Características de la Respuesta Inmune en *Trichinella spiralis*. Investigación Científica .1 :17-28.

16.-Manual of Histology and special staining technique. 1957. Armed Forces. In: Institute of Pathology. Washington, D.C Chapter 2, pp:57-16.

17.-Ribich M., A. Rosa, V. Molina, G. Blangiardi, N. Basso y A. Franco. 2000. Comparación entre la digestión artificial y la triquinoscopia para la detección *Trichinella spiralis* en carne porcina., InVET.2(1):81-85

18.- Marincülic A., M. Fajdiga y E. Durakovic. 2001. The eficay of flubendazole against Trichinella spiralis in swine., Parasite 2001. 8: 191-194.

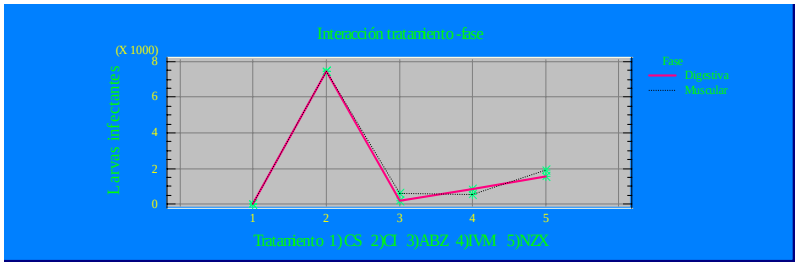
19.- Chung M. S., K.H. Joo, F. S. Quan, H. S. Kwon y S. W. Cho. 2001. Eficacy de flubendazole and albendazole against *Trichinella spiralis* in mice ,Parasite, 8: 195-19

Cuadro no. 1

Tratamiento	Fase Intestinal y muscular				Fase Intestinal						Fase Muscular					
	Control sano		Control infectado		Tx ABZ		Tx IVM		Tx NZX		Tx ABZ		Tx IVM		Tx NZX	
Especie	C	R	C	R	C	R	C	R	C	R	C	R	C	R	C	R
Compresión de tejido	0	0	8.9	18.73	0.016	3.24	1..31	2.27	1.71	14.58	0.865	4.94	0.385	4.96	0.385	17.74
Digestión artificial	0	0	4750	25000	425	255	2125	1275	1875	4375	0	2500	437.5	1750	250	7500
Viabilidad con Azul tripano	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
Técnica de H-E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IDD	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IET	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Reproducción del ciclo Vital en ratas	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+

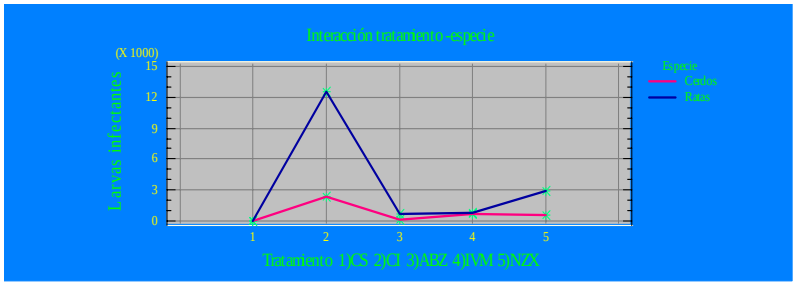
CS- control sano, CI- control infectado, Tx- tratamiento, ABZ-albendazol, IVM-ivermectina, NZX-nitazoxanida, C- Cerdos, R-Ratas, +-Positivo, –- Negativo.

Gráfica no. 1- Interacción tratamiento-fase.



En esta gráfica (no. 1) se representa la interacción tratamiento-fase, observamos que en ambas líneas (continua y punteada) en el tratamiento 1 (control sano) y el tratamiento 2 (control infectado) se muestran con el mismo comportamiento, sin embargo en el tratamiento 3 (albendazol) en fase intestinal (línea continua-rosa) presento un menor número de larvas que en los tratados en fase muscular (línea punteada-azul). De diferente forma actuó el tratamiento 4 (ivermectina) donde en fase muscular fue incrementada la efectividad en comparación la fase intestinal y el tratamiento 5 (nitazoxanida) presentó mejor efecto en fase intestinal que en muscular. Cabe mencionar que es un estudio burdo, donde se están tomando los promedios de ambas especies (cerdos y ratas) por tanto es importante analizar mas detalladamente las variables de este estudio.

Grafica no. 2 Interacción tratamiento .especie.



Esta grafica (no.2) corresponde a la interacción tratamiento especie, donde se detalla el resultado de cada una. Observamos como en la línea superior que corresponde a los resultados de las ratas presenta mejor efecto el tratamiento con ABZ, seguido de IVM y NZX, y se observa como en la línea inferior que corresponde a los cerdos el tratamiento con ABZ es 100% efectivo, no así con el tratamiento de IVM y NZX.

COMPARACION DEL QUIMIOTERAPÉUTICO ALBENDAZOL (COMERCIAL, DEL SECTOR SALUD Y GENERICO) EN EL TRATAMIENTO DE TRICHINELLOSIS EN FASE MUSCULAR EN MURINOS

***MVZ María Isabel Chávez Ruvalcaba[1,3], M. en C. Jesús Muñoz Escobedo[2], Dr. en C. Mario Rodolfo Morales Vallarta[1,3]., Dra. en C. María Alejandra Moreno García[1,3].**

1. Laboratorio de Biología Celular y Microbiología de la Unidad Académica de Biología Experimental de la UAZ; 2. Unidad Académica de Odontología de la UAZ; 3. Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

RESUMEN *Trichinella spiralis* es un parásito cosmopolita causante de enfermedad, esta presente en donde el hombre y los animales silvestres y domésticos puedan consumir la carne deficientemente cocida e infectada, la rata participa como huésped intermediario. Ya que los signos clínicos son confundidos con otros síndromes febriles, se dificulta y disminuye la incidencia en la detección de la enfermedad. Es importante aplicar un tratamiento de forma oportuna y eficiente. Realizamos la comparación de tres presentaciones de albendazol de Patente, del Sector Salud, y Genérico Intercambiable a 3 grupos de 10 murinos cada uno con 5 machos y 5 hembras. Esperando que el efecto fuera similar ya que los fármacos deben ser realizados bajo la misma formula que el de patente. Se infectaron, trataron, sacrificaron y se procedió a aplicar técnicas directas de conteo de parásitos (compresión de tejido y digestión artificial) e indirectas inmunológicas (inmunodifusión doble e inmunoelectrotransferencia) Resultando más efectivo el ABZ de patente enseguida el del sector salud y finalmente con menos efecto el genérico intercambiable. Analizados los resultados por el método de ANOVA con un p. value de <0.001, que es estadísticamente significativo.

PALABRAS CLAVES. Trichinellosis, Albendazol-Patente, Albendazol-SSA, Albendazol-Genérico intercambiable.

They SUMMARIZE *Trichinella spiralis* it is a causing cosmopolitan parasite of illness, this present where the man and the wild and domestic animals can consume the meat deficiently cooked and infected, the rat participates as intermediary guest. Since the clinical signs are confused with other feverish syndromes, it is hindered and it diminishes the incidence in the detection of the illness. It is important to apply a treatment in an opportune and efficient way. We carry out the comparison of three presentations of albendazole of Patent, of the Health Sector, and Generic Interchangeable to 3 groups of 10 murinos each one with 5 males and 5 females. Hoping the effect was similar since the drougs should be carried out under the same one it formulates that that of patent. They were infected, they tried, they sacrificed and you proceeded to apply technical direct of count of parasites (fabric compression and artificial digestion) and indirect immunologic (inmunodifusióndoble and inmunoelectrotransferencia) being more effective the patent ABZ at once that of the health sector and finally with less effect

the generic one interchangeable. Analyzed the results for the method of ANOVA with a p. v.<0.001 that it is statistically significant.

KEY WORDS. Trichinellosis, Albendazole-patent, Albendazole-SSA, Albendazole-generic interchangeable.

INTRODUCCIÓN Los fármacos se conocen a menudo por varios nombres, según el descubridor, la sustancia química que lo compone o un código ideado para su fácil identificación. La aprobación de un fármaco genérico por parte del organismo oficial se basa en la evidencia científica de que produce un efecto sobre los seres humanos esencialmente idéntico al del producto original. Ya que el Sector Salud (SSA) es un organismo oficial, encargado de proveer a la población de fármacos eficaces. El Albendazol (ABZ) que forma parte del cuadro básico en nuestro país, presenta menos efectos adversos que sus congéneres, y ha presentado buena efectividad en algunos estudios realizados en la Trichinellosis, nos dimos a la tarea de investigar el efecto de tres presentaciones de albendazol en esta infección causada por *Trichinella spiralis* (*T. spiralis)* en modelo murino en fase muscular. Ya que esta parasitosis es cosmopolita y endémica en el estado de Zacatecas y su infección pasa de manera desapercibida en el hombre, quisimos realizar la comparación en beneficio del consumidor.

OBJETIVO Comparar el efecto del Albendazol en tres presentaciones; comercial (Zentel ®), del Sector Salud (SSA) y genérico intercambiable (GI) en el tratamiento de Trichinellosis en fase muscular en murinos.

HIPOTESIS. El ABZ en tres presentaciones presenta el mismo efecto en el tratamiento de Trichinellosis en fase muscular en murinos.

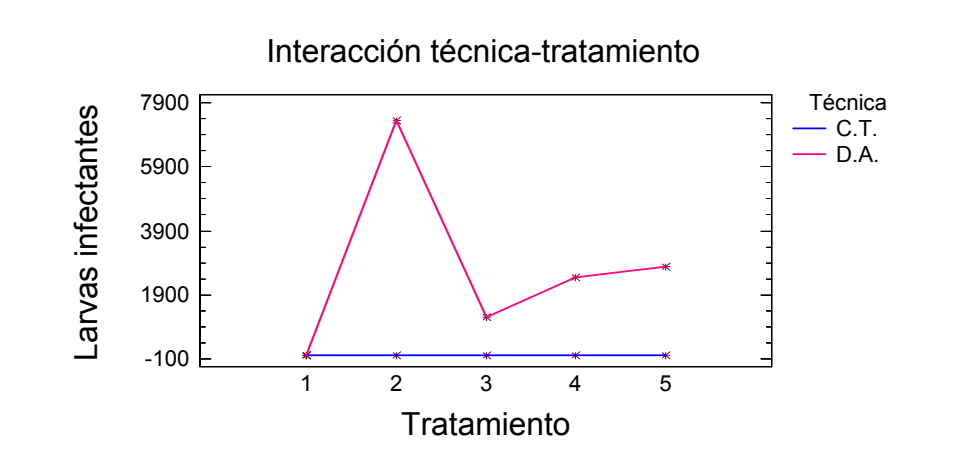
MATERIAL Y METODOS. Se analizaron 50 ratas Long Evans de 200 ± 50gr de peso, se formaron 5 grupos con 10 animales cada uno, 5 machos y 5 hembras. Los grupos llevaron el siguiente orden. 1). Control sano, 2). Control Infectado, 3).Tratamiento con ABZ-patente, 4). Tratamiento con ABZ-SSA y 5). Tratamiento con ABZ-GI.
A estos grupos fueron infectados con 500 Larvas infectantes (LI) de *T. spiralis* se les aplico el tratamiento después de 40 días de la infección a dosis de 15mg/kg/día /15dias, los murinos se sacrificaron 30 días después de terminado el tratamiento y se procedió a realizar las técnicas directas de Compresión de tejido en 5 músculos de cada animal (masetero, lengua, diagrama, intercostales y pierna) y de Digestión Artificial en una mezcla de 30 gramos de tejido de cada animal. Se realizaron 4 sangrados a los animales antes de la infección, después de la infección, después del tratamiento y antes del sacrificio con el suero se realizaron las técnicas indirectas como Inmunodifusión doble (IDD) e Inmunoelectrotransferencia (IET).

RESULTADOS En las IDD se presento la interacción Antígeno-Anticuerpo y en la IET se presento el patrón antigénico de 42,45 y 48 kDa presente en la Trichinelosis. El máximo efecto lo presento el ABZ-Comercial, enseguida el ABZ-

SSA y el que menor efecto presento fue el ABZ-GI como se representa en la gráfica no. 1 con la interacción técnica tratamiento en donde se observa, que la técnica de compresión de tejido no es sensible a nuestro modelo estadístico, sin embargo, la técnica de digestión artificial si muestra sensibilidad y es la que nos da los resultados antes mencionados. El análisis de varianza presenta un p-value<0.001 que es estadísticamente significativo para cada uno de los factores que son técnica, tratamiento y la interacción de ambos.

CONCLUSIONES. El efecto de conteo (numero de larvas) con los factores es estadísticamente significativo con un nivel de confianza de 99% por la prueba de Tukey. .No presentan el mismo efecto las diferentes presentaciones, aun que en la literatura se mencione que el efecto debe ser igual.

Grafica no. 1 Interacción técnica-tratamiento



Se muestra como la técnica de compresión de tejido no es sensible a nuestro estudio, en la técnica de digestión artificial nos muestra que el grupo (3)- tratamiento de ABZ-patente, presenta mayor disminución de larvas, siguiendo en orden el grupo (4)- tratamiento de ABZ-SSA y el grupo(5)- tratamiento de ABZ-GI, presentando mayor número de larvas. El grupo(1) se refiere a control sano y el grupo (2) es control infectado.

TRABAJOS EN FORMA DE CARTEL

NEUMONÍA CAUSADA POR UNA INFECCIÓN SIMULTÁNEA CON DISTEMPER Y ADENOVIRUS EN UN PERRO EN NUEVO LEÓN.

Luis Edgar Rodríguez-Tovar[1], Rafael Ramírez-Romero[1], Yazel Valdez-Nava[1], Alicia. M. Nevárez-Garza[1], Juan José Zarate-Ramos [1], Alfonso López[2].
[1] Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL. México.
[2] Atlantic Veterinary College, University of Prince Edward Island, Canada

RESUMEN
Una perrita de 2 ½ meses de edad, raza Pug, mostró anorexia, descarga oculonasal serosa e insuficiencia respiratoria previa a su muerte. La perrita recibió una vacuna polivalente por segunda ocasión una semana antes de su muerte. El examen patológico reveló una infección simultánea con moquillo canino (CDV) y adenovirus canino (CAV) en el sistema respiratorio. Se observaron inclusiones de CDV en el sistema nervioso central (SNC) y en los órganos viscerales, pero fueron abundantes en el parénquima respiratorio. Los cuerpos de inclusión de CAV se observaron en epitelio pulmonar. La técnica de inmunoperoxidasa confirmó la infección simultánea con el virus del CDV y el CAV. Es posible que en este caso, el CDV haya invadido inicialmente el tejido pulmonar predisponiendo al epitelio respiratorio para la entrada y replicación del CAV en los pulmones. Se discute la importancia de la infección viral doble.
Palabras clave: Neumonía viral, moquillo canino (CDV), adenovirus canino (CAV), inmunoperoxidasa.
Abstract
A 2 ½-months-old, female, Pug dog showed anorexia, oculonasal serous discharge and previous to death respiratory distress. The pup received a second polyvalent vaccination a week earlier. Pathological examination revealed simultaneous infection canine distemper virus (CDV) and canine adenovirus (CAV) in respiratory system. A few CDV inclusions were observed in central nervous system, visceral organs but were abundant in respiratory parenchyma. CAV inclusion bodies were observed only in the lungs. Immunolabeling technique with peroxidase confirmed the dual infection with canine distemper virus (CDV) and canine adenovirus (CAV). It seems possible that in this case, CDV could have invaded initially lung tissue predisposing the respiratory epithelium to entry of CAV to replicate in lungs. The significance of the dual virus infection is discussed.
Keywords: Viral pneumonia, canine distemper virus (CDV), canine adenovirus (CAV), immunoperoxidase.

INTRODUCCIÓN

El virus del moquillo canino (CDV) y el adenovirus canino (CAV) están entre los virus más comúnmente reportados como causa de neumonía severa en perros jóvenes[1]. Estos virus están frecuentemente asociados con la Enfermedad Infecciosa Respiratoria Canina (CIRD) en perros que se encuentran confinados en hospitales veterinarios y en perreras[2]. El CDV es la enfermedad viral más importante y común del perro y aunque existe un serotipo reconocido, hay variabilidad en la cepa, y el tropismo tisular está dirigido hacia el sistema nervioso central, tracto gastrointestinal y sistema respiratorio[3]. No obstante, muchos brotes agudos de CDV se caracterizan por lesiones respiratorias, tales como

bronconeumonía severa, neumonía intersticial, bronquiolitis y alveolitis necrosante[4]. El CAV, uno de los patógenos involucrados en la tos de las perreras, se vincula de forma más estricta con la enfermedad respiratoria en perros y se replica tanto en el tracto respiratorio superior como el inferior. Las lesiones pulmonares están relacionadas con traqueobronquitis y neumonía broncointersticial seguidas por exfoliación del epitelio bronquiolar y alveolar[5]. A pesar de la importancia de las infecciones virales iniciales en las perreras, los estudios que han examinado los casos naturales de neumonía viral simultánea continúan siendo escasos[6-8].

OBJETIVOS

Documentar por primera vez en Nuevo León una neumonía viral simultánea de CDV y CAV en un perro joven y describir los principales cambios morfológicos observados.

MATERIAL Y METODOS

Se remitió al departamento de Patología el cadáver de una perrita Pug de 2½ meses de edad con historia clínica de haber estado enferma por 25 días aproximadamente. El dueño obtuvo el animalito en una perrera local y refirió que la perrita recibió una sola vacuna polivalente cuando tenía 8 semanas de edad, seguida de un refuerzo 2 semanas después. Una semana después de la última vacunación la perra mostró anorexia, emaciación, letargia, descarga serosa oculonasal y dificultad para respirar. Además, presentaba signos nerviosos tales como contracción rítmica del músculo masticatorio y mioclonia. Una semana antes del examen post-mortem la perrita presentó convulsiones. Se reportó que el animal recibió una combinación de terapia con antibióticos, vitaminas y soporte electrolítico.

El examen post-mortem se llevó a cabo inmediatamente después de la muerte. El examen macroscópico reveló deshidratación, atrofia de amígdalas, severa bronconeumonía y aumento de fluido cerebroespinal. Se tomaron muestras de los tejidos para su examen microscópico, los cuales se fijaron en formol al 10%, se incluyeron en parafina y seccionaron a 4µm para finalmente teñirlos con H&E[9]. Microscópicamente, en los pulmones se observaron cambios morfológicos compatibles con una neumonía intersticial complicada con bronconeumonía purulenta. En el parénquima pulmonar se observaron células gigantes sincitiales y los septos alveolares estaban engrosados debido a la epitelialización pulmonar y edema intersticial. En el espacio alveolar se encontraron neutrófilos PMN y linfocitos. Se observó necrosis del epitelio alveolar así como necrosis y exfoliación del epitelio bronquial y bronquiolar. Además, había proliferación del epitelio bronquial y bronquiolar. Se observó una gran cantidad de cuerpos de inclusión intracitoplásmicos acidófilos, principalmente en el epitelio pulmonar y en macrófagos. También, se observó una gran cantidad de cuerpos de inclusión intranucleares basofílicos, principalmente en el epitelio alveolar y bronquiolar.

La lesión más importante que se observó en el SNC fue desmielinización con vacuolización de la sustancia blanca. En el cerebelo se observaron principalmente vacuolas con mielina y astrocitos degenerados que contenían algunos cuerpos de inclusión intranucleares acidofílicos. No se observó infiltración linfocítica perivascular. El bazo mostró depleción de folículos linfoides con focos de necrosis

y congestión. El hígado estaba congestionado y en pelvicilla renal había cuerpos de inclusión acidófilos intracitoplásmicos e intranucleares.
El análisis inmunohistoquímico detectó antígeno de CDV en el epitelio bronquial, glándulas adyacentes y tejido pulmonar cercano. Antígeno de CAV fue detectado en células epiteliales pulmonares.

DISCUSIÓN

Las alteraciones histológicas observadas en el pulmón de este perro son características de una infección simultánea de CDV y CAV y son similares a las lesiones reportadas por otros autores[7, 8]. Hasta donde se sabe, este es el primer caso reportado en Nuevo León sobre neumonía viral canina doble. La mayoría de los casos agudos de neumonía viral en perros resultan positivos solamente a un virus respiratorio, mientras que es menos común observar una infección simultánea[10]. En el caso de CIRD, el diagnóstico viral definitivo se basa en la identificación histológica de los cuerpos de inclusión intranucleares y/o intracitoplásmicos en el parénquima pulmonar. Sin embargo, es difícil identificar una infección viral concomitante en el mismo tejido. La mayor parte de las muestras de pulmón que se envían corresponden a procesos neumónicos complicados con infección bacteriana[3, 11]. En tales casos, los cambios iniciales asociados a infección viral pueden estar enmascarados por lesiones superpuestas. Recientemente, en un estudio retrospectivo de tejido pulmonar canino, se describió por inmunohistoquímica la presencia simultánea de no solo dos, sino de hasta tres virus en el mismo tejido[10]. En el presente estudio, la infección viral simultánea fue detectada primero al reconocer los cuerpos de inclusión típicos en secciones de parafina teñidos con HE y después confirmados por inmunohistoquímica. El CDV ha sido descrito como el patógeno respiratorio más común en cachorros que sufren CIRD[12, 13]. En nuestro caso, las lesiones que se observaron en el cerebelo son consistentes con las que se han descrito en la necrosis desmielinizante producida por moquillo canino. Sin embargo, en el pulmón se encontró una gran cantidad de cuerpos de inclusión de CDV que se localizaron principalmente en el epitelio bronquial y bronquiolar, así como en el epitelio alveolar y en macrófagos, lo que puede sugerir una infección inicial por vía aérea[4]. En este estudio, la infección por CDV fue sistémica, ya que se observaron cuerpos de inclusión de este virus en SNC y en riñones. En contraste, solo se observaron cuerpos de inclusión de adenovirus en tejido pulmonar, principalmente en células epiteliales alveolares y bronquiolares. El origen de la infección simultánea en este perro joven permanece incierto. Sin embargo, CDV y CAV suceden frecuentemente cuando una gran cantidad de perros se encuentran confinados y, como en este caso, el cachorro de este estudio provenía de una perrera.
La presencia de bronconeumonía purulenta pudiera sugerir una infección bacteriana secundaria debido al establecimiento de una condición inmunodeprimida en la perrita. Se ha sugerido al CDV como un patógeno inmunodepresivo, el cual hace al pulmón más susceptible a infecciones secundarias, especialmente en perros jóvenes[3]. Es posible que en este caso, el CDV haya invadido inicialmente el tejido pulmonar dejando las condiciones adecuadas para que el CAV se replicara en el epitelio pulmonar. Se puede

suponer que la infección viral simultánea de los pulmones exacerbó las lesiones pulmonares, ya que fueron severas a nivel histológico. En nuestro estudio, fue obvia la atrofia de las amígdalas así como la depleción de los folículos linfoides en el bazo, lo cual pudiera sugerir una respuesta inmunológica comprometida en el cachorro. De hecho, se ha referido que el CDV tiene un efecto inmunodepresor que pudiera favorece otras infecciones concomitantes, tales como el parvovirus canino (CPV)[14], *Mycoplasma* sp.[15], la enfermedad de Tyzzer[16], *Giardia lamblia*[17] and *Sarcocystis* sp.[18]. Aunque el uso de vacunas que contienen virus respiratorios ha reducido la incidencia de CIRD[1, 12], ha sido obvio que el cachorro de este estudio no se encontraba protegido. Esto pudiera sugerir que tanto el CDV como el CAV continúan siendo patógenos importantes en caninos jóvenes.

REFERENCIAS

1. Erles K, Dubovi EJ, Brooks HW, Brownlie J. Longitudinal study of viruses associated with canine infectious respiratory disease. J Clin Microbiol 2004;42:4524-9.
2. Decaro N, Camero M, Greco G, et al. Canine distemper and related diseases: report of a severe outbreak in a kennel. New Microbiol 2004;27:177-81.
3. Dungworth DL. The respiratory system. In: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, Jubb KVF, eds. Pathology of domestic animals. San Diego: Academic Press, 1993:539-699.
4. Green CA. Infectious Diseases of the Dog & Cat. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company, 1998.
5. Lopez A. Respiratory system, thoracic cavity, and pleura. In: Thomson RG, McGavin MD, Carlton W, Zachary JF, eds. Thomson's special veterinary pathology. St. Louis: Mosby, 2001:125-195.
6. Stookey JL, VanZwieten MJ, Whitney GD. Dual viral infections in two dogs. J Am Vet Med Assoc 1972;161:1117-21.
7. Ducatelle R, Maenhout D, Coussement W, Hoorens J. Dual adenovirus and distemper virus pneumonia in a dog. Vet Q 1982;4:84-8.
8. Kobayashi Y, Ochiai K, Itakura C. Dual infection with canine distemper virus and infectious canine hepatitis virus (canine adenovirus type 1) in a dog. J Vet Med Sci 1993;55:699-701.
9. Prophet EB, (U.S.) AFIoP. Laboratory methods in histotechnology. Washington, D.C.: American Registry of Pathology, 1992.
10. Damian M, Morales E, Salas G, Trigo FJ. Immunohistochemical detection of antigens of distemper, adenovirus and parainfluenza viruses in domestic dogs with pneumonia. J Comp Pathol 2005;133:289-93.
11. Chalker VJ, Toomey C, Opperman S, et al. Respiratory disease in kennelled dogs: serological responses to Bordetella bronchiseptica lipopolysaccharide do not correlate with bacterial isolation or clinical respiratory symptoms. Clin Diagn Lab Immunol 2003;10:352-6.
12. Fischer L, Tronel JP, Pardo-David C, et al. Vaccination of puppies born to immune dams with a canine adenovirus-based vaccine protects against a canine distemper virus challenge. Vaccine 2002;20:3485-97.

13. Bohm M, Thompson H, Weir A, Hasted AM, Maxwell NS, Herrtage ME. Serum antibody titres to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in the UK which had not been vaccinated for at least three years. Vet Rec 2004;154:457-63.
14. Arlington-Headley S, Berelli-Saito T. Simultaneous canine distemper encephalitis and canine parvovirus infection with distemper-associated cardiac necrosis in a pup. Ciencia Rural 2003;33:1149-1151.
15. Chalker VJ, Owen WM, Paterson C, et al. Mycoplasmas associated with canine infectious respiratory disease. Microbiology 2004;150:3491-7.
16. Ramirez-Romero R, Gozalez-Spencer D, Robinson RM, Eguiarte DJ. Tyzzer´s disease associated with distemper. A case report. Revista Veterinaria Mexico 1989;20:61-64.
17. Mochizuki M, Hashimoto M, Ishida T. Recent epidemiological status of canine viral enteric infections and Giardia infection in Japan. J Vet Med Sci 2001;63:573-5.
18. Berrocal A, Lopez A. Pulmonary sarcocystosis in a puppy with canine distemper in Costa Rica. J Vet Diagn Invest 2003;15:292-4.

CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS CEBADAS DURANTE LA FASE INFLAMATORIA AGUDA DE LA REACCIÓN LOCAL DE ARTHUS ACTIVA EN CONEJOS CON DIABETES CRÓNICA.

Perla María Hernández Mendoza [1], Karla Yanneth Coronado Manzanares[1], Luis Edgar Rodríguez Tovar[1], Alicia Magdalena Nevárez Garza[1] y Rafael Ramírez Romero[1].
[1] Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Univ. Aut. de Nuevo León.

RESUMEN
El objetivo fue el de determinar el número de células cebadas (CC) en la piel de conejos diabéticos, durante la fase inflamatoria aguda de la reacción local de Arthus activa (RA). Se utilizaron 15 conejos de la raza Nueva Zelanada, repartidos en tres grupos (n=5). Los tratamientos fueron: para el grupo 1 se le indujo diabetes experimental, recibió aloxana por vía IV 75 días antes del inicio del procedimiento de hiperinmunización. La reacción de Arthus activa fue inducida en la piel de los conejos de los grupos 1 y 2 (grupos con reacción de Arthus) que recibieron de tres a cuatro inmunizaciones con albúmina de suero bovino, aplicada de forma intramuscular en intervalos de siete días. Después, se realizó un desafío con antígeno inyectado de forma intradérmica y los animales fueron eutanasiados 8h después. Determinaciones de glucosa en sangre realizados 48h después de la administración de aloxana así como el día de su eutanasia. Una prueba de Inmunodifusión demostró que los animales con diabetes experimental tenían suficientes anticuerpos séricos para la precipitación *in vitro* al momento de la eutanasia. Los animales control fueron sometidos al mismo procedimiento, con solución salina fisiológica (SSF). El sacrificio de los animales fue a las 8 horas después del inicio de la reacción, para los tres grupos. Las muestras de piel fueron fijadas en Carnoy. Las CC se identificaron con la tinción de azul de toluidina con un pH bajo. Se obtuvo el número de CC por milímetro cuadrado y subsecuentemente, se procedió a la identificación y conteo de células degranuladas, para así obtener valores absolutos. Para el análisis estadístico se utilizó ANOVA y una prueba de Tukey. Los valores obtenidos fueron transformados (logaritmos naturales) para obtener comparaciones estadísticas apropiadas. El análisis demostró que el número de CC infiltradas fue significativamente diferente en todos los grupos ($P< 0.05$). A pesar de que la reacción de Arthus indujo una marcada infiltración de CC, los animales diabéticos presentaron un número menor de CC en comparación con los no-diabéticos ($P< 0.05$). No obstante la gran cantidad de células degranuladas encontrada en los grupos a los que se les indujo la reacción de Arthus, ninguno de estos fue estadísticamente diferente al control ($P> 0.05$). En conclusión la reacción de Arthus activa, induce un marcado incremento en el número de células cebadas infiltrantes en la piel, durante la fase inflamatoria aguda. Sin embargo en animales diabéticos la infiltración de CC está disminuida.
Palabras clave: Células cebadas, Reacción de Arthus, Diabetes experimental
Dr. Rafael Ramírez Romero
Abstract. *Objective and design*: To determine the number of mast cells in the skin of diabetic rabbits during the acute phase of the active Arthus reaction.

Materials: Fifteen New Zealand Rabbits divided in three groups (n = 5/group). One group served as control while the others were subjected to the active Arthus reaction. One Arthus group received alloxan to induce diabetes previously.
Treatments: Previously, diabetic group received alloxan to induce diabetes during a period of 75 days before the hyperimmunization protocol. The active Arthus reaction was induced in the skin of rabbits by receiving three or four immunizations (diabetics) with bovine serum albumin applied intramuscularly with seven days intervals. Subsequently, a challenge with the antigen was injected intradermally. Animals were euthanized 8 h after. An immunodifussion test showed that diabetics had enough serum antibodies for precipitation in vitro by the time of euthanasia.
Methods: Skin samples were fixed in Carnoy's solution and mast cells were identified employing a low pH toluidine blue stain. Numbers of mast cells were identified per square millimetre and, subsequently, those cells degranulated were identified and quantified to obtain absolute values. An ANOVA test employing a completely random design was employed and subsequently, a Tukey's w test was carried out to compare means.
Results: The values were transformed (natural logarithms) for appropriate statistical comparisons. The numbers of infiltrating mast cells were significantly different in all of the groups ($P < 0.05$). Although Arthus reaction influences markedly mast cell infiltration, diabetic animals had less number of mast cells than non-diabetics. Moreover, despite had higher values of degranulated cells in the Arthus groups, none of them were statistically different from controls.
Conclusions: The active Arthus reaction induces a marked increase in the number of mast cells infiltrating the skin during the acute inflammatory phase. However, in diabetic animals mast cells infiltration is decreased.
Key words: Diabetes –Active Arthus Reaction – Mast Cells

INTRODUCCIÓN

La diabetes es considerada como una de las enfermedades metabólicas más importantes, ya que sus complicaciones consecuentemente derivan en alto riesgo para la salud y en un reto constante para la ciencia médica (Bonow y Gheorghiade, 2004). La *Diabetes mellitus* (DM) se relaciona con la presencia de respuestas inflamatorias no cicatrizantes como sello distintivo; sin embargo una disminución en la infiltración de neutrófilos ocurre durante la fase temprana de esta reacción inflamatoria (Goova *et al*., 2001). Estas anormalidades inflamatorias pueden estar vinculadas con otras complicaciones de la diabetes, tales como alteraciones microvasculares (Gilbert *et al*., 2000), quimiotaxis y actividad fagocítica modificada en neutrófilos (de Oliveira Barreto *et al*., 2003). Las células cebadas han sido asociadas tradicionalmente con las severas manifestaciones clínicas observadas en las reacciones de hipersensibilidad; sin embargo, ahora se sabe con claridad, que estas células intervienen en la reacción inflamatoria, la restauración tisular y en la respuesta inmune. Su influencia predominante depende de moléculas vasoactivas, enzimas y una serie de citocinas, incluyendo el TNF-α, el cual es almacenado como una molécula preformada en los gránulos de las células cebadas (Krishnaswamy *et al*., 2001; Abraham y Arock, 1998). Así mismo, se ha demostrado que las CC tienen un papel importante durante la iniciación y progresión de la reacción de Arthus en la piel (Baumann *et al*., 2001;

Zweiman *et al*., 1998; Zhang *et al*., 1991). Y se consideran como las mayores orquestadoras del fenómeno inflamatorio (Baumann *et al*., 2001; Zhang *et al*., 1991). La reacción de Arthus es un fenómeno inflamatorio inmunomediado, inducido originalmente en la piel de conejos hipersensibles (Udaka, 1971). Este fenómeno es considerado como un ejemplo clásico de las reacciones de hipersensibilidad del tipo III ó mediadas por complejos inmunes. Las lesiones características de esta reacción incluyen una marcada infiltración de polimorfonucleares neutrófilos, vasculitis, edema y hemorragia (Baumann *et al*., 2001). El presente estudio examina la densidad de las células cebadas y su estado de activación en base a la degranulación de las mismas, durante la fase inflamatoria aguda de la reacción de Arthus activa en la piel de conejos diabéticos.

OBJETIVO:
Cuantificar el número de células cebadas en la piel de conejos con *Diabetes mellitus* crónica experimental, durante la fase inflamatoria aguda de la reacción local de Arthus activa.

MATERIAL Y METODOS
Se utilizaron 15 conejos (machos y hembras) de la raza Nueva Zelanda con un peso mínimo de 2kg al inicio del experimento. Los animales fueron adaptados a jaulas individuales y se les proporcionó alimento comercial (Purina S.A. de C.V.) y agua *ad libitum*. Los grupos se conformaron cada uno por cinco individuos. El grupo 1 fue tratado con aloxana para inducir *Diabetes mellitus* experimentalmente. Los grupos 2 y 3 fueron tomados en base a un estudio previo, realizado en el Departamento de Patología de esta facultad, donde se estudió la reacción de Arthus bajo los mismos parámetros, pero sin el factor diabetes. El agente diabetogénico utilizado fue Aloxana monohidratada, cuya presentación es: 5,6-dioxyuracil. Monohydrate (SIGMA-ALDRICH, Inc., St. Louis, MO. USA) diluída en 1.5ml de agua inyectable (Pisa Farmacéutica Mexicana). El estado diabético se indujo exclusivamente a los conejos del grupo 1 utilizando aloxana como agente diabetogénico a una dosis de 150mg/kg de peso corporal diluido en 1.5ml de agua inyectable. Esta mezcla se administró en la vena marginal de la oreja izquierda de cada conejo y cuarenta y ocho horas después de su aplicación se realizó un examen para revisar la concentración de glucosa sanguínea en cada animal. Para la confirmación del estado de glucemia se utilizó el glucómetro (Ascencia Elite Blood Glucose Meter de Bayer). El procedimiento para producir la RA consistió de tres a cuatro inóculos por vía intramuscular de Albúmina de Suero Bovino (ASB) (SIGMA-ALDRICH, Inc., St. Louis, MO. USA), a razón de 100mg (dosis única) cada 7 días previo a la fecha del desafío. Este inóculo se aplicó en dos sitios del dorso previamente depilado, aplicando en esta ocasión 200µg de ASB diluídos en 0.1ml de SSF por vía intradérmica. Los conejos del grupo control recibieron una vez más el mismo manejo, administrando SSF en cada aplicación (Rodríguez- Tovar *et al*, 1989.). Los tres grupos fueron sacrificados utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico (Anestesal, Pfiser S.A., de C.V.) por vía intraperitoneal. Los sitios en donde se produjo la RA fueron colectados y fijados. El fijador fue solución Carnoy (Bancroft and Gamble, 2002). Las muestras fueron

procesadas mediante las técnicas histopatológicas de rutina. Posteriormente, cada espécimen se tiñó con azul de Toluidina a un pH bajo (Ramírez-Hernández *et al*., 2004). Para realizar el conteo de CC se tomaron en cuenta 20 campos por laminilla utilizando el objetivo de 40X, lo que significa un área aproximada de 3.694mm^2 (Ramírez-Hernández *et al*., 2004). Adicionalmente se obtuvo un porcentaje de CC en degranulación, contando 100 células con el objetivo de inmersión 100X y el valor absoluto se calculó del conteo original de células en 20 campos, ajustando el resultado a mm^2 (Ramírez Hernández *et al.,* 2004). Finalmente se obtuvo un promedio de cada animal, sometiendo estos valores a comparaciones estadísticas. En un studio colateral llevado a cabo en el mismo laboratorio se procedió a hacer una prueba de doble Inmunodifusión, para esto se utilizaron cuatro conejos a los que se les mantuvo en condiciones similares a las del grupo uno, incluyendo la aplicación de aloxana para inducir el estado de diabetes experimental con el objetivo de determinar la capacidad de respuesta inmune humoral de los animales con *Diabetes mellitus* crónica.

RESULTADOS

Se analizaron los valores de glucosa sanguínea obteniéndose un promedio de 465.40 mg/dl ± 54.48 en el grupo de los animales con diabetes experimental mientras que los controles solo alcanzaron 102.60 mg/dl ± 6.46. Se realizó una prueba t de student, demostrándose una diferencia significativa entre estos grupos (P< 0.0001). La prueba de inmunodifusión de Ouchterloy mostró que el suero hiperinmune de los animales con diabetes experimental tenía suficientes anticuerpos séricos para precipitar al momento de la eutanasia, aún cuando éste se diluyó; sin embargo, las bandas de precipitación fueron más evidentes en los animales no diabéticos.

Las lesiones macroscópicas y microscópicas de todos los animales sometidos a la reacción de Arthus activa mostraron los cambios macroscópicos y microscópicos típicos atribuidos a la reacción. En la cuantificación de células cebadas, la prueba de ANOVA mostró alta significancia (P<0.0002) existiendo fuertes diferencias entre los grupos. La subsiguiente comparación de las medias, usando la prueba de Tukey, mostró que todos los grupos fueron significativamente diferentes entre si (P<0.05). Las células degranuladas también fueron comparadas empleando los mismos procedimientos. Una prueba de ANOVA mostró que no existía diferencia estadística entre los grupos (P =0.054). (Figura 1).

DISCUSIÓN

La reacción de Arthus es considerada como el prototipo de las reacciones de hipersensibilidad mediadas por complejos inmunes (Yanaba *et al*., 2003). A pesar de la relevancia de las células cebadas durante este tipo de reacciones (Yanaba *et al*., 2003; Kaburagi *et al*., 2002; Zweiman *et al*., 1998; Udaka, 1971) a la fecha aún no existen suficientes datos cuantitativos concernientes a las células cebadas infiltrantes durante la RA activa. En el presente estudio se determinó el número de células cebadas por milímetro cuadrado y su estado de reactividad basado en la degranualción. Respecto a lo anterior, se ha referido que la degranulación es una de las evidencias morfológicas más precisas que pudieran indicar la reactividad

de las CC (Ramírez-Hernández *et al*., 2004). Por otra parte, se exploró la RA a las 8h estableciendo este periodo como la fase temprana de la reacción, lo anterior en base a un reporte previo de Kaburagi *et al* (2002) quien encontró daños como edema, hemorragia e infiltración de PMN neutrófilos y CC a las 8h después de la inducción de la reacción. En un estudio realizado previamente, se demostró mediante la utilización de un modelo de reacción inflamatoria de tipo no inmune, que la diabetes a largo plazo (60 días ó más) pero no la de corta duración (7días), ejerce una influencia significativa sobre el número de células cebadas (Rodríguez-Aguirre, 2004). En el presente estudio se demuestra claramente que la diabetes influye drásticamente en el número de células cebadas infiltrantes en la piel de conejos sometidos a la RA. Los resultados concuerdan con estudios previos que refieren una deficiencia en la infiltración de CC y su reactividad en modelos de reacciones inflamatorias mediadas por complejos inmunes en animales diabéticos (de Oliveira Barreto *et al*., 2003). En un trabajo recientemente publicado (Carvalho *et al*., 2005) se revisan los diversos mecanismos que pudieran intervenir en la deficiente respuesta inflamatoria dependiente de CC que ocurre en los diabéticos.
En el experimento aquí presentado, ninguno de los grupos sometidos a la RA (grupo diabético experimental y no diabético) exhibió una diferencia significativa basada en su estado de degranulación. Respecto a este tema algunos autores consideran que la degranulación de las células cebadas, probablemente por la vía piecemeal, es una condición estereotipada durante la inflamación aguda (Ramírez-Hernández *et al*., 2004). Al respecto, Kaminer *et al;* (1995) confirmó que la degranulación piecemeal ocurre como un proceso natural durante la activación de las células cebadas, incluyendo reacciones mediadas por IgE. Así mismo Dvorak (1998) propone que la degranulación piecemeal es constitutiva y susceptible de ser regulada por una amplia variedad de estímulos. Estos argumentos concuerdan con el escaso número de CC degranuladas que se encontraron en los animales del grupo control, no obstante estadísticamente no se encontró diferencia entre los grupos. Al considerar la posibilidad de que los animales con diabetes inducida por aloxana respondieron en una forma débil hacia los antígenos, lo cual concuerda con lo reportado en algunos artículos. Se decidió inmunizar a los conejos diabéticos con una dosis extra de albúmina, particularmente debido al hecho de que en el presente estudio no se utilizó adyuvante durante el protocolo de hiperinmunización, esto se realizó con la intención de reducir la posibilidad de enmascarar las lesiones obtenidas con las de otro tipo de reacción de hipersensibilidad (Shultz, 1999). Respecto a lo anterior, a pesar de que los conejos experimentalmente diabéticos mostraron una línea precipitación menos definida que los no diabéticos, la reacción fue evidente, por lo tanto, podría esperarse una respuesta comparable *in vivo*. Otros reportes señalan que a pesar de observar una respuesta inmune humoral *in vitro* comparable entre los animales con diabetes experimental y no diabéticos, *in vivo* la reacción inflamatoria inducida por alergenos en las vías aéreas de animales con diabetes experimental se desarrolla con una muy baja intensidad (Vianna y García-Leme., 1995). Actualmente investigadores como Matsuschima *et al*., (2004) han demostrado que las quimoquinas RANTES, MIP-1α, y MIP-2, así como las citocinas TNF-α y IL-6 son parte del perfil funcional de CC activas (Matsuschima *et al*., 2004). Todos estos mediadores despliegan un escenario

proinflamatorio con capacidad para estimular a las células cebadas de manera autócrina (Abraham y Arock *et al*., 1998. Por consiguiente, la deficiencia en la respuesta inflamatoria temprana en los individuos diabéticos (Goova *et al*., 2001) pudiera atribuirse a un decremento en el número de células cebadas infiltrantes. Goova *et al*., (2001) han propuesto que en los individuos diabeticos, la disminución en la quimotaxis de células inflamatorias se acompaña por una disminución de la fagocitosis y destrucción intracelular deficiente. Estos argumentos concuerdan con nuestros resultados y confirman que las células cebadas están involucradas en esta inadecuada respuesta inflamatoria. Considerando que las CC contienen una amplia gama de moléculas tales como aminas vasoactivas preformadas, enzimas, TNF-α, citoquinas, quimoquinas, y factores de crecimiento (Abraham y Arock, 1998), es más probable que la presencia de un número limitado de células cebadas, al inicio de la respuesta inflamatoria sea la responsable de un limitada capacidad inflamatoria inicial.

CONCLUSION

Se confirma que la diabetes experimental crónica disminuye el número de células cebadas infiltradas en la piel de los conejos, sometidos a la reacción local de Arthus activa. Se demuestra la importancia de los trastornos causados por la *Diabetes mellitus* en su condición de enfermedad sistémica crónica sobre las células cebadas como iniciadoras de la respuesta inflamatoria aguda.

REFERENCIAS

1. Abraham, S.N., Arock, M.: Mast cell and basophils in innate immunity. Seminars in Immunology; 10: 373-381 (1998).
2. Bacroft, J. D. and Gumble, M.: Theory and Practice of histological thechniques. 5th edition. Saunders, U. S. A. (2002).
3. Baumann, U., Chouchakova, N., Gewecke, B., Köhl, J., Carroll, M.C., Schmidt, R.E., and Gessner, J.E.: Distinct tissue site-specific requirement of mast cell and complement components C3/C5a receptor in IgG immune complex-induced injury of skin and lung. Journal of Immunology; 167:1022-7 (2001).
4. Bonow, R. O. and Gheorghiade, M.: The diabetic epidemic: a national and global crisis. The American Journal of medicine; 116 (5A): 2s – 10s (2004).
5. Carvalho, V.F., Barreto E.O., Cordeiro R.S.B., Lagente V., Martins M.A. and e Silva P.M.R.: Mast cell changes in experimental diabetes: focus on attenuation of allergic events. Mem Inst Oswaldo Cruz; 100 (Suppl.1): 121-125 (2005)
6. de Oliviera-Barreto, E., de Frias-Carvalho, V., Diaz, B.L., Balduino, A., Cordeiro, R.S., Martins, M.A. and Rodríguez e Silva, P.M.: Adoptive transfer of mast cells abolishes the inflammatory refractoriness to allergen in diabetic rats. Journal Allergy Immunology; 131(3):212-130 (2003).
7. Dvorak, M.A.: Histamine content and secretion in basophils and mast cells. Journal Histochemic Cytochemic; 33: 169-328 (1998).

8. Gaulton, G.N., Schuwartz, J.L. and Eardley, D.D.: Assessment of the diabetogenic drugs alloxan and streptozotociin as model for the study of immune defects in diabetic mice. Diabetologia; 28(10): 769-775 (1985).
9. Gilbert, R.E., Rumble, J.R., Cao, A.J., van Eeden, P., Allen, T.J., Kelly, D.J. and Cooper, M.E.: Endothelium receptor antagonism ameliorates mast cell infiltration, vascular hypertrophy, and epidermal growth factor expression in experimental diabetes. Circulation Research; 86:158-165 (2000).
10. Goova, M.T., Li, J., Klislinger, T., Qu, W., Lu, Y., Bucciarelli, L.G., Nowygrod, S., Wolf, B.M., Caliste, X., Yan, S.F., Stern, D.M. and Schmidt, A.M.: Blockade of receptor for advanced glycation end-products restores effective wound healing in diabetic mice. Journal of Pathology; 159:513-525 (2001).
11. Kaburagi, Y., Hasegawa, M., Nagaoka, T., Shimasa, Y., Hamaguchi, Y., Kazuhiro, K., Saito, E., Yanaba, K., Takehara, K., Takafumi, K., Steeber, A.D., Tedder, T.F. and Sato, S.: The cutaneous reverse Arthus reaction requires intercellular adhesion Molecule 1 and L-selectin expression. Journal Immunology; 168: 2970-8 (2002).
12. Kaminer, M.S., Murphy, G.F., Zweiman, B. and Lavker, R.M.: Connective tissue mast cell exhibit time-dependent degranulation heterogeneity. Clinical Diagnostic Laboratory Immunology; 2: 297-301 (1995).
13. Krishnaswamy, G., Kelley, J., Johnson, D., Youngberg, G., Stone, W., Huang, S.K., Bieber, J. and Chi, D.S.: The human mast cell: functions in physiology and disease. Frontiers in Bioscience; 6: 1109-1127(2001).
14. Matsushima, H., Yamada, N., Matsue, H. and Shimada, S.: TLR3-, TLR7-, and TLR9-mediated production of proinflammatory cytokines and chemokines from murine connective tissue type skin-derived mast cells but not from bone marrow-derived mast cells[1]. Journal Immunology; 173: 531-514 (2004).
15. Ramírez-Hernández, C., Hernández-Vidal, G., Wong-González, A., Gutiérrez-Ornelas, E., Ackermann, M.R. and Ramírez-Romero, R.: Mast cell density during initiation and progression of the local Shwartzman reaction. Journal Inflammation Research; 53: 107-10 (2004).
16. Rodríguez-Tovar, L.E., Ramírez-Romero, R. y Rivas-Frias, M.: Cronología del daño tisular mediado por un fenómeno semejante a la reacción de Arthus activa en el pulmón del conejo. Veterinaria México; 20; (1989)
17. Rodríguez-Arguirre, A.C.: Cuantificación de células cebadas durante la fase inflamatoria aguda de la reacción local de Shwartzman en conejos con diabetes experimental. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. (2004).
18. Schultz R.D.: Veterinary vaccines and diagnostics: advances in veterinary medicine; 41. Academic Press. Madison, Wisconsin (1999).
19. Tizard, I.R.:Veterinary Immunology: an introduction. 7th edition, Elsevier, U.S.A. (2004).
20. Udaka, K.: The Arthus reaction. En: Movat HZ. Inflammation, Immunity and Hypersensivity. 1st edition. New York: 389-423 (1971).
21. Vianna, E.O. and García-Leme, J.: Allergen-induced airway inflammation in rats. Role of insulin. American Journal Respiratory Crit. Care Medicine; 151: 809-814 (1995).

22. Yanaba, K., Kaburagi, Y., Takehara, K., Steeder, D.A., Tedder, T.F. and Sato, S.: Relative contributions of selectins and intercellular adhesion molecule-1 to tissue injury induced dy immune complex deposition. American Journal Pathology; 162: 1463-73 (2003).
23. Zhang, Y., Ramos, B.F. and Jakschik, B.A.: Augmentation of reverse Arthus reaction by mast cell in mice. Journal Clinical Investigation; 88: 841-6 (1991).
24. Zweiman, B., Moskovitz, A.R. and Allmen, C.: Comparison of inflammatory events during developing immunoglobulin E- mediated late-phase reactions and delayed-hypersensitivity reactions. Clinical Diagnostic Laboratory Immunology; 5: 574-7 (1998).

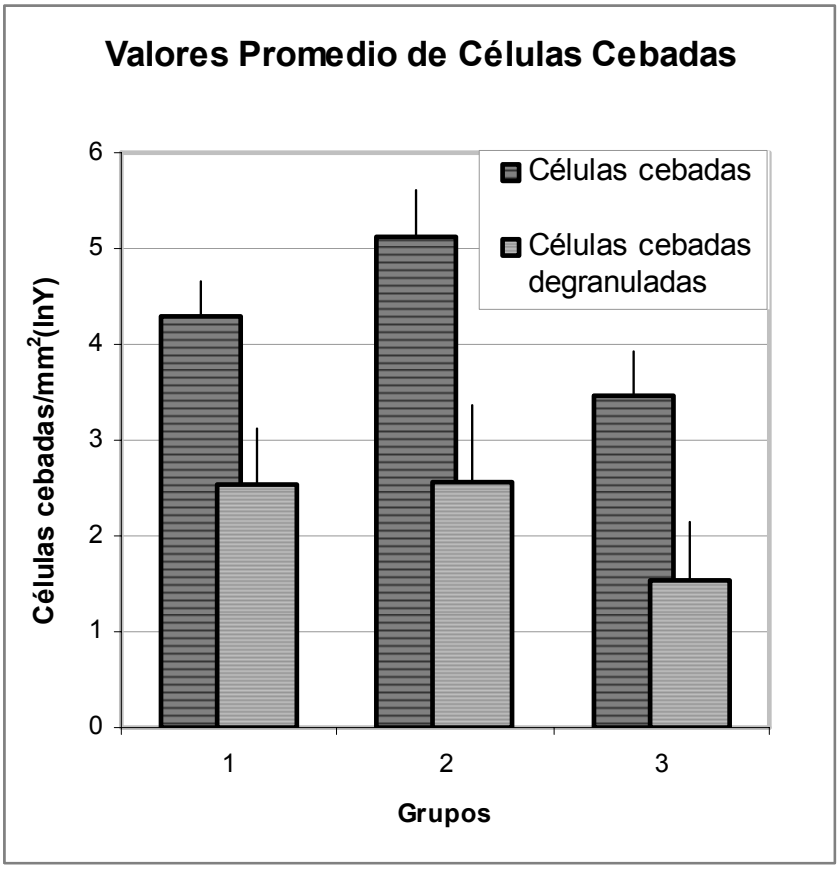


Figura 1. Valores promedio de las células cebadas.

Los grupos 1 (diabético) y 2 (no diabético) fueron sometidos a la reacción de Arthus, mientras que el grupo 3 sirvió como control. Las barras en color gris oscuro muestran el conteo total de células cebadas que permiten ver que hay diferencia entre los grupos ($P<0.0002$). A pesar de que no existe igualdad respecto al conteo de células degranuladas (barras en gris claro), la prueba de ANOVA mostró que la diferencia no fue estadísticamente significativa entre los grupos ($P =0.054$).

EVALUACIÓN DEL PROCESO PATOLÓGICO PROVOCADO POR LA INFESTACIÓN ARTIFICIAL CON CEPAS PURAS DE *B. bigemina* y *B. bovis* EN BOVINOS HEREFORD, Y NUEVAS ALTERNATIVAS TERAPEUTICAS.

Francisco de Paula Jardim Alves-Branco [1], Adriana de la Rosa Figueroa [2], Maria de Fátima Munhós Sapper [1], Luciano Rocha Fagundes Alves-Branco [1], Marcos Vinicius Vasconselos Camargo [1], Paulo Sérgio Alves-Branco Duarte [1], Roberto Cavalheiro Rita [1], Reginaldo Freitas de Souza [1].

[1] Consultorio Médico Veterinario. Rua Jose do Patrocínio No. 115, CEP: 96.415-500 – Bagé/RS, Brasil.
[2] Laboratorios Virbac México SA de CV. Departamento de R&D. Av. Mayas 3305, Fracc. Monraz, Guadalajara, Jalisco, México.

RESUMEN

La Babesiosis es una enfermedad transmitida por garrapatas *Boophilus microplus,* y se caracteriza por provocar en los bovinos incoordinación de movimientos, fiebre alta, ictericia, heptatomegalia, esplecnomegalia, transcurriendo estos signos hasta la muerte del animal. El objetivo de este estudio fue analizar el proceso patológico provocado por la infestación artificial con cepas puras de *B. bigemina* y *B. bovis* en bovinos Hereford, así como la curación de este proceso gracias a la aplicación de Imidocarb (lab.virbac)(lab.virbac) al 12%. Se utilizaron 16 bovinos Hereford entre 9 y 12 meses, serológicamente negativos a *B. bovis* y *B. bigemina,* y se separaron en 4 grupos, en donde hubo animales inmunosuprimidos y tratados; y todos inoculados con *B. bovis* o *B. bigemina*. Se examinó la condición corporal, parasiticemia (sanguínea), y el proceso de recuperación de los animales tras la aplicación terapéutica.

Palabras claves: Babesiosis, *Boophilus microplus,* imidocarb, *Babesia bovis, Babesia bigemina.*

SUMMARY

Babesiosis is a disease transmitted transmitted by ticks *Boophilus microplus.* It is characterized by causing incoordination, fever, jaundice, hepatomegaly, splenectomegaly and death. Objective: to analyze the pathological process caused by the artificial infestation of *B. bigemina* and *B. bovis* pure strains in bovines, as well as their healing after the administration of Imidocarb (lab.virbac). 16 Hereford bovines (negative serologically speaking), between 9 and 12 months of age were used. They were randomized into 4 groups of treatment, all of them artificially infestated with *bovis* and *B. bigemina.* All animals were clinically checked, including parasiticemia and the healing process after the administration of such drug.

Key words: Babesiosis, *Boophilus microplus,* imidocarb, *Babesia bovis, Babesia bigemina.*

INTRODUCCIÓN

La carga parasitaria de los bovinos y el nombre común de la enfermedad causada por protozoarios del genero *Babesia* y rickettsias es *Anaplasma* y se manifiestan clínicamente, por fiebre, anemia, hemoglobinuria, ictericia, anorexia, emaciación y alta mortalidad y morbilidad entre bovinos sensibles.
En Brasil los agentes de Babesiosis son *Babesia bovis, Babesia bigemina,* Anaplasmosis y *A.marginale*. El principal vector de estos hemoparásitos son garrapatas *Boophilus microplus*.
Sus principales agentes constituyen dos factores principales limitantes para el mejoramiento de la productividad de bovinos en áreas tropicales y subtropicales del mundo, donde existen mas de 500 millones de bovinos expuestos a infectarse por *Babesia spp*.
Este es uno de los problemas zoosanitarios con mayor prejuicio económico en la producción bovina, se traduce en altos índices de mortalidad y morbilidad, con reducción significativa en producción de carne y leche, abortos, menor fertilidad en animales infectados y altos costos de tratamiento y un manejo especial. Además, es motivo de perdidas de oportunidades en el mercado y también, por parte de productores, de estímulos para mejorar la producción.
La prevención y control de Babesiosis se establece mediante el combate a las garrapatas, a través de vacunas, premedicación y tratamiento de animales enfermos. Los procesos de tratamiento de bovinos naturalmente infectados se utilizan con mayor frecuencia, medicamentos derivados de diamidinas y el imidocarb.

OBJETIVO

Analizar el proceso patológico provocado por la infestación artificial con cepas puras de *B. bigemina* y *B. bovis* en bovinos Hereford, así como la curación de este proceso gracias a la aplicación de Imidocarb$^{(lab.virbac)}$ al 12%.

MATERIAL Y METODOS

Este estudio se llevó a cabo en el Centro de Experimentación Veterinario en Bagé/RS, en Brasil.

Se utilizaron 16 bovinos de raza Hereford, entre 9 y 12 meses de edad de 200 kg, serologicamente negativos a *Babesia bovis y Babesia bigemina.*

- *Grupo 1:*
  2 bovinos inmunosupirimidos
  2 bovinos inoculados con *Babesia bovis* (10^6), se trataran cuando tengan parasitemia y fiebre.

- *Grupo 2:*
  2 bovinos inmunosupirimidos.
  2 bovinos inoculados con *Babesia bovis*, se mantendrán como control.
- *Grupo 3:*
  2 bovinos inmunosupirimidos.
  2 bovinos inoculados con *Babesia bigemina*, se trataran cuando tengan parasitemia al 2%.

- *Grupo 4:*
  2 bovinos inmunosupirimidos.
  2 bovinos inoculados con *Babesia bigemina*, se mantendrán como control no medicados.

Procedimiento:
En los días 0, 1 al 41 se tomaron muestras de sangre para conocer los valores de hematocrito y evaluar la parasiticemia. Estos mismos días se establecieron las observaciones físicas de los animales para determinar el proceso patológico y la curación de la babesiosis.

RESULTADOS

Babesia bovis:

- Los animales inoculados presentaron alteraciones clínicas con signos de Babesiosis a partir del día 3, presentando fiebre (41°C), alteraciones del sistema nervioso y motor (tropiezos, temblores musculares y postración).
- El volumen globular presentó una caída durante la infección con una disminución en algunos animales hasta del 45% al día 0. Las alteraciones sanguíneas y globulares estuvieron asociadas a la parasitisemia entre el 1.0 y 1.7% al patógeno de la cepa utilizada en este estudio.
- Los animales inmunosuprimidos (no tratados) presentaron signos graves tales como: anorexia, depresión, ictericia, debilidad y postración.[1] ([1] A estos animales se les aplicó tratamiento de salvación cuando presentaron condición extrema.)
- Los animales tratados presentaron una mejora en un lapso de 24-48hr mejorando su condición física general y volumen sanguíneo hasta recuperar la normalidad.

Babesia bigemina:

- Los animales inoculados presentaron alteraciones clínicas con características de Babesiosis a partir del día 3, presentando fiebre (41.1°C).
- El volumen globular presentó algunas alteraciones destacadas durante el curso de infección, mostrando en algunos animales reducción superior al 50% del valor encontrado al D0.

- Los animales mostraron inapetencia, ictericia, apatía y hematuria.
- En el frotis sanguíneo, la parasiticemia alcanzó niveles elevados, principalmente en animales inmunosuprimidos, con porcentajes de hasta un 8.0% de parásitos hemáticos de *B. bigemina*.
- Los animales inmunosuprimidos (no tratados) presentaron síntomas graves tales como: anorexia, depresión, ictericia, debilidad y postración[1]. Un animal falleció al D10, presentando alto parasitismo, ictericia, hematuria, indicando el grado elevado de patogenicidad de la cepa utilizada en el experimento.
- Los animales tratados presentaron una mejora en un lapso de 24-48hr mejorando su condición física general y volumen sanguíneo hasta recuperar la normalidad.

Este trabajo está basado en protocolos de prueba experimental y sirvió de base para la obtención del registro SAGARPA Q-0042-338.

DISCUSIÓN:

La babesiosis es una enfermedad de etiología protozoaria, caracterizada por fiebre y hemólisis intravascular, y causa anemia, hemoglobinemia y hemoglobinuria. Se transmite por garrapatas u otros insectos. Es una de las enfermedades más importantes desde el punto de vista económico en el ganado de zona tropical y subtropical. (4)

El proceso patológico manifestado por los animales infestados artificialmente con Babesias comienza con una hemólisis intravascular. En el caso de infecciones por *B. bovis* hay también hipotensión profunda que se debe al estímulo de la producción de sustancias vasoactivas. La vasodilatación se acompaña del aumento de la permeabilidad vascular, provocando estasis circulatorio y shock. Otro efecto es la coagulación intravascular diseminada (CID), y trombosis pulmonar mortal. El efecto de la hemólisis es una anemia hemolítica que puede ser mortal de forma aguda, debido a anorexia (1). La activación del complemento y las cininas va aunado a alteraciones en la coagulación y la fibrinólisis (4). En animales que sobreviven, hay alteraciones isquémicas en músculo esquelético y cardíaco. (1)

Los animales infectados artificalmente presentaron signos clínicos de forma rápida, ya que este tipo de infestación experimental se expresa de forma aguda, con la subsiguiente inmunodepresión. Clínicamente, los signos más comunes son: anemia intensa, ictericia y hemoglobinuria, pudiéndose presentar la muerte rápidamente. Cuando hay babesiosis cerebral, ésta se manifiesta por signos como incoordinación, parálisis, convulsiones, excitación y coma, tal como lo mostraron los animales infectados con *B. bovis* (1) Además, existe la aglutinación de los eritrocitos parasitados en los capilares cerebrales, lo que provoca trombosis. La formación de complejos inmunes que se depositan en el riñón impiden una filtración adecuada con la retención de productos tóxicos, lo que agrava el cuadro del animal. La muerte del animal causada por este choque es

debida al síndrome CID y a la anemia (4, 7). Si sobrevive el animal, éste se convierte en portador, mostrando un equilibrio entre su sistema inmune y los protozoarios (1).

El cadáver recuperado del animal fallecido presentó signos macroscópicos clásicos de la Babesiosis, tales como. Ictericia intensa, explenomegalia con bazo tumefacto, blando y de consistencia pulposa, hepatomegalia, vesícula biliar distendida con bilis granulosa espesa, riñones agrandados, y la vejiga urinaria con hematuria. Además, se observaron hemorragias equimóticas cardiacas. (1)

El proceso de recuperación de los animales tratados se observó en aproximadamente 24 horas después de la aplicación del fármaco, debido a sus características de absorción y distribución del imidocarb. La parasiticemia desapareció por completo en un período de 24-48 hrs, presentado también valores hemáticos normales, los cuales se mantuvieron hasta el día 30 del experimento. (2, 3, 5, 6).

CONCLUSIÓN

- ✓ Los animales afectados con cepas puras de *B. bigemina* y *B. bovis* presentaron los signos clínicos característicos de la Babesiosis: fiebre (41°C), alteraciones del sistema nervioso y motor (tropiezos, temblores musculares y postración), anorexia, depresión, ictericia,hematuria, parasiticemia, anemia y alteraciones corpusculares sanguíneas.
- ✓ El animal que falleció presentó la hallazgos a la necropsia clásicos de dicha enfermedad: Ictericia intensa, explenomegalia con bazo tumefacto, blando y de consistencia pulposa, hepatomegalia, vesícula biliar distendida con bilis granulosa espesa, nefromegalia, y la vejiga urinaria con hematuria.
- ✓ La mejora de la condición clínica corporal del animal, así como la eliminación del proceso patológico se dio en un período de 24-48 horas en los animales tratados con Imidocarb (lab.virbac)12.5%.

.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1) BLOOD, D.C., et al. "Medicina Veterinaria". 7a, McGraw-Hill-Interamericana. Vol. II. México. 1992.
2) International Programme on Chemical Safety, World Health Organization. "Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food": Imidocarb. Geneva, 1998.
3) The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: Veterinary Medicines and Inspections: EMEA/MRL/785/01-FINAL, May, 2001.
4) UNAM, Sistema de Producción Animal II, Bovinos. División Sistema Universidad Abierta y Educación a Distancia. México. 2000.
5) PLUMA, D.C., Veterinary Drug Handbook. 4th Edition, Iowa State Press. 2002.

6) SUMANO LOPEZ, H., et al. "Farmacología Veterinaria". 2ª. McGraw-Hill-Interamericana. 1997.
7) TRIGO TAVERA, F.J., et al. "Patología General Veterinaria". 3ª, UNAM. 2002.

EVALUACIÓN DEL PROCESO PATOLÓGICO PROVOCADO POR LA INFESTACIÓN ARTIFICIAL CON CEPA PURA DE *Anaplasma marginale* EN BOVINOS HEREFORD, Y NUEVAS ALTERNATIVAS TERAPEUTICAS.

Francisco de Paula Jardim Alves-Branco [1], Adriana de la Rosa Figueroa [2], Maria de Fátima Munhós Sapper [1], Luciano Rocha Fagundes Alves-Branco [1], Marcos Vinicius Vasconselos Camargo [1], Paulo Sérgio Alves-Branco Duarte [1], Roberto Cavalheiro Rita [1], Reginaldo Freitas de Souza [1].

[1] Consultorio Médico Veterinario. Rua Jose do Patrocínio No. 115, CEP: 96.415-500 – Bagé/RS, Brasil.
[2] Laboratorios Virbac México SA de CV. Departamento de R&D. Av. Mayas 3305, Fracc. Monraz, Guadalajara, Jalisco, México.

RESUMEN

La Anaplasmosis es una enfermedad producida por la rickettsia *Anaplasma marginale*, y es transmitida por garrapata. Se caracteriza por provocar signos de incoordinación de movimientos, fiebre alta, ictericia, heptatomegalia, esplecnomegalia, transcurriendo hasta la muerte del animal. El objetivo de este estudio fue analizar el proceso patológico provocado por la infestación artificial con la cepa pura de *Anaplasma marginale* en bovinos Hereford, así como la curación de este proceso gracias a la aplicación de Imidocarb (lab.virbac) al 12%. Se utilizaron 8 bovinos Hereford entre 12 y 14 meses, serológicamente negativos *Anaplasma marginale,* y se separaron en 2 grupos, en donde hubo animales inmunosuprimidos y tratados; y todos inoculados con cepa pura de *A. marginale*. Se examinó la condición corporal, parasiticemia (sanguínea), y el proceso de recuperación de los animales tras la aplicación terapéutica.

Palabras claves: Anaplasmosis, *Anaplasma marginale,* imidocarb, rickettsia.

SUMMARY

Anaplasmosis is a disease caused by a rickettsia called *Anaplasma marginale*, and it is transmitted by ticks. It is characterized by causing incoordination, fever, jaundice, hepatomegaly, splenectomegaly and death. Objective: to analyze the pathological process caused by the artificial infestation of *A. marginale* pure strain in bovines, as well as their healing after the administration of Imidocarb(lab.virbac). 8 Hereford bovines (negative serologically speaking), between 12 and 14 months of age were used. They were randomized into 2 groups of treatment, all of them artificially infestated with *Anaplasma marginale.* All animals were clinically checked, including parasiticemia and the healing process after the administration of such drug.

Key words: Anaplasmosis, imidocarb, *Anaplasma marginale,* rickettsia.

INTRODUCCIÓN

La Anaplasmosis es una enfermedad que tiene gran repercusión económica en la ganadería bovina, siendo responsable por altos índices de mortalidad y morbilidad entre animales sensibles, caída en la producción de leche, abortos en la fase aguda de la enfermedad, retraso en el crecimiento, además de gastos adicionales por medicación, lo que representa perjuicio para los criadores, con reflejos socio-económicos significantes.
La Anaplasmosis bovina tiene como agente etiológico la rickettsia A*naplasma marginale,* que junto con otros factores influyen directa o indirectamente en el crecimiento del sector agropecuario en diversos países localizados en las regiones tropicales y sub-tropicales del mundo.
Este microorganismo es transmitido por garrapatas, y también por insectos hematófagos como moscas y mosquitos. Como el principal agente transmisor es la garrapata, la intensidad de su presencia en el medio ambiente esta íntimamente relacionada a la aparición y gravedad de la enfermedad. Para esto es preciso conocer su biología, distribución y dinámica de los vectores en el campo, la tasa de inoculación en los bovinos, la composición genética del rebaño, la edad de los animales afectados, método de control de los vectores, alteración en el manejo de los campos y hatos, así como de los datos climáticos.
La prevención y control de anaplasmosis se hace a través del combate a las garrapatas y sus vectores, uso de vacunas y tratamiento de animales enfermos.
En los procesos de tratamiento de bovinos naturalmente infectados, se utiliza con mayor frecuencia el clorhidrato de oxitetraciclina y los derivados de Imidocarb.

OBJETIVO

Analizar el proceso patológico provocado por la infestación artificial con la cepa pura de *Anaplasma marginale* en bovinos Hereford, así como la curación de este proceso gracias a la aplicación de Imidocarb (lab.virbac)al 12%

MATERIAL Y METODOS

Este estudio se llevó a cabo en el Centro de Experimentación Veterinario en Bagé/RS, en Brasil.

Se utilizaron 8 bovinos de raza Hereford, entre 12 y 14 meses de edad, serológicamente negativos a *Anaplasma marginale.*

- *Grupo 1:*
  2 bovinos inmunosupirimidos
  2 bovinos inoculados con *Anaplasma marginale* (10^8), se trataran cuando tengan parasitemia y fiebre.
- *Grupo 2:*

2 bovinos inmunosupirimidos.
2 bovinos inoculados con *Anaplasma marginale (*10^8), se mantendrán como control.

Procedimiento:
En los días 0, 15, 21, 30, 40, 50 y 60 se tomaron muestras de sangre para conocer los valores de hematocrito y evaluar la parasiticemia. Estos mismos días se establecieron las observaciones físicas de los animales para determinar el proceso patológico y la curación de la anaplasmosis.

RESULTADOS

Anaplasma marginale:

- Todos los animales inoculados artificialmente presentaron alteraciones clínicas características de la Anaplasmosis a partir del D 18. Hubo aumento en la temperatura rectal (41.3°C).
- El volumen globular presentado en los animales de prueba durante el transcurso de la infección tuvo una reducción hasta de un 41% en relación al día 0.
- Los principales signos clínicos observados fueron fiebre, tristeza, anemia, inapetencia e ictericia.
- La parasitisemia alcanzó un nivel máximo del 4% de los glóbulos rojos infectados al D27.
- Los animales tratados con Imidocarb (lab.virbac)12%[a] se recuperaron en un lapso de 48 hrs post tratamiento.
- Este trabajo está basado en protocolos de prueba experimental y sirvió de base para la obtención del registro SAGARPA Q-0042-338[a].

DISCUSIÓN:
La anaplasmosis es una enfermedad infecto-contagiosa de los bovinos, caracterizada por producir una anemia progresiva asociada con la presencia de cuerpos de inclusión intracelular (4, 6), conocidos como Anaplasma (4). Es causada por una rickettsia que actúa como un parásito obligado de los eritrocitos, afectando a bovinos y rumiantes silvestres (1, 4). En México, es común en las zonas del Golfo, Pacífico, Altiplano y Norte. (4) También es común encontrarla en Sudáfrica, Australia, Rusia, Sudamérica y Estados Unidos (1).

La anaplasmosis es primariamente manifestada con una anemia, cuyo grado varía en función del número de eritrocitos parasitazos. La primera aparición del microorganismo en la sangre coincide con la caída del hematocrito y en el nivel de eritrocitos, con la aparición de eritrocitos inmaduros en el frotis de sangre, y fiebre (1). Esto se manifestó claramente en los animales de prueba, ya que comenzaron los signos clínicos a partir del D18, mismos que coincidieron con la parasiticemia inicial observada en sangre, la cual alcanzó su nivel máximo al D27 (en un animal

del grupo 2), desapareciendo por completo al D34 y manteniéndose así hasta el D60 gracias al tratamiento farmacológico aplicado.
En los bovinos, el período de incubación varía según la cantidad de material infectado que se inyecta, y cuando son inoculaciones en sangre, se manifiesta en un rango de 1 – 5 semanas posteriores a ésta (1). Esto coincide con la manifestación de signos característicos en los animales de prueba, los cuales se presentaron por primera vez al D18 después de la inoculación artificial. También, coinciden dichas manifestaciones con las que señala la literatura: fiebre alta (puede alcanzar más de (40.5°C), anorexia, emaciación, mucosas ictéricas, mala digestión, disnea intensa y posible muerte en los animales (1, 4).

Una vez que el agente causal está dentro del organismo, éste invade a los eritrocitos mediante un proceso de invaginación y se multiplica por fisión binaria, formando cuerpos de inclusión localizados en la periferia del eritrocito para después salir y parasitar a otros eritrocitos (4, 8). También, interactúa con la membrana celular del eritrocito, disminuyendo la cantidad de fosfolípidos y aumentando la concentración de ácido diálico, reflejándose en un cuadro de anemia, la cual puede persistir durante 4 a 15 días, y el animal puede llegar a perder hasta el 70% de los eritrocitos circulantes. (4). En este estudio, se presentaron alteraciones en el volumen globular $\leq$ 20%, y el nivel máximo de eritrocitos parasitados fue del 4%, los cuales volvieron a sus valores normales gracias al tratamiento farmacológico aplicado de Imidocarb (lab.virbac)12%.

El proceso de recuperación de los animales tratados se observó en aproximadamente 24 horas después de la aplicación del fármaco, debido a sus características de absorción y distribución del imidocarb. La remisión de los signos clínicos se llevó a cabo en un período de 48 hrs, recuperándose poco a poco los valores hemáticos normales, los cuales se mantuvieron así hasta el día 60 del experimento. (2, 3, 5, 6).

CONCLUSIÓN

- ✓ Los animales afectados con una cepa pura de *Anaplasma marginale* presentaron signos clínicos característicos de la Anaplasmosis: fiebre (41.3°C), tristeza, inapetencia, ictericia, anemia, parasiticemia y alteraciones corpusculares sanguíneas.
- ✓ La mejora de la condición clínica corporal del animal, así como la eliminación del proceso patológico se dio en un período de 48 horas en los animales tratados con Imidocarb$^{(lab.virbac)}$ al12%.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. BLOOD, D.C., et al. "Medicina Veterinaria". 7a, McGraw-Hill-Interamericana. Vol. II. México. 1992.
2. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization. "Toxicological Evaluation of Certain Veterinary Drug Residues in Food": Imidocarb. Geneva, 1998.

3. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: Veterinary Medicines and Inspections: EMEA/MRL/785/01-FINAL, May, 2001.
4. UNAM, Sistema de Producción Animal II, Bovinos. División Sistema Universidad Abierta y Educación a Distancia. México. 2000.
5. PLUMA, D.C., Veterinary Drug Handbook. 4th Edition, Iowa State Press. 2002.
6. SUMANO LOPEZ, H., et al. "Farmacología Veterinaria". 2ª. McGraw-Hill-Interamericana. 1997.
7. TRIGO TAVERA, F.J., et al. "Patología General Veterinaria". 3ª, UNAM. 2002.
8. KAUFMANN, J. "Parasitic Infections of Domestic Animals". Birkhäuser Verlag. Germany. 1996.

RECUPERACIÓN DEL PROCESO PATOLÓGICO ENTÉRICO CAUSADO POR DESAFIO EXPERIMENTAL DE *Eimeria acervulina, Eimeria maxima* Y *Eimeria tenella* EN POLLOS DE ENGORDA MEDIANTE PRUEBA EN PISO

Adriana de la Rosa Figueroa[1] , Jorge Arceo Padilla[1], Martín López Rojas[2], Lauro Trejo Castro[2], Fernando Parrodi López[2] , Pedro Pérez Silva [2], Catalina Sánchez Quntanilla [2].

[1] Departamento de Investigación y Desarrollo, Laboratorios Virbac México SA de CV. Av. Mayas 3305, Fracc. Monraz, Guadalajara, Jalisco, México.
[1] Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal. Carr. Federal Cuernavaca – Cuautla, 8534, Col. Progreso, Jiutepec Morelos, México.

RESUMEN
Esta prueba experimental se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal en el Municipio de Jiutepec, Morelos; y tuvo por objetivo el analizar las diferentes lesiones entéricas, índice de ooquistes por especie de coccidia, ganancia relativa de peso, índice de lesión, porcentaje de supervivencia e índice de productividad de un coccidicida a base de toltrazuri$_{(lab.virbac)}$ al 2.5%, en pollos de engorda tras el desafío experimental con *Eimeria acervulina, E. maxima* y *E. tenella*. Se formaron 3 grupos de aves, y c/u conformado de dos réplicas (uno con 52 pollos machos, y otro con 51 hembras); grupo 1) desafiados con las tres especies de coccidias; grupo 2) infectado no tratado; y grupo 3) control no infectado no tratado. La inoculación se realizó el D 29, y el tratamiento se administró los días 5 y 6 post desafío. La toma de muestras de heces fecales se llevó a cabo en los días 3, 6, 8, 9, 14, 16, 20, 23, 27, 30, 33, 34, 35, 36, 37, 41, 44, 48 y 50; mientras que las necropsias se realizaron el D 36, mostrando diferentes grados de enteritis, con hemorragias, úlceras, moco, coágulos y detritus celulares en intestino delgado y ciego. Al terminar el estudio se concluyó que los efectos patológicos entéricos ocasionados por las diferentes especies de coccidias se redujeron en el grupo tratado en relación al grupo control, estableciendo que el toltrazuril$_{(lab.virbac)}$ al 2.5% es una buena alternativa terapéutica en el control y tratamiento de esta enfermedad.

Palabras clave: enteritis, pollos, coccidicidas, toltrazuril(lab.virbac), coccidiosis.

SUMMARY.
This clincal trial was carried out at the Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal (CENAPA), in Jiutepec, Morelos, Mexico. Objective: to analyze all the different enteric injuries, oocyste index, weight gain, injuries index and surviving and producting index in poultry after an experimental challenging with *Eimeria acervulina, E. maxima* and *E. tenella*, as well as the efficacy of 2.5% toltrazuril$^{(lab.virbac)}$. 3 experimental groups were formed, each one with 2 replicates (a =r 52 males, b = 51 females): group 1) challenging using the 3 kind of coccidian species, group 2) infected, non-treated; and group 3) control non-infected, non-treated. The inoculum was applied on D 29, and the treatment

on days 5 and 6 post challenge. Feaces sampling were carried out on days 3, 6, 8, 9, 14, 16, 20, 23, 27, 30, 33, 34, 35, 36, 37, 41, 44, 48 and 50; while necropsies on D 36, showing all different enteric degrees, hemorrhagie, sores, mucus, clots and cell detritus on guts and cecum. Conclusion: all the pathological effects caused by the different kind of Eimeria were reduced by the administration of 2.5% toltrazuril(lab.virbac)[a] in comparison to the control group.

Keywords: enteritis, poultry, toltrazuril(lab.virbac), coccidiosis.

INTRODUCCIÓN:

La coccidiosis en pollos es una importante enfermedad parasitaria, causada principalmente por varias especies del género *Eimeria* de localización intracelular, que parasitan las células del epitelio intestinal del ave, causando serios daños a la mucosa y, por ende, limitando las áreas de absorción de nutrientes. Clínicamente, se caracteriza por diarrea con sangre y anemia, y en la forma subclínica, por un síndrome de mala digestión, con gran repercusión económica (1, 2).

El proceso infeccioso es rápido (4-7 días). En general, los parásitos son estrictamente específicos para el huésped y las diferentes especies de coccidias presentan una predilección por desarrollarse en diferentes partes del intestino (2).

La coccidiosis está distribuida ampliamente en todo el planeta, donde quiera que se críen pollos y, como hasta la fecha no ha podido ser erradicada, sólo nos queda la posibilidad de vigilar su evolución y evaluar periódicamente sus alcances para controlar eficientemente su impacto en la economía de la industria avícola. (3)

La coccidiosis no es un cuadro patológico aislado dentro de la práctica de la crianza avícola moderna. Forma parte de un complejo problema de sanidad, donde intervienen enfermedades de naturaleza bacteriana, viral, micótica, parasitaria, toxicológica, etc., que exigen la aplicación de medidas administrativas, preventivas y terapéuticas programadas, compatibles y, sobre todo, evaluadas en su conjunto porque comprometen puntos de vista inmunológicos, quimioterapéuticos y de manejo. (3)

Por lo tanto, es necesario el uso de otros productos que tengan un efecto rápido, como son los coccidicidas. En forma general, estos productos son proporcionados en el agua de bebida y, de esta forma, detienen los efectos patológicos de las coccidias de una forma eficaz. La vacunación y la quimioterapia son un apoyo importante para lograr el control de esta enfermedad, sin embargo, deben ser utilizadas de manera oportuna, con profesionalismo y aprovechando las mejores alternativas que ofrece la medicina moderna (3)

OBJETIVOS:

- Evaluar de los diferentes signos clínicos y las lesiones entéricas macroscópicas tras la inoculación experimental de *Eimeria tenella, Eimeria maxima* y *Eimeria acervulina* en pollos de engorda.
- Evaluar del mejoramiento clínico de la coccidiosis tras un tratamiento a base de toltrazuril(lab.virbac) al 2.5% en pollos infectados artificialmente.

MATERIAL Y METODOS:

Animales experimentales: 309 pollos, Línea Hubbard, entre 46-50 g, de un día de edad, libres de coccidias.

Area experimental:

Las aves fueron confinadas por un período de 49 días en una caseta experimental, sobre una cama delgada de paja seca picada. La iluminación estuvo controlada por medio de un sistema de encendido y apagado eléctrico, y la ventilación controlada por medio de cortinas plásticas de operación mecánica.

Formulaciones para el tratamiento y control de coccidias en aves:

Toltrazuril(lab.virbac) al 2.5%, administrado en los días 5 y 6 post desafío al grupo 1, a razón de 7 mg/kg.

Método:

- Grupos experimentales:

GRUPO	*REPLICA*	*# AVES*	*TRATAMIENTO*	*DESAFIO D21 TIPO EIMERIA*
1	1.1 M	52	Toltrazuril(lab.virbac) 2.5% Admon: D 5 y 6 post desafío	AC MX TN
	1.2 H	51	Toltrazuril(lab.virbac) 2.5% Admon: D 5 y 6 post desafío	AC MX TN
2	2.1 M	52	Control infectado no tratado	AC MX TN
	2.2 H	51	Control infectado no tratado	AC MX TN
3	3.1 M	52	Control no infectado no tratado	Agua
	3.2 H	51	Control no infectado no tratado	Agua

M: Macho
H: Hembra
AC: *E. acervulina*
MX: *E. maxima*
TN: *E. tenella*

- *Valoración de las lesiones macroscópicas:*

Las lesiones sobre las mucosas entéricas se evaluaron por grupo de tratamiento, obteniéndose una conclusión general por grupo. Todas las lesiones fueron reportadas por el investigador clínico del CENAPA.

- *Evaluación de la eficacia:*

Los diferentes parámetros de evaluación de la eficacia fueron:

a) Indice de ooquistes por especie de coccidia.
b) Ganancia de peso.
c) Índice de lesión.
d) Porcentaje de supervivencia.
e) Conversión alimenticia.

RESULTADOS:

- Los pollos en prueba de los grupos desafiados con coccidias manifestaron cambios físicos en las heces a partir del día 5, en comparación a la ausencia de cambios en la consistencia de las mismas de los pollos pertenecientes al grupo control.
- El promedio registrado de opg más alto fue en el día 4 en los machos del grupo 1 (93000), y el más bajo fue para los machos del grupo 2 (32400). En general, los valores más bajos se registraron en el grupo 1, y no se detectaron ooquistes en los pollos pertenecientes al grupo 3.
- El grupo 2 presentó la mayor mortalidad, mostrando un porcentaje de sobrevivencia del 82.6.
- En el día 35 de prueba se realizaron necropsias para la evaluación de las lesiones, mostrándose los diferentes lugares anatómicos intestinales lesionados de acuerdo al tipo de coccidia, observándose lo siguiente: Destrucción de mucosa intestinal en diversas regiones del mismo, exudado catarral y hemorrágico, presencia de sangre coagulada y desechos tisulares en intestinos.
- Este estudio se basó en los protocolos de prueba experimentales para la obtención del registro SAGARPA: Q-0042-342

DISCUSIÓN:

Las coccidias son protozoarios de gran importancia económica en los animales domésticos. En la mayoría de las especies estos parásitos se localizan en el intestino. En pollos, es causada por varias especies del género *Eimeria* y se caracteriza clínicamente por diarrea con sangre y anemia, y en la forma subclínica, por un síndrome de mala digestión, con gran repercusión económica (1). También, presentan las plumas erizadas, ásperas y sucias, ojos semicerrados, crestas y barbillas pálidas o atrofiadas, despigmentación de la piel y pérdida de la uniformidad entre ellas (5).

A diferencia de lo que ocurre con otros organismos responsables de otras enfermedades, la coccidia está distribuida permanentemente en todo nuestro planeta, dondequiera que se críe pollos, y hasta la fecha no ha sido erradicada, por lo que es de gran importancia la observación de su evolución y la revisión periódica de sus alcances para controlar eficientemente su impacto en la economía de la industria avícola (5). Debido al gran complejo que forma de sanidad, bioseguridad y control médico, es fundamental el uso frecuente de sustancias coccidicidas y coccidiostatos que nos ayuden a la prevención y control de dichas enfermedades.

Los animales se infectan al ingerir agua o alimentos contaminados (1). En este experimento, la inoculación artificial se realizó a través del alimento, y los animales desarrollaron los signos clínicos mencionados con anterioridad.

Durante el proceso de necropsia se observaron diversas lesiones: Destrucción de mucosa intestinal en diversas regiones del mismo, exudado catarral y hemorrágico, presencia de sangre coagulada y desechos tisulares en intestinos. Estos hallazgos están relacionados con el tipo de coccidia involucrada:

a) *E. acervulina*: invade epitelios y criptas de Lieverkhün. Es responsable de la baja absorción de zinc, ácido oléico, metionina, histidina, calcio, glucosa y xantofila (1). Afecta principalmente al duodeno y presenta un exudado catarral y rara vez hemorrágico (1, 2). Se llegan a observar diversas placas grises o blanquecinas atravesadas en la parte superior del intestino delgado (2).
b) *E. tenella*: afecta a las células epiteliales, lámina propia y túnica propia de los ciegos. Puede haber daño renal durante el 3er y 4º día de la infección, seguido de un aumento de excreción de ácido úrico, causando una dilatación de la cápsula de Bowman (1). Hay acumulación de sangre en ciegos, heces sanguinolentas, sangre coagulada en intestinos, desechos titslares y oocistos (2, 3).
c) *E. maxima*: Causa dilatación y engrosamiento del intestino delgado, que puede contener un exudado grisáceo, pardo o rosado de tipo mucoso (2).

El 82.6% de los animales tratados sobrevivieron, debido a que el fármaco elegido induce cambios en la estructura de los diferentes estados de desarrollo de las coccidias, principalmente causando inflamación en el retículo endoplásmico y en el Aparato de Golgi del parásito, así como anormalidades en el espacio peri-nuclear, ocasionando disturbios en la división nuclear. También, altera la acción de las enzimas de la cadena respiratoria de los parásitos (4)

CONCLUSIONES:

- Los animales inoculados artificalmente con diversas cepas de Eimeria presentaron los signos clínicos característicos de coccidiosis aviar: enteritis hemorrágica, diarrea sanguinolenta o incolora, presencia de moco en las heces fecales, emaciación, pérdida de peso y desnutrición.

- Los animales tratados se recuperaron satisfactoriamente del proceso patológico de la enfermedad, mostrando un porcentaje de sobrevivencia de 82.6.
- Toltrazuril(lab.virbac) al 2.5% proporciona una alternativa terapéutica contra las infecciones causadas por coccidias en aves, a una dosis de 7 mg/kg/día.

REFERENCIAS:

1) QUIROZ ROMERO, H. Parasicología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. UTHEA. México. 1996.
2) The Merck Veterinary Manual. 7th Edition Merck & CO. Inc. Rahway, N.J., USA, 1991.
3) "Coccidiosis Aviar: problema de todos los días". *Notas científicas: Ilender Corp.* No. 2, 2000.
4) The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products: Veterinary Medicine Evaluation Unit. EMEA/MRL/314/97-FINAL, April, 1998.
5) "Coccidiosis Aviar: problema de todos los días". *Noticias Científicas*. No. 2, 2000.

TIFLITIS ULCERATIVA ASOCIADA A YERSINIA ENTEROCOLITICA EN DOS BECERROS

MVZ. Esp. Enríquez Vázquez Alejandro, MVZ. Estrada Salas Erika Áurea
MVZ. Río Alfaro Josefina del, Laboratorio de Patología Animal, Calamanda

Abstract
Yersinia enterocolitis is an agent that should be consider as an important differential diagnosis, with Salmonella sp, BVD, coccidiosis and parasitism in domestic ruminants, due all of them produce ulcerative lesion in large intestine. The purpose of this paper is to report two cases where *Y. enterocolitis* was isolated from two different calves at the Laboratorio de Patologia Animal in Queretaro.
Palabras clave: *Yersinia enterocolitica*, tiflitis ulcerativa, becerros.

Introducción

La *Yersinia spp* es un grupo de bacterias que pertenecen a la familia *Enterobacteriacae*, se caracterizan por ser bacilos Gram negativos, oxidasa negativos, anaerobios facultativos y catalasa positivos.
Dentro del género existen siete especies: *Y. pestis, Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica, Y. ruckeri, Y. intermedia, Y. kristencenii y Y. frederikcenii.*
En humanos la más importante es la *Y. pestis*, a quien se le atribuye la plaga, enfermedad que mató mas de un cuarto de la población europea durante el siglo XIV y por lo menos diez millones de personas en Asia en la primera mitad del siglo XX. La transmisión puede ocurrir a través de pulgas adquiridas por perros y gatos de roedores infectados.
Los diez serotipos de *Y. pseudotuberculosis* causan una enfermedad sistémica menos severa en humanos y otros animales, mientras que *Y. enterocolitica* causa enteritis principalmente en humanos y raramente se vuelve enfermedad sistémica. *Y. ruckeri* es responsable de la enfermedad de la boca roja en el salmón y la trucha. Los otros tipos de *Yersinia* son raramente patógenos oportunistas.
Yersinia enterocolitica se asociada en algunos aspectos con *Y. pseudotuberculosis*. Los signos clínicos suelen estar limitados a diarrea, existen infecciones asintomáticas y la bacteremia es la forma más común de presentación.
Las lesiones comunes son: Ileitis, gastroenteritis y linfadenitis mesentérica. *Y enterocolitica* ha sido aislada de conejos, perros, cerdos, caballos, mink, osos, aves y rumiantes tanto domésticos como salvajes.

Patogenia

Al ingerir, la bacteria transita por el estómago, produce la enzima ureasa, y luego coloniza el intestino delgado, específicamente en el epitelio de las vellosidades. La diarrea puede ser causada por la producción de toxinas termoestables YST. Las células epiteliales son invadidas en un complejo proceso termorregulador. Hay penetración de las células M, facilitada por la adhesina de *Yersinia* (YadA) y los productos de inv y ail, es seguido de la multiplicación en el tejido linfoide asociado a intestino (GALT). La *Yersinia* tiene proteínas y otros componentes de

superficie que facilita la supervivencia de la fagocitosis y efectos del complemento. La inflamación, microabscedación y la ulceración de la mucosa son lesiones seguidas, además de su drenaje a linfonodos mesentéricos y circulación sistémica.

Yersinia enterocolitica causa cientos de varios casos de enfermedad de food-borne anualmente en los Estados Unidos. El porcentaje de contaminación a través de agua y leche ha sido asociado al consumo de tofu y cáscara de frijoles. Este organismo es encontrado en ambientes acuáticos, pero es normal en el cerdo. Sobrevive periodos largos en el suelo o agua.

El propósito del siguiente trabajo es informar de dos casos en becerros con tiflitis ulcerativa piogranulomatosa recibidos en el Laboratorio de Patología Animal de Calamanda, Qro, en donde se aisló *Yersinia enterocolitica*.

El procedimiento de necropsias se realizó de acuerdo al manual "Técnicas de Necropsia en Animales Domésticos" por Aluja y Constantino. Además las muestras que se recolectaron para histopatología tenían un grosor no mayor de 0,5 cm y se depositaron en frasco limpio con formalina al 10 % amortiguada a un pH de 7,2 por más de 24 hrs.

Después de procedió a la inclusión en parafina y se realizaron cortes con un grosor de aproximadamente de 5 micras, para posteriormente teñirse con hematoxilina-eosina y poder hacer la revisión histomorfológica.

Primer caso clínico

Bovino, Holstein Friesian, macho de 12 días de edad, sin historia clínica proveniente de San Miguel Allende, Guanajuato.

El único antecedente que reportaron es que existe una alta incidencia de hernias umbilicales, el médico responsable pensaba en Diarrea Viral Bovina, debido a que los animales que revisó postmortem en sitio presentaban, úlceras en tracto digestivo.

Descripción macroscópica:

Los hallazgos macroscópicos más relevantes fueron:

El animal tenía mala condición corporal, las mucosas conjuntivales, oral y anal estaban pálidas. La superficie externa de los lóbulos pulmonares tenían extensas áreas de color rojo que coalescían y tenían consistencia firme. Al corte, el parénquima estaba congestionado en grado moderado.

La serosa de las asas intestinales, especialmente a nivel del colon, así como la de vejiga estaban cubiertas por abundante fibrina. En la mucosa del abomaso había múltiples áreas rojas que medían aproximadamente 1,0 cm en su eje mayor, con pérdida de la mucosa. En la serosa del ciego se apreciaron extensas áreas verdes, delimitadas por fibrina, que se unían entre ellas. Al corte, se encontró que la mucosa estaba enrojecida y con necrosis. Cabe mencionar que el ciego estaba adherido a la vejiga por abundante fibrina.

Diagnósticos morfológicos: Tiflitis ulcerativa severa multifocal coalescente. Peritonitis fibrinosa moderada multifocal

Descripción microscópica: Se revisan cortes histológicos de intestino (ciego y colon) que exhiben infiltración por escasos neutrófilos y piocitos en la mucosa, además de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos que se extienden hasta la submucosa. Así mismo, en otras secciones especialmente de colon se aprecian

extensas áreas de necrosis en la mucosa que rebasan la membrana basal, y moderada cantidad de infiltrado inflamatorio que le rodea compuesto por linfocitos, células plasmáticas y macrófagos en el resto de los cortes se aprecia deplesión linfoide del tejido asociado.
Se revisan cortes histológicos de linfonodo mesentérico que presenta infiltración discreta por macrófagos y escasos neutrófilos y piocitos en los folículos y en la zona parafolicular, así mismo, se aprecia atrofia linfoide.
La vejiga exhibe en la serosa numerosos macrófagos, neutrófilos y piocitos inmersos en áreas de necrosis, que se extienden a la capa muscular del órgano.
Diagnósticos morfológicos: Linfadenitis piogranulomatosa discreta multifocal.
Colitis y tiflitis piogranulomatosa y ulcerativa severa difusa.
Serositis fibrinopurulenta vesical grave difusa.

Segundo caso
Bovino, Holstein Friesan, hembra de 14 días de edad, proveniente de Pedro Escobedo, Qro.
La historia clínica refiere que el animal "aventaba" la cabeza hacia atrás y presentaba parálisis del miembro pelviano del lado izquierdo. Los hallazgos más relevantes fueron los siguientes:
La condición corporal del cadáver era regular y tenía buen estado de conservación. La región perianal estaba sucia con heces café verdosas que se extendían a la cauda. Tenía los ojos hundidos y las mucosas oral, conjuntivales y vulvar estaban pálidas.
En la región paralumbar derecha sobre el peritoneo se encontró un área bien localizada con abundante fibrina y adherencias. Además de múltiples adherencias en mesenterio, epiplón, intestino delgado y bazo. Las asas intestinales estaban dilatadas y la mucosa del yeyuno e íleon tenían múltiples hemorragias petequiales. El ciego estaba severamente dilatado y en la superficie tenía un área blanca que medía 3,5 cm de diámetro cubierta por abundante fibrina, el resto de la superficie era café verdosa con los vasos sanguíneos muy aparentes. Contenía moderada cantidad de material líquido rojo que se extendía al colon. La mucosa presentaba múltiples áreas de ulceración.
Los linfonodos mesentéricos estaban severamente aumentados de tamaño.
Descripción microscópica: Se revisan varias secciones de ciego e íleon con extensas áreas de necrosis en la mucosa y submucosa, inmersos se observan grupos de linfocitos e histiocitos que afectan las mismas zonas.
Se revisan cortes histológicos de linfonodos mesentéricos con extensas áreas de necrosis subcapsular, así como, hiperplasia de células linforreticulares
Diagnóstico Morfológico: Tiflitis ulcerativa y necrótica severa, localmente extensiva.
Linfadenitis necrótica severa zonalmente extensiva.
En este caso, cabe mencionar, las lesiones en encéfalo se limitaron a edema y hemorragias perivasculares.

Resultado de Bacteriología de ambos casos
Muestra tomada de intestino grueso (ciego), la cual fue sembrada en Agar Sangre y Agar Mac Conkey, fueron puestas en una estufa bacteriológica a una

temperatura de 37ºC. Transcurridas 24 horas se observaron colonias grises pequeñas lactosas negativas, en crecimiento puro y abundante. En la tinción de Gram se encontraron bacilos gram negativos, y al realizar la prueba de oxidasa resultó negativo, con lo que se determinó que era una enterobacteria. Posteriormente, se llevo a cabo una tipificación bioquímica sembrando medio Triple Azúcar Hierro donde se obtuvo la reacción número 6. En el medio SIM, resultó positivo el indol. El medio de citrato fue negativo y la urea positiva. Además se sembraron azúcares como manitol con resultado positivo, en la glucosa hubo producción de gas, el sorbitol y la rammosa también fueron positivos. Se compararon estos resultados con los de las tablas de identificación de enterobacterias llegando a la identificación de *Yersinia enterocolitica*.

Conclusión: De acuerdo con los hallazgos macroscópicos, microscópicos y de bacteriología ambos animales cursaron con enterocolitis y linfadenitis causado por *Yersinia enterocolitica*.
Se considera que es importante informar de estos dos casos en los cuales se pueden relacionar los hallazgos de la necropsia, con los resultados de bacteriología, los histopatológicos y la literatura revisada debido a que, tal vez muchos otros casos se estén diagnosticando erróneamente por no contar con la bacteriología principalmente, ya que existen algunos otros agentes que pueden causar tiflitis y colitis ulcerativas, tales como *Salmonella sp*, Diarrea Viral Bovina, coccidiosis, parasitosis, dependiendo de la severidad de las lesiones. Por otro lado, cabe mencionar que es una zoonosis que se debe considerar.
Además, en pruebas serológicas se ha demostrado que esta bacteria, puede interferir con las pruebas de campaña para Brucelosis, ya que producen resultados falsos positivos en hatos libres, debido a que comparten determinantes antigénicos con la cadena O de Brucella, principalmente *Y. enterocolitica* subtipo O:9

Literatura citada

Aluja, A y Constantino, F, manual de *Técnicas de necropsia en animales domésticos*. Manual Moderno, México, 2ª edición, 2002

Songer, JG and Post KW, *Veterinary Microbiology. Bacterial and fungal agents of animals disease*, Elsevier Saunders, 2005.

Thompson, Reginald G. *Special Veterinary Pathology*. BC Decker Inc. 1988

Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. *Pathology of the domestic animals* 4th edition Academic Press, 1994.

Mainar-Jaime, Raúl C, Muñoz, Pilar M; de Miguel María J; Grilló, María J; Marín, Clara M; Moriyón, Ignacio; Blasco, José M. *Specificity dependence between serological tests for diagnosing bovine brucellosis in Brucella-free farms showing false positive serological reactions due to Yersinia enterocolitica O:9* Canadian Veterinary Journal; 46: 913-916, october 2005.

ADENOCARCINOMA ACINAR DEL INTESTINO GRUESO EN UN CANIDEO HEMBRA ADULTO: REPORTE DE CASO

[1*]Montes de Oca Solano Sergio, [1]Fabián Morán María Concepción, [2]Velásquez Ordóñez Valente, [2]Fajardo Muñoz Raúl.

[1]Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAEM, El Cerrillo, Méx. [2]Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA-FMVZ-UAEM) carretera de cuota Toluca-Atlacomulco Km. 15.5.

Resumen

Se evaluó un canino hembra de 10 años de edad, que mostró un cuadro clínico afebril, constipación digestiva y anorexia se tomaron muestras de sangre y placas radiográficas latero-lateral y ventro-dorsal. El caso fue considerado en etapa terminal, sometido a eutanasia y remitido al estudio *pos mortem*. Los resultados hematológicos indicaron anemia macrocítica normocrómica, leucocitosis por neutrofilia, linfopenia y trombocitopenia. El estudio radiológico mostró una pequeña masa radiopaca en intestino delgado, reacción inflamatoria peritoneal acentuada, tracto gastrointestinal vacío con distensión aérea intestinal. Las lesiones patológicas relevantes, se distribuyeron en el intestino grueso, en forma de racimos nódulares, de color amarillento de tamaño variable entre 0.5 y 5 cm. Los hallazgos histopatológicos mostraron una proliferación de células acinares a partir de la serosa del intestino grueso, con mitosis abundante, anaplasia y necrosis con fibroplasia regional, compatibles con adenocarcinoma tipo acinar del intestino, considerado como un tumor de intestino grueso y delgado similar a la malignidad que se observa en humanos.

Palabras clave: adenocarcinoma acinar, intestino grueso, canino

ACINAR ADENOCARCINOMA OF LARGE INTESTINE IN A CANINE FEMALE: REPORT OF A CASE

A canine female of 10 years of age refereed clinically by abdominal distention, digestive constipation, anorexia, anuria and none febrile case. Ventro-dorsal and latero-lateral radiological plaques and blood samples were taken. The case was considered a terminal stage, submitted euthanasia and pos mortem study conduced by routinely technique. Hematology results indicated normocrómica macrocítica anemia, leucocitosis by neutrofilia, linfopenia and thrombocytopenia. The radiological study showed a small light mass on lower intestine, marked peritoneal inflammatory reaction, tract gastrointestinal emptiness with intestinal aerial distension. Relevant gross pathology findings were distributed on lower and larger intestine, like racemes nodular white cream color masses from variable size about 0.5 to 5 cm., tissue samples for histopathology were fixed in buffered formalin Ph 7.4 performed by paraffin inclusion, glass slides preparations were hematoxilin and eosin, tricromic masson and periodic shift stained. The histology findings a proliferation of cells acinares from the serous of the heavy intestine, with abundant mitosis, anaplasia and necrosis with fibroplasia regional, closely related

with acinar adenocarcinoma of the large intestine, considered like a tumor intestine of heavy maligned compared as same frequent pathology as in adult human.

Word keys: acinar adenocarcinoma, large intestine, canine

Introducción

Los tumores del intestino no son comunes en los animales domésticos (Quintos, 2001). El adenocarcinoma intestinal muestra un crecimiento de forma anular en la pared del intestino, el cual puede producir engrosamiento segmental de la pared intestinal que actua como una masa expansiva (Jones, 1996). Los tumores carcinoides surgen de acinis glandulares y estructuras adyacentes, localizadas en la mucosa del intestino (Herrera, M.). El adenocarcinoma intestinal es poco frecuente en perros, aunque se puede observar en duodeno y colon, y en menor frecuencia en estomago y recto (Quintos, 2001). Los carcinomas del intestino en el perro se han dividido en varios tipos (Head, 2003 y Herrera, M.), el acinar caracterizado por estructuras glandulares irregulares, el papilar consiste de proyecciones papilares a la luz intestinal, cubierta por células epiteliales columnares en las que se aprecia anaplasia, y el tipo mucinoso caracterizado por células epiteliales con citoplasma eosinofílico pálido, células en anillo con sello, localizadas en el estroma con evidencia de grandes depósitos de mucina extracelular que difiere del sólido caracterizado por que la mucosa y la pared intestinal se encuentra infiltrada intensamente por nidos y láminas de células epiteliales anaplasicas, con tendencia leve a diferenciarse en estructuras acinares (Quintos, 2001).

Historia clínica

Canino hembra criollo, multípara de aproximadamente 10 años, refiere clínicamente con una distensión abdominal severa con heces oscuras semisólidas, anorexia marcada y disnea.

Examen clínico

En la exploración abdominal se detectaron estructuras ovoides y firmes, de un tamaño aproximado de 2 a 10 cm de diámetro a la palpación abdominal, se tomaron dos placas radiográficas (laterolateral y ventrodorsal) y una muestra de sangre para estudio hematológico.

Estudio *post mortem* e histopatología

El estudio *post mortem* se realizo siguiendo el procedimiento de rutina (de Aluja, 2002). Las muestras de tejidos se fijaron en una solución de formalina a pH 7.4, procesadas posteriormente mediante la técnica de inclusión en parafina, de las que se prepararon cortes teñidos con hematoxilina-eosina, Gienmsa, tricromica de Masson y peryodica de schifft (PAS).

El estudio anatomopatológico revelo una linfadenitis en nódulos mediastinitos, mesentéricos e inguinales con presencia de liquido rojo al corte, ascitis y peritonitis. Congestión pulmonar, Linfadenitis en nódulos linfáticos mediastinicos y nódulos multifocales en pulmón (Fig. 1). Nódulos múltiples distribuidas a nivel de duodeno de 0.5 a 7 cm. aproximadamente. En intestino grueso neoplasia de 4 cm. en la serosa. Neoplasias difusas en mesenterio de 1 a 3 cm. aproximadamente (Fig. 2). Hepatomegalia, con metástasis (Fig. 3). Vejiga gruesa y firme, riñones con presencia de manchas blanca amarillentas, la cápsula renal fuertemente adherida. Músculos intercostales y diafragma con presencia de nódulos difusos. El estudio histopatológico mostró una proliferación de células acinares a partir de la serosa del intestino (Fig. 4), áreas circulares con estroma de tejido fibroso; células epiteliales acinares cuboidales y columnares; núcleo prominente, citoplasma basofílico, granular; mitosis abundante con aparente formación de digitaciones que se pierden en áreas de necrosis con inflamación.

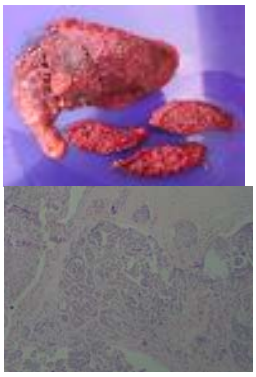


Fig. 1 Metástasis pulmonar

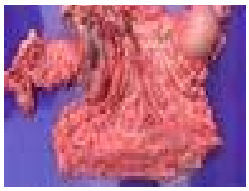


Fig. 2 Múltiples nódulos en el mesenterio

Fig. 3 Metástasis nodular en hígado.

Fig. 4 Proliferación de células acinares a partir de la serosa del intestino

Estudios complementarios

En las placas radiográficas evidencio peritonitis, hepatomegalia y ascitis, esto se asocia a el estudio hemático que indico una anemia macrocítica normocrómica, leucocitosis por neutrofilia, linfopenia y trombocitopenia

Criterio diagnostico

El diagnostico clínico presuntivo del caso se estableció como un tumor metastático del intestino grueso.

Diagnostico diferenciales

Obstrucción intestinal, sarcoma intestinal, carcinoide y linfosarcoma intestinal.

Discusión

En el presente estudio el hallazgo de un adenocarcinoma de tipo acinar en una perra senil se observo un estado avanzado de la enfermedad con metástasis en pulmón, músculos intercostales, mesenterio, hígado. Confirmando una etapa terminal del cuadro clínico, algunos investigadores informan una prevalencia mayor de carcinomas intestinales en los machos con predisposición observada en las razas Boxer, Collies y ovejeros alemanes (Quintos, 2001). La presencia de los adenocarcinomas papilares y acinares se localizan comúnmente en el duodeno, colon y recto (Head, 2003 y Patnaik 1980). Al producir engrosamiento segmental de la pared intestinal actuando como una masa que se expande al exterior y a la luz, y dar lugar a una constricción anular y una obstrucción parcial (Quintos, 2001). Otros tipos de adenocarcinomas del intestino involucran grandes segmentos (Jones, 1996). Los de tipo mucinoso están sobre todos los segmentos del intestino pero frecuentemente se observan en el yeyuno. Los nódulos linfáticos, pulmones, hígado e intestino son los sitios comunes de metástasis. (Patnaik, 1980). Considerando a los diferentes tipos como de alta malignidad (Sykes, 1982). Derivado en la implantación de las superficies serosas puede conducir a la obstrucción de los linfática, seguida por ascitis (Quintos, 2001). En la epidemiología de este tipo de neoplasias la edad promedio en que ocurren los adenocarcinomas intestinales es entre los 8 a 9 años. La resolución quirúrgica de los tumores intestinales varía según su tipo y localización. (Quintos, 2001).

Conclusión

Si bien las neoplasias son procesos patológicos que se presentan en todas las especies de animales domésticos, los linfosarcomas y los adenocarcinomas son los más frecuentes en los perros y los gatos, siendo más frecuentes en edades avanzadas, las neoplasias gastrointestinales se desarrollan de forma insidiosa y lenta con múltiples signos que hacen que se confundan con otras enfermedades de etiología diversa, la importancia de diagnosticar a los adenocarcinomas a tiempo es fundamental para la salud e incluso la vida del paciente, ya que por sus características pueden comprometer al organismo por su forma de invasión y su malignidad y su oportuno tratamiento.

Agradecimientos

Se agradece la colaboración a la M.V.Z. Claudia Alejandrí Cortés y al M. V. Z Salvador Díaz Bernabé, por su valiosa colaboración en el estudio del caso.

Referencias

1. Quintos, B.L. Oncología Clínica en Pequeños Animales. *Portal Veterinaria*. (29/06/2001) <http://www.portalveterinaria.com> (13/11/05).
2. Jones, T. C., et. al. (1996) Veterinary pathology. Sixth edition. Lippincott Williams & Wilkins.
3. Herrera, M. Enfermedades Hiperplásicas y Neoplásicas del Intestino. *Caninum. Com*. <http://www.caninum.com> (28/01/06)

4. Head, K.W., et.al.: (2003) Histological Classification of Tumors of the Alimentary System of Domestic Animals. Second Series. Volume X. Published by the Armed Forces Institute of Pathology.
5. de Aluja, A. S.; Constantino C., F.. Técnicas De Necropsia En Animales Domésticos, 2da edición, Ed. El Manual Moderno, México, 2002.
6. Patnaik AK, Hurvitz AI, Johnson GF. Canine intestinal adenocarcinoma and carcinoid. Vet. Pahol. 1980 Mar;17(2):149-63.
7. Sykes GP, Cooper BJ. Canine intestinal carcionoids. Vet. Pahol. 1982 Mar; 19(2):120-31.

FRECUENCIA DE LAS LESIONES EN LA PIEL, PULMONES, HÍGADO Y ESTÓMAGO DE LOS CERDOS SACRIFICADOS EN EL RASTRO DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA;-UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN, DURANTE UN PERIODO DE 4 MESES.

Leonardo Guillermo Cordero, Marco A. Torres León y Rafael Colín Flores.
Departamento de patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (FMVZ-UADY). CASA; Proyecto financiado por el Programa de Impulso y Orientación a la Investigación (PRIORI) de la UADY.

RESUMEN
La producción de carne de cerdo en México representa el 1.3% del total mundial, y el estado de Yucatán ocupa el tercer lugar productor con mas de 66, 000 vientres en la producción porcina nacional. El trabajo tiene como objetivos: determinar la frecuencia, los tipos y el grado de las lesiones pulmonares, hepáticas, gástricas y de la piel de cerdos finalizados. Se realizó en el rastro de la FMVZ-UADY, durante el periodo de Septiembre a Diciembre de 2005. Las lesiones pulmonares se clasificaron en neumonía, pleuroneumonía y pleuritis y la extensión fue clasificada por la metodología descrita por Morrison y col. las lesiones hepáticas fueron clasificadas en "manchas de leche" y lesiones sugestivas a inflamaciones o infiltraciones, la severidad fue clasificada por la metodología propuesta por Straw y col , las lesiones gástricas se clasificaron según Ayles y las lesiones de la piel se identificaron en primarias y secundarias.
Se revisaron un total de 308 pulmones, hígados, estómagos y pieles. La frecuencia de lesiones pulmonares fue de 81.17%, observándose 60.4% neumonías; 24.4% pleuroneumonías; y 15.5%, pleuritis; el 52.35% de los pulmones lesionados presento una extensión mayor al 10%. La frecuencia de las lesiones hepáticas fue de 62.34%, en donde las lesiones sugestivas a lipidosis se observaron con una frecuencia de 60.94% en donde el 72.97% fueron leves; las "manchas de leche" se observaron con una frecuencia de 39.06% en donde las mas comunes fueron clasificadas como leves con una frecuencia de 90.91%. Las lesiones gástricas fueron observadas en el 95.13% de los cerdos, con el 30.03% de estómagos ulcerados, el 84.64% con paraqueratosis y el 63.96% con erosiones. Las lesiones de la piel presentaron una frecuencia de 95.45% en donde las lesiones primarias fueron: pápulas eritematosas (99.3%), placas necróticas (39.8%), placas eritematosas (45.57%), pústulas (26.5%), abscesos (11.9%) y úlceras (32.6%) las secundarias fueron costras (15.65%), hiperqueratosis (3.4%) y cicatrices (24.8%).
Basándose en la discusión y los resultados de estudios previos en Yucatán, se concluye que la frecuencia, severidad, grado, tipo y extensión de las lesiones pulmonares, hepáticas, gástricas y de la piel continúan siendo un problema pertinente en un sector de la porcicultura regional,

Palabras claves: frecuencia, cerdos, lesiones pulmonares, hepáticas, gástricas, piel.

ABSTRACT

FREQUENCY OF PULMONARY, HEPATIC, GASTRIC AND SKIN LESIONS IN SLAUGHTERED PIGS IN AN ABATTOIR IN YUCATÁN, MEXICO.

Pig production in Mexico represents1.3% of the world production. Yucatan has the third place of the national production with 66,000 sows. The aims of this work were: determine the frequency, types and grade of pulmonary, hepatic, gastric and skin lesions in finished pigs. The study was carried on in the abattoir of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Yucatan during the period of September to December of 2005. Pulmonary lesions were classified in pneumonia, pleuropneumonia and pleurisy and the extension of the lesion was evaluated according with Morrison and cols.

The hepatic lesions were classified as "milk spots" and lesions suggestive to inflammation or infiltration. The severity was evaluated according with Straw and cols. Gastric lesions were classified according with Ayles, and the skin lesions were classified as primary and secondary.

A total of 308 lungs, livers, stomachs and skins were inspected. The frequency of pulmonary lesions was 81.17% (60.4% pneumonia, 24.2% pleuropneumonia and 15.5 pleurisy). A 52.35% of the lungs showed above 10% of extension of the lesion. The frequency of hepatic lesions was 62.34% (60.94% lipidosis being the 72.97% mild). The milk spots lesions appeared in 39.06% of the inspected livers and were classified as mild in 90.91% of the cases. Gastric lesions were observed in the 95.13% of the pigs (30.03% ulcers, 84.64% paraquerathosis, and 63.96% erosions). The skin lesions showed a frequency of 95.45% were the primary lesions were classified as papule erythema" (99.3%), necrotic plaques (39.8%), plaques erythema (45.57%), pustules (26.5%), abscess (11.9%) and ulcers (32.6%). The secondary lesions were scabs (15.65%), hyperquerathosis (3.4%) and scars (24.8%).

This study showed that the frequency, severity, grade, type and extension of the studied lesions still being a problem for the pig production in the region.

Key words: Frequency, pigs, lesions, pulmonary, hepatic, gastric, skin.

INTRODUCCIÓN.

La producción de carne de cerdo en México representa el 1.3% del total mundial, y el estado de Yucatán ocupa el tercer lugar productor con mas de 66, 000 vientres en la producción porcina nacional[1].

William[1] menciona que las enfermedades infecciosas son las que afectan en mayor proporción a las explotaciones pecuarias y a su vez son importantes clínica y económicamente en nuestro país.

Una forma de evaluar la frecuencia de los problemas de salud de una explotación porcina es la inspección sistemática de los cerdos finalizados al sacrificio, esto

nos permite detectar la presencia de enfermedades subclínicas y para monitorear la efectividad de las estrategias de control utilizadas en la explotación[2].
En los niveles mundial, nacional y local, se han realizado estudios de escrutinio en los rastros, sin embargo, en Yucatán no se utiliza de manera deseable esta opción de diagnóstico.
Los trabajos previos realizados en la región, tienen entre 9 y 12 años de antigüedad, por lo que se emite la siguiente hipótesis de trabajo: las lesiones en pulmones, estómago, hígado y piel de los cerdos finalizados presentan actualmente diferencias en sus frecuencias, extensión y en el tipo de lesión.
OBJETIVOS:
Identificar las frecuencias, los tipos y grados de las lesiones pulmonares, gástricas, hepáticas y de la piel en los cerdos sacrificados en el rastro de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán (FMVZ-UADY).

MATERIALES Y MÉTODOS.
El trabajo se realizó en las instalaciones del rastro de la FMVZ-UADY.
Se realizaron dos visitas semanales durante 4 meses (de Septiembre a Diciembre de 2005), para inspeccionar los órganos de interés en los animales sacrificados; aproximadamente se inspeccionaron 16 cerdos por semana.
Pulmones: Las lesiones se clasificaron en neumonía, pleuroneumonía y pleuritis.
La determinación de la severidad de las lesiones pulmonares; se utilizó el método recomendado por Morrison y col[3], quienes le asignaron a cada uno de los lóbulos del pulmón los siguientes porcentajes: craneal derecho 11.9%, intermedio derecho 7.5%, caudal derecho 30%, craneal izquierdo en su parte craneal 7.1%, craneal izquierdo en su parte caudal 6.9%, caudal izquierdo 31.6% y el accesorio 4.6%. Estos porcentajes fueron multiplicados por el porcentaje de lesión pulmonar estimado para cada lóbulo pulmonar y la suma de éstos representó la extensión total de la lesión.
Hígados; en los hígados se anotaban las características de los bordes, los cambios de coloración, la presencia de adherencias, exudados y reparación.
Para determinar la severidad de las lesiones hepáticas se utilizó la clasificación recomendada por Straw y col[2], en la cual los hígados son clasificados de acuerdo al numero de focos de reparación ("manchas de leche") observadas como: leve, moderada o severamente afectados si se encontraban de 1 a 2, de 3 a 15, o más de 15 "manchas de leche", respectivamente.
Estómagos; en la inspección se consideraron las características de la mucosa en relación con la presencia de exudado y los cambios vasculares que en forma macroscópica se manifiestan como el diferente grado y curso de la inflamación y reparación[4].
Los estómagos lesionados fueron clasificados según la metodología propuesta por Ayles y col[5] en donde se le asignaron grado 0, a los estómagos que presentaban la región esofágica normal, brillante, clara y resplandeciente; grado 1, en la región esofágica se aprecia paraqueratosis, así como engrosamiento de la mucosa gástrica; grado 2 en la región esofágica se observa erosión del epitelio y grado 3 se aprecian úlceras activas o cicatrizadas.

Piel; La inspección de la piel se realizó después del depilado de los animales una vez que las canales habían sido lavadas. Las lesiones se clasificaron en primarias (máculas, pápulas, placas, abscesos, etc.) y secundarias (cicatrices, costras, hiperqueratosis etc.)
La frecuencia de las lesiones para cada uno de los órganos inspeccionados se calculó con: número de órganos lesionados dividido entre el número de órganos inspeccionados y el resultado se multiplicó por 100

RESULTADOS.
Se revisaron un total de 308 cerdos finalizados.
Pulmón. . Se encontró una frecuencia de las lesiones pulmonares de 81.17% (250/308). La frecuencia de neumonías fue de 60.4% (151), de pleuroneumonías de 24.4% (61) y de pleuritis de 15.5% (38). La severidad se presenta en el cuadro 1.

Cuadro 1. Grado de extensión de las lesiones pulmonares, número y porcentaje de las neumonías y pleuroneumonías.

Extensión de la lesión pulmonar (%)	Número de neumonías	% de neumonía	No. de pleuro-neumonía	% de pleuro-Neumonía	No. total de pulmones	Total (%)
1-10	78	77.22%	23	22.77%	101	47.64%
11-20	47	67.14%	23	32.86%	70	33.01%
21-30	15	62.5%%	9	37.5%	24	11.32%
> 30	11	64.7%	6	35.29%	17	8.02%
Total	151	71.23%	61	28.77%	212	100%

Hígado. De los 308 hígados inspeccionados se encontraron el 62.34 % lesionados (192/308). De los cuales 117 (60.94%) presentaron lesiones compatibles con lipidosis y 75 (39.06%) con "manchas de leche".

Cuadro 2. Grado de severidad, número y porcentaje de las lesiones hepáticas.

Grado de severidad de las lesiones hepáticas	Número de hígados con "manchas de leche"	Porcentaje de "manchas de leche"
Leve	30	40%
Moderada	25	33.33%
Severa	20	26.66%
Total	75	100%

Estómagos. De los 308 estómagos inspeccionados se encontraron 293 (95.13 %) lesionados. Se observaron un total de 88 (30.03%) estómagos ulcerados, de los cuales 54 (61.36%) presentaron úlceras de la *pars esofágica*, 27 (30.68%) en el cuerpo, 5 (5.68%) de la *pars esofágica* y del cuerpo y 2 (2.73%) estómagos de la *pars esofágica* y del fondo.

Las paraqueratosis se encontraron en un total de 248 (84.64%) estómagos, la cual fue observada en la *pars esofágica*. Las erosiones, fueron observadas en un total de 197 (63.96%) estómagos, de los cuales, 9 (4.57%) presentaban erosiones en el cuerpo, 71 (36.04%) en la región pilórica y en el cuerpo, 79 (40.1%) en el cuerpo y fondo y 38 (19.29%) en la región pilórica, cuerpo y fondo.
Piel: De las 308 pieles inspeccionadas se encontraron 294 (95.45 %) lesionados.

Cuadro 3. Tipo de lesiones y número de pieles de los cerdos sacrificados en el rastro de la FMVZ-UADY-

Lesiones primarias	Número de pieles	Lesiones secundarios	Número de pieles
Pápulas eritematosas	292 (99.3%)	Costras	46 (15.65%)
Placas eritematosas	134 (45.57%)	Hiperqueratosis	10 (3.4%)
Pústulas	78 (26.5%)	Cicatrices	73 (24.8%)
Abscesos	35 (11.9%)		
Placas necróticas	117 (39.8%)		
Úlceras	96 (32.6%)		

DISCUSIÓN.
La frecuencia de lesiones pulmonares fue de 81.17% el rango reportado para las lesiones pulmonares a nivel mundial es amplio. Torres y Ramírez[6] en el rastro de la FMVZ-UADY; encontraron una frecuencia de lesiones pulmonares de 64.06% por debajo, de la frecuencia encontrada en este estudio. Asimismo, Torres y col[7] evaluaron la prevalencia de lesiones pulmonares en el rastro municipal de Mérida en donde encontraron una frecuencia de 82.76%. Sansor[8] encontró una frecuencia de lesiones pulmonares de 90.3%.en un estudio realizado en el rastro municipal de Mérida. Comparando los resultados obtenidos en este trabajo, y los resultados en estudios previos realizados en el estado de Yucatán, se puede inferir que las lesiones pulmonares son actualmente igual de frecuentes y variadas en donde pueden ser clasificadas desde leves a severas.
La lesión mas frecuente fue la neumonía con 60.4%.Torres y col[7] y Sansor[8] encontraron una frecuencia de lesiones neumónicas de 29.55% y 28% respectivamente. Estos autores reportan este tipo de lesión pulmonar con las prevalencias más altas, lo cual coincide con lo encontrado en este estudio.
La segunda lesión con mayor prevalencia fue la pleuroneumonía (24.4%). Torres y col[7] reporta un frecuencia de 19.1% y Sansor[8] una frecuencia de pleuroneumonía de 37.4%, ambos estudios realizados en el rastro municipal de Mérida por lo que se puede determinar que las pleuroneumonías son muy variables esto probablemente se debe, a que estas lesiones dependen de factores multifactoriales propios de cada granja. Entre los principales causantes de estas lesiones se pueden mencionar a *Pausterella multocida. Actinobacillus pleuropneumoniae*[9].
La pleuritis se encontró en el 15.5% esta patología se asocia con *Haemophilus parasuis, P. multocida*[9]. Torres y col.[7] y Sansor[8] observaron una prevalencia de pleuritis de 5.05% y 6.01% respectivamente. Varguez[10] reporta una prevalencia

de 18.6%. Por lo que se puede inferir que la prevalencia de pleuritis en nuestro medio es variada,

Con respecto a la extensión de las lesiones pulmonares se obtuvo el 47.64% de los pulmones tuvieron una extensión de la lesión pulmonar igual o menor al 10% y el 52.35 % de los pulmones mayor al 10%. La importancia de estimar la extensión del pulmón afectado es que esta tiene un efecto directo con la ganancia diaria de peso (GDP), Straw y col[11] estimaron que por cada 10% del pulmón lesionado, existe una depresión de 37.4 g en la GDP, una alta conversión alimenticia, baja de peso y aumenta el consumo de alimento.

Las lesiones hepáticas, su frecuencia fue de 62.34% de los cuales el 60.94% presentaron lesiones macroscópicas sugestivas a degeneración lipídica. Torres y Ramírez[12] en un estudio realizado en la FMVZ-UADY encontraron una prevalencia de 20.3% de estas lesiones, por lo que se observó un incremento en la prevalencia de estas lesiones en comparación con lo encontrado por estos autores en 1999. Entre las posibles causas de estas lesiones Osweiler[13] menciona que las aflatoxinas, anoxias, dietas con alto contenido de grasas entre otras. Las "manchas de leche" tienen una frecuencia de 39.06% en donde las mas comunes fueron clasificadas como leves con 90.91%, Torres y Ramírez[6] en un estudio realizado en Yucatán encontraron una frecuencia de "manchas de leche" de 16.11% en donde las mas frecuentes fueron las lesiones clasificadas como leves con 60.24%; por lo que se puede observar un incremento en la frecuencia de las lesiones observadas en comparación con lo reportado por estos autores. Los agentes que se asocian con esta lesión son principalmente migraciones larvarias de *Ascaris suum*[14].

Las lesiones de tipo gástrico, se obtuvo una frecuencia 95.13 %, lo cual contrasta con lo reportado por Torres y Ramírez[6] ya que en un estudio realizado en el rastro de la FMVZ-UADY encontraron una frecuencia de 4.98%, estos autores también mencionan que las ulceras estomacales principalmente fueron localizadas en la *pars esofágica* y en el fondo. %. Friendship[15] sugieren que el transporte, confinamiento con alta densidad, cambios en el medio ambiente, agentes infecciosos como el síndrome dermatitis nefropatía porcina y exposición de los cerdos a otros tipos de factores, son importantes en la patogénesis de las lesiones de la mucosa gástrica. El incremento en la observación de esta lesión en los cerdos finalizados, sugiere un incremento de los factores de riesgo en las granjas de la región.

Las lesiones en la piel fueron las de mayor frecuencia (95.45 %) en comparación con las otras lesiones evaluadas, es importante mencionar que este es el primer dato que se tiene en Yucatán. Las posibles causas de las lesiones observadas en la piel son: bacterianas como la epidermitis exudativa, erisipelosis, estreptococosis, virales como parvovirus porcina, síndrome dermatitis nefropatía porcina; nutricionales como deficiencia de ácido pantoténico, zinc, riboflavina, niacina y por parásitos como la sarna sarcóptica y demodéctica.[16]

Se concluye que los resultados obtenidos, reportan un incremento en el tipo, grado y extensión de las lesiones pulmonares, hepáticas, gástricas y de la piel de los cerdos. Por lo que se considera de importancia la realización de estudios epidemiológicos complementarios para determinar las asociaciones etiológicas con las elevadas prevalencias encontradas.

REFERENCIAS

1. William, J. Incidencias de casos clínicos del tracto respiratorio y efecto del uso de antibióticos y ganancia de peso en cerdos de engorda. Tesis de doctorado. Universidad de Colima, México.2002. Pp. 8-10.
2. Straw B, Backstrom L, Leman AD. Examination of Swine at slaughter Part I and II. The mechanics of slaughter examination and epidemiologic consideration. Comp Cont Educ;1986:8:541-547.
3- Morrison, R; Pijoan, C; Leman, A. Association between enzootic pneumonia and performance. Pig news and information. 1985:7(1). Pp. 23-31.
4.- Mateos A, Enríquez J. Patología del Sistema Digestivo. En: Sanchez San Martín R. Ed. Patología Sistémica Veterinaria. México: Ed. FMVZ-UNAM. 1990. P.p. 60-65.
5. Ayles, H.; Frienship, R. and Ball, R. Effect of dietary particle size on gastric ulcers, assessed by endoscopic examination and relationship ulcer severity and growth perfomance of individually fed pigs. Swine health and Production.1996b: 4:211-216.
6. Torres, M. y Ramírez, R. Frecuencias de lesiones pulmonares, hepáticas y gástricas en porcinos sacrificados en un rastro de Mérida, Yucatán, México. Revista Biomédica; 1996: 7 (3): P.p.153-158
7 Torres, M; Williams, J. y Gutiérrez, R. Serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y prevalencia de lesiones pulmonares en cerdos sacrificados en el rastro municipal de Mérida, Yucatán. Memorias del V congreso de la sociedad mexicana de patólogos veterinarios, A.C. Queratarо, Queretaro, del 4 al 8 de junio de 1996. Pp. 85-97
8. Sansor, N. Prevalencia, caracterización y extensión de las lesiones en pulmones de cerdos sacrificados en el rastro municipal de Mérida, Yucatán. Tesis de licenciatura. FMVZ-UADY. Mérida, México. 1998. Pp. 52-60
9. Thacker, E. Mycoplasma hyopneumoniae infections increase severity. Pig progres respiratory diseases. 1999: 3 (12). Pp. 8-10.
10. Varguez, P. Frecuencia, tipo y extensión de lesiones pulmonares en cerdos sacrificados en el rastro tipo inspección federal No 152, en Mérida, Yucatán. México. Tesis de licenciatura. FMVZ-UADY. Mérida, México. 1999. Pp. 28-29.
11. Straw, B; Burge, E; Hilley, H; Leman Pneumonia and atrofic rhinitis in form a test station. Journal American Veterinary Medical Association.1989: 182. Pp. 607-611
12. Torres, M. y Ramírez, R. Enfermedades de los porcinos diagnosticadas en la FMVZ-UADY durante los años 1988-1997. Revista Biomédica. 1999: 10:93-101.
13. Osweiler, G. Mycotoxins. In Disease of swine. 8th Edition. Edited by Leman, A.; Straw, B.; Mengelin, W.; D´Allaire; Taylor, D. Editorial Wolfe. Iowa State University Press. 1999. Pp. 731-739
14. Shuneman A. "Manchas de leche" (Milk spots) por metacéstodos de *Taenia solium* en hígados de cerdos. Vet Mex; 1994: 25:155-6. P.p. 22-29.
15. Friendship, R. Gastric Ulcers. In Disease of swine. 8th Edition. Edited by Leman, A.; Straw, B.; Mengelin, W.; D´Allaire; Taylor, D. Editorial Wolfe. Iowa State University Press. 1999. Pp. 685-690.

16. Cameron, R. Diseases of the Skin. In Disease of swine. 8th Edition. Edited by Leman, A.; Straw, B.; Mengelin, W.; D´Allaire; Taylor, D. Editorial Wolfe. Iowa State University Press. 1999. Pp 941-957

PRIMER REPORTE NACIONAL DE HIPOPLASIA PULMONAR PRIMARIA EN UN CACHORRO

Castro Maruri Jennie*[1], Zamora Espinosa José Luis[1], Valladares Carranza Benjamín[1], Fajardo Muñoz Raúl C.[1], León Lara Lemuel[1].
[1] Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Tel/Fax. (01 722) 296 55 55/ 296 55 48. e-mail: benvac2004@yahoo.com.mx

RESUMEN
Un perro de la raza Chihuahua de 1.5 meses de edad fue remitido para evaluación anatomopatológica. Por la apariencia macróscopica del pulmón y las características histopatológicas se le diagnosticó hipoplasia pulmonar bilateral primaria.

Palabras clave: hipoplasia pulmonar, canino.

FIRST NATIONAL REPORT OF PRIMARY PULMONARY HYPOPLASIA IN A PUPPY

Summary:
A Chihuahua 1.5-month-old puppy was presented at the laboratory for anatomopathological examination. Based on the gross appearance of lungs and its histologic features it was diagnosed with a primary bilateral pulmonary hypoplasia. No other congenital anomalies and none one conditions known to be associated with secondary pulmonary hypoplasia were present. Histologic findings were characterized by a lack of alveolar structures, bronchi and bronchioles not well differentiated, obliteration of the bronquiolar lumen with abundant mucus and incomplete developed of bronchi.

Key words: pulmonary hypoplasia, dog.

INTRODUCCIÓN
Las anomalías congénitas del pulmón son raras. Varias formas han sido documentadas, particularmente en terneros. La hipoplasia pulmonar es particularmente probable que acompañe a la hernia diafragmática congénita (1).

En el caso de los animales domésticos existe muy escasa información al respecto por lo que la mayoría de la literatura que se cita en el presente trabajo hace referencia a humanos.

La frecuencia de las malformaciones del aparato respiratorio se estima en 2% del total de autopsias de neonatos y niños (2). En autopsias, la hipoplasia pulmonar es una de las causas más importantes de muerte en recién nacidos e infantes (3). Las malformaciones pulmonares pueden agruparse de la siguiente manera: a) agenesia, aplasia e hipoplasia pulmonar b) anomalías de lobulación c) secuestro

pulmonar y pulmón accesorio d) quistes congénitos pulmonares e) enfisema congénito y f) malformaciones vasculares del pulmón. Los tres primeros grupos pueden considerarse malformaciones del esbozo pulmonar. Los quistes pulmonares congénitos son consecuencia de alteraciones de la diferenciación bronquial y bronquiolar. El grupo del enfisema congénito corresponde a alteraciones de la diferenciación alveolar. Las malformaciones vasculares pueden originarse tanto por defectos del esbozo como de la diferenciación broncoalveolar. Las malformaciones pulmonares producen en general trastornos funcionales, de grado variable y se complican con infecciones secundarias y sobrecarga del ventrículo derecho (2).

Se habla de hipoplasia pulmonar cuando el peso del pulmón es inferior al 40% del peso esperado para la edad gestacional, en ausencia de malformaciones mayores. Para estimarlo, en humanos se ha propuesto el índice pulmonar, que es el cociente entre el peso pulmonar y el peso corporal. En recién nacidos eutróficos, sin malformaciones, es de 0,026 (a las 28 semanas) a 0,021 (recién nacidos) con un límite bajo de 0, 016 en prematuros y de 0,013 en niños de término. En mortinatos un índice menor de 0,013 es indicador seguro de hipoplasia (2).

La hipoplasia pulmonar es un trastorno donde la morfología pulmonar está conservada, pero su tamaño es menor al normal por disminución del número y tamaño de vasos, alvéolos y vías respiratorias, el cual puede ocurrir en cualquier momento de la gestación. Se caracteriza por una disminución de un 25 a un 50% de unidades generadas de vías respiratorias y una disminución de hasta el 67% de alvéolos. Clínicamente se caracteriza por cianosis-taquipnea y un estado de acidosis.

Histológicamente, pueden encontrarse tanto alteraciones en la cantidad de bronquios y alvéolos como en el estado de maduración de los mismos. Así se reconocen dos grandes grupos: a) hipoplasia con bronquios y alvéolos bien conformados, pero con disminución del número, y, b) hipoplasia pulmonar con alteración cuantitativa y cualitativa de bronquios y alvéolos; en esta forma el pulmón presenta un aspecto similar al pulmón de 16 a 20 semanas de gestación humana (2). La hipoplasia pulmonar está caracterizada por un número disminuido de alvéolos y una disminución del espacio aéreo alveolar (3).

Aunque la hipoplasia pulmonar puede ocurrir como un evento primario, la mayoría de los casos son secundarios a otras anomalías congénitas o complicaciones de la gestación (4). La hipoplasia pulmonar primaria es rara, la secundaria es más frecuente y se caracteriza por presentar malformaciones congénitas concomitantes. Son causas de hipoplasia pulmonar secundaria: disminución del volumen de un hemotórax afectado por hernia o derrame, bradipnea fetal, trisomía 13, 18 y 21, disminución de la perfusión vascular pulmonar por tetralogía de Fallot, oligohidramnios por compresión uterina extrínseca con la consiguiente disminución de la tensión interna del líquido que mantiene al pulmón ampliado.

Las alteraciones del líquido amniótico como oligohidroamnios o anhidroamnios traducen una malformación urinaria severa. El oligohidroamnios o disminución del líquido amniótico (éste ocupa un área menor de 2 cm en la ultrasonografía) traduce una alteración en la función renal o una obstrucción vesical. En cambio la ausencia de líquido amniótico (anhidroamnios) indica una agenesia renal bilateral, una displasia renal bilateral o una obstrucción urinaria baja completa. El líquido amniótico produce una sustancia llamada surfactante indispensable para la madurez pulmonar fetal, por lo que en caso de déficit se produce irremediablemente una hipoplasia pulmonar, con una alta tasa de morbimortalidad en el recién nacido. Este cuadro se caracteriza por una mala distensibilidad del pulmón, con incapacidad para ventilar en forma adecuada a pesar de la aplicación de una presión mecánica intensa (5).

Existen fármacos asociados a la presentación de esta anomalía congénita como es el enalapril (sal Maleato de enalapril), fármaco indicado para el tratamiento de la hipertensión y todos los grados de insuficiencia cardiaca en humanos cuyo uso durante el embarazo no está recomendado y debe ser suspendido tan pronto como sea posible cuando el embarazo sea detectado, a menos que se considere indispensable para salvar la vida de la madre. Los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) pueden causar morbilidad y mortalidad fetal y neonatal, incluyendo hipotensión, insuficiencia renal, hiperpotasemia y/o hipoplasia craneal en el recién nacido. Oligohidramnios, que representa probablemente una disminución de la función renal del feto ha ocurrido y puede ocasionar contracturas de las extremidades inferiores, deformaciones craneofaciales y desarrollo hipoplásico pulmonar. Estos efectos adversos sobre el embrión y el feto no parecen ocurrir cuando la exposición intrauterina al IECA se limita al primer trimestre (6).

Mendelsohn y Hutchins (1977) describen un caso de hipoplasia pulmonar primaria severa, en el cual ninguna anomalía congénita y ninguna de las condiciones que se conocen estan asociadas con hipoplasia pulmonar estuvieron presentes. La gestación estuvo complicada con polihidramnios importante. La hipoplasia se asoció a una marcada deficiencia del parénquima respiratorio en presencia de vías aéreas superiores y bronquios normales. Prácticamente, ningún desarrollo parénquimal ocurrió y se encontraron pocos bronquiolos, conductos alveolares y alvéolos. Los cambios diferían de aquellos observados en hipoplasia pulmonar secundaria a hernia diafragmática congénita, agenesis renal bilateral, anomalías del tracto urinario, y malformaciones de la cavidad torácica, en los cuales la hipoplasia pulmonar parece ser compresiva en naturaleza. Mientras ni la etiología o patogénesis de la hipoplasia pulmonar estén claros en este caso, los autores sugieren que la presencia de polihidramnios importante durante la preñez sugiere la posibilidad de que los pulmones en desarrollo puedan ofrecer una superficie importante para la reabsorción y reciclaje de los constituyentes del fluido amniótico (7).

En el caso de hipoplasia pulmonar en animales domésticos podemos citar un caso experimental de fetos porcinos provocado por inoculación del virus de la influenza porcina los cuales fueron examinados a los 3, 7, 13, 28 y 58 días postinoculación, encontrando a los 28 días que los pulmones de fetos inoculados eran la mitad del tamaño de los pulmones normales del grupo control (8).

Otro caso descrito en animales se trata de un trabajo experimental en ovinos en el cual el objetivo fue caracterizar el estado vascular pulmonar y miocardial del feto con hipoplasia pulmonar debido a que la hipoplasia pulmonar neonatal resultante de hernia diafragmática congénita produce cambios hemodinámicos y anormalidades morfológicas de la vasculatura pulmonar. En este trabajo se estudiaron cuatro fetos ovinos próximos a término con hipoplasia pulmonar inducida por producción de hernia diafragmática, en el que reportan como hallazgos una elevación en la presión arterial pulmonar, una elevación en la presión arterial sistémica y una elevación en la resistencia vascular pulmonar. En el que además concluyen que aunque el flujo sanguíneo pulmonar total fue disminuido, la reducción en el flujo sanguíneo fue proporcional a la reducción en masa pulmonar (9).

De forma general los reportes en animales domésticos son predominantemente experimentales en los que se trata de profundizar en los efectos funcionales de la hipoplasia pulmonar en la circulación pulmonar y sus efectos sobre el corazón partiendo de la premisa de que este trastorno es una causa seria de compromiso neonatal (10).

HISTORIA

Fue remitido para examen anatomopatológico un cadáver canino de 1.5 meses de edad de la raza Chihuahua con historia clínica de diarrea con sangre. El animal había sido desparasitado y vacunado contra moquillo, hepatitis, enfermedad respiratoria por adenovirus tipo 2, parainfluenza y parvovirus canino.

HALLAZGOS MACRO Y MICROSCÓPICOS

Al estudio anatomopatológico se encontró palidez de epicardio, corazón de aspecto redondeado con hipertrofia concéntrica izquierda y dilatación ventricular derecha y pulmones de tamaño inferior a lo normal. No se encontraron otras alteraciones.

El estudio histopatológico de pulmón reveló en bazo depleción linfoide severa y necrosis linfoide de los centros germinativos, en intestino necrosis de las criptas de Lieberkhün y en pulmón se observó congestión severa, falta de estructuras alveolares, algunas estructuras dando la apariencia de alvéolos en formación con células grandes sugerentes de neumocitos tipo II, presencia de abundante cantidad de moco en la luz bronquiolar, bronquiolos obliterados con epitelio tortuoso carente de cepillo, alvéolos con una apariencia más cercana a lo normal con una dilatación severa posiblemente como parte de un mecanismo compensatorio, bronquios y bronquiolos con alteración en el estado de maduración.

CRITERIO DIAGNÓSTICO

En casos límite tanto el peso absoluto del pulmón como el aspecto histológico son útiles para formular el diagnóstico definitivo (2).

En este caso el diagnóstico integral fue por orden de importancia:

1. Hipoplasia pulmonar bilateral primaria con alteración cuantitativa y cualitativa de bronquios y alvéolos (ver fundamento en DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES).
2. Parvovirosis canina (basado en la historia clínica y lesiones histopatológicas en intestino).

En donde la muerte del cachorro se atribuye a una insuficiencia cardiaca y respiratoria como consecuencia de la hipoplasia pulmonar primaria.

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

La hipoplasia pulmonar primaria es muy rara. Generalmente es de tipo secundario y se asocia a otras malformaciones como defectos del diafragma, malformaciones renales y disrrafias. Se presenta como consecuencia de los siguientes mecanismos:

1. Disminución del espacio para el desarrollo del órgano, como sucede característicamente en defectos diafragmáticos con prolapso de vísceras abdominales. También en cardiomegalia, defectos de la caja torácica, hidrotórax, ascitis y quistes intratorácicos. Hay casos con hipoplasia bilateral, de tal manera que el factor mecánico no es tan decisivo.
2. Hipoplasia sincrónica con malformaciones orgánicas graves, como anencefalia y raquisquisis y disrrafias ventrales. En estos casos hay alteración de la maduración pulmonar.
3. Hipoplasia con oligohidroamnios con o sin malformaciones renales. La relación de estas condiciones no está aclarada. Se ha descrito un defecto en la producción de prolina por el riñón fetal.
4. Hipoplasia con aplasia de la arteria pulmonar o estenosis bronquial congénita. En estos casos se afecta un lóbulo o segmento aislados (2).

En este caso describimos y concluimos estar hablando de una hipoplasia pulmonar de tipo primario debido a que no encontramos ninguna otra malformación, así como ninguna de las condiciones asociadas con hipoplasia pulmonar secundaria ya anteriormente descritas a detalle.

Por otra parte, se reconocen dos grandes grupos de hipoplasia: a)hipoplasia con bronquios y alvéolos bien conformados, pero con disminución del número, y b) hipoplasia pulmonar con alteración cuantitativa y cualitativa de bronquios y alvéolos (2).

Para lo cual basados en las características histopatológicas caracterizamos el caso aquí presentado dentro del grupo b.

CONTRIBUCIÓN E IMPORTANCIA MÉDICA O SANITARIA DEL CASO

La hipoplasia pulmonar constituye una malformación congénita particularmente rara en los animales domésticos y más específicamente la hipoplasia pulmonar primaria y en la especia canina. La información al respecto es sumamente escasa y en el particular caso de los animales domésticos la literatura existente es predominantemente sobre casos experimentales, por lo cual, estamos hablando del primer reporte en México de hipoplasia pulmonar primaria en un cachorro. Además, a nivel internacional sólo encontramos un solo caso de hipoplasia pulmonar natural referido en dos caninos en Venezuela pero el cual no se ha reportado a nivel internacional.

RECOMENDACIONES

Sugerimos que en caso de hallazgo de hipoplasia pulmonar al estudio anatomopatológico deba realizarse el pesaje tanto del pulmón como del animal para poder generar una base de datos que permita establecer referencias que, como en medicina humana, nos permitan establecer un índice pulmonar diagnóstico en patología veterinaria, además de establecer si se trata de una hipoplasia pulmonar primaria o secundaria basado en los criterios que describimos en el apartado de diagnósticos diferenciales.

REFERENCIAS

1. Dungworth DL. The Respiratory System. In: Jubb KVF, Keneddy PC, Palmer N, editors. Pathology of the Domestic Animals. USA: Academic Press, 1991:577.
2. Publicaciones [en línea]. Santiago-Chile: Pontificia Universidad Católica de Chile, Escuela de Medicina, 1996 - [citado (16 marzo 2006)]. Disponible en: <http://escuela.med.puc.cl/publ/AnatomiaPatologica/02Respiratorio/2malf_pulmon.html>.
3. Kurkcuoglu IC, Eroglu A, Karaoglanoglu N, Polat P. Pulmonary hypoplasia in a 52-year-old woman. Ann Thorac Surg 2005; 79:689-691.
4. Lauria MR, Gonik B, Romero R. Pulmonary hypoplasia: pathogenesis, diagnosis, and antenatal prediction. Obstetrics & Gynecology 1995; 86:466-475.
5. Baquedano DP. Detección de malformaciones del tracto urinario por ultrasonografía obstétrica. Manejo pre y postnatal. Boletín Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile.1998; 27:131-126.
6. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. México: Thomson PLM, 2004.
7. Mendelsohn G, Hutchins GM. Primary pulmonary hypoplasia: report of a case with polyhydramnios. Am J Dis Child 1977; 131:1220-1223.
8. Brown TT, Mengeling WL, Paul PS, Pirtle EC. Porcine fetuses with pulmonary hypoplasia resulting from experimental swine influenza virus infection. Vet Pathol 1980; 17: 455-468.
9. Hill AC, Adzick NS, Stevens MB, Mori H, Husseini W, Heymann MA. Fetal lamb pulmonary hypoplasia: pulmonary vascular and myocardial abnormalities. The Annals of Thoracic Surgery 1994; 57:946-951.

10. Suzuki K, Hooper SB, Cock ML, Harding R. Effect of lung hypoplasia on birth-related changes in the pulmonary circulation in sheep. Pediatric Research 2005; 57:530-536.

REPORTE DE UN CASO DE RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA ASOCIADA A VIRUS SINCITIAL RESPIRATORIO

Zamora Espinosa José Luis*[1], Castro Maruri Jennie[1], Valladares Carranza Benjamín[1], Fajardo Muñoz Raúl C.[1], León Lara Lemuel[1].
[1] Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Tel/Fax. (01 722) 296 55 55/ 296 55 48. e-mail: benvac2004@yahoo.com.mx

RESUMEN
Se presenta un caso de un bovino seropositivo a rinotraqueítis infecciosa bovina y virus sincitial respiratorio con antecedentes de sintomatología respiratoria, adelgazamiento progresivo y postración. De forma concomitante se aisló al estudio bacteriológico *Arcanobacterium pyogenes* a partir de pulmón asociado a la neumonía supurativa y abscedativa diagnosticada al estudio histopatológico además de identificar una neumonía granulomatosa multifocal. La importancia de este caso radica en que el caso fue seropositivo a virus sincitial respiratorio pese a que no se encontraron lesiones histopatológicas asociadas al mismo además del impacto sanitario y económico.

Palabras clave: RIB (IBR), VSRB (BRSV), *Arcanobacterium pyogenes*.

CASE REPORT OF INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS ASSOCIATED WITH BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS.

Summary:
Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR) and Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) disease was diagnosed sera tested in a 8-month-old male Holstein calf that was presented with a history of respiratory distress. As well, detection of *Arcanobacterium pyogenes* from lung was made by bacteriology which is correlated with histologic findings of suppurative pneumonia with abscessation. Histologic examination also revealed a granulomatous pneumonia. The importance of this case is that the calf was BRSV seropositive although the absence of compatible histologic lesions characteristic of it, apart from the prominent economic losses for the cattle industry and the animal health hazard for the whole herd.

Key words: IBR, BRSV, *Arcanobacterium pyogenes*.

INTRODUCCIÓN

El impacto de las neumonías en los animales domésticos es de suma importancia, ya que afecta directamente al proceso productivo de las explotaciones comerciales incidiendo de manera importante en la economía del productor, así como del país. Estudios realizados en México destacan la importancia de las neumonías en becerros, ya que clínicamente la incidencia y prevalencia alcanzan un 24% (1). La Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (RIB) es una enfermedad causada por el Herpesvirus Bovino 1 (VHB-1), el cual se encuentra ampliamente

distribuido en el mundo y es uno de los agentes más importantes que afectan el tracto respiratorio y reproductivo del ganado bovino y es considerado uno de los principales componentes del complejo respiratorio bovino presente en centros de engorde y en terneros de establos lecheros (2).

El Virus Sincitial Respiratorio Bovino (VSRB) pertenece al género *Pneumovirus* de los paramixovirus. Las cepas virulentas del virus son algunos de los agentes sinérgicos involucrados en la enfermedad respiratoria bovina, pero también son capaces de producir brotes de enfermedad respiratoria y decesos ocasionales de forma independiente, más frecuentemente en animales menores de 1 año y los brotes ocurren normalmente en otoño o principios de invierno (3).

El VSRB inicia su replicación en las células epiteliales del tracto respiratorio superior, produciendo alteraciones morfológicas y funcionales en el aparato muco-ciliar, (denudación ciliar), luego invade el tracto respiratorio inferior afectando a las células del epitelio alveolar y bronquiolar, y principalmente al macrófago alveolar, importante en el procesamiento de antígenos y su posterior presentación, alterando de esta manera los mecanismos de defensa específicos e inespecíficos del pulmón. De esta manera son agentes primarios que condicionan la aparición de agentes oportunistas secundarios desencadenantes de los cuadros fatales de la enfermedad (4). Dungworth, 1991 por su parte comenta que el virus se replica en células epiteliales ciliadas y no ciliadas en los bronquiolos y en las células epiteliales alveolares tipo I y II, ocurriendo una replicación viral limitada en los macrófagos (3).

HISTORIA CLINICA

Se recibió en el mes de diciembre un bovino macho de la raza Holstein F1 de 8 meses de edad del municipio de Almoloya de Juárez, Estado de México, adquirido en el Puente de San Bernabé del Estado de Aguascalientes para estudio anatomopatológico. El remitente refiere una población total de 35 animales de los cuales 13 han enfermado (morbilidad 37%) y 9 han muerto (mortalidad 25.7%). Los síntomas observados según el reporte, fueron: disnea, fiebre, adelgazamiento progresivo, secreción nasal abundante, postración y muerte por deshidratación. La alimentación es a base de avena, maíz, gallinaza, minerales y agua potable. Los animales tenían el siguiente esquema de vacunación: Vacuna contra la rinotraqueítis infecciosa, diarrea viral bovina, virus sincitial respiratorio y virus de la parainfluenza 3, pero no refieren fechas ni frecuencia de las mismas. Los animales fueron tratados con un quimioterapéutico bactericida de amplio espectro y acción prolongada, enrofloxacina en presentación inyectable y un antiinflamatorio y analgésico no hormonal, sin respuesta favorable al tratamiento.

HALLAZGOS MACRO Y MICROSCÓPICOS

A la inspección externa el animal presentó caquexia y opacidad corneal. A la inspección interna se observaron los nódulos linfáticos aumentados de tamaño y edematosos, degeneración mucoide de grasa coronaria, dilatación del ventrículo derecho, presencia de erosiones y ulceraciones en la superficie de la lengua y rumen, hemorragias en intestino delgado y abomaso. En aparato respiratorio una

bronconeumonía craneoventral de color rojo-gris de una extensión del 40% aproximadamente que a la palpación presentó una consistencia carnosa. Los lóbulos caudales presentaron una hiperinflación moderada. También se encontró abundante cantidad de nódulos en tejido pulmonar con presencia de material de aspecto caseoso al corte y lóbulos caudales con enfisema severo.

Al estudio histopatológico los hallazgos fueron los siguientes: en intestino, atrofia y fusión de vellosidades y linfangiectasia; en bazo, hemosiderosis, depleción linfoide y presencia de neutrófilos; en cerebro meningitis no supurativa severa, vasculitis, gliosis multifocal y cuffing; en corazón, congestión generalizada y miocarditis linfocitaria; en hígado, presencia de nódulo paratifoideo y en pulmón, neumonía supurativa, presencia de abscesos y granulomas con distribución multifocal y broncogénicos.

PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

Se solicitó estudio bacteriológico de pulmón, del cual se aisló *Arcanobacterium pyogenes* mostrando sensibilidad a: cefalotina, eritromicina, gentamicina y tetraciclina y resistencia a: cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, dicloxacil, pefloxacina y penicilina.

Se realizó estudio hematológico del cual en fórmula roja se encontraron los valores en rangos normales y en fórmula blanca leucocitosis y linfocitosis, así como un estado de deshidratación del animal.

Se solicitó estudio de sueroneutralización para detección de anticuerpos contra rinotraqueítis infecciosa bovina y prueba de ELISA para detección de anticuerpos contra el virus sincitial respiratorio bovino, reportando antecedentes de vacunación del animal, al Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal (CENASA), quienes emitieron como resultado ambas pruebas positivas, reportando en el caso de RIB un título 1:8.

CRITERIO DIAGNÓSTICO

El diagnóstico emitido se basa en el caso de RIB y VSRB en el resultado de los estudios serológicos, pese a que no se encontraron las lesiones características de la infección por virus sincitial respiratorio bovino como son la formación frecuente de células gigantes sincitiales formadas por la proliferación de células epiteliales bronquiolares no ciliadas, algunas de las cuales pueden contener cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos acidofílicos, esto como una característica especial de la respuesta bronquiolar. Cuando los alvéolos están directamente involucrados, la proliferación epitelial alveolar con tendencia a formar grandes células gigantes sincitiales es tan prominente como en los bronquiolos, y aquí también son ocasionalmente vistos los cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos acidofílicos. Por su parte pese a que en RIB llegan a observarse cuerpos de inclusión virales intranucleares acidofílicos en células infectadas, mejor demostrables después del uso de fijadores ácidos, estos son mayormente vistos en situaciones experimentales y son de poco valor práctico diagnóstico debido a que aparecen sólo en un período transitorio de 2 a 3 días después de la infección.

Por ello son rara vez detectados en muestras de necropsias a partir de casos de campo, aunque ocasionalmente llegan a persistir lo suficiente como para ser encontrados en el epitelio alveolar o bronquial. En este caso las lesiones muy posiblemente no fueron encontradas asociadas a la cronicidad del caso.

En la evidencia clínica y virológica, la RIB está ampliamente distribuida en el mundo, y en la evidencia serológica, la infección está más extendida que la enfermedad. La enfermedad ocurre principalmente donde hay sobrepoblación de ganado y la mayoría de los brotes ocurren entre animales de engorde mantenidos en estabulación. La enfermedad en ganado lechero es generalmente más ligera. La morbilidad es alta, pero muchos casos son poco severos y no detectados. El rango de mortalidad es normalmente bajo, pero puede exceder el 30% en brotes excepcionales (3).

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Diarrea viral bovina y Fiebre Catarral Maligna, en las cuales hay lesiones erosivas en la cavidad oral (5).

Mannheimiosis. Por sintomatología clínica. Sin embargo, causa una neumonía fibrinosa o fibrinonecrótica. La neumonía tiene un patrón bronconeumónico o, en su forma más fulminante, un patrón lobular. La frecuencia de ocurrencia de esta forma de la enfermedad en el período temprano posterior a la transportación (embarque) y confinamiento del ganado de engorda ha conducido al extendido uso del término fiebre de embarque (3).

Rinitis alérgica. Aunque generalmente es estacional, los animales afectados presentan lagrimeo, descarga nasal, acompañados de estornudos y evidencia de picazón nasal. La mucosa nasal se observa pálida y engrosada por fluido edematoso, y las erosiones mucosas son visibles en las narinas anteriores. El exudado es seroso en un principio pero más tarde se torna mucopurulento o puede contener acúmulos de detritus y mucosidad (3).

CONTRIBUCIÓN E IMPORTANCIA MÉDICA O SANITARIA DEL CASO

La importancia médica del caso radica en que por la historia clínica, lesiones macro y microscópicas el caso se orientó más hacia un problema respiratorio de tipo bacteriano, sin embargo la serología dio la pauta para el diagnóstico de infección por virus sincitial respiratorio bovino del cual no se encontraron las lesiones histopatológicas típicas y solo macroscópicamente se observó el enfisema en lóbulos caudales descrito en la literatura. La serología también permitió confirmar el diagnóstico de RIB, del cual se sospechaba por las lesiones macroscópicas principalmente. Esto es importante para resaltar la necesidad e importancia en el uso de pruebas diagnósticas adicionales o complementarias a las de rutina.

Desde el punto de vista sanitario es importante considerar que el presente caso constituye una amenaza para el estado de salud del resto de hato, así como incluso para el personal que los maneja, además de la merma económica tanto por tratamiento como por los decesos con la consiguiente disminución de la

población bovina y el impacto de este tipo de interacción de agentes bacterianos-virales sobre los inventarios de la ganadería estatal.

REFERENCIAS

1. Trigo TFJ, González RC. Avances sobre la patogenia de la neumonía bovina producida por *Mannhemia (Pasteurella) haemolytica*. Memorias del XXVI Congreso Nacional de Buiatría, 2002; Acapulco, Guerrero. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, 2002.

2. Zacarías REA. Seroprevalencia del virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de Parinacochas, Ayacucho (tesis de licenciatura). Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA), 2002.

3. Dungworth DL. The Respiratory System. In: Jubb, KVF, Keneddy, PC, Palmer, N, editors. Pathology of the Domestic Animals. USA: Academic Press, 1991:556-559, 615-617, 633.

4. Bagnis g. Infecciones virales respiratorias producidas por el virus sincicial respiratorio bovino (brsv) y el virus parainfluenza 3 bovino (bpi3). Memorias de jornadas sobre enfermedades emergentes del bovino, 2000 junio; río cuarto, argentina. Río cuarto (argentina): facultad de agronomía y veterinaria. Universidad nacional de río cuarto, 2000.

5. Callis JJ, Dardiri AH, Ferris DH, Gay GJ, Wilder FW, Mason J. Manual ilustrado para el reconocimiento y diagnóstico de ciertas enfermedades de los animales. Comisión México-Americana para la Prevención de la Fiebre Aftosa, 1982.

REPORTE DE UN CASO CLINICOPATOLÓGICO DE LA ENFERMEDAD DE LAS MUCOSAS

Fajardo Muñoz Raúl C.; Díaz González, Borges. Ada E.; Gallego Alarcón Iban.[2]; Atalo Martínez Lara[3], Jose Luis Zamora Espinoza, Valladares Carranza Benjamín, Castro Maruri Jenny.

Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-UAEM. [2] Centro de Investigación en Recursos Bióticos. Facultad de Ciencias-UAEM. Carretera Panamericana. KM15.5 CP 50200. INIFAP, Laboratorio de Virología.

RESUMEN

La enfermedad de las mucosas es una enfermedad infecciosa causada por un Pestivirus de la familia Flaviviridae.). El virus presenta dos biotipos o fenotipos diferentes: el biotipo citopático (CP) que en animales inmunocompetentes produce la DVB y el biotipo no citopático (NCP) infecta al feto originado animales inmunotolerantes que pueden desarrollar la enfermedad de las mucosas (EM) si estos animales son nuevamente infectados por el virus de la DVB. Aquí se presenta un caso de un bovino hembra, de raza criolla, con un año de edad, y un peso aproximado de 150 Kg, proveniente de la unidad pecuaria ubicada en San Antonio Bonoxi, Ixtlahuaca, Estado de México, y se describen los hallazgos a la necropsia, histopatológicos y resultados emitidos por CPA.

Palabras clave: DVB, Enfermedad de las mucosas, bovino, virus citopático, virus no citopático

REPORT OF A CLINICAL PATHOLOGICAL CASE OF MUCOSAL DISEASE

ABSTRACT

The mucosal disease is an infectious disease caused by Pestivirus of the Flaviviridae family), the virus displays two different biotypes or phenotypes: biotypes cytopathic (CP) that in immunocompetents animals produce the BVD and noncytopathic biotype (NCP) infects to the fetus, originating immunotolerants animals that they can develop the mucosal disease (MD), if these animals are reinfected by other noncytopathic or cytopathic BVD virus. Here, we present a one old year creole heifer with an approximated weight of 150kg, from the cattle unit in San Antonio Bonoxi, Ixtlahuaca in the State of Mexico, and we describe the necropsy findings, histopathology and some results emitted by CPA-Mexico.

Keywords: BVD, Mucosal disease, heifer, cytopathic virus, non cytopathic virus

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de las Mucosas (EM) es una enfermedad infecto contagiosa que afecta a bovinos, es causada por virus RNA del género de los P*estivirus,* familia Flaviviridae 1, el virus presenta dos biotipos o fenotipos diferentes: el biotipo citopático (CP)que en animales inmunocompetentes produce la DVB y el

biotipo no citopático (NCP) infecta al feto originado animales inmunotolerantes que pueden desarrollar la Enfermedad de las Mucosas (EM), y si estos animales son nuevamente 0infectados por el virus de la DVB citopático desarrollan Enfermedad de las Mucosas 2. Los animales que desarrollan EM presentan diarrea profusa, pérdida rápida de la condición corporal, erosiones a nivel del tracto gastrointestinal, y muerte 3,4, 5. Los animales persistentemente infectados (PI) que fueron infectados en el útero por virus de DVB no citopático y que nacieron con una infección persistente, son animales que no responden inmunitariamente frente al virus, son seronegativos o débilmente positivos 6.La DVB-EM está ampliamente distribuida a nivel mundial. En Europa y América del Norte, entre el 36% y el 88% de los bovinos presentan anticuerpos en contra del virus DVB 7. Los animales PI tienen gran importancia epidemiológica pues son los principales reservorios y diseminadores del virus en el hato ya que estos animales eliminan el virus en sus secreciones (saliva, lagrima, heces, leche, semen) durante toda su vida 8, 7, 9, 10.

Otra forma de transmisión indirecta es a través de agujas e instrumentos contaminados, moscas hematófagas, calzados, ropas, etc, así como a través de la vía genital con semen infectado 11, 12.

En México la ganadería bovina y la industria de la carne representa una de las principales actividades del sector agropecuario del país y es tal vez la actividad productiva más diseminada en el medio rural. Hay más de un millón y medio de unidades de producción y ranchos ganaderos diseminados a lo largo y ancho de todas las regiones del país. La ganadería utiliza cerca del 53.7% de los 200 millones de hectáreas de tierra que hay en México y contribuye con aproximadamente 40% del PIB del sector. En México no se conocen datos epidemiológicos así como el impacto económico de esta enfermedad, debido principalmente a pérdidas de tipo reproductivo que se caracteriza por abortos, defectos congénitos, mortalidad neonatal y problemas de fertilidad, entre otros 13,

Es por ello que este trabajo describe las características clinicopatólogicas de un caso de Enfermedad de las Mucosas (EM).

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Este caso se presentó, en un bovino, de raza criolla, con una edad de 1 año, hembra y peso aproximado de 150 Kg. La unidad pecuaria, se encuentra ubicada en San Antonio Bonoxi, Ixtlahuaca Estado de México. Está integrada por 10 animales de diferentes edades.

HALLAZGOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Se observó la condición general del animal con deshidratación y marcada emaciación, mal estado de carnes, en orificios corporales secreción nasal mucosa a mucopurulenta, secreción ocular mucosa, en piel y capa con presencia de rastros de diarrea. Las lesiones macroscópicas observadas al estudio anatomopatológico fueron, rinitis muco purulenta severa, congestión de mucosa laríngea, presencia de exudado purulento a fibrinoso escaso en laringe y traquea, en bronquios adherencias fibrinosas escasas, colapso pulmonar, algunos lobulillos con zonas pequeñas de consolidación marcada en lóbulos craneales (1%) del total del pulmón. En corazón externamente sin cambios patológicos

aparentes, internamente endocarditis caracterizada por válvulas semilunares engrosadas y edematosas. En cavidad abdominal presencia de líquido escaso, ganglios mesentéricos aumentados de tamaño (linfadenopatia). En cavidad bucal y esófago sin cambios patológicos aparentes. Abomaso úlceras múltiples en la mucosa (abomasitis ulcerativa). En intestino delgado contenido intestinal muco hemorrágico, congestión y depresión de las placas de Peyer, necrosis de válvula ileocecal con membrana de fibrina. Se colectaron muestras para estudios, histopatológico, bacteriológico y para diagnostico diferencial con Fiebre Catarla Maligna.

microscópicas observadas al estudio histopatológico fueron: en aparato respiratorio rinitis severa no supurativa caracterizada por infiltración mononuclear, traqueitis no supurativa, caracterizada por infiltración subepitelial mononuclear difusa de macrófagos y linfocitos, neumonía broncointersticial caracterizada por cúmulos linfoides peribronquiolares, colapso alveolar, congestión, arteritis con infiltración mononuclear de linfocitos y algunos neutrófilos

En intestino delgado se observó una enteritis necrótica caracterizada por necrosis del epitelio con presencia de una cubierta de fibrina, infiltración mononuclear en lamina propia, deplesión linfoide de las placas de Peyer (ver figura 4), destrucción y necrosis del epitelio de las criptas de Lieberkün, hepatitis no supurativa caracterizada por una infiltración mononuclear perivascular, multifocal diseminada con destrucción de hepatocitos y una vasculitis mononuclear severa. En aparato urinario presencia de infiltración mononuclear perivascular intersticial multifocal. Infiltración perivascular moderada de la vaina del nervio óptico, inflamación severa de la esclerótica de tipo mononuclear, coagulo de fibrina en el iris y una uveitis no supurativa severa.

HALLAZGOS BACTERIOLÓGICOS

El resultado del estudio bacteriológico fue aislamiento negativo a *Salmonella spp* a las 24, 48 y 72 horas de incubación a partir de pulmón, riñón e intestino.

Aislamiento positivo a *E. coli* no hemolítico (++) a las 24 horas a partir de intestino y riñón.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Se enviaron a la Comisión México-Estados Unidos para la Prevención de La Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA), muestra de sangre y órganos para descartar Fiebre Catarral Maligna. El resultado de la prueba Inoculación en cultivo celular: Fue negativo a aislamiento del virus de Fiebre Catarla Maligna. (No de Caso: CPA -1131-05).

CONCLUSIONES

La historia clínica, las lesiones anatomopatológicas e histopatológicas corresponden a la Enfermedad de las Mucosas.

RECOMENDACIONES

En todos los casos con sintomatología y lesiones anatomopatológicas similares, se revisen las placas de Peyer o que los casos sean remitidos a un

laboratorio de diagnóstico para confirmar la enfermedad y realizar siempre el diagnóstico diferencial con Fiebre Catarral Maligna.
La realización de la prueba de ELISA, es una herramienta importante para el diagnóstico, así como para estudios epidemiológicos que permitan identificar en los hatos la presencia de animales seropositivos e inmunotolerantes a la EM, debido a su elevada sensibilidad, y especificidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wengler *et al*., 1995
2. Ridpath *et al.,* 1994
3. Tautz, 1994
4. Ridpath, J.F.; S.R. Bolin and E.J. Dubovi. 1994. Segregation bovine viral diarrhea virus into genotypes. Virol. 205:66-74.
5. Fritzemeier, J.; L. Haas; E. Liebler; V. Moennig y I. Greiser-Wilke. 1997. The development of early vs. Late onset mucosal disease is a consequence of two different pathogenic mechanisms. Arch virol. 142: 1335-1350.
6. Bezek, D.M. 1995. Bovine virus diarrhea virus infection: individual and herd diagnosis. Compendium on Continuing Education. 17(8):57-64
7. Houe, H. 1995. Epidemiology of bovine viral diarrhea virus. Vet Clin of North Am. Food Animal Prectice. 11(3):521-547.
8. Taylor, L.F.; E.D. Jansen; J.A. Ellis; J.V. Van den Hurk and P. Ward. 1997. Perfomance, survival, necropsy and virological findings from valves persistently infected with BVDV originating from a single Saskatchewan beef herd. Can Vet J. 38:29-37.
9. Villa, A. y Gracia, E.: Diarrea viral bovina. Localización de animales persistentemente infectados. II Simp. de Avedila. Córdoba, 11-12, dic-1997.
10. Gracia, E., 1997 Tarry, D. W., Bernal, L. y Edwards, S. Transmisión del virus de la diarrea vírica bovina por moscas hematófagas. Vet. Rec., 128, 82-84, 1991 Álvarez • Álvarez, M. Epidemiología de la BVD en España. Pautas de prevención y control. 2ª Jornadas de Medicina Bovina. Salamanca, 24-25 Mayo, 1997.
13. Blood, D.C.O. M. Radostitis. 1992. Medicina Veterinaria. Enfermedades causadas por virus y clamidias. Vol. II, 7ª Ed. Nueva Editorial Interamericana, México.

CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE LA PLACA DE CRECIMIENTO DE LOS HUESOS LARGOS EN EL BASSET HOUND

Simón Martínez Castañeda[1], Raúl Fajardo Muñoz[1] y Rogelio Alonso Morales[2]

1.- Centro de investigaciones y de estudios avanzados en salud animal CIESA, de la facultad de medicina veterinaria y zootecnia, Universidad autónoma del estado de México.
2.- Departamento de genética, Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Universidad autónoma de México

RESUMEN
Las características del esqueleto del Basset hound son similares a las que se presentan en distintas osteocondrodisplasias en humanos, actualmente no se sabe el tipo de ostoecondrodisplasia que caracteriza a los perros de esta raza, por eso el objetivo de este trabajo fue Caracterizar histopatologicamente la placa de crecimiento de los huesos largos del Bassethound
Para esto, utilizamos 4 perros (un Doberman,y tres Bassethound). A los perros se les tomaron radiografías de los huesos que conforman al esqueleto, con proyecciones Antero-posterior y lateral. Para la histología se tomaron biopsia de las placas de crecimiento de cachorros de 2 meses, de ambas razas, las cuales fueron fijadas en paraformaldehído al 1% y descalcificadas en ácido tricloracetico al 10%, posterior a la inclusión en parafina cortes histológicos de 5 micras de placas de crecimiento del fémur y húmero fueron procesados para tinción H&E y observados en microscopio de luz.
Resultados.- El estudio radiológico mostró que las extremidades de los Basset hound se caracterizan por estar severamente acortados, con aumento en la densidad y ensanchamiento de las metáfisis. La característica más sobresaliente de las placas de crecimiento de los huesos largos de estos perros es alteración en la proliferación de los condrocitos y la ausencia de cartílago hipertrófico.
Conclusiones.- La conformación del Basset hound, tiene similitud con algunas displasias esqueléticas que se presentan en humanos, principalmente con las del grupo de la acondroplasia y el de las displasias metafisiales.

PALABRAS CLAVE. Placa de crecimiento, Esqueleto, Osteocondrodisplasias, Acondroplasia

ABSTRACT
HISTOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF THE GROWTH PLATE OF THE LONG BONES IN BASSET HOUND
Osteochondrodysplasias are caused by the cartilage and bone abnormal development and growth; the osteochondrodysplasias have been reported in both humans and animals suffering from dwarfism. The Basset Hound dog is considered a breed with disproportionate dwarfism, but at the moment, the cause of this dwarfism is unknown.
This work analyses histologically the growth plate in the Basset Hound in order to determine the type of osteochondrodysplasia that this breed presents.

For this analysis, the growth plates from the long bones of a Basset Hound and a Doberman, both two months old, were fixed in 4% paraformaldehyde, embedded in paraffin, sectioned at 5 µm, and stained with H & E, then analyzed by light microscopy. Our results suggest that by histopathology, the Basset Hound can only be defined as an osteochondrodysplastic dog, due to a primary cartilage problem in the growth plates. However, to determine the type of osteochondrodysplasia, molecular analyses are required.
Basset hound, Skeletal, Dog, Achondroplasia, Grwoth plate

INTRODUCCIÓN

Las displasias esqueléticas son reportadas tanto en seres humanos como en animales. En los humanos las displasias esqueléticas han sido ampliamente estudiadas y existen sistemas de clasificación de acuerdo a sus características radiológicas, patológicas y moleculares.

Dentro de estas alteraciones esqueléticas se encuentran las osteocondrodisplasias las cuales se originan por alteraciones en el tejido cartilaginoso y/u óseo. Embriologicamente los huesos que conforman al esqueleto derivan de dos tipos de osificación, la intramembranosa que da origen a los huesos planos y la osificación endocondral de donde se originan el resto de los huesos del esqueleto.[1] Defectos en la formación de hueso endocondral resultan en anormalidades del desarrollo de la placa de crecimiento y la metáfisis de los huesos largos. Lo cual da origen a un grupo de enfermedades denominadas osteocondrodisplásias, que de acuerdo a The International Working Group on Constitutional Diseases of Bone en los seres humanos se han caracterizado mas de 150 con diferentes tipos de alteraciones, siendo la mas común la acondroplasia, que se caracteriza por que los pacientes presentan enanismo desproporcionado, debido a un acortamiento severo de las extremidades, hipoplasia facial, macrocefalia y lordosis lumbar. [2,3]

En medicina veterinaria el termino raza acondroplásica es comúnmente utilizado para referirse a todos aquellos perros cuyo fenotipo se caracteriza por presentar una desproporción en la conformación esquelética. En este grupo se incluyen al Bulldog, Basset hound, Dashchund, y otras razas similares. Aunque las características esqueléticas de los perros denominados acondroplásicos son parcialmente similares al padecimiento en humanos, no se ha definido del todo si la conformación esquelética de este tipo de razas se origina bajo los mismos mecanismos que la acondroplasia humana. Actualmente se ha establecido que la acondroplasia humana es originada por una mutación en el exón 8 que codifica para la región transmembranal del FGFR3. Lo que altera la regulación de la proliferación de los condrocitos en la placa de crecimiento de los huesos largos, produciendo con esto una disminución del crecimiento longitudinal de los mismos. Estudios de genética molecular donde se analizó la secuencia nucleotídica del exón 8 del gen FGFR3 en las razas Pastor Alemán, Bulldog, Dashchund y Basset hound, revelaron que esta región del gen es idéntica en todas las razas estudiadas. Por lo que se estableció que el origen molecular de la acondroplasia en humanos es distinto al fenotipo de las razas acondroplásicas caninas.[4] No obstante a esto, el acortamiento de los huesos largos en estos perros es un hecho que podría deberse a otro tipo de alteración durante el proceso de formación de

los huesos endocondrales. Casos esporádicos de diversas osteocondrodisplásias con severo acortamiento de las extremidades han sido reportadas en razas de perros no acondroplásicas como son Scottish Deerhounds, Setter Irlandés y Alaska Malamut. En algunas de estas razas se han encontrado alteraciones en la osificación de tipo endocondral, donde se involucra principalmente a la placa de crecimiento de los huesos largos.[5,6,7],

Se denomina placa de crecimiento de los huesos largos al cartílago que permanece entre la epífisis y la metáfisis de estos huesos durante el proceso de calcificación de los mismos. Su función es permitir el crecimiento longitudinal de los huesos largos del esqueleto, lo cual determina en gran parte la altura de los individuos.

Histológicamente, la placa de crecimiento se constituye por condrocitos en diferentes estadios, el primero es de células en reserva (células fibroblásticas diferenciándose a condrocitos), el siguiente estadio es el de proliferación, posteriormente el de pre-hipertrofia y el de hipertrofia, las células hipertrofiadas sufren apoptosis y son remplazadas por células osteoblásticas. De esta forma el crecimiento longitudinal es regulado por la proliferación, hipertrofia, muerte de los condrocitos y por la velocidad con que se substituye el cartílago de la placa de crecimiento por tejido óseo.[8] Una vez que la placa de crecimiento ha sido calcificada totalmente se detiene el crecimiento de los huesos largos, se he establecido que en forma natural la placa de crecimiento osifica totalmente a los 10 meses de edad en perros de talla grande y a los 8 meses en razas pequeñas.[9] Sin embargo, cuando uno de los procesos celulares de la placa de crecimiento es afectado la osificación puede suceder antes de este tiempo, reduciendo el crecimiento longitudinal de los huesos largos.

Las razas de perros Basset hound se caracterizan por presentar un acortamiento severo de los huesos largos, pero aún no se ha determinado el tipo de displasia esquelética que caracteriza el fenotipo de esta raza. Nosotros pensamos que aunque el acortamiento de las extremidades de estos perros puede ser debido a alteraciones de la osificación endocondral, el fenotipo de estos perros es originado por mecanismos patológicos distintos a la acondroplasia humana. El Objetivo de este trabajo es analizar las características de las placas de crecimiento de los huesos largo en el Basset hound con la finalidad de realizar un análisis comparativo con diferentes osteocondrodisplásias reportadas en otras especies animales y también en humanos, para poder establecer que tipo de displasía esquelética podría definir a estos perros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dos cachorros de Basset hound y Doberman, ambos de dos meses de edad, fueron eutanaziados usando pentobarbital sódico a una dosis de 70 mg/kg de peso por vía intravenosa, posterior a esto el extremo distal de los miembros torácicos y pélvicos fueron obtenidos mediante una osteotomía, el corte se realizó de 5 a 10 mm proximal a la placa de crecimiento en cada uno de los huesos. Los fragmentos obtenidos fueron lavados en buffer PBS 1X y fijados en paraformaldehído al 1% durante 24 hrs. Posteriormente descalcificados en ácido tricloracético al 5% durante 8 días. Se obtuvieron cortes longitudinales de 1mm x 1mm x 3 mm de la placa de crecimiento conformados por hueso epifisial y

metafisial en ambos extremos. Los pedazos fueron incluidos en parafina y se obtuvieron cortes histológicos de 5 micras de placas de crecimiento del fémur y húmero de ambas razas de perros. Posteriormente, los cortes fueron procesados para tinción H&E y observados en microscopio de luz.

RESULTADOS

La placa de crecimiento del fémur y húmero del Bassethound presenta un patrón diferente de organización, comparándolas con la del Doberman (Fig. 1). En el Bassethound la placa de crecimiento es de menor tamaño, debido a que presenta menor número de células. La zona proliferativa presenta varios cambios, en el Doberman las células se encuentran formando columnas largas de mínimo 10 células por columna, en el Bassethound se observaron dos formas de organización celular, una formando grupos agregados de células y la otra en forma de columnas pequeñas las cuales están separadas por septas amplias y densas que están tanto en disposición longitudinal como horizontal, dichas septas tienen apariencia de material fibrótico. La característica más sobresaliente es la poca cantidad de cartílago hipertrófico y la ausencia de lagunas de los condrocitos, así como una osificación prematura.

DISCUSIÓN

El perro es la especie domestica que más diversidad morfológica presenta, actualmente podemos encontrar más de 350 razas distintas cuyas características difieren en tamaño, conformación del esqueleto, tipo y color del pelo, susceptibilidad a ciertas enfermedades y características de comportamiento.[10] Con lo que respecta al tamaño podemos encontrar desde razas gigantes hasta miniaturas, actualmente no se han establecido las bases fisiológicas ni moleculares de cómo se regula tal diferencia en tamaños. Varios desordenes causan estatura pequeña en perros, entre estos se encuentran las endocrinopatias (hiposomatropismo e hipotiroidismo) y las displasias esqueléticas[11]. Por otro lado se han reportado varias Patologías en los seres humanos y en el ratón que producen disminución de la estatura estas pueden ser de tipo metabólico, endócrino o alteración en algunos de los factores locales que regulan el desarrollo de los huesos del esqueleto. Cuando se afectan factores endocrinos y metabólicos, la disminución en el tamaño corporal se presenta frecuentemente en forma proporcionada mientras que las fallas en factores locales producen enanismo desproporcionado.[12]

Ambas formas de enanismo han sido seleccionadas en las diferentes razas de perros que presentan estatura pequeña. Por ejemplo enanismo proporcionado puede ser observado en el Whippet el cual es una miniatura del Greyhound.[11]

Por otra parte reducción de la estatura desproporcionada es observada en el Bassethound y otras razas de perros con características similares. Nosotros observamos que el Bassethound tiene un acortamiento severo de los huesos proximales y mediales que conforman a las extremidades, por lo que las características de esta raza de perros pueden definirse como un enanismo desproporcionado tipo rizo-mesomélico. Sin embargo, los factores que pueden producir este acortamiento de las extremidades son muy variables y debido a que el fenotipo de estos perros no es considerado producto de una patología, si no

más bien un rasgo que confiere ventajas a esta raza de perros, pocos estudios para analizar su origen conformacional se han llevado acabo. Algunos autores han designado ha este tipo de perros como acondroplásicos, debido a las similitudes que llegan a presentar con la patología del mismo nombre que se presenta en los seres humanos. Sin embargo las características radiológicas, histopatológica y moleculares son diferentes en ambas especies. La acondroplasia produce siempre hipoplasia facial muy semejante a la que se presenta en los perros Bulldog, la cual esta ausente en el cráneo del Basset hound. Cambios en los huesos que conforman la cadera también caracterizan a la acondroplasia y nosotros no encontramos cambios significativos en estos huesos: Algunos autores han propuesto que el fenotipo del Basset hound podría corresponder a la hipocondroplasia la cual representa una forma de enanismo desproporcionado con características menos severas que las de la acondroplasia, por ejemplo la hipocondroplasia no presenta alteraciones craniofaciales ni alteraciones de las vértebras y los huesos largos no son tan severamente acortados. Aunque nuestros resultados radiológicos no presentan alteraciones del cráneo y columna vertebral; el acortamiento de los huesos largos como el ensanchamiento de las metafísis si son severos. Por lo que nosotros consideramos que las características de la displasia esquelética que caracteriza a los Basset hound son mas semejantes a una displasia tipo metafisial que a las displasias del grupo de la acondroplasia. Nuestra idea esta también apoyada por el análisis histopatológico de las placas de crecimiento, pues en la acondroplasia se caracterizan por presentar un desarreglo columnar en el estrato de condrocitos en proliferación y la displasía metafisial por ausencia del estrato de condrocitos en hipertrofia, en nuestro estudio el Basset hound presentó una disminución de células hipertróficas y ausencia de lagunas, un caso semejante fue reportado en ratones a los cuales se les produjo una mutación en el gen de la colágena X y los cuales presentaron displasía metafisial.[13]

BIBLIOGRAFÍA

1.-Erlebacher A., Filvaroff EH., et al. Toward a Molecular Understanding of Skeletal Development. Cell 1995; 80: 371-378.

2.- Spranger J., et al. International Classification of osteochondrodysplasias. Eur. J. Pediatr. 1992, 151: 407-415

3.-Shiang R., Thompson LM, Zhu YZ, et al. Mutations in the transmembrane Domain of FGFR3 Cause the Most Common Genetic Form of Dwarfism, Achondroplasia. Cell 1994; 78: 335-342

4.-Martínez S, Valdés J and Alonso RA. Achondroplastic dog breeds have no mutations in the transmembrane domain of the FGFR-3 gene. Canadian Journal of Veterinary Research. 2000, 64: 243-245.

5.-Breur GJ, Farnum CE, et al. Cellular Basis of Decreased Rate of longitudinal Growth of Bone in Pseudoachondroplastic Dogs. 1992; The Journal of Bone and Surgery. 74-A (4) 516-528.

6.-Hanseen I, Falck G, et al. Hypochondroplastic dwarfism in the Irish setter; 1998. Journal of small animal practice. 39: 10-14

7.-Subden R, Fletch S, Smart M, et al. Genetics of the alaskan malamute chondrodysplasia syndrome. 1972; J. Heredity: 63: 149-152.

8.-Karsenty G. The gentic transformation of bone biology.Genes and development. 1999; 13: 3037-3051
9.-Hansen HJ. A pathologic-anatomic study on disc degeneratión in dogs. 1967; Acta orthop scand suppl. II 101
10.-Eline A, Ostrander and Edward G. Semper Fidelis:what man's best frind can teach us about human biology and disease. 1997; Am. J. Hum Genet. 61: 475-480
11.-Stephen JE. Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the Dog and Cat. In Newton Ch and Siemering. Skeletal Diseases. Philadelphia WB Saunders Co. 1983; 2236
12.-Scriver ChR,Banger AL, Sly WS, et. al. The Metabolic and Molecular Bases of inherited Disease. In Joy D, Cogan, et al. Inherited Defects In Growth Hormone Synthesis and action. New york McGraw Hill Co. 2001; 4159-4180
13.-Jacenko O, Spondylometaphyseal dysplasia in mice carrying a dominant negative mutation in a matrix protein specific for cartilage to bone transition. 1993. Neture; 365: 56-61

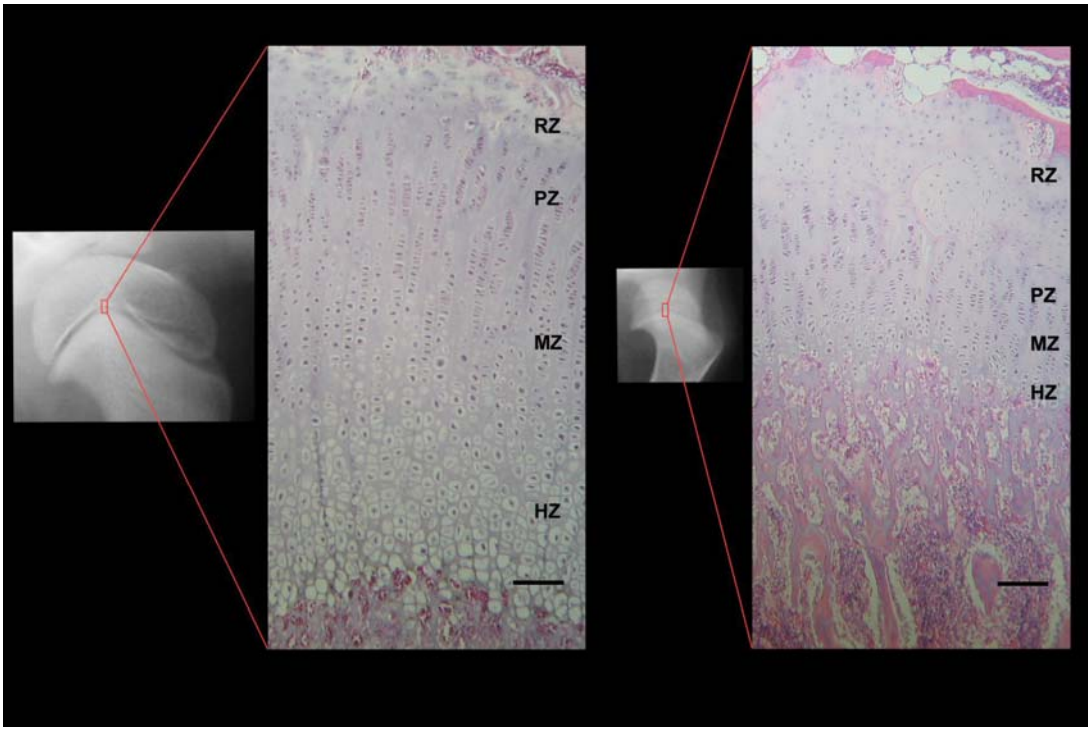


Figura 1. Cartílago de la placa de crecimiento de fémur. Aumento 60X. Lado izquierdo Doberman; Lado derecho Basset hound. Ambos perros de 2 meses de edad RZ= Zona de Reserva, PZ= Zona en proliferación, MZ= Zona de Maduración, HZ= Zona hipertrófica. En Basset hound se observa un menor número de células, la región HZ es escasa y la RZ es más amplia que en el Doberman.

INFORME DE CASOS COMPATIBLES CON UNA INFECCIÓN CON EL CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2 EN YUCATAN. (PRIMER REPORTE EN EL ESTADO).

Marco A.Torres León, Jorge C. Rodríguez Buenfil. Leonardo Guillermo Cordero y Pilar Ruiz Gómez.
Cuerpo Académico de Salud Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Yucatán. (FMVZ-UADY).

RESUMEN:
El circovirus Porcino Tipo 2 (PCV-2) es considerado una enfermedad emergente asociada con algunas patologías, entre otras con el Síndrome Mulsistémico de Emaciación Postdestete, y el Síndrome Dermatitis Nefropatía Porcina. Se reporta caso clínico-patológico en una granja de ciclo completo con 23 cerdos sacrificados del destete y engorda. La granja es seropositiva a PRRS. Se observó baja ganancia de peso y pérdida de peso a partir de las 14 semanas de edad, así mismo se observaron lesiones en la piel sugestivas a PCV-2 signos clínicos asociados a enfermedades respiratorias. En la necropsia se observaron principalmente; en la piel, placas eritematosas, púrpuras y necróticas, edema subcutáneo; agrandamiento y edema en lonfonódulos inguinales, submandibulares, retrofaringeos y mesentéricos; nefromegalia con coloración blanquecina del parénquima renal; úlceras crónicas en la región esofágica del estómago; los pulmones con lesiones neumónicas variadas y en el hígado, cambios de coloración blanco-amarillentas en el parénquima histológicamente los hallazgos importantes y frecuentes fueron; piel; epidermitis, dermatitis y vasculitis necróticas severas, con focos de hemorragias y neutrófilos. Linfonódulos, atrofia linfoide severa multizonal, edema inersticial e infiltración por macrófagos. Riñones; nefritis intesticial no supurativa con vasculitis linfocítica,, plasmocitaria y hemorragias multifocales. Glomerulonefritis necrótica severa difusa y abundante material eosinofílico en el espacio glomerular y en el lumen de los túmulos y reparación zonal. Las lesiones observadas en la necropsia y estudios histopatológicos coinciden con lo reportado en trabajos recientes relacionados con la infección con el PCV-2 asimismo, la granja de procedencia de los cerdos presenta factores de riesgo identicazos en la infección del PCV-2 y presenta cerdos con signos y lesiones macroscópicas y microscópicas asociados al síndrome del desmedro multisistémico post destete y del síndrome de dermatitis y nefropatía porcina. El reporte de este caso en la porcicultura regional requiere estudios de mayor precisión diagnóstico.

Plabras clave; circovirus porcino, yucatan, lesiones.

CASE REPORT SUGESTIVE OF A INFECTION WITH PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 IN YUCATAN, MEXICO (FIRST REPORT IN YUCATAN).

Abstract. Porcine circovirus type 2 (PCV-2), is considered an emerging pathogen associated with some pathologies as the Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) and the Dermatitis Nephropathy Porcine Syndrome. A clinic case was reported in a farm. The farm was seropositive to PRRS. Weight loss and poor gain weight were observed from the 14th week of age. Suggestive skin lesions to PCV-2 were observed, also respiratory clinical signs were observed. In the postmortem study the lesions observed were: necrotic, purpure, erithematous plaques, subcutaneous edema, enlargement and edema in submadibular, inguinal, retropharyngeal and mesenteric lymphonodules, nephromegalia with whitish coloration of the renal parenchyma. Chronic ulcers in the esophagical region of the stomach. The lungs showed variable pneumonia lesions and in the liver color changes in the parenchyma. Histopathological lesions were observed in skin; epidermitis, dermatitis, severe necrotic vasculitis, with hemorrhagic foucus and neutrophil infiltration. Lymphonodules multizonal severe atrophy of the lymphoid tissue, interstitial edema, zonal macrophages and neutrophil infiltration with necrosis and hemorrhages. In the kidneys; interstitial no suppurative nephritis with lymphocytic and plasmocytic vasculitis, multifocal hemorrhages, severe diffuse necrotic, glomerulonephritis, eosinophilic infiltration in the glomerular space and in the lumen of the renal tubules. The gross and microscopic lesions were agree with the reported in literature. The farm where the case was reported showed risk factors associated with PCV-2 infections. The clinical signs, gross and microscopic lesions coincide with the PMWS and the Dermatitis nephropathy porcine syndrome. This first report demand more studies of the problem in the regional pig production.

Key words: Circovirus, porcine, Yucatán, lesions

INTRODUCCIÓN.

El Circovirus Porcino Tipo 2 (PCV-2 por siglas en inglés) es un agente que se asume ha estado presente desde hace años en la población porcina, se ha considerado una enfermedad emergente asociada con algunas patologías. El PCV-2 se ha asociado al Síndrome Multisistémico de Emaciación Postdestete, una enfermedad que afecta cerdos de 4 a 14 semanas de edad, se caracteriza principalmente por perdida de peso progresiva y problemas respiratorios[1]. Sin embargo existen otras enfermedades asociadas a este virus como son: tremor congénito tipo A2, neumonía proliferativa necrotizante, y el Síndrome Dermatitis Nefropatía Porcina[2](SDNP).

El SDNP se ha observado en la mayoría de los países con producción porcina intensiva. Es una enfermedad severa y de morbilidad elevada en comparación con la mortalidad que es baja En los cerdos de la etapa de crecimiento y engorda, la enfermedad se caracteriza por: lesiones cutáneas rojizas y necróticas localizadas en los costados, miembros posteriores, región perineal y orejas del cerdo. Los hallazgos a la necropsia son nefromegalia y riñones pálidos con abundantes petequias y linfonódulos aumentados de tamaño. Los cambios

microscópicos se caracterizan por vasculitis linfohistiocítica en piel, nódulos linfáticos, bazo, hígado, al igual que una glomerulopatia fibrinoide-necrosante; los túbulos renales están saturados de cilindros hialinos característicos, también se puede observar una nefritis intersticial e intenso infiltrado perivascular linfoplasmocítico[3]. En el caso de la patogenia del SDNP se ha descrito la participación del PCV-2, así como de otros agentes infecciosos y se ha clasificado como una reacción de hipersensibilidad tipo III[1].

HISTORIA CLÍNICA.

El estudio se realizo en una granja porcina de la zona henequenera del estado de Yucatán. Con una población de 496 vientres y una producción semanal de 206 cerdos finalizados. El peso promedio al destete es de 6.2kg ± 4.8 y el peso promedio a la venta es de 98kg ± 1.01. El sistema de producción es de flujo continuo. Los cerdos que se sacrificaron fueron obtenidos de las etapas del destete y engorda; mostraban signología clínica asociado a enfermedades respiratorias y presentaban retrazo en el crecimiento. La granja es seropositiva a PRRS, *Mycoplasma hypneumoniae y Leptospira interrogans.* Se han aislado *H. parasuis y B. bronchiseptica.*

En los animales sacrificados se observó baja ganancia y perdida de peso a partir de la semana 14 de edad, así mismo se observaron lesiones en la piel sugestivas a PCV-2 y signos clínicos asociados a enfermedades respiratorias,: tos, estornudos, secreciones nasales y respiración abdominal. Otros animales únicamente se encontraban pálidos pero con bajo peso en comparación con otros de la misma edad.

HALLAZGOS MACROSCÓPICOS.

Se practicó la necropsia a un total de 23 cerdos. Inspección externa; el 100% presentó baja condición corporal; 10(43%) con manchas de heces negruzcas en la región perianal;. En 16 (70%) se observaron placas eritematosas, púrpuras y necróticas en la piel; el 30% de estas lesiones en la región perianal, muslos, región abdominal, región inguinal y orejas; el 39% presentó una distribución difusa por toda la superficie de la piel. Al realizar la incisión primaria, los cerdos presentaron edema subcutáneo y agrandamiento y edema en linfonódulos inguinales, submandibulares y retrofaríngeos. Durante la incisión secundaria se observó que el 52% de los animales presentaron ascitis e hidropericardio. El 43%, poliserositis fibrinosa o fibrinopurulenta, observándose nefromegalia con coloración blanquecina del parénquima renal y en un cerdo, múltiples petequias en la corteza renal. Los cerdos mostraron agrandamiento de los linfonódulos mesentéricos y en el 30% úlceras crónicas en la región esofágica del estómago Los pulmones presentaron lesiones variadas: El 22% presentó bronconeumonía supurativa, el 13% pleuroneumonía fibrinopurulenta, el 30% pleuroneumonía catarral o purulenta , el 35% neumonía catarral. El 83% de los cerdos presentaron cambios de coloración blanco-amarillentas en el parénquima hepático y el 17% presentó hepatomegalia con la superficie del parénquima irregular y de consistencia dura. El bazo se observó sin cambios patológicos aparentes en todos los cadáveres.

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS.

Se remitieron al Laboratorio de patología de la FMVZ-UADY, muestras de: piel, linfonódulos, pulmones, bazo, estómago, hígado y riñón fijados en formol

amortiguado al 10%, posteriormente los tejidos fueron procesados por métodos rutinarios de histopatología, inclusión en parafina y teñidos con hematoxilina y eosina.

Los resultados fueron los siguientes.

Piel: las lesiones más frecuentes fueron: epidermitis y dermatitis necrótica severa y una vasculitis necrótica severa, con focos de hemorragias y neutrófilos.

Linfonódulos: depleción linfoide severa multizonal, edema intersticial e infiltración por macrófagos zonal; en algunas muestras necrosis con hemorragias e infiltración por neutrófilos.

Riñones: nefritis intersticial no supurativa con vasculitis linfocítica, plasmocitaria y hemorragias multifocales. Glomerulonefritis necrótica severa difusa; algunos glomérulos presentaron neutrófilos, eritrocitos y abundante material eosinofílico en el espacio glomerular, en otros únicamente se observó material eosinofílico en la misma zona con atrofia y reparación. Los túbulos renales se encontraron distendidos por la presencia de material eosinofílico en el lumen, con necrosis y en los casos mas severos esclerosados.

Estómagos: las lesiones principalmente fueron gastritis ulcerativa crónica con una vasculitis y perivasculitis por una infiltración de células linfoides y macrófagos principalmente en la capa muscular.

Pulmones: se observó: neumonía lnfoproliferativas moderadas, bronconeumonias supurativas severas y pleuroneumonías fibrinopurulenta severas difusas. En algunos pulmones se observó neumonía intersticial zonal además de los exudados descritos.

Bazo: las lesiones en algunos cortes fueron infiltración por macrófagos zonal moderada asociados a atrofia leve zonal del tejido linfoide y edema intersticial.

Hígado: las lesiones fueron: hepatitis no supurativa moderadas y severas, con fibrosis leve perilobulillar, infiltraciones grasa en los hepatocitos moderadas y severas con hiperplasia de conductos biliares y colangiohepatitis no supurativas leves y moderadas.

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS.

La historia clínica, signología compatible con la enfermedad y las lesiones macroscópicas y microscópicas compatibles con la enfermedad.

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES.

Infecciones bacterianas como *E. rhusiopathiae, S. suis, H. parasuis, S. Cholerasuis.* Parásitos de la piel como la Sarna sarcóptica, epidermitis exudativa y *Ptyriasis rosea,* bacterias y virus protagonistas del complejo respiratorio porcino, *Leptospira spp* y micotoxinas[4,5,6.] Yucatán es libre de fiebre porcina clásica.

DISCUSIÓN

Lesiones de la piel el diagnostico diferencial incluyen infecciones bacterianas como *E. rhusiopathiae, S. suis y S cholerasuis.* La primera de estas bacterias se diferencia del síndrome dermatitis nefropatía porcina, porque las lesiones que presentan en la piel son placas necróticas con una característica forma de diamante y que responden eficientemente al tratamiento con antibióticos. Las bacterias restantes producen cuadros septicémicos donde la piel adquiere un color rojo difuso y transitorio aunque sin lesiones necróticas. La sarna sarcóptica, epidermitis exudativa y pitiriasis limitan sus lesiones en la piel [4,5,6]. Las

observaciones en los nódulos linfáticos se pueden asociar con virus, mal nutrición y toxinas[6] , entre los virus identificados destaca el PCV 2 [1.]
Las lesiones renales observadas difieren de las clásicas de Leptospira spp[7] siendo similares a las descritas en el SDNP[1,2,3,4] las lesiones de glomerulonefritis necrótica se asocian a reacciones de hipersensibilidad III[8]
Por otra parte el síndrome púrpura trombocitopénica de los cerdos y el SDNP son enfermedades esporádicas que cursan con vasculitis y depósitos glomerulares de complejos inmunes, sin embargo los cerdos afectados por el síndrome púrpura trombocitopénica presentan lesiones hemorrágicas en la piel distintas a las placas circulares necróticas observadas en cerdos con el SDNP. A su vez, estos animales cursan con trombocitopenia, lo cual no se ha descrito en los cerdos afectados con el SDNP y las lesiones renales se diferencian porque en el síndrome púrpura trombocitopénica el daño glomerular es principalmente membranoproliferativo, a diferencia del SDNP que provoca glomerulonefritis fibrinonecrótica[8].
La presentación de riñones con petequias en la corteza y agrandados y en la piel placas eritematosas, púrpuras y/o necróticas son las lesiones que deben considerarse durante la necropsia o inspección en rastro para el diagnóstico del SDNP[10]
Las lesiones observadas en la necropsia y estudios histopatológicos coinciden con lo reportado en trabajos recientes relacionados con la infección con el PCV2[1] a si mismo, la granja de procedencia de los cerdos presentan factores de riesgo identificados en la infección del PCV2 (por ejemplo el virus del PRRS) y presenta cerdos con signos y lesiones macroscópicas y microscópicas asociadas al síndrome del desmedro multisistémico post destete y del síndrome dermatitis nefropatía porcina[10]
El SDNP en cerdos tiene importancia diagnóstica debido a que pueden ser asociadas con enfermedades infecciosas de las cuales el estado de Yucatán es libre como la fiebre porcina clásica, lo que exige la implementación de una prueba con mayor sensibilidad y especificidad para confirmar el diagnóstico[11].

CONCLUSIÓN.
Por lo reportado en la historia clínica, lo observado en la signología y las lesiones macroscópicas y microscópicas se concluye que estos casos son compatibles con el Síndrome Dermatitis Nefropatía Porcina y el Síndrome Multisistémico de Emaciación Postdestete (PCV-2).

REFERENCIAS.
1.- Zavala, A; Martínez, J; López, A; De la Cruz, I y Gallegos, R. Síndrome dermatitis nefropatía porcina. Reporte de casos. Memorias del XIV congreso nacional de patología veterinaria, en ciudad Juárez Victoria, Tamaulipas, del 24 al 26 de agosto de 2005. Pp. 295-301
2.- Lukert, P y Allan, M. Porcine Circovirus. In Disease of swine. 8th Edition. Edited by Leman, A.; Straw, B.; Mengelin, W.; D´Allaire; Taylor, D. Editorial Wolfe. Iowa State University Press. 1999. Pp. 119-130.

3.- Quezada, M.; Ramirez, E.; Munoz, D. y Ruiz, A. Sindrome Dermatitis Nefropatía Porcina: Una de las Principales Causas de Glomerulonefritis en Cerdos. Agro-Ciencia. 20: 2004. P.p. 119-130.

4.- Duran, C; Ramos-Vera, J y Render, A. Porcine dermatitis and neprophaty sindrome: a new condition to include in the diferential diagnosis list for skin discoloration in swine. Swine health production 5: 1997. P.p. 241-244

5.- Drolet, R; Thibault, S; D´Allaire, J; Thompson, S y Done Porcine dermatitis and neprophaty sindrome: an overview of the disease . Swine health Prod. 7: 1999. P.p. 283-285

6.- Thompson, J; Smith, B; Allan, G; Mc-Vicar, G. Porcine dermatitis and nepropha ty sindrome. Clinical and pathological features of cases in the united Kindom (1993-1998). J Vet Med B 49: 2002. P.p. 430-437.

7.-Ellis W. Leptospirosis In Disease of swine. 8th Edition. Edited by Leman, A.; Straw, B.; Mengelin, W.; D´Allaire; Taylor, D. Editorial Wolfe. Iowa State University Press. 1999. Pp. 483-493.

8.-Carrasco, M; Madsen, W; Salguero, F; Nuñez, A; Sanchez-Gordon, P; Bollen, P. Inmuno complex associated trombocytopenic purpura syndrome in sexually mature Göttigen minipigs. J comp pathol 128: 2003. P.p. 25-32.

9.- Segalés J, Calsamiglia M, Domingo M (2004) Epidemiología de la infección por circovirus porcino tipo 2. Mundo Ganadero. No, 163; 5-9.

10.- Ruiz Villamor, E; Quezada, M; Bautista, M; Romanini, L; Carrasco, F; Salguero, J; Gómez Villamandos, C. Clasical swine fever: pathogenesis of glomerular damage and inmunocharacterization of inmune complex deposits. J Comp Pathol 124: 2000. P.p. 246-254

PRESENCIA DE COBRE ASOCIADO A HEPATITIS CRÓNICA CON PRESENTACIÓN CIRRÓTICA EN UN CABALLO

Trejo, C.A., González, V.M.A., Buzo, M.W., Marín, R.L.F.,[1] Rodríguez, T.L.E., Nevárez, G.A.M., Ramírez, R.R.,[2] Robles, A.L.A.[3]

[1] Laboratorio Central Regional de Monterrey, Carretera a Reynosa Km. 4.5 Terrenos de la Exposición Ganadera, Ciudad Guadalupe, Nuevo León, México.
[2] Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nuevo León. Av. Lázaro Cárdenas 4600, Unidad Mederos, Monterrey, Nuevo León, México.
[3] Clínica Privada, Carretera Guadalupe La Joya Km. 7, Linares, Nuevo León, México.

Resumen

Se remite un equino, Westphalian, hembra, 2 años, la cual cursaba con anorexia, fiebre, ictericia y hemoglobinuria; culminando con hipotermia, coma y muerte. A la necropsia se observó lo siguiente: En tejido subcutáneo se apreció ictericia; los pulmones presentaron amplias áreas de hemorragias, congestión y edema intersticial severo difuso y el corazón mostró hemorragias petequiales y equimosis en pericardio, epicardio y endocardio. El hígado se encontró aumentado de tamaño, de un color amarillo grisáceo, consistencia dura, aspecto granular y fibroso y al corte presentó un patrón sólido. El bazo mostró discretas hemorragias difusas y los riñones presentaron congestión severa difusa. El intestino delgado y grueso presentaron una congestión moderada difusa, mientras que el cerebro mostró congestión discreta difusa.
A la histopatología, se apreció lo siguiente: El parénquima pulmonar presentó una marcada congestión y edema intersticial marcado, enfisema intersticial, hemorragias difusas, microtrombosis y descamación epitelial bronquial y bronquiolar. El hígado mostró hacia la periferia un marcado engrosamiento del tejido conectivo capsular, así como proliferación del tejido conectivo interlobulillar, el cual invadió severamente el intersticio, provocando que los cordones hepáticos se observaran disociados y atróficos, además de hiperplasia de los conductos biliares, así como gran cantidad de macrófagos con pigmento hemático residual. Con la histoquímica de Rodanina, en el citoplasma de los hepatocitos y en numerosos macrófagos, se apreció un abundante contenido granular de color café ocre que corresponde a depósitos de cobre. En riñón, los glomérulos presentaron proliferación de las células del mesangio y hemoglobina en el espacio glomerular, mientras que los túbulos contorneados proximales, distales y colectores, presentaron degeneración hialina epitelial y hemoglobina en su interior. Este es el primer reporte de su tipo en México.

Palabras clave: Ictericia, hepatitis crónica, rodanina, cobre, macrófago.

COPPER-ASSOCIATED CHRONIC HEPATITIS AND CIRRHOSIS IN A HORSE

Summary

A horse Westphalian, female, 2 years old is remitted for its postmortem examination. Previously, the animal had anorexia, fever, jaundice and hemoglobinuria. The animal ended with hypothermia, comma and death. The autopsy showed the following: jaundice in subcutaneous tissue; the lungs displayed wide hemorrhagic areas, diffuse congestion and severe interstitial edema. The heart showed petechial hemorrhage and ecchymoses in pericardium, epicardium and endocardium. The liver was enlarged and hardened, grayish to yellow, granular and fibrous. The spleen showed slight diffuse hemorrhages and the kidneys displayed severe congestion. Both of the small and large intestines showed diffuse to moderate congestion, whereas the brain showed diffuse to discreet congestion. Microscopically, the lung parenchyma showed an evident interstitial congestion and interstitial edema, emphysema, diffuse hemorrhages, microtrombosis and bronchial and bronchiolar epithelial desquamation. The liver showed obvious thickening of its capsule and the parenchyma had proliferation of the connective interlobulillar tissue, which invaded the interstice. This caused that the hepatic cords were dissociated and atrophyc. There was hyperplasia of the biliary conduits as well as great amount of macrophages containing hematic pigment. With Rodanin stain, the cytoplasm of both the hepatocytes and macrophages contained a yellowish cytoplasmic granular content which corresponded to copper deposits. In kidney, the glomeruli showed proliferation of mesangial cells and hemoglobin in the glomerular space, whereas the proximal and distal convolute tubules displayed epithelial hyaline degeneration and hemoglobin in its lumen. This it is the first report of this type in Mexico.

Key words: Jaundice, chronic hepatitis, rhodanine, copper, macrophage.

Introducción

Los animales al igual que el hombre, son seres que están expuestos a padecer de numerosas condiciones patológicas dentro de las cuales encontramos: enfermedades infecciosas, procesos degenerativos, traumatismos, neoplasias, así como de intoxicaciones, las cuáles en su gran mayoría provienen del medio externo; sin embargo, hay algunas condiciones intrínsecas en numerosos individuos que conllevan a la presentación de algunas de ellas. Así, tenemos que algunas enfermedades asociadas con el cobre, como las que se presentan en la Enfermedad de Wilson en humanos ó en la rata Long Evans Cinnamon, están asociadas a un desorden autosómico recesivo y a un defecto genético respectivamente. En estos padecimientos, el hallazgo patológico característico es el acumulo de cobre a nivel hepático. A diferencia de los perros y de los gatos en donde está bien definido que el acumulo de cobre a nivel hepático es el resultado de la necrosis e inflamación del hígado, en otras especies domésticas los reportes a este respecto son aun escasos. Así, tenemos que las razas caninas Bedlington Terrier, West Highland White terrier, Skye terrier y el Dálmata son razas en las cuales este fenómeno se debe a un desorden hereditario familiar y que el acumulo de cobre en los hepatocitos comienza en la región centrolobular y progresa a necrosis hepatocelular, inflamación con macrófagos cargados de cobre y finalmente con hepatitis crónica y cirrosis hepática. En gatos, un reporte

en uno de raza siamés demostró marcado acumulo de cobre a nivel centrolobular, asociado con degeneración hepatocelular y necrosis hepática e inflamación. Esto sugirió una enfermedad de curso agudo asociado con incremento en los niveles de cobre hepático. En otro gato europeo de pelo corto, el hígado cirrótico estuvo asociado con enfermedad hepática crónica, sugiriendo con esto una enfermedad primaria de almacenamiento de cobre.
Al alterarse la homeostasis normal del cobre ó si los requerimientos metabólicos están en exceso, esto puede conducir a una toxicosis por cobre, la cual puede ser clasificada como primaria cuando resulta de un defecto metabólico heredado y secundaria a consecuencia de un alto consumo anormal, absorción incrementada ó reducida excreción del cobre debido a subyacentes procesos patológicos. Dentro de éste último apartado, tenemos a las alteraciones hepáticas asociadas a daños crónicos inducidos por micotoxinas ó el consumo de plantas hepatotóxicas, las cuales contienen alcaloides de pirrolizidina, que producen cambios morfológicos y bioquímicos en las células hepáticas provocando que las mismas tengan una afinidad creciente por el cobre y cantidades anormales de este metal se acumulen en el hígado, con riesgo cada vez mayor de crisis hemolíticas.

MATERIAL Y MÉTODOS
Historia clínica: Se observa a un equino, Westphalian, hembra, de 2 años de edad, la cual comenzó a mostrar depresión, anorexia, fiebre, ictericia y hemoglobinuria. Al final cursó con hipotermia, coma y muerte.

Descripción macroscópica: La condición general del animal, así como su estado de carnes era regular, las mucosas oral, palpebral, anal y vaginal se encontraban congestionadas. A la incisión primaria se apreció ligera ictericia en el tejido subcutáneo. En cavidad torácica los pulmones mostraron amplias áreas de hemorragias, congestión y edema intersticial severo difuso; el corazón presentó numerosas hemorragias petequiales y equimosis en pericardio, epicardio y endocardio. En cavidad abdominal el hígado presentó un aumento de tamaño, se observó de color amarillo-grisáceo, de consistencia dura, aspecto granular y fibroso. Al corte se apreció un patrón sólido. El bazo se encontró con discretas hemorragias difusas, los riñones mostraban una congestión severa; el intestino delgado y grueso presentaron una congestión moderada difusa. Al extraer el cerebro, se apreció con una congestión discreta difusa.

Descripción microscópica: Los hallazgos más relevantes fueron los siguientes: Al revisar el parénquima pulmonar se apreció una congestión y edema intersticial marcado, los sacos alveolares presentaron ruptura marcada, además numerosas hemorragias difusas, microtrombosis y marcada descamación epitelial de los bronquios y bronquiolos. El hígado presentó hacia la periferia engrosamiento marcado del tejido conectivo capsular, a nivel del parénquima se apreció marcada proliferación del tejido conectivo interlobulillar (fibroplasia) el cual fue evidente con la histoquímica de Tricrómica de Masson, invadiendo severamente el intersticio provocando que los cordones hepáticos se observaran disociados y atróficos. Por otro lado, se observaron numerosos focos de necrosis e hiperplasia de los conductos biliares. Asimismo, fue evidente una gran cantidad de

macrófagos conteniendo abundante cantidad de pigmento hemático residual (hemosiderosis) y otros con eritrofagia. Al realizar la histoquímica de Rodanina, a nivel del citoplasma de los hepatocitos y en numerosos macrófagos hepáticos, se apreció un abundante contenido granular de color café ocre que corresponde a grandes depósitos de cobre. En riñón, se observó a nivel glomerular, marcada proliferación de las células del mesangio, en donde además se apreció gran cantidad de hemoglobina en el espacio glomerular, mientras que los túbulos contorneados proximales, distales y colectores de la porción medular, se observaron con marcada degeneración hialina en su epitelio cúbico simple, mostrando también hemoglobina en su interior.

Criterio diagnóstico: Las características macroscópicas e histológicas de las lesiones encontradas en este animal son consistentes con el desarrollo de un cuadro de insuficiencia hepática crónica (hepatitis crónica y cirrosis hepática) y acumulo severo de cobre citoplasmático, asociadas a la ingesta de micotoxinas y/o consumo de tóxicos fitógenos como son los alcaloides de pirrolizidina, compuestos encontrados en plantas como el Senecio, Crotalaria y Helitropo.

Diagnósticos diferenciales: Las enfermedades hemolíticas agudas que pueden confundirse con intoxicación crónica por cobre son, leptospirosis, hemoglobinuria bacilar, envenenamiento por nabos, etc.

Referencias:

1.- Bosclair J, Doré M, Beauchamp G, Chouinard L, Girard C: Characterization of the Infiltrate in Canine Chronic Hepatitis. Vet Pathol 38:628-635, 2001
2.- Blood D C, Radostits O M, Henderson J A, Arundel J H, Gay C C: Medicina Veterinaria, 6ª Ed., pp. 1361-1366, Interamericana, México, D.F., 1988
3.- Fuentealba IC, Aburto EM: Animal models of copper-associated liver disease. Comp Hepatol 2:5, 2003
4.- Kawamura M, Takahashi I, Kaneko JJ: Ultrastructural and kinetic studies of copper metabolism in Bedlington Terrier dogs. Vet Pathol 39:747-750, 2002
5.- Mazanek S, Hajkova P: Chronic Copper Intoxication in a Captive Nile Crocodile (*Crocodylus niloticus*). European Association of Zoo and Wildlife Veterinarians (EAZWV) 5th Scientific Meeting, May 19-23 2004, Ebeltoft. Denmark
6.- Meertens N M, Bokhove C A M, Van Den Ingh T S G A M: Copper-associated Chronic Hepatitis and Cirrhosis in a European Shorthair Cat. Vet Pathol 42:97-100, 2005

NEUMONIAS MÁS COMUNES EN CERDOS. INFORME DE 40 CASOS

Chapa B. J[1], Rodríguez G. E[1], Moreno V. S[1], Sánchez G .F[2], Tecpa F. Z[2], Juárez R. M[2], Martínez R. G[2]
Investigación Aplicada S.A. [1]Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM [2]

Palabras claves: Frecuently pneumonias in swine

Summary.

Pneumonias in swine is considerated the sick that affect the development and feed conversion causing economic problems in the world .
The pneumonies are considerated as an important problem in the swine , the incidence, the prevalence and the injuries are the result of multifactorial interaction for the host are : age, genetic, inmunitary system, agent infectious (virus, bacterias, Mycoplasma), environment (humidity, temperature, ammonia concentration, managing practice (nutrition and stress)
For growing animals, the problems of health increase because the swine are in groups and mixed, produce high level of stress, lost the passive immunity ,
In the areas of swine, the respiratory infection are common for the high prevalence, using 2 mechanism :

1. The infection spreads for vehicles, persons, bird, swine to swine .
2. More important : the respiratory problems spreads for swine to swine for aerea transmition .

The laboratory diagnostic is important to determinate the agent : viral (PRRS, Influenza) , bacterial (Pasteurella sp , Haemophillus parasuis, Actinobacillus pleuroneumoniae, Streptococcus sp) and Mycoplasma sp , causing
Respitarory problems for 2 or 3 week posdetete .
In the fat piglet a bad managings, stress, bad ventilation produce pneumonias, Now is very important the Respiratory complex because affect the swine life quality

Introducción. Las neumonías en cerdos se consideran como la enfermedad que más afecta y altera a los cerdos durante toda su vida, afectando su desarrollo y conversión alimenticia causando perdidas económicas importantes a nivel mundial. Las neumonías se consideran como un problema grave en los cerdos contemporáneos, la incidencia, la prevalencia y la gravedad de las lesiones en cerdos dependen de una serie de complejos de interacciones multifactoriales para el huésped están: edad, genética, estado inmunitario, los agentes infecciosos (virus, bacterias, Mycoplasma), el medio ambiente: humedad, temperatura, concentraciones de amoniaco, prácticas de manejo (nutrición, estrés). Para los animales en crecimiento, los problemas de salud se agudizan porque los cerdos son reagrupados y mezclados, sufriendo con altos niveles de estrés, perdiendo la inmunidad pasiva.
En las áreas de cerdos, las infecciones respiratorias son comunes, debido a una alta prevalencia , se basan en dos mecanismos: El primero es debido a que la

infección se disemina a través de vehículos, personas, aves, de cerdo a cerdo. El segundo que se considera es el más importante, las enfermedades respiratorias graves se propagan de cerdo a cerdo por transmisión aérea. El uso del laboratorio para un diagnostico oportuno es importante para poder determinar al agente causal ya sea viral (PRRS , Influenza Porcina), bacteriana (Pasteurella sp, Haemophillus parasuis, Actinobacillus pleuropneumoniae, Streptococcus sp) y Mycoplasma sp. ocasionando problemas neumónicos de 2 a 3 semanas posdestete. En los cerdos en engorda un mal manejo, estrés, mala ventilación predisponen a neumonías. Actualmente es muy importante el complejo respiratorio porcino ya que afectan directamente la calidad de vida del cerdo

Material y Métodos: Con base a lo anterior se revisaron en el laboratorio de biología (IASA) 40 casos de neumonías en cerdos, diagnosticados por Histopatología, Aislamiento bacteriano e Inmunohistoquímica, de los cuales 22 casos (55 %) corresponde a neumonías de origen bacteriano, siendo las mas importantes: *Pasteurella sp, Haemophillus parasuis, Actinobacillus pleuropneumoniae*; 12 casos (30%) corresponden a neumonías de origen viral (PRRS) y 6 casos (15 %) a *Mycoplasma hyopneumoniae*
Conclusiones: Las neumonías en cerdos actualmente forman parte del complejo respiratorio, afectando así en la ganancia de peso, eficiencia alimenticia y mortalidad. Los tipos de lesión pulmonar macro y microscópicos, sugieren la presencia de algunos microorganismos (bacterias, virus, Mycoplasma). Contando con el aislamiento bacteriano y la Inmunohistoquímica podemos determinar el agente, aunque la mayoría de las veces los animales están tratados y no hay aislamiento.

Signos Clínicos	Agente	Lesiones Macroscopicas	Lesiones Microscopicas	Diagnostico
Anorexia, fiebre, disnea, cianosis	*Actinobacillus pleuropneumoniae*	Hemorragia e infartos pulmonar	Neumonía pleurofibrinosa con hemorragia y necrosis pulmonar.	Aislamiento bacteriológico. Histopatología. Serología / Necropsia
Disnea , cianosis, depresión , fiebre/anorexia,	*Haemophilus parasuis*	Cianosis en la piel , Pleuritis fibrinosa,	Se aprecia en el pulmón pleuroneumonía fibrinopurulenta	Aislamiento bacteriológico. Necropsia/Histopatología
Fiebre, disnea, cianosis, anorexia	Pasteurella sp	El pulmón presenta en la pleura abundante fibrina .	Pleurobronconeumonia fibrinosa.	Aislamiento bacteriológico. Necropsia/Histopatología
Fiebre, disnea, cianosis en las orejas , anorexia	Arterivirus (PRRS)	Los pulmones presentan consistencia carnosa	Neumonía intersticial multifocal a difusa e hiperplasia de neumocitos Tipo II	Necropsia Histopatología Inmunohistoquímica Aislamiento viral Elisa, IFA
Fiebre, disnea, tos seca, estornudos,	*Mycoplasma hyopneumoniae*	Se observa en los lóbulos apicales lesiones de color rojo oscuro.	Se observa alrededor de bronquios y bronquíolos moderada hiperplasia linfoide	Aislamiento , Necropsia, Histopatología Serología

.

Histomoniasis en pavo real (Pavo cristatus) procedente de Colima, México

Luis Jorge García Márquez [1]José Luis Vázquez García [3]Omar Francisco Prado Rebolledo [3]Tiburcio Lizama Munguía [4]Sihomara Sharon Ortiz Guardado [2]

[1] Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario (CUIDA). Universidad de Colima, Tecomán, Colima. CP. 28100. tel: 313 32 29413. correo electrónico: ljgm_cmv@hotmail.com, ljorgepatologia@gmail.com
[2] Departamento de Patología, FMVZ. Universidad de Colima, Tecomán, Colima.
[3] Majahual S.C. de R.L. Prolongación Hidalgo # 940. Villa de Álvarez, Colima.
[4] Clínica Privada, Colima, Colima.

Resumen

El objetivo fue describir las lesiones que causan los protozoarios de *Histomonas spp* en los órganos de un pavo real (*Pavo cristatus*) procedente de un criadero de ornato del municipio de Colima, México. Se remitió un pavo real macho de un año de edad con semiología de anorexia, somnolencia, emaciación progresiva, heces sanguinolentas, postración y muerte. Se realizó la necropsia y los órganos se incluyeron en formalina al 10 % pH 7.2, para procesarlos con la técnica histológica de rutina. Las lesiones en hígado fueron áreas multifocales de necrosis de 1 cm de diámetro, los ciegos con exudado muco-hemorrágico-caseoso, los demás órganos se encontraron congestionados. La histopatología en hígado fue de necrosis coagulativa con inflamación de heterófilos, linfocitos, monocitos y estructuras ovoides acidofílicas compatibles con *Histomonas*. Ciegos con fibrina en mucosa y submucosa infiltrada de heterófilos, macrófagos, linfocitos y monocitos; sobre la lámina propia estructuras ovoides acidofílicas pálidas compatibles con *Histomonas*. Es importante diagnosticar la histomoniasis en aves de ornato, para poder establecer medidas preventivas de la enfermedad.

Palabras clave: Histomoniasis, aves de ornato, *Histomonas meleagris*, protozoarios, enfermedades de aves, patología.

Abstract:

The objective was to describe the injuries that cause to the protozoas of *Histomonas spp* in the organs of a Turkey (*Pavo cristatus*) coming from a farm of Colima city Mexico. It was sent a male Turkey of a year of age with semiology of anorexia, sleepy, progressive emaciation, diarrhea with blood, postration and death. The autopsy was made and the organs included in formalin to 10 % pH 7,2, to process them with the histological technique of routine. The injuries in liver were multifocal areas of necrosis of 1 cm of diameter, the blind with muco-

hemorragic-caseosa exudate, the other organs were congested. The histophatology liver was of necrosis with inflammation of heterophils, compatible lymphocytes, monocytes and acidophilics ovoid structures with *Histomonas*. Cecal with fibrine in mucosal and infiltrated submucosal of heterophils, macrophages, lymphocytes and monocytes; on the lamina propria compatible pale acidophilics structures ovoid with *Histomonas*. It is very important to diagnose the histomoniasis in ornato birds, to be able to establish preventive measures of the disease.

Key words: Histomoniasis, birds of ornato, *Histomonas meleagris*, protozoa, poultry disease, pathology.

Introducción

La histomoniasis es una enfermedad parasitaria de los ciegos e hígado de muchas aves gallinaceas, es originado por el protozoario *Histomonas meleagridis* y se caracteriza por producir áreas de necrosis en el hígado y úlceras en los ciegos, se le ha llamado enterohepatitis infecciosa o cabeza negra.[1]El nemátodo intestinal *Heterakis gallinarum* y las lombrices de tierra son huéspedes accesorios de Histomona.[1]La histomoniasis es una enfermedad importante que afecta a pavos, pollos y otras aves, causa pérdidas económicas por mortalidad y gastos en quimioterapia.[1]La histomoniasis se describió por primera vez en 1895 y se reconoció como protozoario con flagelos y pseudópedos, entre 1964 y 1974 se estudio su patogenicidad. [2]

La *Histomona* es un protozoario esférico de 3 a 16 µn de diámetro, la fase amiboidea es muy pleomórfica con seudópodos y un solo flagelo inflexible de 6 a11 µm de largo, el cuerpo parabasal tiene forma de "v" y es anterior al núcleo y es elipsoide y mide 2.2 x 1.7 µm. Las formas tisulares carecen de flagelo y presentan diferentes etapas : invasiva en las áreas periféricas de las lesiones de 8 a 17 µm de tamaño, forma amiboidea que constituye seudópodo, forma vegetativa es la etapa mas grande (12 a 21 µm) y se encuentran encerradas en vacuolas en los tejidos degenerados. La tercera etapa es la de lesiones viejas y son estructuras pequeñas y eosinofílicas, es una forma degenerativa. [1]

La existencia de la enfermedad se relaciona con el nemátodo de *Heterakis gallinarum* y lombrices de tierra (*Ersenia foetida*), se han encontrado *Histomonas* en las células epiteliales intestinales de las lombrices , las cuales actúan como huéspedes de transporte, además de colectar y concentrar huevos de *Heterakis* del ambiente de aves de transpatio, el clima y el tipo de suelo favorecen la supervivencia de *Heterakis* y lombrices de tierra, por lo que hay que considerarlo como un intento por controlar la histomoniasis.[1]

Numerosas aves gallináceas actúan como huéspedes para *Histomonas,* los pavos, perdices, gallina silvestre con collarín, pavo real, gallina de Guinea, codornices y faisanes.[1]El pavo real pertenece al phylum de cordados, clase, aves, orden; galliformes, familia: Phasianidae (Fasiánidos); género y especie: *Pavo cristatus*.

Descripción del animal

El pavo real mide aproximadamente de 90 a 230 cm. Los machos pesan de 4.0 a 6.0 kg, mientras que las hembras pesan de 2.7 a 4.0 kg. El macho es conocido por su larga cola compuesta por largas supracaudales que extiende en forma de deslumbrante abanico cuando eleva la cola, que está debajo. La cabeza, cuello y pecho son de color azul cobalto brillante. La espalda es verde iridiscente y las supracoberteras de la cola, extremadamente alargadas, también son de color verde iridiscente con ocelos de color naranja, azul, verde. Tiene la parte inferior de la espalda gris bronce con ondas, obispillo (rabadilla) negro. Ojos de color cobre, cara con líneas blancas y negras, y cresta pequeña en forma de abanico con plumas fuertes. La hembra mide 86 cm, no tiene cola larga es menos pintoresca que los machos. En la cabeza también tiene una cresta y la nuca es marrón rojizo; las partes superiores son marrones o café grisáceas, con moteado más pálido; la parte inferior del cuello es verde metálico, el pecho verde parduzco brillante y el vientre beige, patas y pico (32 mm) grises, y ojos marrones.

Tipo de alimentación

Se alimentan principalmente de semillas, granos, frutos secos y verduras. Son insectívoros y granívoros.

Reproducción

Es una especie polígama. El ritual de apareamiento es tan peculiar como lo es su hermosa cola. El macho despliega sus alas ante las hembras, moviéndolas incesantemente hasta que alguna de ellas cede al juego. La cola, así, tiene gran importancia en dicho ritual, hasta el punto de que suele se la vistosidad y el colorido de ésta lo que hace que una hembra se decida por un macho en concreto. Cuando esto se produce, el macho describe círculos alrededor de la hembra y la va dirigiendo hacia un lugar concreto, que el macho ya ha elegido de antemano, persiguiéndose constantemente hasta que la hembra cede o se descuida. Sus nidos los realizan en terrenos profundos, debajo de algún arbusto o entre las ramas de un árbol. Los machos no sólo exhiben la cola como parte del ritual de apareamiento, sino que también para amedrentar a sus rivales, e incluso cuando se sienten amenizadazos. Su graznido, es agudo y estrenduoso.

Número de crías que tiene

La hembra pone de 4 a 8 huevos (3 a 6 en promedio), y el periodo de incubación es de 28 a 30 días.

Descripción breve de su comportamiento

Viven en pequeños grupos o familias hasta la época de reproducción, en la que el macho se vuelve solitario y agresivo. Sólo la hembra se encarga de la incubación de los huevos. Es una especie de hábitos diurnos. Los pavos reales se alimentan en el suelo pero duermen en los árboles.

Medio donde habita

Terrestre

Tipo de ecosistema donde se encuentra

Se encuentra en bosques de baja vegetación secundaria, campos semiabiertos y praderas. Como especie nativa habita en la selva baja caducifolia y bosque

caducifolio.Gracias a la cría artificial, esta especie está extendida por amplias zonas del mundo.

Distribución

Distribución original: Asia, India, Paquistán y Sri Lanka
Exótica: Estados Unidos, California y Hawai.
En México podemos encontrar a esta especie en las Unidades de Manejo, Conservación y Aprovechamiento de vida Silvestre (UMAs). Los pavos reales son muy hermosos, por lo que mucha gente los adquiere como aves de ornato. Lo que podemos hacer es que se reglamente la adquisición de este tipo de animales, y que se exija al comprador que cumpla con las condiciones adecuadas para tenerlos en cautiverio, de lo contrario no se podrá vender. [3]

Objetivo

Describir las lesiones que causan los protozoarios de *Histomonas spp* en los órganos de un pavo real *(Pavo cristatus*) procedente del municipio de Colima, Colima.

Metodología

En enero del 2006 se remitió al departamento de Patología un pavo real macho de un año de edad (*Pavo cristatus*) proveniente de un criadero de aves del municipio de Colima, presentando la siguiente semiología: somnolencia, anorexia, emaciación progresiva, heces sanguinolentas, alas caídas, postración y muerte. Se realizó la necropsia y los órganos se incluyeron en formalina buferada al 10% pH 7.2 durante 72 horas, se procesaron con la técnica histológica de rutina, cortándose a 6 µ de espesor y tiñéndose con hematoxilina-eosina. [4]

Resultados

A la necropsia se encontraron los siguientes hallazgos macroscópicos: hígado aumentado de volumen, pálido, firme y lesiones multifocales necróticas de aproximadamente 1cm de diámetro. Las lesiones en los ciegos fueron en mucosa con exudado muco-hemorrágico y caseoso; serosa engrosada y congestionada. Los pulmones, riñones y bazo se encontraron congestionados. A la histología se observaron lesiones en el hígado que consistieron en focos de necrosis coagulativa con infiltrado inflamatorio de heterófilos, linfocitos y monocitos, estructuras ovoides acidofilicas compatibles con protozoarios de *Histomonas*, también se apreciaron áreas de congestión y hemorragias. Los ciegos presentaron lesiones en mucosa y submucosa con congestión, hemorragias, infiltración inflamatoria de heterófilos, macrófagos, linfocitos. En la lamina propia y submucosa se apreciaron numerosas estructuras ovoides acidolofílicas de color rojo pálido compatibles con *Histomonas*. La mucosa de los ciegos presentaron necrosis epitelial, abundante fibrina y células inflamatorias heterófilos y neutrófilos.

La presencia de lesiones macroscópicas, microscópicas e identificación de *Histomonas* en los tejidos son suficientes para establecer el diagnóstico de histomoniasis.

Discusión

El diagnóstico de la histomoniasis se realizó en base a las lesiones características de la enfermedad [1,5]. Sin embargo, también se ha asociado a la presencia del virus de la retículo endoteliosis [6] y a las bacterias de *E. coli, Bacillus subtilis* y *Clortidium* [7], en este estudio no se identificó ningún otro agente etiológico.
En la enfermedad se menciona al nemátodo de ciegos *Heterakis gallinarum* como hospedero intermediario importante [1], pero también se ha demostrado que la enfermedad se puede transmitir por contacto directo de ave-ave, sin estar presente *Heterakis gallinarum* y *Eisenia foetida* [8,9]. A la necropsia del pavo real no se encontró ningún otro parásito gastrointestinal, sin embargo es importante mencionar que se producen otras aves de ornato, se tienen todas juntas y en pisos de tierra.
La histomoniasis es capaz de afectar a pavos y otras aves silvestres [1,6,10] principalmente a pavos (*Meleagris gallopavo silvestris*) y es una enfermedad importante de prevalencia alta y capaz de causar pérdida económica [12].
Cuando esta presente la histomoniasis en criaderos de aves de ornato es importante implementar medidas preventivas, no existente inmunización, utilizando tratamiento con Nitroimidazole [7] o con dietas suplementadas con Natustat y Nitarsone [12], además de controlar las altas densidades de poblaciones de aves y establecer un programa de suplementación alimenticia con antiprotozoarios y un programa estricto de control de parásitos gastrointestinales [7,10,12].

Literatura

1. Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Mc Dougald, L.R. Saif, M. 1997. Diseases of Poultry. Iowa State University, Press, Ames, USA.
2. Greiner, E.C., and Forrester, D.J. 1980. *Haemoproteus meleagridis* Levine 1961: Redescriptión and developmental morphology of the gametocytes in turkeys. J. Parasit 66: 652-688.
3. Rodríguez, F.F. 1985. Enciclopedia Salvat de la Fauna, Ediciones Salvat, S.A.
4. Prophet., E.E., Milles, B., Arrington, J.B., Leslie, H., Sobin, M.D. 1995. Métodos Histotecnilógicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América, Washington, D.C.
5. Norton, R.A., Clark, F.D., Beasley, J.N. 1999. An outbreak of histomoniasis in turkeys infected with a moderate. Avian Dis 43 (2): 342-348.
6. Ley, D.H., Ficken, M.D., Cobb, D.T., Witter, R.L. 1989. Histomoniasis and reticuloendoteliosis in a wild turkey (*Meleagris gallopavo*) in North Carolina. J.Wild. L. Dis. 25(2): 262-265.

7. Mc Dougal, L.R. 2005. Blackhead disease (Histomoniasis) in poultry : a critical review. Avian Dis 49 (4): 462-467.
8. Hu, J., Fuller, L., Mc Dougald,L.R. 2004. Infection of tuerkeys with *Histomonas meleagridis* by the cloacal drop method. Avian Dis 48(4):746-750.
9. Mc Dougald, L.R., Fuller, L 2005. Blackhead disease in turkeys: direct transmission of *Histomonas meleagridis* from bird to bird in a Laboratory model. Avian Dis 49(3): 328-331.
10. Hurst, G.A. 1980. Histomoniasis in wild turkeys in Mississippi. J Wild Dis 16(3):357-358.
11. Long, P.L., Current, W.L., Noblet, G.P. 1987. Parasites of the christmas turkey. Parasitol Today 3(12): 360-366.
12. Duffy, C.F., Sims, M.D., Power, R.F. 2005. Evaluation of dietary Natustat for control of *Histomonas meleagridis* in male turkeys on infected litter. Avian Dis 49(3):423-425.

LINFOMA ESPLÉNICO EN UN PERRO

Luis Jorge García Márquez[1, 2] José Luis Vázquez García[4] Ramón Ruelas Avilés[3] Erika Alejandra Macias Hernández[2] Ricardo Alzaga Nuñez[2]

1 Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario (CUIDA) Universidad de Colima. Tecomán, Colima, CP. 28100, Tel: 013133229413 e-mail: ljgm_cmv@hotmail.com y ljorgepatologia@gmail.com
2 Departamento de Patología de la FMVZ de la Universidad de Colima, Tecomán, Colima, CP. 28100, Tel: 013133229407
3 Hospital Veterinario de Pequeños Animales. Colima, Col. Tel: 013123130807
4 Unidad de Patología y Diagnóstico Integral Animal. Colima, Col. Tel: 013123130807

RESUMEN

El objetivo es describir un linfoma esplénico en un perro procedente de un hospital veterinario de pequeñas especies de la ciudad de Colima, México.
Se presentó a consulta un paciente canis, hembra, criollo de 2 años de edad, con un problema abdominal de tres meses de evolución, la semiología fue: anorexia, diarrea, emesis, poliuria, polidipsia y distensión abdominal bilateral, las constantes fisiológicas fueron: FR: 60, FC 100, pulso: 100, T 38.4°C . Se realizaron los siguientes estudios complementarios: hemograma, función renal, ultrasonido, laparatomía exploratoria con esplecnotomía e histopatología. Los exámenes de sangre y función renal no presentaron cambios importantes, el ultrasonido presentó una disminución de la ecogenicidad con una masa focal con hipogenicidad en la parte craneal del parénquima esplénico. A la esplecnotomía el bazo presentó una masa nodular difusa sobre la parte craneal, firme, lisa y áreas de color blanco-grisáceo de 20 x 30 cm de longitud. A la histología se observó un patrón difuso y focal que involucra a centros germinativos, pulpa roja, blanca y trabéculas, las células linfoides neoplásicas predominan linfocitos grandes con núcleos redondos con cromatina marginada y nucléolos aparentes, citoplasma abundante pálido y escasas mitosis anormales. El estudio clínico-patológico corresponde a un linfoma esplénico.

Palabras claves: neoplasias, perros, tumores, linfoma, bazo, patología.

ABSTRACT

The objective was to describe a splenic lymphoma of a dog coming from a veterinary hospital of small species of the state of Colima, Mexico. It was presented to consultation a *Canis* patient, female, two year-old Creole, with an abdominal problem of three months of evolution, the semiology was: anorexy, diarrhea, emesis, polyuria, polydipsia and bilateral abdominal distension. The physiologic constants were: respiratory frequency 60, heart frequency 100, pulse 100 and 38.4° C of temperature. They were carried out the following complementary studies: hemograma, renal function, ultrasound, exploratory

laparotomy with splenectomy and histopathology. The exams of blood and renal function didn't present important changes, the ultrasound presented a decrease of the echogenicity with a focal mass with hypogenicity in the cranial part of the splenic parenchyma. In the splenectomy the spleen presented a diffuse nodular mass on the cranial, firm, flat part and areas of white- grayish color of 20x30 cm of longitude. To the histology a diffuse and focal pattern was observed that involves to germinative centers, red pulp, white pulp and trabeculas, the neoplasic lymphoid cells prevail, big lymphocytes with round nuclei with excluded chromatin and apparent nucleolus with abundant cytoplasm pale and scarce abnormal mitosis. The pathological clinical study corresponds to a splenic lymphoma.

Key Words: Neoplasic, dogs, tumors, lymphoma, spleen, pathology

Introducción

El linfoma o linfosarcoma es un neoplasia linfoide que afecta sobre todo los ganglios linfáticos u otras vísceras como el hígado y bazo. Estos trastornos linfoproliferativos son los más comunes en las pequeñas especies, los perros jóvenes o adultos son los más afectados, no hay predilección de sexo ni raza, pero hay más prevalencia en Pastor Alemán, Boxer, Poodle, Bassets y San Bernardo.[1]

Los linfomas se clasifican según el sitio anatómico en: multicéntrico, es la forma más común en perros, hay afección a ganglios linfáticos , hígado y bazo. Alimentario. Afecta al tracto gastrointestinal y puede incluir al hígado, bazo y riñón. Mediastínico: es más común que la forma cutánea y produce derrames pleurales. El cutáneo se caracteriza por tumores cutáneos individuales o múltiples de aspecto muy variable y la forma extranodal que incluye: ojos, sistema nervioso central, huesos, corazón, riñones, vejiga y cavidad nasal.[2, 3, 4]

Para clasificar la extensión de la enfermedad se emplea el sistema de estadificación clínica de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

La etapa I es afección limitada a un solo ganglio linfático o tejido linfoide en un solo órgano.

La etapa II es afección de muchos ganglios linfáticos en una región.

La etapa III es afección generalizada de ganglios linfáticos.

La etapa IV es afección de hígado, bazo o ambos (con etapa III o sin ellas).

La etapa V cambios hemáticos y afección de médula ósea, otros sistemas orgánicos o ambos (con etapas I a IV o sin ellas).[4]

Existe otra clasificación de linfomas en animales domésticos y es de acuerdo a: clasificación citológica: linfocítica proliferativa, linfoblástica e histiocítica. Clasificación por patrón: folicular (nodular) y difuso. Clasificación anatómica: multicentrico, tímico, alimentario, cutáneo y solitario. Clasificación inmunomorfológica: células tipo B, células tipo T, células tipo nulo. Otros tipos son leucemias linfocíticas agudas o crónicas, tumor de células plasmáticas, mieloma múltiple, plasmocitoma extramedular y linfoma Hodgkin´s.[5]

Los linfomas en perros es una neoplasia común, su incidencia es alta y se reporta de 13 a 24 % por cada 100 000 perros, los linfomas ocurren en perros de menos de un año de edad, pero pueden aparecer en animales jóvenes de 4 meses de

edad, perros de 1 a 4 años de edad presentan un 10 % de linfomas y la incidencia aumenta con la edad, perros de 5 a 11 años el 80 % de linfomas.[5]

Objetivo

Descripción de un linfoma esplénico en un perro procedente de un hospital veterinario de pequeñas especies del Estado de Colima, México

Metodología

Se presentó a consulta el día 17 de octubre del 2005 un paciente canis, criollo, hembra de 2 años de edad, de nombre Shina con la siguiente historia clínica: peso de 21.2 kg con motivo de consulta de abdomen abultado con evolución de 3 meses con diarrea, anorexia, distención abdominal bilateral, emesis, poliuria y polidipsia. Al examen físico reporto FR: 60 por minuto, FC 100 por minuto, pulso: 100 por minuto y 38.4°C de temperatura. Se efectuó un examen de ultrasonido abdominal, una biometría hemática y pruebas de funcionamiento renal. Finalmente se realizo una laparatomía exploratoria; para hacer una esplecnotomía , se tomaron secciones de bazo y se incluyeron en formalina buferada al 10 % pH de 7.2, posteriormente se realizó la técnica histológica de rutina, cortando a 6 micras de espesor y tiñéndose con hematoxilina-eosina (H-E).[6]

Resultados

La biometría hemática y las pruebas de función renal fueron:

Hemograma		Función renal	
Hematocrito	58 %	Urea	49.8 mg/dl
Hemoglobina	19	Creatinina	<0.50 mg/dl
Glóbulos rojos	8	BUN	23.40 mg/dl
VCM	72.5		
CMHC	32.7		
Proteínas plasmáticas	7		
Glóbulos blancos	31800		
Neutrofilos segmentados	25440		
Neutrofilos banda	954		
Linfocitos	2862		
Monocitos	954		
Eosinofilos	1590		

Ecográficamente se observó una disminución difusa de la ecogenicidad con granulación más gruesa de lo normal con una masa focal hipoecogénica distribuida en la parte craneal del parénquima esplénico, con diagnóstico por ultrasonido de una masa en parénquima esplénico compatible con neoplasia.

Se realizó la esplecnotomía y el bazo presentó un aumento de tamaño en su porción craneal una masa difusa aislada nodular lisa, firme y áreas de color blanco-grisáceo, de 20 x 30 cm, el resto de la víscera esta turgente friable, y color rojizo obscuro con pequeñas áreas de infarto.
A la histopatología el bazo presentó un patrón de distribución focal y difuso, que involucra a los centros germinativos de los folículos linfoides, pulpa roja, blanca y trabéculas, con difusión al resto del órgano, manteniéndose la arquitectura del bazo.
Las células linfoides neoplásicas presentan características morfológicas comunes de tamaño variable, predominando las células grandes, con núcleo redondo u oval con la cromatina marginada a la membrana nuclear con nucléolos prominentes, citoplasma pálido abundante y escasas mitosis anormales.
Los demás órganos linfoides no presentaron cambios patológicos, el único órgano afectado fue el bazo y en su estudio macroscópico y microscópico corresponde a un linfoma esplénico.

Discusión

Los linfomas se presentan en diferentes sitios: multicentrico, alimentario, mediastinito y extranodal, el linfoma alimentario ocurre aproximadamente en el 5 % de los casos[7,8] pero también es común la forma multicéntrico[9].
En este caso se presento como esplénico y algunos autores lo reconocen como alimentario.
Existen otras presentaciones del linfoma, como; cutáneo[10], gastrointestinal[11], mesenterico[12], extranodal unicentrico[13], músculo esquelético[14] y linfoma cardiaco[15].,
La signología depende del sitio y la localización del tumor y el diagnóstico se basa en pruebas como aspiración con aguja fina[16], citología[10, 17], biopsia[10], histopatología[10, 17], endoscopia[7], inmunohistoquímica y caracterización molecular[8].
El protocolo de tratamiento se sugiere con quimioterapia.[17]

Literatura

1. Ettinger, S. J, Feldman, E. C. 1995 Textboock of Veterinary internal Medicine. Diseases of the dog and cat. Sounders company, Fourth Edition, Vol 1 and 2.
2. Morgan, R. V. 1999Clínica de Pequeños Animales. Hare ourt-Brace 3th edition.
3. Green, C. E. 1993 Enfermedades infecciosas perros y gatos. Interamericana-McGraw-Hill.
4. Birchard, S. J., Sherding, R. G. 1996 Manual clínico de pequeñas especies. Vol 1 y 2. Interamericana-McGraw-Hill.
5. Moulton, J. E 1990 Tumors in domestic animals. Third Edition, University of California Press.

6. Prophet, E. B., Mills, B., Arrington, J. B. Leslie, H., Sobin, M. D. 1995 Métodos histotecnológicos. Instituto de Patología de la Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América, Washington, D.C.
7. Miura T, Maruyama H, Sakai M, Takahashi T, Koie H, Yamaya Y, Shibuya H, Sato T, Watari T, Tokuriki M, Hasegawa A. Endoscopic findings on alimentary lymphoma in 7 dogs. J Vet Med Sci. 2004 May;66(5):577-80.
8. Cienava EA, Barnhart KF, Brown R, Mansell J, Dunstan R, Credille K. Morphologic, immunohistochemical, and molecular characterization of hepatosplenic T-cell lymphoma in a dog. Vet Clin Pathol. 2004;33(2):105-10.
9. Blackwood L, German AJ, Stell AJ, O'Neill T. Multicentric lymphoma in a dog after cyclosporine therapy. J Small Anim Pract. 2004 May;45(5):259-62.
10. Choi US, Jeong SM, Kang MS, Jung IS, Kim DY, Lee CW. Cutaneous lymphoma in a juvenile dog. Vet Clin Pathol. 2004;33(1):47-9.
11. Coyle KA, Steinberg H. Characterization of lymphocytes in canine gastrointestinal lymphoma. Vet Pathol. 2004 Mar;41(2):141-6.
12. Yasuda D, Fujita M, Yasuda S, Taniguchi A, Miura H, Hasegawa D, Orima H. Usefulness of MRI compared with CT for diagnosis of mesenteric lymphoma in a dog. J Vet Med Sci. 2004 Nov;66(11):1447-51.
13. Vascellari M, Multari D, Mutinelli F. Unicentric extranodal lymphoma of the upper eyelid conjunctiva in a dog. Vet Ophthalmol. 2005 Jan-Feb;8(1):67-70.
14. Bennett SL, Slocombe RF, Holloway SA, Charles JA, Sandy JR. Lymphoma(s) showing epitheliotropism and diffuse skeletal muscle involvement presenting as a polymyopathy in a young dog. Aust Vet J. 2005 Oct;83(10):612-5.
15. MacGregor JM, Faria ML, Moore AS, Tobias AH, Brown DJ, de Morais HS. Cardiac lymphoma and pericardial effusion in dogs: 12 cases (1994-2004). J Am Vet Med Assoc. 2005 Nov 1;227(9):1449-53.
16. Winkler S, Murua Escobar H, Reimann-Berg N, Bullerdiek J, Nolte I. Cytogenetic investigations in four canine lymphomas. Anticancer Res. 2005 Nov-Dec;25(6B):3995-8.
17. Williams LE, Johnson JL, Hauck ML, Ruslander DM, Price GS, Thrall DE. Chemotherapy followed by half-body radiation therapy for canine lymphoma. J Vet Intern Med. 2004 Sep-Oct;18(5):703-9.

Mixoma subcutáneo en un bovino

Luis Jorge García Márquez [1,2], José Luis Vázquez García [3], Gabriela Chávez Torres [2], Omar Francisco Prado Rebolledo [2], Ricardo Álzaga Núñez [2], Martha Macias de la Mora [2].

1. Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario (CUIDA) Universidad de Colima, Tecomán, Colima, CP. 28100. Tel. 01(31)33-22-9413. E-mail: ljgm_cmv@hotmail.com, ljorgepatologia@gmail.com.
2. Depto. de Patología de la FMVZ, Universidad de Colima, Tecomán, Colima. CP. 28100. Tel 01(31)33-22-9407
3. Unidad de Diagnóstico Integral, Colima, Colima. CP.28010. Tel. 01(31)23-13-0807

Resumen

El mixoma y mixosarcoma son considerados como neoplasias de origen fibroblasticos con matriz de mucina. El objetivo fue describir un casi clínico patológico de un mixoma subcutáneo de un bovino hembra criollo de ocho años de edad, procedente de un sistema de producción de doble propósito del municipio de Villa de Álvarez, Colima. Se remitió una biopsia de piel y tejido subcutáneo que se ubicaba en la región parotídea izquierda, debajo del cuerno y a un lado de la oreja, tejido de crecimiento lento, pedunculado y móvil de 25 cm de largo y 10 cm de ancho, blando al tacto y color grisáceo-rojizo. Se fijó en formalina buferada al 10% pH 7.2 y se procesó con la técnica histológica de rutina. El tejido fue una masa blanda, suave, no encapsulado con áreas de líquido viscoso claro. A la histología se observó un estroma fino de tejido conjuntivo y fibroso de colágena con fibroblastos, fusiformes y estrellados con núcleos hipercromáticos redondos y elongados con nucléolos aparentes y tejido mucinoso intercelular

Palabras Clave: Myxoma, neoplasias, bovinos, patología, tumores, Colima.

Abstract
Subcutaneous myxoma in a cow

The myxoma and myxosarcoma are considered as neoplasia of fibroblastic origin with mucine matrix. The objective was to describe one clinical pathologic case of a subcutaneous myxoma of a female Creole bovine of eight years old, coming from a system of production of double purpose of the district of Villa de Álvarez, Colima. Was remitted a skin biopsy and subcutaneous tissue that it was located in the left parotidean region, under the horn and to a side of the ear, tissue of slow growth, pedunculated and mobile of 25 cm of long and 10 cm of wide, soft to the tact and grayish-reddish color. Was fixed in buffered formalin at 10% and pH 7.2 and it was processed with the routine histological technique. The tissue was a bland, soft mass, not encapsulated with areas of clear viscous liquid. At the histology a fine

stroma of conjunctive and fibrous tissue of collagen was observed with fibroblasts, fusiform and starry with round hipercromatic nuclei and elongated with nucleoli apparent and mucinotic intercellular tissue.

Key Words: Myxoma, neoplasia, bovine, pathology, tumors, Colima

Introducción

Los sarcomas de tejidos blandos son tumores que se originan de tejido mesodérmico y constituyen 14 a 17% de todas las neoplasias malignas. Son tumores no epiteliales y extraesquléticos que pueden originarse de tejido fibroso, adiposo, muscular, sinovial, vasos sanguíneos y linfáticos. Desde el punto de vista histológico, los sarcomas de tejido blandos se clasifican según el tejido de origen específico.[1] La etiología de la mayor parte de los sarcomas se desconoce sin embargo, se han sugerido diversas causas y factores predisponentes, que incluyen predisposición genética, agentes virales, químicos carcinogénicos, radiaciones ionizantes, implantes de cuerpo extraño y traumatismos(1). La conducta biológica de los sarcomas es en general de invasión local e infiltración a lo largo de planos aponeuróticos, lo que da lugar a que los bordes tumorales estén pocos definidos, con frecuencia son lentos para crecer y dar metástasis, pero cuando lo hacen es por diseminación hematógena a pulmones e hígado. Ejemplo de sarcomas: liposarcoma, hemangiopericitoma, fibrosarcoma, hemangiosarcoma, schwannoma y neurofibrosarcoma, mixoma, mixosarcoma, rabdiomiosarcoma, leiomiosarcoma, carcinoma de células sinoviales, linfangiosarcoma, histiocitoma fibroso maligno.[2] El mixoma y mixosarcoma son considerados como neoplasias de origen fibroblastos, pero su tamaño y patrón histológico son distintos a los de fibroma y fibrosarcoma, por eso se incluyen en categorías diferentes. La presencia de mucina en la matriz intercelular hará la diferencia entre mixoma y fibroma.[2]

Los mixomas ocurren en cualquier especie doméstica pero su incidencia es rara, usualmente afecta animales adultos y no ha predisposición de raza o sexo. El mixoma puede aparecer en cualquier sitio donde hay tejido conectivo, pero en la piel es le sitio mas común, pero se han localizado en corazón, hígado y canal espinal.[2]

El diagnóstico se basa en la historia clínica, examen físico, patología clínica, radiografías, ultrasonografía, tomografía computarizada, biopsia e histopatología; el objetivo que se persigue es identificar el tipo histológico del tumor y determinar si hay metástasis. La única forma de establecer el diagnóstico definitivo es por biopsia e identificación histológica de tumor. [2]

Objetivo

Describir un caso clínico-patológico de un mixoma subcutáneo de un bovino criollo adulto procedente de un sistema de doble propósito del Estado de Colima, México.

Metodología

Se remitió al departamento de Patología una biopsia de piel de un bovino criollo, hembra de ocho años de edad, procedente de un sistema de doble propósito del municipio de Villa de Álvarez, Colima.
El tejido se encontraba en la piel de la región parotídea izquierda por debajo del cuerno y a un lado de la oreja, el tejido presentó un crecimiento lento, de forma pedunculado, móvil, bilobulado de 25 cm de largo por 10 de ancho, no presentaba pelo, blanda al tacto, de color grisáceo-rojizo y úlcera de piel.
Se realizó una biopsia y el tejido se fijó en formalina buferada al 10% pH 7.2, se proceso con la técnica histológica de rutina, cortándose a 6 micras de espesor, tiñéndose con hematoxilina-eosina. [3]

Resultados

Al corte del tejido se observó una masa blanda, suave de color blanco-grisáceo, con crecimiento infiltrativo no encapsulado, algunas áreas presentaron un líquido viscoso claro.
A la histopatología se observó un tejido con estroma fino de tejido conjuntivo con fibras de colágena, fibroblastos y un estroma mucinoso, las células son fusiformes y estrelladas con núcleos hipercromaticos redondos y alongados con múltiples nucléolos aparentes y escasas figuras mitóticas.
De acuerdo al estudio macroscópico y microscópico corresponde a u tumor de tejido subcutáneo: mixoma

Discusión

La presentación del mixoma subcutáneo es este estudio se le considera como una neoplasia benigna y rara en bovinos; sin embargo, ya se habían descrito en la literatura mixomas en vacas, en 1954 como un mixofibroma en una vaca [4], en 1967 se descubrió un mixoma primario en la región subcutánea en una vaca [5], en 1981 reportaron un caso de mixoma interdigital en una vaca [6]. Se han descrito mixomas cardiacos atriales [7,8], en intestino delgado formando pólipos mixomatosos [9] y tumores odontogénicos [10] como ameloblastomas, épulis y mixomas.
Este estudio no se demostró factor predisponente, sin embargo, se menciona que el virus del mixoma secreta factores de virulencia y regulan la respuesta inmune [11]
.
Se le han asociado antígenos de piel, epitelio del cuerno, nodo linfoide e hígado a extractos tumorales de mixomas, fibromas y fibrosarcomas sin encontrar reactividad. [12]
También se le asociado a bovinos con tensiones de estrés, transporte, con enfermedades de fiebre de embarque y PI_3 en América y Europa. [13]
En este edtudio se presentó el mixoma subcutáneo de manera aislada, sin metástasis y con un curso clínico benigno, como se menciona en la literatura [14] y su diagnóstico es a través d una biopsia y tratamiento quirúrgico. [14]

Referencias

1. Smith, P.B. 2002. Large Animal Internal Medicine Third Edition. Mosby, Philadelphia, USA
2. Moulton, J.E. 1990. Tumors in Domestic Animals Third Edition, University of California Press.
3. Prophet, E.B., Mills, B., Arrington, J.B., Leslie, H., Sobin, M.D. 1995. Métodos histotecnológicos, Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América, Washington, D.C.
4. Marshak, R.R. 1954. Myxofibroma in a cow. J. Am. Vet. Med. Assoc. 125(933):449-450
5. Mohiyuddin, S. and Malaki, A. 1967. A case of primary myxoma of sub-cutaneous region in a cow. Indian Vet. J. 44(7):613-615
6. Misra, S.S., Angelo, S.V. and Azad, C.S. 1981. Interdigital myxoma in a Hariana cow. Vet. Med. Small. Anim. Clin. 76(3):381
7. Canfield, P.J and Bennett, A.M. 1979. Cardiac myxoma in a steer. Zentralbl Veterinarmed A. 26(6):464-467
8. Mosishita, K, Fukada, J. and Abe, T. 1997. Invested T-shaped biatral insicion for large left atrial myxoma. J. Card. Surg. 12(2):112-115.
9. Rosenberg, G. 1971. Myxomatoid polyps in the small intestine as the cause for severe hemorrhage in a cow. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 78(14):403
10. Saku, T., Okabe, H. and Shimokawa, H. 1992. Inmunohistochemical demonstration of enamel proteins in odontogenic tumors. J. Oral Pathol. Med. 21(3):113-119.
11. Seet, B.T., Barrett, J., Robichaud, J., Shilton, B., Singh, R., and McFadden, G. 2001. Glycosaminoglycan binding properties of the myxoma virus CC-chemokine inhibitor, M-T1. J. Biol. Chem. 276(32):30504-30513
12. Kuchroo, V.K., Dutta, B.M., and Gupta, R.K. 1982. Tumor associated antigens in bovine horn cancer. Aust. Vet. J. 58(1):16-19
13. McKercher, D.G. 1963. A comparative study of a strain of myxovirus from cattle in California affected with shipping fever with American and European strains of parainfluenza 3 virus. Cornell Vet. 53:262-269
14. Yeruham, I. and Perl, S. 2002. Melanocytoma and myxoma-tumors of the limbs in cattle. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 115(11-12):425.427

PROTOTECOSIS FOCAL EN UN CANINO. DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO-PATOLÓGICO.

Ma. Teresa Dorantes Ramírez[1], Eugenia Candanosa Aranda[2*], Carlos Santoscoy Mejía[3], Edna Vianey Valencia[2]

[1] Programa de Residencia Especialidad en el Hospital Veterinario de Especialidades. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.
[2]Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. [3] Ortopedia y Neurología del Hospital Veterinario de Especialidades. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

Resumen

Un canino hembra cobrador de labrador de 4 años se presentó con historia de convulsiones hace 18 meses, depresión y claudicación de miembro pélvico derecho. A la evaluación clínica se encontró dolor a la manipulación de rodilla derecha, coriorretinitis y neuritis óptica. La radiografía de rodilla derecha reveló reacción perióstica en parte distal de fémur sugerente de neoplasia ósea. En la evaluación histopatológica de biopsia de hueso el diagnóstico morfológico fue de osteitis piogranulomatosa grave zonalmente extensiva y zonas de fibrosis con estructuras compatibles con *Prototheca sp*. Se realizaron tinciones de Gram, PAS y Grocott, las estructuras compatibles con *Prototheca spp* resultaron positivas a las dos últimas. Se instituyó tratamiento con ketoconazol a 20 mg/kg PO BID, anfotericina B a 0.5 mg/kg IV tres veces por semana, tetraciclina 500 mg totales PO TID y ranitidina a 2 mg/kg PO BID. La paciente ha respondido al tratamiento de manera favorable, al cual se le ha dado un seguimiento clínico y radiográfico. Se consideró la posibilidad de que se haya infectado de esta levadura en un lugar con aguas residuales cercano a su residencia.

Palabras claves: Prototheca sp, hueso, perro.

Abstract

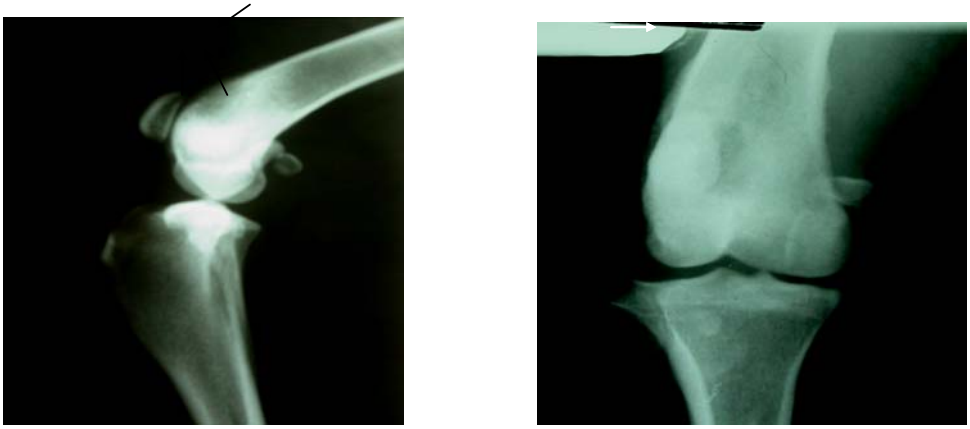
A four-year-old female Labrador retriever was admitted with a history of seizures occurring 1½ years ago, depression, and lameness of the right pelvis limb. The clinical evaluation revealed pain at movement of the right knee, coriorretinitis and optical neuritis. An X-Ray of the right knee revealed a periostic reaction on the distal part of the femur that suggests the existence of bone tumors. The histopathological evaluation of bone biopsy was pyogranulomatous osteitis with organisms compatible with *Prototheca spp*. An oral treatment of 20 mg/kg of ketoconazol and 2 mg/kg of ranitidine PO BID and 500 total mg of tetracycline PO TID was administred, along with an IV of 0.5 mg/kg of amphotercina B three times per week. The patient responded favorably to the treatment not just clinically, but also radiographically.

Key words: *Prototheca sp,* bone, dog.

Introducción

La prototecosis es una enfermedad poco frecuente, causada por algas aclóricas del género Prototheca, se consideran algas verdes mutantes de las clorelas. (Greene, 1990). Viven en el medio ambiente, principalmente en aguas estancadas y abrevaderos (Thomas et al., 1990). El género Prothoteca incluye tres especies: *P. wickerhamii* y *P. zopfi*i, conocidas como patógenas, y *P. stagnora*, usualmente no asociada con patologías (Greene, 1990). De estas, la *P. zopfii* es relevante en medicina veterinaria y la *P. wickerhamii* en humanos. (Hurre et al., 1993). La distribución es mundial, se han informado casos en Australia, Sudáfrica, y algunos estados de E.U.A. La enfermedad es más común en hembras, que en machos.
La fisiopatología de la prototecosis en caninos no esta completamente descrita, se menciona que la infección en pacientes inmunocomprometidos se inicia en colon, después de ser ingerido el microorganismo, con la subsiguiente diseminación a sangre y linfa (Migaki,1988). Los signos clínicos predominantes son: diarrea hemorrágica, perdida de peso, debilidad, manifestaciones oculares como coriorretinitis, desprendimiento de retina, opacidad del vitreo y ceguera (Cook et al., 1984, Migaki, 1988,); manifestaciones del sistema nervioso central, lesiones piogranulomatosas en riñón, y en músculo esquelético (Greene, 1990). Esta semiología varía de acuerdo con los órganos afectados y la severidad de las lesiones provocadas. La presentación cutánea esta asociada por lo regular con *P. wickerhamii*, las lesiones consisten en nódulos, y ulceras con exudado purulento en la zona contaminada por el alga. La forma cutánea puede llegar a transformarse en presentación sistémica.

Historia clínica
Un canino hembra Labrador de 4 años se presentó al Hospital Veterinario de Especialidades de la Universidad Autónoma de México, con claudicación grado III del miembro pélvico derecho desde hace 1 semana, depresión y presencia de una convulsión hace un años y medio, con calendario de vacunación no actualizado.
A la evaluación clínica se encontraron constantes fisiológicas dentro de intervalos de referencia y al examen ortopédico se presentó dolor a la manipulación de rodilla derecha. Se tomó un estudio radiográfico de rodilla derecha, donde se describió una reacción perióstica irregular a nivel del cóndilo de fémur derecho sugerente de neoplasia ósea. (Figuras 1 y 2).



Figuras 1 y 2 - Reacción perióstica irregular a nivel del cóndilo de fémur derecho

Se realizaron análisis de laboratorio, observándose leucocitosis de 20.3 x 10^9/L por neutrofilia de 17.5 x 10^9/L asociado a inflamación crónica y eosinofilia de 1.4 x 10^9/L por degradación tisular; en la química sanguínea se observó incremento de ALT de 184 U/L por degradación hepatocelular.

Hallazgos microscópicos

Se tomó biopsia de hueso para estudio histopatológico, se observaron áreas extensa d necrosis con una respuesta celular limítrofe de abundantes macrófagos, células epiteliodes y fibroblastos, neutrófilos, el diagnostico obtenido fue de osteítis piogranulomatosa grave zonalmente extensiva y fibrosis multifocal con estructuras compatibles con *Prototheca sp* intralesionales, (Figuras 3 y 4), el cual fue corroborado con tinciones de PAS y Grocott.

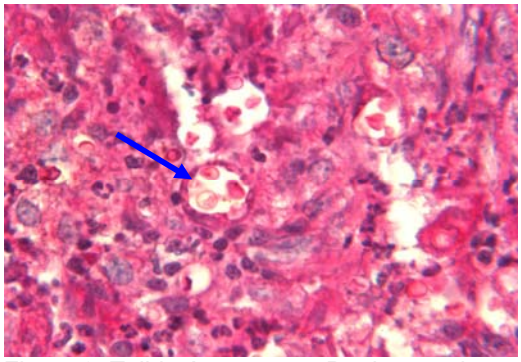


Figura 3. Tejido óseo, perro. Prothotecosis.

Prototheca sp . Tinción de PAS

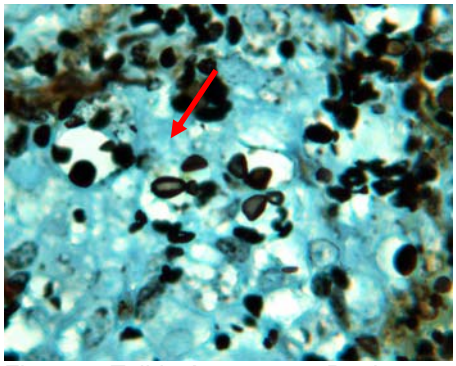


Figura 4. Tejido óseo, perro. Prothotecosis.

Prototheca sp . Tinción de Grocott.

La herida quirúrgica realizada para la biopsia ósea presentó dehiscencia de puntos y un absceso. Se realizó desbride quirúrgico, tomando biopsia de músculo y piel del área afectada para histopatologia, dando un diagnóstico de dermatitis y

paniculitis fibrinohemorrágica y supurativa con extensas zonas de fibrosis. Se examinó fondo de ojo observando coriorretinitis y neuritis óptica.
Se tomaron muestras de líquido cerebroespinal, orina y lavado traqueal para cultivo micológico y serología, no encontrando ninguna anormalidad.
Se inició tratamiento con ketoconazol a 20 mg/kg PO BID, tetraciclina a 500 mg TOT PO TID, amoxiclina con ácido clavulánico a 22 mg/kg PO BID por 10 días, y anfotericina B a 0.5 mg/kg IV 3 veces a la semana.
Debido a las alteraciones encontradas en el fondo de ojo y la historia de convulsiones se decidió tomar muestras para diagnóstico de moquillo con resultados positivos por medio de la prueba de inmunoflorescencia.
La paciente presentó vómito, anorexia, depresión, perdida de peso, e hiperazotemia renal como efectos secundarios a la aplicación de anfotericina B y los resultados de los cultivos de líquido cefalorraquídeo, orina y lavado traqueal resultaron negativos a *Prothoteca sp.* y las convulsiones, la coriorretinitis y la neuritis óptica, se asociaron a moquillo canino descartando las posibilidad de que exista una prototecosis sistémica, se decide establecer un tratamiento menos agresivo para una prototecosis focal, retirando la aplicación de anfotericina B, tetraciclina y disminuyendo la dosis de ketokonazol a 10 mg/kg PO BID.
Dos meses después se monitoreo a la paciente, en donde los propietarios comentaron que la paciente esta de muy buen animo, come de manera normal, no claudica y ha subido de peso. A la evaluación clínica no se encontró ninguna alteración, se realizó estudio radiográfico de rodilla derecha en donde se observa en comparación con el estudio anterior una marcada disminución de la reacción perióstica de la parte distal de fémur. Se realizó hemograma en donde persiste la eosinofilia por degradación tisular, en la química sanguínea se observó incremento de urea de 9.9 mmoL/L, creatinina de 146 µmoL/L asociado a insuficiencia renal crónica causada por el tratamiento con anfotericina B, y ligero incremento de ALT 86 U/L asociado a la medicación con ketoconazol, en el urianálisis se encuentra una densidad urinaria de 1.008.
Actualmente, la paciente continua medicada con ketoconazol a 10 mg/kg PO BID hasta su próximo monitoreo.

Discusión

La fisiopatología de la prototecosis aun no esta completamente descrita. Se refiere que la infección inicia en el colon, a raíz de que la prototheca es ingerida, con una diseminación subsecuente a sangre y linfa (Migaki 1988) o en la presentación cutánea donde se contamina la piel por medio de alguna herida. En nuestra paciente no se conoce con exactitud como se estableció la *Prototheca sp*. Sin embargo, la historia refiere que la paciente en ocasiones pasaba por un lugar donde hay aguas residuales y debido a esto se sospecha que fue en ese lugar donde se infectó. Por lo que se postula que esta pudo haber llegado a hueso por una lesión cutánea local aunada a un cuadro de inmunosupresion asociado a moquillo canino. La diferenciación entre las especies puede ser realiza por medio de anticuerpos fluorescentes, microscopía electrónica e inmuno histoquímica (Tyler *et al*., 1980, Greene 1990).
A pesar de que los órganos mas comúnmente afectados son el ojo, el sistema nervioso central, riñón, hígado, linfonodos, y el corazón causando lesiones

piogranulomatosas, es posible que se presenten este tipo de lesiones en el sistema musculoesqueletico, como en este caso, donde la paciente aparentaba presentar un cuadro de prototecosis sistémica por las manifestaciones nerviosas (convulsión y neuritis óptica) y oculares (coriorretinitis). Sin embargo, los diferentes estudios realizados y su buen estado de ánimo indicaron que se trataba de un caso de moquillo canino con prototecosis ósea focal.

El tratamiento para prototecosis sistémica es muy agresivo y puede dejar algunas secuelas como una insuficiencia renal o hepática, pero también que la presentación sistémica de la enfermedad es aun mas agresiva e incluso mortal, es por esto que se estableció al inicio de la enfermedad un tratamiento agresivo que tuvo como consecuencia la insuficiencia renal crónica con la que cursa la paciente.

LITERATURA CONSULTADA

1. Berrocal A, Rodriguez J, Valverde A. Prototecosis sistémica en un canino. Descripción patológica de un caso. Arch. Med. Vet. 1997;29: 307-312
2. Cook JR, Tyler DE, Coolter DB, Chandler FW. Disseminated protothecosis causing acute blindness and deafness in a dog. J. Am. Vet. Med. Ass. 1984;184: 1266-1272
3. Greene CE. Infectious diseases of the dog and cat. Iowa: W.B. Saunders Company. 1990, 742-8
4. Huerre M, Ravisse P, Salomón H, Ave P, Briquelet N, Maurin S, Wuscher N. Protothecoses humane et environment, Bull. Soc. Path. Ex. 1993; 86: 484-488.
5. Migaki G. Protothecosis. In: Manual of Small Animal Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone. 1988. 337
6. Rallis TS, Tontis, D., Adamama-Moraitou, KK, Mylonakis ME, Papazoglou, LG. Protothecal Colitis in a German Shepard Dog. Aust Vet J. 2002; 80:406-408.
7. Tyler DE, Lorenz MD, Blue JL, Munnell JF, Chandler FW. Disseminated protothecosis with central nervous system involvement in a dog. *J of A. Vet Med Asso.* 1980; 176:987-993
8. Wilkinson GT, Leong G. Protothecosis in a Dog. Aust Vet Practit. 1988; 18:47-49.

Uropatía parcial obstructiva unilateral en un perro

Luis Jorge García Márquez[1,2], Ramón Ruelas Avilés[3], José Luis Vázquez García[4], Shiomara Sharon Ortíz Guardado[2], Ricardo Álzaga Núñez[2].

4. Centro Universitario de Investigación y Desarrollo Agropecuario (CUIDA) Universidad de Colima, Tecomán, Colima, CP. 28100. Tel. 01(31)33-22-9413. E-mail: ljgm_cmv@hotmail.com, ljorgepatologia@gmail.com.
5. Depto. de patología de la FMVZ, Universidad de Colima, Tecomán, Colima. CP. 28100. Tel 01(31)33-22-9407
6. Hospital Veterinario de Pequeños Animales, Colima, Colima. CP: 28010. Tel. 01(312) 3130807
7. Unidad de Diagnóstico Integral, Colima, Colima. CP.28010. Tel. 01(31)23-13-0807

Resumen

El objetivo fue describir un caso clínico-patológico de una uropatía parcial obstructiva o hidronefrosis unilateral en un perro procedente de un hospital veterinario de la ciudad de Colima, México. El 13 de diciembre del 2005 se presentó a consulta un perro criollo, hembra castrada de 3 años de edad con la siguiente semiología: anorexia, constipación, vómito, letargia, depresión progresiva. Se tomo una placa radiográfica de abdomen con diagnóstico de impactación de colon, se realizó la cirugía y se encontró un riñón con aumento de tamaño formando un quiste de paredes delgadas de 20 cm de diámetro con abundante líquido. El uréter presentó dilatación, elongación y tortuosidad con abundante líquido. Al seccionarlo hay dilatación de pelvis y cálices con desaparición de pirámides formando una cavidad con atrofia severa del parénquima renal. El diagnostico final es una uropatía parcial obstructiva o hidronefrosis con hidroureter como consecuencia de ligadura quirúrgica de una ovario histerectomía. El diagnóstico es importante porque la obstrucción aumenta la predisposición a infecciones y cálculos renales con atrofia progresiva renal, esta enfermedad tiene tendencias a permanecer asintomática.

Palabras clave**:** Uropatía, hidronefrosis, patología renal, perros, Colima

Abstract

Partial unilateral obstructive urophathy in a dog

The objetive was to describe a pathological case of an obstructive partial urophathy or unilateral hydronephrosis of a dog coming from veterinary hospital of the city of Colima, México. In September 13 of 2005 were presented to consultation a Creole dog, female, castrated of three years of age with the following semiology: anorexy, constipation, vomit, lethargy and progressive depression. It was taken a radiographic study of abdomen with diagnostic of colon

impactation, in the surgery was found a kidney with increased size forming a cyst of thin walls of 20 cm of diameter with abundant liquid. The ureter presented dilatation, elongation and tortuosity with abundant liquid. When cutting it there are pelvis dilation and chalices with disapparence of pyramids forming a cavity with severe atrophy of the renal parenchyma. The final diagnosis is an objective partial uropathy with obstructive partial ureter or hydronephrosis with hydroureter like consequence of surgical bond of an ovary hysterectomy. The diagnosis is important because the obstruction increases the bias to infections are renal calculations with renal progressive atrophy, this illness has tendencies to remain asymptomatic.

Key Words: Uropathy, hydronephrosis, renal pathology, dogs, Colima

Introducción

La uropatía obstructiva o hidronefrosis es el término que se utiliza para describir la dilatación de la pelvis y los cálices renales asociada a atrofia renal progresiva y consecuencia de la obstrucción al flujo de salida e la orina.
La obstrucción puede ser brusca o insidiosa, parcial o completa, unilateral o bilateral; puede ocurrir a cualquier nivel del sistema urinario desde la uretra hasta la pelvis renal. Sus causas pueden ser intrínsecas de las vías urinarias o a lesiones extrínsecas que comprimen el uréter[1], las causas habituales son: 1) Anomalías congénitas, 2) cálculos urinarios, 3) hipertrofia prostática, 4) neoplasias, 5) inflamación, Papilas o coágulos sanguíneos desprendidos, 7) embarazo normal, 8) prolapso uterino y cistocele, 9) trastornos funcionales.[2]
Cuando la obstrucción es completa, la filtración glomerular se mantiene durante algún tiempo para el filtrado pasa retrógradamente al intersticio y a los espacios perirrenales, desde donde regresa el sistema linfático y venoso, la consecuencia de esta filtración sostenida, los cálices y la pelvis se dilata, a veces intensamente.[1,2]

La elevada presión de la pelvis se transmite retrógradamente por los conductos colectores hasta la corteza produciendo atrofia renal, pero también comprimen a los vasos de la médula, dando lugar a una reducción del flujo plasmático en la parte interna de la médula , los defectos vasculares de la médula son reversibles, pero si se prolonga la obstrucción acaba produciendo trastornos funcionales.[2]
Las alteraciones funcionales iniciales son principalmente tubulares y se manifiestan por deterioro de la capacidad de concentración y disminuye el filtrado glomerular, la obstrucción desencadena una reacción inflamatoria intersticial que conduce finalmente a fibrosis intersticial.[3]

Objetivo

Descripción clínica-patológica de un caso de hidronefrosis unilateral de un perro procedente de un hospital veterinario de pequeñas especies del Estado de Colima, México.

Metodología

Se presentó a consulta el día 13 de Diciembre del 2005 un paciente *Canis*, criollo, hembra castrada de tres años de edad, de nombre Blanche con la siguiente semiología: anorexia, constipación, vómito, letargia, depresión progresiva, con antecedente de haber comido una ardilla. Se tomó una palca radiográfica de abdomen, diagnosticando impactación de colon por cuerpo extraño (ardilla). Se realizó cirugía de abdomen para realizar una colostomía, encontrando un riñón con dilatación quistica.

Resultados

Se encontró una ligadura quirúrgica a nivel del uréter izquierdo, obstruyendo parcialmente el uréter produciendo dilatación del uréter, pelvis y cálices renales y adelgazamiento del parénquima renal (atrofia).
El riñón presentó aumento de tamaño, transformándose en una estructura quistica de paredes delgadas con un diámetro de 20 cm y presencia de abundante líquido, al seccionarlo sen encontró una dilatación renal severa con dilatación de pelvis y cálices con desaparición progresiva de los vértices de las pirámides hasta convertirse en una cavidad, acompañada de severa atrofia parenquimatosa, desaparición completa de las pirámides, adelgazamiento y atrofia de la corteza renal. El uréter presentó dilatación, elongación y tortuosidad con presencia de líquido.
El diagnóstico morfológico es de uropatía obstructiva o hidronefrosis iatrogénica con hidrouréter, como consecuencia de ligadura quirúrgica del uréter durante la ovariohisterectomía

Discusión

En este caso clínico-patológico de la hidronefrosis e hidrouréter obstructiva parcial unilateral fue inducida por procedimiento quirúrgico de la ovariohisterectomía, ocasionando atrofia del parénquima renal. Este mismo resultado ha sido demostrado experimentalmente en conejos y perros[4], con obstrucción pelvicauretral en perros[5], obstrucción uretral unilateral crónica en perros[6], en anastomosis de uréter experimental en perros.[8] En modelo experimental canino de obstrucción parcial del uréter[9], modelo experimental con obstrucción uretral unilateral[10] efecto exclusivo de un aparato metálico unilateral efecto oclusivo de un aparato metálico en uréteres ocasionando hidronefrosis[11], método experimental de obstrucción crónica incompleta de uréter con producción de hidronefrosis[12], modelo experimental canino con obstrucción parcial del uréter[15,14]
Sin embargo, también se mencionan diferentes causas de la hidronefrosis, como: complicaciones quirúrgica de Bypass aorta-femoral[15], en proceso de cicatrización de uréteres[17], estenosis congénita bilateral en perros neonatos[16], presencia de tumores adrenales[18] y próstata[18]; uréter ectópico en perros[19], en cáncer prostático, metástasis de neoplasia a nódulos linfáticos retroperitoneales y fibrosis retroperitoneal idiomática en humanos[20], anormalidades de la túnica muscular de los uréteres en perros.[21]

El mecanismo de la obstrucción como causante de la hidroureteronefrosis, ha sido estudiado en perros como la patofisiología de la hidronefrosis con atrofia del parénquima renal y vasoconstricción preglomerular.[22]
Un riñón con hidronefrosis unilateral se ve comprometido en su función con una reducción aproximadamente del 30% del filtrado glomerular como lo mencionan en la obstrucción uretral unilateral crónica[23] y en muchas ocasiones no se ve alterado la función renal, como la señalan en 15 casos de hidronefrosis canina unilateral [23], efecto de la obstrucción uretral en el flujo de sangre hacia la corteza renal[24], cambios hemodinámica en la hidronefrosis[25], hidronefrosis crónica unilateral en perros.[26]
Se han utilizado muchas técnicas diagnósticas para la hidronefrosis como la resonancia magnética.[27]
Las lesiones macroscópicas y microscópicas de la hidronefrosis son parecidas a las reportadas en la patofisiología y la vasoconstricción preglomerular en la hidronefrosis[24], patofisiología y observaciones clínico-patológicas de la hidronefrosis[22] lesiones histológicas de la hidronefrosis aguda y crónica.[25]
La decisión de la nefrectomía para corregir el problema de la mejor opción, como lo señalan[7,16,18]

Referencias

1. Klahr, S. 1998 Obstructive nephropathy.kidney int. 54: 286 Birchard, S. J., Sherding, R. G. 1996 Manual clínico de pequeñas especies. Vol 1 y 2. Interamericana-McGraw-Hill.
2. Ettinger, S. J, Feldman, E. C. 1995 Textboock of Veterinary internal Medicine. Diseases of the dog and cat. Sounders company, Fourth Edition, Vol 1 and 2.
3. Kirpatoyskii IV, Mudraia IS, Kudriavtsev IuV, Kuznetsov VM, Makarova TI. [A method for modelling obstructive and nonobstructive hydroureteronephrosis (experimental research)]. Urol Nefrol (Mosk). 1991 Sep-Oct;(5):13-8.
5. Groeneveld AE. Experimental studies in pelviureteric obstruction and hydronephrosis. Ann Acad Med Singapore. 1984 Oct;13(4):571-84.
6. Aperia A, Herin P, Josephson S, Lannergren K.Renal function in dogs with chronic moderate unilateral ureteral obstruction. Scand J Clin Lab Invest. 1982 Feb;42(1):1-8.
7. Chambers JN, Selcer BA, Barsanti JA.Recovery from severe hydroureter and hydronephrosis after ureteral anastomosis in a dog. J Am Vet Med Assoc. 1987 Dec 15;191(12):1589-92
8. Koff SA, Hayden LJ, Cirulli C, Shore R. Pathophysiology of ureteropelvic junction obstruction: experimental and clinical observations. J Urol. 1986 Jul;136(1 Pt 2):336-8.
9. Ryan PC, Maher K, Hurley GD, Fitzpatrick JM The Whitaker test: experimental analysis in a canine model of partial ureteric obstruction. J Urol. 1989 Feb;141(2):387-90.
10. Doppelfeld E. [Animal experiment studies on the functional evaluation of hydronephrosis with non-catheter unilateral determination of 131I-hippuran clearance]. Nuklearmedizin. 1984 Oct;23(5):231-9.

11. Wright KC, Dobben RL, Magal C, Ogawa K, Wallace S, Gianturco C. Occlusive effect of metallic stents on canine ureters. Cardiovasc Intervent Radiol. 1993 Jul-Aug;16(4):230-4.
12. Masui S, Hiratsuka Y, Ariyoshi A, Sakamoto K. Chronic incomplete obstruction of the ureter: a new experimental model. Urol Int. 1986;41(6):426-9.
13. Koff SA, Thrall JH. Diagnosis of obstruction in experimental hydroureteronephrosis. Urology. 1981 Jun;17(6):570-7.
14. Koff SA. Determinants of progression and equilibrium in hydronephrosis. Urology. 1983 May;21(5):496-500.
15. Frusha JD, Porter JA, Batson RC. Hydronephrosis following aorto-femoral bypass grafts. J Cardiovasc Surg (Torino). 1982 Sep-Oct;23(5):371-7.
16. Pullium JK, Dillehay DL, Webb S, Pinter MJ. Congenital bilateral ureteral stenosis and hydronephrosis in a neonatal puppy. Contemp Top Lab Anim Sci. 2000 Sep;39(5):34-6.
17. Fujito A. [Recovery process of injured ureters in dogs]. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi. 1989 Nov;80(11):1589-96.
18. Ruiz de Gopegui R, Espada Y, Majo N.Bilateral hydroureter and hydronephrosis in a nine-year-old female German shepherd dog. J Small Anim Pract. 1999 May;40(5):224-6.
19. Ross LA, Lamb CR Reduction of hydronephrosis and hydroureter associated with ectopic ureters in two dogs after ureterovesical anastomosis. J Am Vet Med Assoc. 1990 May 1;196(9):1497-9.
20. Kawamura S, Noro K, Fujioka T, Kubo T. Three cases of hydronephrosis in which the indwelt ureteral stent was ineffective. Urodynamic studies using a stent indwelling model for retroperitoneal fibrosis]. Hinyokika Kiyo. 1996 Jul;42(7):497-501.
21. Kviatkovskaia TA. [Muscular tunic of the dog ureter in the normal state and in ureterohydronephrosis (data of scanning electron microscopy)]. Arkh Anat Gistol Embriol. 1988 Apr;94(4):74-8.
22. Huland H, Gonnermann D. Pathophysiology of hydronephrotic atrophy: the cause and role of active preglomerular vasoconstriction. Urol Int. 1983;38(4):193-8.
23. Muller, Schonberger B, Strangfeld D, Siewert H [Unilateral catheterless determination of kidney function in hydronephrosis]. Z Urol Nephrol. 1983 Apr;76(4):225-31.
24. Huland H, Leichtweiss HP, Schroder H, Jeschkies R. Effects of ureteral obstruction on renal cortical blood flow. Urol Int. 1982;37(3):213-9.
25. Luscher TF, Hauri D, Pouliadis G, Burger HR, Siegenthaler W, VetterW.Transluminal dilatation of experimental hydronephrosis in dogs: acute and chronic effects, haemodynamic changes, and histological findings. Urol Int. 1984;39(4):225-31.
26. Buttner M, Brown L, Wieland WF, Erdmann E. Renal function and (NA+ + K+)-ATPase in chronic unilateral hydronephrosis in dogs. J Urol. 1986 Jan;135(1):185-90.
27. Thickman D, Kundel H, Biery D. Magnetic resonance evaluation of hydronephrosis in the dog. Radiology. 1984 Jul;152(1):113-6.

LESIONES BRANQUIALES POR *Centrocestus formosanus* EN PECES DORADOS (*Carassius auratus*) DE LA CIUDAD DE MEXICO

Lizbeth Xicoténcatl G, Carlos Cedillo P*, Fernando Constantino C
Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
*z.carlos@mailcity.com

RESUMEN

El presente trabajo describe las lesiones branquiales por metacercarias de *Centrocestus formosanus* en peces dorados (*Carassius auratus*) de la Ciudad de México. Se recolectaron diez peces dorados juveniles de un acuario comercial, los cuales presentaban "boqueo" marcado, movimientos constantes de opérculos, opérculos acortados, branquias de color rojo oscuro y nado lateral o aberrante. A la necropsia, las branquias se observaron severamente congestionadas con presencia de estructuras nodulares semitransparentes ligeramente perceptibles a la vista. Histopatologicamente, en las lamelas primarias se apreciaron estructuras quísticas con presencia de metacercarias de *Centrocestus formosanus,* delimitadas por hiperplasia cartilaginosa en diferentes grados. En algunos peces, las metacercarias no fueron visibles, apreciándose restos celulares con células inflamatorias y proliferación de fibroblastos. Otros cambios observados fueron la fusión y atrofia de lamelas secundarias, así como la proliferación de células caliciformes y epiteliales.

En el caso descrito, las lesiones branquiales presentes coinciden con lo referido por otros autores, existiendo la necesidad de llevar a cabo diferentes estudios e investigaciones, tanto en peces ornamentales como comerciales y silvestres; asi como estudiar el rol de *C. formosanus* y otros parásitos, como agentes causantes de problemas de salud publica en México.

Palabras clave: *Centrocestus formosanus*, metacercarias, branquias, peces dorados.

GILL LESIONS PRODUCED BY *Centrocestus formosanus* IN GOLDFISHES (*Carassius auratus*) FROM MEXICO CITY

ABSTRACT

The present study describes gill lesions produced by *Centrocestus formosanus* in goldfishes (*Carassius auratus*) from Mexico City. Ten juvenile goldfishes were collected from a commercial acuarium, and presented marked, that presented marked gaspping, constant operculum movements, shortened operculum, dark red coloration of the gills and lateral or aberrant swimming. At necropsy the gills were severely congested with semitransparent nodular structures, lightly perceptible at first glance. Histopathologically the primary lamellar showed cysts with

metacercarias of *C. formosanus* ingide, delimitated by cartilaginous hyperplasia in variable degrees. In some fishes metacercarias were not found, showing cellular detritus with inflammatory cells and fibroblast proliferation. Other changes observed were and fibroblast proliferation. Other changes observed were fusion and atrophy of secondary lamellae, as well as caliciform and epithelial cell proliferation. In the described case, gill lesions match with reported by other authors, wich makes farther investigation necessary both in commercial and wild fishes, as well as the role of *C. formosanus* and other parasites causing public health problems in Mexico.

Keywords: *Centrocestus formosanus*, metacercarias, gills, goldfishes.

INTRODUCCIÓN

La presentación de infestaciones por metacercarias de *Centrocestus formosanus* ha sido descrita en diferentes especies de peces en China, Hawai, India, Japón, México, Filipinas, Checoslovaquia y Taiwán. En México, Arizmendi recolectó metacercarias de este parásito a partir de branquias de carpa negra (*Mylopharyngodon piceus)*, las cuales habían sido introducidas de China; así mismo, dicho autor recupero redias y cercarías de caracoles (*Melanoides tuberculatus*) y estados adultos de los parásitos, a partir de infestaciones experimentales en aves (*Gallus gallus*), patos (*Anas* sp) y roedores (*Mus musculus*). En el caso de los peces, las metacercarias generalmente se enquistan en las branquias formando nódulos ovales de pared transparente, afectando tanto a peces de producción como ornamentales, existiendo escasas referencias de este trematodo en nuestro país. Así mismo, existen, varias publicaciones sobre la repercusión de este parásito en la salud humana, ya que se ha descrito que este trematodo puede infectar seres humanos y varios mamíferos cuando es consumido a partir de carne fresca de pescado o de rana.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo, es el de describir las lesiones branquiales ocasionadas por *Centrocestus formosanus,* en peces dorados (*Carassius auratus*) de la Ciudad de México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Caso clínico

Se recolectaron diez peces dorados juveniles de un acuario con aproximadamente 120 ejemplares, los peces se encontraban para su venta en un mercado distribuidor de peces de ornato de la Ciudad de México. Los peces presentaban diferentes signos clínicos: algunos se encontraban "boqueando" marcadamente y con constantes movimientos de opérculos, varios presentaban opérculos acortados con branquias de color rojo oscuro, mientras que otros peces se encontraban nadando de lado o con nado aberrante.

Los peces se adquirieron como parte de un proyecto de investigación de enfermedades en peces de ornato y se remitieron para su estudio al

Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

Estudios postmortem y toma de muestras para histopatologia

Los peces se mantuvieron en observación por un lapso de 2 horas, confirmándose la sinología manifiesta y se procedió a su eutanasia con dióxido de carbono disuelto en el agua en la que estaban contenidos. A la necropsia, los peces presentaban opérculos acortados, branquias severamente congestionadas, en las cuales se observaron de escasas a abundantes estructuras nodulares semitransparentes ligeramente perceptibles a la vista; algunos peces presentaban distensión de la cavidad celómica, sin presentarse otros cambios o lesiones en órganos internos.

Se recolectaron muestras representativas de branquias, hígado, riñón, bazo, corazón, gónadas, encéfalo y tejido muscular; las cuales se fijaron por un lapso de 24 horas en formalina amortiguada al 10% a temperatura ambiente. Dichas muestras fueron procesadas por la metodología de rutina para histología, se embebieron en parafina, para posteriormente hacer cortes de 4 a 5 μm de grosor, tiñéndose con hematoxilina y eosina. Las laminillas se revisaron en microscopio óptico convencional

RESULTADOS HISTOPATOLOGICOS

En todos los peces a nivel de branquias se apreciaron cambios similares en diferentes grados y distribución. En las lamelas primarias se observaron formaciones quistícas de forma oval, principalmente en la porción media de las lamelas, disponiéndose central o adyacente a la lamela, con presencia de estructuras parasitarias alargadas con uno a dos dobleces, con contenido granular basofilico y en uno de sus extremos algunas parásitos presentaban una estructura en forma de "C" o pseudocopa sugerente de la ventosa oral, siendo dichos parásitos compatibles con metacercarias; los quistes presentaban pared hialina delgada y estaban rodeados por la proliferación de tejido cartilaginoso, de leve a severo difuso.

En algunos casos, las metacercarias no fueron visibles y en su lugar se aprecio restos celulares con presencia de células inflamatorias y proliferación de fibroblastos. Alrededor de los quistes, se observo infiltrado de células inflamatorias compuesto por heterófilos, linfocitos y macrófagos, de leve a severo difuso.

Otros cambios observados fueron la fusión y atrofia de lamelas secundarias, así como la proliferación de células caliciformes y epiteliales. El diagnostico histopatológico fue de branquitis mixta de leve a severa multifocal con presencia de metacercarias de *Centrocestus formosanus.*

El resto de los órganos evaluados tuvieron cambios y lesiones variables sin prevalecer un patrón en todos los peces revisados

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La presentación de parasitosis por trematodos es frecuente y de tipo asintomático en peces silvestres, existiendo alrededor de 1700 especies de digeneos adultos que pueden afectar a estos animales. Presentándose las metacercarias con mayor frecuencia que los estadios adultos.

Los cambios macroscopicos observados en este caso, no son particulares de la infestación por metacercarias de *C. formosanus,* los cuales se pueden presentar en diferentes parasitosis, como en los casos de protozoarios ciliados o por trematodos digeneos.

En el caso descrito, las lesiones branquiales presentes coinciden con lo referido por otros autores. Los quistes parasitarios desencadenaron la hiperplasia cartilaginosa en diferentes grados, generando incluso la fusión de lamelas primarias y secundarias, en otras zonas se observaron metacercarias degeneradas con o sin respuesta inflamatoria en incluso diferentes grados de fibrosis. En algunos quistes fue posible la observación y descripción definida de las metacercarias, visualizando gran parte de sus estructuras propias, como la ventosa oral.

La hiperplasia epitelial y de células caliciformes, así como la respuesta inflamatoria diversa, sugieren cambios asociados a la calidad de agua y a la falta de formación de opérculos completos en varios de los especimenes muestreados.

Velez y colaboradores estudiaron las lesiones branquiales causadas por *C. formosanus* en carpas común (*Cyprinus carpio*) de la laguna de Amela, en Colima, México, encontrando metacercarias en el 93% de los animales revisados (30 peces), así mismo, describen mayor prevalencia en hembras que en machos e histopatologicamente, la presencia de metacercarias predomino en el tercer filamento, en la porción media de las lámelas primarias principalmente, presentándose la hiperplasia cartilaginosa alrededor de los quistes parasitarios en diferentes grados.

La introducción de metarcercarias de *C. formosanus* y otros parásitos, se asocia a la adquisición de peces exóticos (comerciales, de ornato y silvestres) en nuestro de país, como fue la introducción de carpas negras procedentes de China. Cuando se introducen a un medio libre, los parásitos pueden afectar a las peces nativos, los cuales pueden ser más susceptibles al desarrollo de infestaciones, debido a que no ha existido algún contacto o sensibilización, que permita un respuesta inmune en corto tiempo. Pudiéndose llegar a presentar altas tasas de morbilidad y mortalidad, lo cual favorece el desplazamiento de peces nativos y predominar los peces introducidos, favoreciendo a su vez, la diseminación de las parasitosis hacia otros hábitat de las especies endémicas. En el caso descrito, los peces dorados presentaban infestaciones de leves a severas, que al ser comercializados, favorece la diseminación de los parásitos a los mercados distribuidores, acuarios comerciales y particulares, que debido a la falta de conciencia en el acuarismo ornamental, se habré la posibilidad de interacción de los parásitos con diferentes familias de peces ornamentales.

Existe la necesidad de llevar a cabo una serie de diferentes investigaciones, que contemplen la identificación de parásitos, su incidencia y distribución en peces ornamentales, comerciales y silvestres, así como definir e identificar aquellos

agentes endémicos y exóticos presentes en el país y su impacto sanitario y económico en la acuacultura nacional. Sin embargo, es también de suma importancia, estudiar y definir el rol de *C. formosanus* y otros parásitos, como agentes causantes de problemas de salud publica en México.

REFERENCIAS

Ferguson, W.H. Systemic Pathology of Fish. *Iowa State. University Press*. Ames, USA. 1989.

Kinkelin, P. *et al*. Tratado de las Enfermedades de los Peces. *Ed. Acribia*. Zaragoza, España. 1985.

Noga, E.J. Fish Diseases. Diagnosis and treatment. USA. 1996.

Reichenbach-Klinke, H.H. Enfermedades de los Peces. *Ed. Acribia*. Zaragoza, España. 1980.

Roberts, J.R. Patología de los Peces. *Ediciones Mundi-Prensa*. España. 1980.

Stoskopf, K.M. Fish Medicine. *W.B. Saunders Company*. USA, 1993.

Velez-Hernandez EM, *et al*. Gill lesions in common carp, *Cyprinus carpio* L., in Mexico due to the metacercariae of *Centrocestus formosanus*. J Fish Dis. 1998. 21: 229-232.

OLIGODENDROGLIOMA EN UN BOXER.

1 Fonseca Aguilar Wendy Fabiola, 2 Sánchez Godoy Félix, 3 Flores Alonso Luís Arturo, 4 Santoscoy Mejía Carlos Eduardo, 5 Martínez Reyes Sandy

1, 2, 5 Departamento de Patología Veterinaria, FMVZ, UNAM
3.- Hospital Veterinario de Especialidades FMVZ, UNAM
4.- Hospital Veterinario de Especialidades, Área de Ortopedia y Neurología FMVZ, UNAM

Resumen

Boxer macho de 8 años de edad, el cual presentó estupor, nistagmos laterales, estrabismo ventral del ojo derecho y rigidez de miembros izquierdos. Se decide la eutanasia y se realiza la necropsia. Los principales hallazgos macroscópicos fueron en encéfalo donde se apreció un tejido de nueva formación de aproximadamente 2X2.5X2 cm. de diámetro, extendiéndose a través del ventrículo lateral derecho, a partir de la parte caudal del núcleo caudado hasta la circunvolución del cíngulo. El tejido era de consistencia suave, de aspecto mucoide, de color grisáceo y con áreas de hemorragia. Microscópicamente, se apreció un tejido compuesto por células oligodendrogliales neoplásicas, dispuestas en patrón cordonal y placas densas de células. Alternando el tejido neoplásico se observó proliferación microvascular, así como microquistes. Por los hallazgos macroscópicos y microscópicos el tejido tumoral fue diagnosticado como oligodendroglioma.

Palabras claves: oligodendroglioma, encéfalo, perro.

Abstract

An 8- year-old male Boxer was presented with stupor, lateral nistagmus, ventral strabismus of the right eye, and rigidity of cranial and caudal left limbs. Euthanasia was decided and the necropsy was carried out. The main Macroscopic findings were on the brain, where it was appreciated a mass of neoplastic tissue about 2X 2.5X2 cm in diameter, extending throughout the right lateral ventricle, from the pars caudalis of the nucleus caudate to the circumvolution of cingulum. The tissue was soft, whit a mucoide aspect, grayish color and hemorrhagic areas. Microscopically,it was appreciated a tissue formed by neoplastic oligodendroglial cells arranged in a cordonal pattern, with areas of dense packed cells. Microvascular proliferation was observed alternating with the neoplastic cells, as well as microcyst. Based on the macroscopic and microscopic findings, the tumor was diagnosed as an oligodendroglioma

Key words: oligodendroglioma, brain, dog.

Introducción

Las neoplasias primarias del sistema nervioso central, son relativamente raras, y dentro de las especies domesticas, el perro y el gato representan la mayor incidencia. Hay algunas diferencias en cuanto a prevalencia de los diferentes tipos de tumores en las diferentes especies y también entre razas. Se ha estimado que los tumores encefálicos se presentan con una incidencia del 14% promedio y dentro de estos el meningioma y el astrocitoma son los más frecuentes. El meningioma se ha reportado más en razas dolicocéfalas como el Collie y Pastor Alemán. (1, 2, 3, 4, 5, 6,13). En las especies caninas más del 50 % de todos los gliomas ocurren en razas braquiocefálicas en las cuales no se ha establecido una base genética. (1, 2). Dentro de los tumores derivados de la glía se pueden mencionar los astrocitomas, oligodendrogliomas y los gliomas mixtos. El oligodendroglioma deriva de los oligodendrocitos y presenta una incidencia en perros del 5 al 12 % de los tumores primarios. (1, 2, 3, 4, 5, 6, 13) Las razas con mayor predisposición son las braquiocefálicas como Boxer, Boston terrriers, Bulldog francés y puede presentarse entre los 3-6 años de edad. Generalmente se localiza en la materia blanca o gris de los hemisferios cerebrales y con menor frecuencia en medula espinal (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11). El crecimiento intraventricular es común con extensión local al parénquima adyacente (1, 2, 3,4). Los tumores propios del SNC suelen tener signología focal a diferencia de los metastásicos que tienen signos multifocales. Se ha informado que las convulsiones suelen ser la primera manifestación de una neoplasia y conforme crece van apareciendo otros signos como: cambio en el comportamiento, temperamento, ceguera, afecciones motoras o combinación de estas, dependiendo de las estructuras nerviosas involucradas. (3, 6, 13, 14, 15,16)

Historia Clínica

Es presentado en el Hospital Veterinario de Especialidades (HVE) UNAM un bóxer macho de 8 años de edad en estado de estupor, con nistagmos laterales y estrabismo ventral del ojo derecho. El paciente fue referido por presentar una convulsión tres semanas atrás, y cambio en la conducta. Ese mismo día se tomaron muestras de sangre para hemograma, bioquímica y urianalisis, los resultados de estos estudios se asociaron a intoxicación con antiinflamatorios no esteroidales (AINES). El paciente empeoró su condición en el transcurso de la noche; el estupor en que se encontraba rápidamente lo llevo a un estado de coma, con rigidez del miembro torácico y pélvico izquierdos, posteriormente entró en paro respiratorio, declarándose clínicamente muerto a las 14 horas de haberse presentado al HVE UNAM. Se decidió remitir el cadáver al departamento de patología de la FMVZ-UNAM para confirmar el diagnóstico presuntivo de tumor intracraneano.

Patología Macroscópica

Se realizaron cortes coronales de encéfalo observándose un tejido de neoformación de aproximadamente 2X2.5X2 cm, de consistencia suave, aspecto mucoide, color grisáceo, y con áreas multifocales de hemorragia. El cual se extendía a través del ventrículo lateral derecho, a partir de la parte caudal del núcleo caudado hasta la circunvolución del cíngulo. Esta neoplasia se encontró

infiltrando y desplazando estructuras neuroanatómicas tales como: circunvolución del cíngulo, cuerpo calloso, fornix, cápsula interna, tálamo, hipocampo, alveolo del hipocampo, esplenio del cuerpo calloso, cuerpo geniculado medial, colículo rostral y colículo caudal.

Patología Microscópica

Se revisan varias secciones de la neoplasma encontrada en encéfalo, en donde se aprecia una masa hipercelular parcialmente delimitada, no encapsulada, compuesta por células neoplásicas redondas que se organizan en cordones y laminas sólidas. Estas células tienen escasa cantidad de citoplasma eosinofílico, homogéneo y bordes citoplasmáticos bien definidos. El núcleo es pequeño, de redondo a oval, eucromático a hipercromáticos con cromatina fina granular y ocasionalmente un nucleolo evidente. Se observan de 1-2 figuras mitósicas por campo aleatorio de 40X. Así mismo se observa proliferación microvascular con formación de estructuras glomeruloides. Alternando con el tejido neoplásico se observan extensas zonas de necrosis.

De acuerdo con la características macro y microscópicas observadas aunado a la historia clínica referida el diagnóstico emitido fue de un oligodendroglioma intraventrícular bien diferenciado

Discusión y conclusiones

Los oligodendrogliomas son neoplasma derivadas de los oligodendrocitos, la incidencia de esta neoplasia varia en rangos del 5-12%. Son generalmente localizados en la materia gris o blanca de los hemisferios cerebrales y raramente ocurren en tallo cerebral y la medula espinal (1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11). Su aspecto macroscópico es gelatinoso o mucoide de color azul grisáceo, también presenta áreas hemorrágicas multifocales, zonas amarillentas o blancas que corresponden a áreas de necrosis. Microscópicamente está compuesto por células redondas que presentan un arreglo cordonal o placas sólidas, las células presentan núcleos pequeños, redondos e hipercromáticos, con bordes citoplasmáticos prominentes bien definidos. Puede observarse proliferación microvascular de aspecto glomeruloide en los márgenes tumorales (1,2,3,4,5,7,8,9). El diagnóstico diferencial que debe ser considerado particularmente en tumores con crecimiento intraventricular es el neurocitoma, sin embargo este tumor es muy raro en animales y poco frecuente en seres humanos. (1,2)

En conclusión podemos decir que el oligodendroglioma debe ser considerado como un diagnóstico diferencial en casos de tumores intraventriculares de aspecto gelatinoso, compuesto por células redondas que se acomoden en placas sólidas y en cordones con proliferación vascular glomeruloide, en perros braquiocefálicos con signos nerviosos centrales.

Diagnósticos Diferenciales

Los tumores primarios diferenciales que se pueden localizar en hemisferios cerebrales se presentan en el cuadro 1.

Tumor	Localización	Macroscópico	Microscópico
Carcinoma de plexos coroideos	Plexos coroideos (VL,3er,4to)	Aspecto de coliflor rugosos, granulares, blancos - rojos	No encapsulados, patrón arboriforme, pleomorfismo celular
Ependimoma	Ventrículos laterales,3er.4to.	Delimitados, lisos rojo- gris. Hemorrágicos. Crecimiento infiltra.	Patrón de seudorosetas. células con escaso citoplasma y bordes citoplasmatico definidos
Glioma mixto	Hemisferios cerebrales.	Delimitados, lisos rojo- gris. Hemorrágicos. Crecimiento infiltra.	Áreas diferenciadas de astrocitos y oligodendrocitos, o mezcladas
Astrocitoma	Hemisferios cerebrales.	Poco distinguible crecimiento extensivo	Hipercelular con poco arreglo, células poligonales, núcleo atípico alargado.

Cuadro 1. (1,2,3,4)

Referencias

1. - Meuten DJ.: Tumors in Domestic Animals. 4a Ed. Blackwell Publishing. Iowa 2002. pag. 697-710.
2. - Multon J. Tumors in Domestic Animals. 3a Ed. University of California Press. 1990 pag. 640-645.
3. - Summers B. Veterinary Neuropathology. Ed, Mosby 1995 pag. 4,5,10,11, 18, 19, 371-373.
4.- Jubb K, Kennedy P. : Pathology of Domestic Animals Vol. 1. 4a Ed. Academic Press. 1990 pag 432-435 .
5. - McGavin MD, Carlot WW, Thomson`s Special Veterinary Pathology. 3a Ed. Mosby 1995
6. - Morrison W. Cancer in Dogs and Cats. Medical and surgical management. Ed. Carroll C. Cann. 1998 pag. 655-661

7. - Mamom T. et al.: Oligodendroglioma in the Cervical Spinal Cord of the Dogs. Vet. Pathol. 41: 524 – 526.
8. - Triolo A.: Oligodendroglioma in a 15-month-old dog. JAVMA, Vol. 205, No. 7 1994.
9. Chun-ho P. Oligodendroglioma in a French Bulldog. J. Vet. Sci. (2003), 4 (2), 195 – 197.
10. - Kraft S.: Retrospective Review of 50 Canine Intracranial Tumors Evaluated by Magnetic Resonance Imaging. Journal of Veterinary Internal Medicine, Vol. 11, No. 4, 1997:218 – 225
11. - - Turrel J.: Computed Tomographic Characteristics of Primary Brain Tumors in 50 Dogs. JAVMA, Vol. 188 No. 8, 1998..
12. - Holland C; et al.: Hemihyperaesthesia and Hyperresponsiveness Resembling Central Pain Syndrome in a Dog with a Forebrain Oligodendroglioma. Aust. Vet. J. Vol. 78, No. 10, 2000.
13. - Morris J, Dobson J.: Small Animal Oncology .1a Ed. Blackwell Publishing. Oxford, 2001 pag.501-515.
14. - Herbert H; et al.: Current Diagnosis and Treatment of Oligodendroglioma. Neurosurg Focus 12 (2), 2002.
15. - Lorenz M, Kornegay J.: Handbook of Veterinary Neurology. Saunders. 4a. Ed. St. Louis, Missouri, 2004.
16.- Pellegrino F.: El Libro de Neurologia para la Practica Diaria. Intermedica. Buenos Aires. 2003.
18. - Platt S.: Comparison of Fine-Needle Aspiratión and Surgical-Tissue Biopsy in the Diagnosis of Canine Brain Tumors. Veterinary Surgery 31: 65 – 69, 2002.
19. - Sofietti R; et al.: PCV Chemotherapy for Recurrent Oligodendrogliomas and Oligoastrocytomas. Neurosugery. 1998; 43: 1066 –1073.

OSTEOSARCOMA TELANGIECTASICO MANDIBULAR EN UN PERRO

Oralia Medina R[1], Carlos Cedillo P[1]*, Aline Pasquel H[2], Selene Gonzalez G[2]
1. Departamento de Patología, 2. Hospital Veterinario de Especialidades
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
z.carlos@mailcity.com

RESUMEN

El caso corresponde a un perro Mastin Napolitano, macho de 6 años de edad el cual presentaba crecimiento tumoral en la base de la mandíbula derecha, firme al tacto y no desplazable. Radiologicamente, los cambios fueron sugerentes de tejido tumoral con lisis ósea. A la necropsia, se aprecio en la región mandibular derecha, tejido de neoformación de crecimiento exofítico cubierto por los belfos, de superficie irregular seminodular, de color rojo oscuro con áreas café grisáceas y en la base con coloración blanquecina difusa, firme al tacto, no desplazable, midiendo 10.0 x 9.3 x 7.2 cm. A la superficie de corte se apreciaban áreas de patrón verticilar entremezcladas con cavitaciones pequeñas y formaciones vasculares, de coloración similar a la descrita en la superficie. Histopatologicamente, se observo tejido de neoformación con áreas de patrón verticilar y otras zonas con formaciones vasculares, entremezcladas con áreas de necrosis coagulativa, hemorragias y focos de infiltrado de células inflamatorias; dicho tejido estaba constituido por varios componentes celulares, presentaba células fusiformes irregulares entremezclándose con material eosinofílico homogéneo el cual formaba discretas travéculas; así mismo de forma aleatoria adyacente al tejido descrito, se observan células multinucleadas de diferentes tamaños, las cuales presentan de 3 a 8 nucleolos. Las áreas con formaciones vasculares se encontraron constituidas por células fusiformes de escaso citoplasma y núcleo oval alargado de cromatina fina granular y nucleolo prominente. Se observaron de 1 a 3 mitosis atípicas por campo 40x. El diagnostico histopatológico fue de osteosarcoma telangiectasico mandibular.

Palabras clave: Perro, osteosarcoma telangiectasico, mandíbular.

TELANGIECTASIC MANDIBULAR OSTEOSARCOMA IN A DOG

ABSTRACT

The case corresponds to a mastin napolitano dog, male, 6 years old. The dog presented tumoral growth on the right jaw, hard at touch and motionless. Radiologically, changes were the suggested of tumoral tissue with osseus lysis. During the necropsy, neoformation tissues of exofitic growth was observed on the right jaw region covered by lips of irregular surface on the right jaw region covered by lips of irregular surface dark red colored with gray areas over the base difuse white colored, hard at touch, motionless, sizing 10.0 x 9.3 x 7.2cm. Vascular pattern areas were observed over the surface of cut mixed with small spaces and

vascular formations with similar color as the surface description. Histologycal, neoformation tissue with verticilar pattern areas and other zones with vascular formations were observed, mixed with necrosis areas, bleeding, infiltrated focus of inflamatory cells; such tissues was formed by many cell components, it presented irregular fusiform cells mixing with the homogeneus eosinofilic material, such tissue was formed by many cell components, it presented irregular fusiform cells mixing with the homogeneus eosinofilic material, which formed discrete trabecules; also in an adjacent random form to the tissue described, multinuclead cells, of different sizes, which presented from 3 to 8 nucleus The areas with vascular formations were found constituted by fusiform cells of scarce cytoplasm and extended oval nucleus of fine granular cromatin and prominent nucleoli. Were observed From 1 to 3 atipical mitosis for field 40x, were observed. The histopatology diagnosis was telangiectasic mandibular osteosarcoma.

Key word: Dog, telangiectasic osteosarcoma, mandibular.

INTRODUCCIÓN

Los osteosarcomas son neoplasias malignas productoras de hueso y/o osteoide con alto potencial metastásico. Estos se pueden clasificar en simples (hueso con matriz cartilaginosa), compuestos (hueso con cartílago) o pleomorficos (anaplasicos con discretas islas de osteoide). Así mismo, se pueden clasificar también basándose en el tipo celular del que estén compuestos y predomine (osteoblastico, condroblastico o fibroblastico), por su apariencia radiológica (litico, esclerótico o mixto) o por su origen (central, yuxtacortical o periosteal).

Los osteosarcomas frecuentemente son primarios de esqueleto apendicular que de esqueleto axial.

En un estudio realizado por Rodney y colaboradores, de 457 casos de osteosarcoma canino, 116 tumores correspondían a esqueleto axial, siendo el 27% tumores primarios de mandíbula. Straw y colaboradores, describen un recopilación de 51 casos de osteosarcoma mandibular, resultando histológicamente, 23 de tipo osteoblastico, 8 condroblastico, 4 escleróticos, 5 fibroblasticos, 2 telangiectasicos y 3 pobremente diferenciados, descartando 6 casos donde no se pudieron aplicar los criterios de clasificación.

El osteosarcoma telangiectasico es una forma poco frecuente, el cual asemeja macroscópicamente a el hemangiosarcoma. Siendo también descrito como aneurisma óseo maligno. Dicha neoplasia esta compuesta por abundantes espacios vasculares formados por osteoblastos malignos, los cuales producen un mínimo de osteoide. Generalmente, las figuras mitóticas pueden ser abundantes, pero el componente cartilaginoso y óseo puede estar ausente.

El objetivo de este trabajo, es el de describir un caso de osteosarcoma telangiectasico mandibular en un perro, así como la discusión de la literatura de esta entidad poco frecuente en medicina veterinaria.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Fue remitido al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM un perro, Mastín Napolitano, macho, de 6 años para su

estudio posrtmortem. Cuya historia clínica refiere que el animal presentaba tejido de neoformación en gingiva, en borde mandibular derecho, firme, no desplazable, no doloroso, pigmentado, con infiltración a los dientes, midiendo aproximadamente 8.0 x 5.0 x 5.0. Se tomo una muestra para estudio citopatológico, cuyo diagnostico fue de hemangiopericitoma. Tres meses después, el tumor aumento de tamaño, al examen físico se aprecio deshidratación y pérdida de peso, decidiéndose finalmente la eutanasia.

Radiología

Antes de su eutanasia, se llevo a cabo el estudio radiográfico de cráneo para mandíbula en sus proyecciones DV, LizqV-LderD oblicua con boca abierta, VD con película oclusal y roV-CdD oblicua a 30 grados. Donde se observa la presencia de masa con densidad de tejido blando a nivel de premolares y por debajo de las misma, irregularidades en el contorneo óseo del borde dorsal de la mandíbula, así como perdida de gran parte del tejido ósea a este nivel. El diagnostico radiológico fue de imagen compatible con lisis ósea, con crecimiento sugerente de tejido de neoformación.

Estudio postmortem e histopatologia

A la necropsia, los hallazgos mas relevantes fueron los siguientes: las mucosas en general se observan pálidas y en la cavidad oral a nivel de la región mandibular derecha se observó tejido de neoformación de crecimiento exofítico el cual estaba cubierto por los belfos (60% de su superficie), que una vez retirado los belfos, el tejido de neoformación presentaba superficie irregular seminodular, de color rojo oscuro con áreas café grisáceas y en la base con coloración blanquecina difusa, firme al tacto, no desplazable, midiendo 10.0 x 9.3 x 7.2 cm. A la superficie de corte se apreciaban áreas de patrón verticilar entremezcladas con cavitaciones pequeñas y formaciones vasculares, de coloración similar a la descrita en la superficie. El linfonodo submandibular derecho se encontraba aumentado de tamaño y al corte se observaron áreas de color rojo oscuro. Se tomaron muestras representativas de la neoplasia las cuales se fijaron en formalina amortiguada al 10% por un lapso de 24 horas. Dichas secciones fueron procesadas por la metodología de rutina para histología, se embebieron en parafina, efectuándose cortes de 4 a 5 μm de grosor, tiñéndose con hematoxilina y eosina (H&E), para su observación en microscopio óptico convencional.
Histopatologicamente, se observo tejido de neoformación con áreas de patrón verticilar y otras zonas con formaciones vasculares, entremezcladas con extensas áreas de necrosis coagulativa, hemorragias y focos de infiltrado de células inflamatorias; dicho tejido estaba constituido por varios componentes celulares, presentaba células fusiformes irregulares las cuales dejaban espacios entre si, de escaso a moderado citoplasma eosinofílico claro, núcleo oval a poliédrico de cromatina fina granular con uno o dos nucleolos prominentes, entremezclándose con material eosinofílico homogéneo el cual formaba discretas travéculas; así mismo de forma aleatoria adyacente al tejido descrito, se observan células multinucleadas de diferentes tamaños, las cuales presentan de 3 a 8 nucleolos y

escaso citoplasma eosinofílico. Las áreas con formaciones vasculares se encontraron constituidas por células fusiformes de escaso citoplasma y núcleo oval alargado de cromatina fina granular y nucleolo prominente. Se observaron de 1 a 3 mitosis atípicas por campo 40x. En algunas zonas dicho tejido presentaba focos mineralización parcial. El diagnostico histopatológico fue de osteosarcoma telangiectasico mandibular.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Varios sistemas de clasificación han sido empleados para este tipo de tumores, tanto en humanos como en animales. El esquema usado es a partir del boletín propuesto por la Organización Mundial de la Salud, basándose en la naturaleza de la matriz producida por las células neoplásicas.

El osteosarcoma se presenta principalmente en perros de edad mediana y viejos pero se ha reportado en perros de 6 mesas hasta de 18 años.

Radiológicamente, los osteosarcomas se pueden observar imágenes de límites mal definidos, que son líticas en los tumores con escaso contenido mineral y densas en los muy mineralizados. La mayoría de los osteosarcomas muestran una combinación de ambos patrones. Se infiltran corticalmente y pueden llegar a despegar el periostio. El osteosarcoma telangiectásico da lugar a una imagen radiológica de tipo lítico y presenta espacios vasculares dilatados, pudiendo confundirse con un hemangiosarcoma de hueso, primario o metastático, o bien , con un quiste óseo. En el caso referido, las cambios radiológicos sugirieron un proceso proliferativo con lisis ósea, pero no fueron suficientes para poder definirlo como tal, y asociarlo a una estirpe en particular.

Citopatologicamente, se emitió diagnostico de hemangiopericitoma. Este diagnostico se pudo deber al área de punción, ya que la neoplasia presentaba algunas zonas compuestas por abundantes células fusiformes con patrón verticilar.

Histopatologicamente, la presencia de formaciones vasculares, osteoide, osteoblastos malignos y células multinucleadas, permitieron clasificarlo como osteosarcoma telengiectasico. A la necropsia e histopatología, no se aprecio evidencia de diseminación, concordando con la literatura consultada. Solamente en un linfonodo se observo un grupo de células displásicas sugerentes de mestastasis, sin confirmarse su asociación con la neoplasia mandibular.

El origen de los osteosarcomas al igual que el de otras neoplasias malignas es incierto, pero existen diversos factores que se relacionan con un mayor riesgo de aparición de esta tumor como son los factores genéticos, quimioterapias, radioterapias y diversas lesiones óseas benignas preexistentes.

En general el osteosarcoma es una neoplasia de rápido crecimiento y de mortalidad temprana. Se debe diferenciar su diagnóstico con otros tumores primarios de hueso (malignos y benignos), tumores secundarios de hueso, osteomielitis micóticas y bacterianas, fracturas, periostitis, artritis y osteopatía hipertrófica.

REFERENCIAS

Meuten TJ. Tumors in domestic animals. 4th ed. *Iowa State Press*. Ames, Iowa, USA. 2002.

Ginel PJ, *et al*. Mandibular fibroblastic osteosarcoma in a three-month-old dog. *Vet Rec.* 1996. 139:120-121

Brogdon JD, *et al*. Parosteal osteosarcoma of the mandible in a dog. JAVMA. 1989. 194(8): 1079-1081.

Straw RC, *et al*. Canine mandibular osteosarcoma: 51 cases (1980-1992). J Am Anim Hosp Assoc. 1996. 32: 257-262.

McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF. Thomson´s Special Veterinary Pathology. 3rd ed. Mosby. USA. 2001.

TEXTILOMA ABDOMINAL EN UN PERRO: INFORME DE UN CASO Y REVISIÓN DE LA LITERATURA

Adriana Montiel L, Carlos Cedillo P*, Fernando Constantino C
Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
**z.carlos@mailcity.com*

RESUMEN

Se define como textiloma, un tejido de neoformación compuesto por una matriz de fibras textiles delimitadas por reacción granulómatosa. Existen diversas etimologías aplicadas para la descripción y reconocimiento de estos procesos, tales como gossypiboma, muslinoma y gauzoma. En este trabajo, se describe la presentación de un caso de textiloma abdominal en un perro. Se remitió para su examen histopatológico, tejido no determinado procedente de un canideo hembra, Poodle, de 11 años, refiriendo la historia clínica, ovariohisterectomía como único antecedente quirúrgico realizado en el animal. Macroscópicamente el tejido presentaba forma semiesférica a ovoide, superficie irregular, amarillo blanquecino con áreas café obscuro y firme al tacto con remanentes de material quirúrgico. Al corte del tejido, se aprecio una cavitación de pared gruesa de tejido blanquecino fibrilar con bordes internos irregulares, presentando adherido a varios puntos del borde interno, material quirúrgico de tipo textil (gasa), el cual conformaba la matriz del tejido de neoformación remitido. Histopatológicamente, el tejido estaba compuesto por pared gruesa de tejido conjuntivo maduro denso irregular, presentándose en su luz, extensas áreas de fibroblastos reactivos con infiltrado de células inflamatorias, delimitando áreas de necrosis coagulativa con presencia de fibras anfofílicas intralesionales. El diagnóstico morfológico emitido fue de reacción a cuerpo extraño con encapsulamiento del material quirúrgico, textiloma. En Medicina Veterinaria, los casos descritos acerca de esta entidad son escasos, posiblemente por la falta de interés para documentarlos o por la aplicación de criterios histopatológicos y sean catalogados como cuerpos extraños, siendo factible que su incidencia sea mayor a lo publicado, como ocurre en medicina humana.

Palabras clave: Textiloma, material quirúrgico, procedimiento quirúrgico, perro.

ABDOMINAL TEXTILOMA IN A DOG: REPORT OF A CASE AND REVIEW OF LITERATURE

ABSTRACT

Textiloma is defined as a tumoral tissue composed by textile fibers surrounded by granulomatous response. There are many etymologies for recognition and describe this kind of process, just like gossypiboma, muslinoma and gauzoma. This work describes a case of an abdominal textiloma in a dog. A non determined tissue originating from a castrated female dog (Poodle), of eleven years old, was submitted for its histological study; ovariohysterectomy (spay operation) was reported in clinical history like the unique surgical procedure fulfilled in this animal.

Macroscopically, this tissue had hemispheric to ovoid form, irregular surface, light-yellow with dark brown areas and firm to the tact with surgical remains. The cut surface of the tissue, a thick wall cavitation with irregular internal edges was appreciated, composed of white fibrilar tissue; adhered to several points of the internal edges, surgical textile material (gauze) was found, which conformed the matrix of the submitted tumoral tissue. Hystopathologically, the tissue was composed by a thick wall of irregular dense connective tissue, appearing in its light, extensive areas of reactive fibroblast with inflammatory cells, surrounding coagulative necrotic areas with intralesional anphofilic fibers. Morphologic diagnosis was emited as a foreign body reaction with entrapped surgical material, textiloma.
The described cases about this entity are few on veterinary medicine, probably because of the lack of interest to document them, or perhaps for different histopatological discernment of classification, they are catalogued like foreign bodies, being feasible that their incidence will be greater to the published articles, as in human medicine.

Key words: Textiloma, surgical material, surgical procedure, dog

INTRODUCCIÓN

Existen distintas etimologías para hacer referencia a los diversos tipos de materiales quirúrgicos de origen textil, tales como textiloma, gossypiboma, muslinoma y gauzoma, que pueden quedar en las cavidades corporales de un individuo durante algún procedimiento quirúrgico.
El término textiloma se deriva del latín *textilis*, cuyo significado es "tejido", más el sufijo *oma* que significa "tumefacción". Gossypiboma se deriva de la palabra latina para algodón, *gossypium* y de la palabra (término) swahili *boma*, la cual quiere decir, "escondrijo".
Los términos "gauzoma" y "muslinoma", se refieren respectivamente a gasas de fibras sintéticas parecidas al algodón y a gasas de muselina, que viene de la palabra francesa mousseline (tela de algodón fina), compuestas por fibras muy finas de algodón, las cuales son utilizadas para reforzar la pared de aneurismas.
El término más comúnmente utilizado es el de textiloma, ya que se refiere a un material de origen textil, sin especificar el tipo de fibra que lo compone y en términos médicos se define como un tejido de neoformación compuesto por una matriz de fibras textiles delimitadas por reacción granulomatosa.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo, es el de describir un caso de textiloma abdominal en un perro, así como la revisión de la literatura acerca de esta entidad poco descrita en medicina veterinaria.

DESCRIPCIÓN DEL CASO CLÍNICO

El siguiente caso trata de un canideo hembra, Poodle, de 11 años de edad, que a la laparotomía exploratoria se encontró un tejido no determinado sugerente de

vejiga, el cual debido a las características que presentaba, se reseccionó y fue remitido para su examen histopatológico. Los antecedentes clínicos refieren ovariohisterectomía como único antecedente quirúrgico realizado en el animal, sin proporcionarse algún dato mas respecto a los procedimientos practicados en el animal.

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA

Se recibió tejido de neoformación no identificado, remitido como vejiga urinaria, el cual había sido fijado en formalina amortiguada al 10%. El tejido presentaba forma semiesférica a ovoide, el cual media 7.0 x 5.0 x 4.1 cm, presentaba superficie irregular, de color amarillo blanquecino con áreas café obscuro, firme al tacto y con remanentes de material quirúrgico (sutura). Al corte del tejido, se aprecio cavitación conformada por pared gruesa de tejido blanquecino fibrilar con bordes internos irregulares de color naranja rojizo, presentando adherido a varios puntos del borde interno, material quirúrgico de tipo textil (gasa), el cual conformaba la matriz del tejido de neoformación remitido.

Se tomaron muestras representativas de la pared del tejido abarcando la matriz textil, para procesarse por la metodología de rutina para histología. Las muestras colectadas del tejido se embebieron en parafina, para posteriormente hacer cortes de 4 a 5 μm de grosor, los cuales se tiñeron con hematoxilina y eosina para su revisión en microscopio óptico convencional.

DESCRIPCIÓN MICROSCOPICA

Se revisaron secciones del tejido de neoformación, el cual estaba compuesto por pared gruesa de tejido conjuntivo maduro denso irregular, presentándose en su luz, extensas áreas de fibroblastos reactivos con infiltrado de células inflamatorias compuesto por histiocitos, linfocitos, células plasmáticas y células multinucleadas, delimitando áreas de necrosis coagulativa con fibras anfofílicas (material quirúrgico) intralesionales. El diagnóstico morfológico emitido fue de reacción a cuerpo extraño con encapsulamiento del material quirúrgico, textiloma.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En Medicina Veterinaria, los casos descritos acerca de esta entidad son escasos. Posiblemente a la falta de interés para documentarlos como tal por parte de los clínicos involucrados, o por la aplicación de criterios histopatológicos y sean catalogados como cuerpos extraños, siendo factible que su incidencia sea mayor a lo publicado, como ocurre en medicina humana.

En medicina humana, las publicaciones de textilomas y gossypibomas, han sido ampliamente descritas, sin embargo, su implicación medico-legal y la idiosincrasia académica-profesional, limita la elaboración de trabajos, para su publicación o presentación en algún foro científico.

La incidencia de textilomas en medicina humana, se relaciona principalmente con procedimientos quirúrgicos de cavidad abdominal, seguidos de cirugías ortopédicas. Así mismo, se han descrito casos con involucramiento de otros

compartimentos anatómicos, como son el tórax, retroperitoneo, extremidades, cabeza y cuello. La presentación de estas entidades son consideradas en la mayoría de los casos, como de tipo iatrogénico.
Le Neel y col., mencionan como algo excepcional, "olvidar" una compresa en un procedimiento quirúrgico, sin embargo, discuten que las repercusiones pueden ser graves, ya que en una revisión de 25 casos en un periodo de 18 años, varios de estos pacientes requirieron cirugía de emergencia debido a los trastornos generados como dolor abdominal, oclusión, fístulas en tracto digestivo o procesos inflamatorios, entre otros.
Gawande y col., describen tres factores de riesgo: 1) cirugías de emergencia, 2) cambios no planificados en un procedimiento quirúrgico y 3) alto índice de masa corporal en un individuo. Los factores de riesgo antes sugeridos para las diferentes cirugías en humanos, pueden adoptarse a los diferentes procedimientos quirúrgicos practicados en medicina veterinaria. Ya que los procedimientos practicados en animales de compañía, cada vez son mas frecuentes, así como los servicios de urgencias médicas para estas especies.
En muchas ocasiones, ante el deceso de un animal, no siempre es solicitado su estudio post-mortem, lo cual no permite confirmar o descartar la posible asociación de un textiloma, cuando existan antecedentes quirúrgicos o sospecha de esta entidad.
Ante la presencia de un material textil en alguna cavidad corporal, la respuesta que el organismo monta puede ser aguda, con episodios de sepsis y formación de abscesos, con posterior compromiso incluso de la vida del animal. En los casos crónicos, la formación de adherencias, tejido de granulación y el encapsulamiento, son la evolución más frecuente, llegando incluso a transcurrir años antes de alguna manifestación clínica, como obstrucciones del tracto digestivo o fístulas.
La presentación de los textilomas no necesariamente es asociada a iatrogénia, ya que materiales reabsorbibles empleados en diferentes técnicas quirúrgicas deben persistir en una cavidad como parte del procedimiento terapéutico y/o post-quirúrgico, pueden llegar a ser rechazados por el organismo y desencadenar una reacción a cuerpo extraño, originando la formación de un textiloma.
Tacyildiz I y Aldemir M, concluyen que durante procedimientos quirúrgicos en una cavidad no deben de ser utilizadas gasas o esponjas pequeñas, pues el riesgo de que se extravíen o se "olviden" en la cavidad se incrementa.
Bani-Hani KE y col. dicen que los errores humanos no pueden ser totalmente suprimidos, y que únicamente un estricto y continuo entrenamiento médico puede reducir la incidencia al mínimo, siendo este principio aplicable tanto a medicina humana, como medicina veterinaria.

En el caso descrito, el textiloma se encontró en la cavidad abdominal, siendo similar a lo referido en la literatura consultada, pudiendo estar relacionado con el proceso quirúrgico mencionado en la historia clínica. El tipo de material que componía la matriz del textiloma, correspondía a una gasa convencional, empleado en la mayoría de las cirugías de animales de compañía o procedimientos quirúrgicos de urgencias en estas especies. Al quedarse dicho material en la cavidad abdominal, se monto una respuesta inflamatoria crónica,

encapsulándose el tejido hasta su resección en la laparotomía exploratoria, donde clínicamente se considero como un hallazgo.

En medicina veterinaria, debe considerarse la presentación de textilomas, en aquellos pacientes a los que se les practique algún procedimiento quirúrgico y cumplan con los factores de riesgo descritos para medicina humana.

REFERENCIAS

Ribalta T, *et al*. Textiloma (gossypiboma) mimicking recurrent intracraneal tumor. *Arch Path Lab Med.* 2004. 128(7): 749-758.

Le Neel JC, *et al*. Textiloma. Aporpos of 25 cases and review of the literature. *Chirurge.* 1994-1995. 120(5): 272-277.

Bani-Hani KE, et al. Retained surgical sponges (gossypiboma). *Asian J of Surgery.* 2005. 28(2): 109-115.

Tacyildiz I, Aldemir M. The mistakes of surgeons: "gossypiboma". *Acta Chir Belg*. 2004. 104(1): 71-75.

Papazoglu LG, Patsikas MN. 2001. What is your diagnosis? Retained surgical sponge. *J Small Anim Pract.* 42(7): 325, 363.

Case III- 423102. Memories of the Conference 4, Slide conference, The Armed Forces Institute of Pathology. Octubre 2005. Pag.:6-8.

TOXOPLASMOSIS EN MONOS ARDILLA (Saimiri sciureus)

Christopher Padua M, Juan F Muñoz G, Carlos Cedillo P*, Elizabeth Morales S.
Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
*z.carlos@mailcity.com

RESUMEN

La toxoplasmosis es una entidad que afecta tanto al hombre como a varios animales de sangre caliente. Toxoplasma gondii es un parásito intracelular obligado cuya transmisión se asocia al consumo de carne infectada, por consumo de alimentos contaminado con heces fecales o por vía congénita. En recientes experimentos, se ha descrito la posibilidad de transmisión a partir de aerosoles en monos ardillas (Saimiri sciureus). En este tipo de animales, T. gondii causa enfermedad multisistémica mortal con afección principal de pulmón, hígado, bazo y linfonodos. Se llevo a cabo el estudio postmortem de dos monos ardilla (Saimiri sciureus), cuya historia clínica refería anorexia, depresión y muerte súbita. A la necropsia e histopatología, los hallazgos más relevantes fueron edema pulmonar, neumonía intersticial, hepatitis necrótica y linfadenitis necrótica, apreciándose en estos órganos,

estructuras parasitarias sugerentes de bradizoitos de T. gondii, los cuales se confirmaron por inmunohistoquímica y microscopía electrónica de transmisión. Las lesiones presentes en los monos ardilla, fueron compatibles con un cuadro infeccioso sistémico por T. gondii, similares a lo referido en la literatura veterinaria, donde se han descrito varios informes sobre toxoplasmosis en primates del nuevo mundo, los cuales se refieren como animales mucho más susceptibles que los primates del viejo mundo, que difícilmente sobreviven a la enfermedad.

Palabras clave: Toxoplasma gondii, monos ardilla.

TOXOPLASMOSIS IN TWO SQUIRREL MONKEYS (Saimiri sciureus)

Abstract

Toxoplasmosis is a disease that affects human beings as well as several warm blood animals. Toxoplasma gondii is an obligated intracellular parasite whose transmission is associated with infectious meat consumption, fecal contaminated food and congenital route. Recent experiments have described the possibility of aerosol transmission in squirrel monkeys (Saimiri sciureus). In these animals, T. gondii causes a mortal multisystemic disease primarily affecting the lung, liver, spleen, and lymph nodes. The post mortem examination of the two squirrel monkeys was carried through; the referred clinical signs were anorexia, depression and sudden death. The histopatologycal study revealed pulmonary edema, interstitial pneumonia, necrotic hepatitis and necrotic lymphadenitis, and parasitic structures suggesting bradizoites of T. gondii were observed, all this compatible with systemic toxoplasmosis, alike other cases referred in veterinary

literature where several reports about new world primates toxoplasmosis have been described, in which new world primates are referred as much more susceptible than old world ones, and hardly survive the disease.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, squirrel monkeys.

INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una entidad que afecta tanto al hombre como a varios animales de sangre caliente. *Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular obligado con ciclo enteroepitelial en el huésped definitivo (felinos domésticos y silvestres), y un ciclo extraintestinal en los huéspedes intermedios (mamíferos y aves). Su transmisión se asocia al consumo de carne infectada, por consumo de alimentos contaminado con heces fecales o por vía congénita. En recientes experimentos, se ha descrito la posibilidad de transmisión a partir de aerosoles en monos ardillas (Saimiri sciureus).
Dentro de la literatura científica, se han descrito varios informes sobre toxoplasmosis en primates del nuevo mundo, los cuales se refieren como animales mucho más susceptibles que los primates del viejo mundo, que difícilmente sobreviven a la enfermedad. Siendo desconocidas las razones de tal susceptibilidad. En este tipo de animales, T. gondii causa enfermedad multisistémica mortal con afección principal de pulmón, hígado, bazo y linfonodos.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es describir dos casos de toxoplasmosis en monos ardilla con la presencia de helmintiasis concomitante y la revisión de la literatura relacionada con esta enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fueron remitidos para su estudio postmortem al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, dos monos ardilla (Saimiri sciureus), macho y hembra, jóvenes, cuya historia clínica refiere que los animales con anorexia, depresión y muerte súbita, con salida de espuma sanguinolenta por cavidad oral. Dichos primates eran parte de un lote de ocho individuos, dentro d elos cuales los seis restantes mantenia signologia similar sin mejora alguna, sin conocerse a la fecha la situación del resto del lote. Con base en la historia clínica y l especie de la que se trataba, se consideraron como diagnostico diferenciales enfermedades respiratorias virales y bacterianas.
Se llevaron a cabo los estudios de necropsia en los dos monos remitidos, recolectándose muestras representativas de diversos órganos que incluyeron linfonodos, pulmón, corazón, estómago, intestino delgado y grueso, hígado, bazo, riñón y encéfalo. Fueron fijadas en formalina amortiguada al 10% por 24 horas y posteriormente se procesaron con la técnica de rutina para histología, se embebieron en parafina, efectuándose cortes de 4 a 5 μm de grosor, tiñiendose con Hematoxilina y Eosina (H&E), para el parénquima pulmonar se realizo la

tinción especial de PAS (Acido Peryódico de Schiff). Las laminillas con los diferentes cortes histologicos se revisaron en microscopio óptico convencional.
Para el estudio inmunuhistoquímico, se seleccionaron secciones de pulmón e hígado, llevándose a cabo el complejo Avidina-Estreptoavidina peroxidasa, utilizándose marcadores VMRD, Inc., T. gondii, Hyperimmune antiserum-Caprine origin G244.
Para el estudio ultraestructural, se recuperó tejido pulmonar fijado, cortándose fragmentos de 2 a 3 mm^3 para su refijación en glutaraldehído al 2.5 % (amortiguado con solución de cacodilatos pH 7.2, 0.1M), posteriormente las muestras se posfijaron con tetraóxido de osmio al 1%, embebiéndose en resinas epoxicas (Epon 812). Una vez procesadas las muestras, se realizaron cortes semifinos de 0.12 a 0.15 μm teñidos con azul de metileno y cortes finos de 60 a 80 nm, contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo. Las muestras se revisaron en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM 900 a a 50kv.

RESULTADOS

Estudios postmortem

En los dos monos remitidos, los hallazgos a la necropsia fueron similares, variando en cuanto al grado de severidad. A la inspección externa presentaban pobre condición corporal, el macho presentó un buen estado de conservación y la hembra uno regular. El pelaje se apreció hirsuto y sucio. Al incidir cavidades, ambos animales presentaron los lóbulos pulmonares aumentados de tamaño y brillantes, los septos interlobulares eran evidentes, el parénquima presentaba coloración rosada con áreas discretamente más oscuras y petequias. Los linfonodos se apreciaron aumentados de tamaño y con coloración café oscura a negruzca.

Histopatología

Microscópicamente los cambios más relevantes se encontraron en el parénquima pulmonar, hepático, esplénico y en linfonodos. Se revisaron diferentes secciones de tejido pulmonar, observándose en las paredes alveolares de discreta a moderada cantidad de infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas, apreciándose dentro de algunos macrófagos y neumocitos tipo I y II, vacuolas de gran tamaño, observándose en su interior múltiples estructuras parasitarias compatibles con protozoarios, sugerentes de bradizoitos de T. gondii, los cuales resultaron positivos a la tinción de PAS, dichas estructuras también se encontraron formando quistes de pared gruesa distribuidos aleatoriamente. Así mismo, se observo abundante material eosinofílico homogéneo claro acelular en luz de los alvéolos. La luz de bronquios y bronquiolos presento de ligera a moderada cantidad de macrófagos alveolares entremezclados con material proteináceo. En bazo y linfonodos se observo despoblación linfoide, así como necrosis individual de células linfoides con presencia de escasas estructuras parasitarias similares a las descritas en pulmón, tanto en macrófagos como en forma de quistes. El hígado presento focos de necrosis coagulativa mediozonal, observándose aleatoriamente estructuras

parasitarias similares a las descritas en pulmón, tanto en células de Kupffer como en forma de quistes.

En las secciones examinadas de pulmón del mono hembra, se observaron múltiples estructuras parasitarias vermiformes, las cuales presentan cutícula lisa con una capa de células musculares por debajo de la misma, así mismo se observa una estructura tubular compatible con intestino, útero repleto de microfilarias y estructuras similares a ovarios, con base en las características histológicas y la literatura citada, se trata de nemátodos pulmonares, sugerentes de vermes del género Parafilaroides. Las secciones de hígado exhibieron en la luz de conductos biliares, múltiples estructuras helmínticas recubiertas con una cutícula delgada, la cual en algunas porciones presentaba ventosas con musculatura en forma radiada, además de poseer útero repleto de huevos ovales, de coloración oscura y cutículas gruesas, con base en las características histológicas y la literatura consultada, los parásitos corresponden a trematodos, sugerentes de Athesmia foxi.

Inmunohistoquímica

Se revisaron secciones histológicas de pulmón e hígado, apreciándose múltiples estructuras inmunopositivas a T. gondii, dentro de macrófagos alveolares y células de Kupffer, respectivamente, así como inmunopositividad de quistes en ambos tejidos.

Microscopía electrónica

En secciones de pulmón se observaron dentro de macrófagos y de forma libre, múltiples estructuras parasitarias de ovoides a piriformes de aproximadamente 2 µm de longitud, las cuales presentan membrana granular electrodensa, algunas estructuras presentaban en un extremo, una formación cónica correspondiente al conoide. Internamente se observó abundante endoplasma con la presencia de diferentes organelos. En estrecha relación a la membrana granular es posible observar múltiples estructuras tubulares compatibles con micronemas. Cerca del conoide paralelamente, se apreciaron estructuras ovales alargadas electrodensas correspondientes a roptrias, en su porción media central, se aprecian múltiples estructuras esféricas electrodensas de bordes bien definidos compatibles con vacuolas secretoras entremezcladas con estructuras electrolúcidas redondas correspondientes a vacuolas digestivas; en algunos parásitos se observo el núcleo con pobre conservación y mal definido. Las estructuras parasitarias antes descritas fueron compatibles con parásitos protozoarios de la familia Apicomplexa, sugerentes de fases extraintestinales de T. gondii.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Con base en la historia clínica, los hallazgos a la necropsia, histopatologicos, inmunohistoquímicos y ultraestructurales, las lesiones presentes en ambos monos

ardilla fueron compatibles con un cuadro infeccioso sistémico por T. gondii, similares a lo descrito en la literatura veterinaria.

La toxoplasmosis es considerada una enfermedad parasitaria de diversas especies de vertebrados silvestres como los lemures, marsupiales australianos, liebres y primates del nuevo mundo. Sin poderse esclarecerse a la fecha, la causa de su alta susceptibilidad (Epiphanio y colaboradores, 2003)

Gustafsson y colaboradores (1997), llevaron a cabo estudios en "mountain hares" sobre la proliferación de linfocitos T, donde sugieren que los vertebrados de este tipo no desarrollan una respuesta celular efectiva en contra de T. gondii. Varios autores, consideran al parasitismo como un fenómeno evolutivo, con patogenicidad y especificidad cambiante a través de los años.

Innes (1997), sugiere que los hábitos arborícolas de los primates de nuevo mundo, les ha proporcionado un "aislamiento" o falta de contacto con felinos y ooquistes de T. gondii, durante el transcurso de su evolución, dando como resultado una falla en su resistencia contra dicho parásito.

Epifanio y colaboradores, 2003, llevaron a cabo un estudio recapitulativo sobre la patología de Toxoplasma gondii en primates del nuevo mundo (33 primates), de animales provenientes de zoológicos y colecciones particulares. Las lesiones presentes en los animales afectados contemplan congestión y edema pulmonar (en 78.8 y 75.8% de los casos, respectivamente), neumonía intersticial, de exfoliativa y a necrótica (93%), miocarditis crónica (61.2%), hepatitis necrótica (97.0%) con congestión (33.3%) y hepatomegalia (48.5%), enteritis (82.7), esplenitis necrótica (100.0%) con esplenomegalia (57.6%), linfadenitis necrótica (95.6%) con hemorragias (54.6%) y linfadenomegalia (27.3%), nefritis intersticial (50.0%) y glomerulonefritis proliferativa y membranoproliferativa (34.4%), y encefalitis con desmielinización (7.1), entre otros cambios. La presencia de estructuras parasitarias PAS positivas se describió en pulmón, corazón, hígado, bazo y linfonodo. En el caso descrito, las lesiones coincidieron considerablemente; a la necropsia, el edema pulmonar fue lo mas representativo en conjunto con la linfadenomegalia, en ambos animales; histopatologicamente la neumonía intersticial, la hepatitis necrótica, así como la linfadenitis necrótica fueron los cambios predominantes, los cuales fueron los órganos donde también se observaron estructuras parasitarias; no se apreciaron alteraciones en corazón ni en sistema nervioso.

Inmunohistoquimicamente, Epifanio y colaboradores, describen positividad para el antígeno de T. gondii, en muestras de hígado, pulmón, bazo y linfonodos, con variaciones de intensidad; así mismo, el anfígeno también pudo demostrarse en corazón, encéfalo, riñones, adrenales, arterias, intestino delgado y grueso, entre otros otros tejidos. En nuestro caso, solamente se corrió la técnica en tejido pulmonar y hepático, considerándose positivos al antígeno las estructuras quísticas dentro de macrófagos, células de Kupffer o de forma libre, bradizoitos positivos en macrófagos o espacio alveolar se tomaron con reserva pero no con carácter diagnostico.

Ultraestructuralmente, los protozoarios descritos, presentan organelos propios de la familia Apicomplexa, como son el conoide, roptrias y micronemas entre otros,

cuya presencia se considera como parte de los criterios ultraestructurales para este tipo de protozoarios (cheville), sin embargo, la morfología presente en dichas estructuras, no permitio su identificación con respecto a la etapa del ciclo extraintestinal en la que pudieran estar.

Dentro de los nemátodos pulmonares comúnmente reportados en primates del nuevo mundo, se encuentran los clasificados dentro del género Parafilaroides.

Los únicos reportes consultados acerca de trematodos en conductos biliares en primates del nuevo mundo hacen referencia a Athesmia foxi como agente etiológico.

El caso descrito ejemplifica el impacto que representa T. gondii para los primates de nuevo mundo, como son los monos ardilla (Saimiri sciureus). Pudiendo llegar a tener repercusiones graves en los lugares con alta densidad de estos organismos, como son zoologicos, colecciones particulares e incluso bioterios donde manejen primates. La comercialización de estas especie aunado al trafico de animales y la escasa o inadecuada normatización en la materia en nuestro país, favorece la presentación de estas entidades, al no contar, en la gran mayoría de los casos, con las condiciones de alojamiento, movilización y cuarentena para estas especies. Así mismo, la importancia de la Toxoplasmosis, radica en su alto potencial zoonótico y los problemas generados en la salud pública de nuestro país, ante el riesgo de exposición, contacto o interacción, con diferentes organismos de fauna silvestre, como pueden ser los primates del nuevo mundo.

REFERENCIAS

Epiphanio S et al: Pathology of Toxoplasmosis in Captive New World Primates. Journal of Comparative Pathology. 2003, Vol. 129. 196-204.

Green C. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2ª ed. McGraw-Hill Int.eramericana. México. 2000.

Fowler ME, RE Miller: Zoo and Wil Animal Medicine, 5th edition. Saunders. 2003, 745-749. USA.

Gustafsson K et al: Toxoplasma gondii infection in the mountain hare (Lepus timidus) and domestic rabbit (Oryctolagus cuniculus). II. Early immune reactions. Journal of Comparative Pathology. 1997, Vol. 117. 361-369.

Innes E: Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. 1997, Vol 20. 131-138.

Chitwood M, Lichtenfels JR. Identification of Parasitic Metazoa in tissue sections. Experimental parasitology. 1972. 32: 407-519.

Cheville NF: Ultrastructure Pathology. Iowa State University Press. USA. 1994.

CIRCOVIRUS PORCINO TIPO II, INFORME DE UN CASO

Orduña Sumarán Alberto[1], Téllez Ballesteros Elizabeth Eugenia[2]
[1] Jefe del Depto de Análisis Clínicos del CENASA, km 37.5 Carr. México-Pachuca, Santa Ana, Tecamac. Tels. 5934 6524, 30, Fax 5934 6531. depto.ac@senasica.sagarpa.gob.mx
[2] Responsable de área de histopatología del CENASA, km 37.5 Carr. México-Pachuca, Santa Ana, Tecamac. Tels. 5934 6515. kenatb@hotmail.com

RESUMEN

Se recibió un cerdo macho vivo de 4.5 meses de edad, de 60 kg, raza criolla, proveniente del Estado de México. Durante 11 días cursó con fiebre y anorexia con emaciación y debilidad progresiva en miembros posteriores, rehusándose al movimiento. Recibió tratamiento con penicilina y suero durante 8 días. A la inspección clínica presentaba dificultad para respirar, postración con cuadriplejía, mala condición corporal, edema subcutáneo en la pared abdominal, la piel tenía áreas de enrojecimiento y costras en orejas, cara, miembros anteriores, muslos y escroto. El animal macho fue sacrificado por electrocución. A la necropsia se encontró eritema moderado zonal en piel, tonsilitis abscedativa, pulmones aumentados de tamaño y edematosos con impresiones costales aparentes, hipertrofia severa del ventrículo derecho del corazón, esplenomegalia con infartos periféricos múltiples, linfoadenomegalia generalizada severa y congestión severa en riñón. Los hallazgos microscópicos fueron vasculitis no supurativa de moderada a severa en encéfalo, neumonía intersticial no supurativa severa difusa, hepatitis necrótica multifocal moderada, glomerulonefritis no supurativa moderada, tonsilitis granulomatosa severa difusa, linfadenitis granulomatosa severa difusa, y enteritis linfohistiocítica severa difusa. En tonsila, linfonodos e intestinos se observó la presencia de células gigantes abundantes formando sincitios. Con base en las lesiones macroscópicas y microscópicas, el animal cursó con un cuadro de circovirosis. Este virus es inmunosupresor y coactivo con otros virus (parvovirus porcino o síndrome disgenésico y respiratorio del cerdo) y bacterias (*Salmonella spp., Pasteurella spp.*), causando cuadros mixtos y en algunas ocasiones la muerte del animal.

PALABRAS CLAVE: *circovirus, cerdos, eritema cutáneo, cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos, sincitios.*

PORCINE CIRCOVIRUS TYPE II, CASE REPORT

ABSTRACT

4 Months old 132 lbs live male pig was received to necropsy. The pig had fever, anorexia, emaciation and progressive weakness and refused to move during 11 days. It was treated with fluids and antibiotics for 8 days. At clinical inspection the animal had poor body condition, cannot move, dispnea and abdominal edema, the

skin was reddish and eroded (ears, face, legs and escrotum). The animal was sacrificed by electrocution. The macroscopic findings were multifocal cutaneous eritema in skin, abscedative tonsillitis, the lungs were enlarged and edematous with apparent costal impressions, and the right ventricle of the heart was hypertrophyc, esplecnomegaly with multiple peripheral infarcts, generalized lymphadenomegaly and severe congestion in kidneys. The microscopic findings were mild non supurative brain vasculitis, severe non supurative interstitial pneumonia, mild multifocal necrotic hepatitis, mild non supurative glomerulonephritis, severe granulomatous tonsillitis, severe granulomatous lymphadenitis, and severe enteritis linfohistiocytic. It was observed a large quantity of giant cells in tonsil, lymph node and guts. On the basis of macro and microscopic findings, it is proposed that the pig had circovirus type II. This is an immune suppressor virus and coactive with others like porcine parvovirus (PPV) and porcine respiratory and reproductive syndrome (PRRS) or bacteria like *Salmonella spp.* or *Pasteurella spp.* In conclusion, this disease predisposes the presence of opportunism pathogens mixed and the death of the animal.

KEY WORDS: *circovirus, pigs, cutaneous eritema, intracitoplasmic inclusion bodies, sincitial cells.*

INTRODUCCIÓN

A finales de los 70 se encontró un virus, como contamínate de algunas líneas celulares de riñón de cerdo PK15, llamado actualmente circovirus porcino tipo I (PCV1). Este virus probó ser no patogénico en cerdos infectados experimentales [(1)]. A partir de tejidos de un cerdo fallecido con la enfermedad que ahora conocemos como síndrome nefropático y cutáneo porcino (PDNS) se logró aislar el circovirus porcino tipo II (PCV2) por primera vez, utilizando un cultivo celular PK15 libre de PCV1. [(1,2)]

El PDNS es una enfermedad relativamente nueva, que tiene consecuencias en la producción, y es económicamente perjudicial, principalmente en las etapas de crecimiento y finalización, y ocasionalmente en cerdos adultos. El síndrome se ha observado en piaras de diverso origen genético y estado sanitario. No existe evidencia de afección en otras especies animales. [(1,3)]

El PDNS se caracteriza por una vasculitis sistémica, con marcada afinidad por la piel y los riñones. Los signos clínicos incluyen fiebre, anorexia, y múltiples hemorragias bajo la piel sobre todo en la cola, la parte posterior de los muslos (jamón), y las orejas (cianóticas). A la necropsia, la mayoría de los linfonodos están hemorrágicos y aumentados de tamaño, además hay presencia de glomerulonefritis. [(3,4)]

El virus del síndrome disgenésico y respiratorio del cerdo (PRRS) se relaciona como posible agente etiológico que contribuye a la presentación clínica del PDNS, en combinación con infecciones bacterianas secundarias como la *Pasteurella multocida* y el *Streptococcus spp.* Krakowka y colaboradores (2000) confirmaron

el sinergismo entre PCV2 y Parvovirus porcino (PPV). Tanto el PPV como el PRRS se multiplican en macrófagos, lo que haría pensar en la posibilidad de que en la patogenia del PCV2 sea necesaria la inmunoestimulación de los macrófagos para replicarse. (5)

HISTORIA

El 6 de marzo del año en curso, se recibió un cerdo macho vivo de 4.5 meses de aproximadamente 60 kg, de raza criolla, proveniente de Temascalapa, Estado de México. El dueño menciona que cursó con fiebre y anorexia con la consecuente emaciación y debilidad en miembros posteriores, rehusándose al movimiento durante 11 días. Recibió tratamiento con penicilina y suero durante 8 días. Es el único animal con esta signología. Por otro lado, los vientres de la explotación han tenido lechones momificados y abortos. Las instalaciones son de concreto y el alimento que reciben consiste en concentrado comercial para etapa de engorda y crecimiento revuelto con sorgo.

HALLAZGOS MACROSCÓPICOS

A la inspección clínica presentaba dificultad para respirar, postración con cuadriplejía, mala condición corporal con edema subcutáneo en la pared abdominal, la piel tenía áreas de enrojecimiento y costras en orejas, cara, miembros anteriores, muslos y escroto; las mucosas conjuntival, oral y anal, se observaron sin cambios patológicos aparentes. El animal se encontraba alerta y fue sacrificado por el método de electrocución.

A la inspección interna, los linfonodos de la cabeza y en especial los submaxilares estaban moderadamente aumentados de volumen. Las tonsilas estaban ligeramente congestionadas y con pequeños abscesos multifocales. Las masas musculares y el tejido subcutáneo no presentaban cambios patológicos aparentes.

La tráquea y bronquios presentaron espuma y moco, los lóbulos pulmonares presentaban áreas de consolidación cráneo-ventrales de color más intenso (rojo encarnado) que le daban un aspecto marmoleado al órgano, dicho cambio abarcaba aprox. el 30% del parénquima. Asimismo se observó aumento de tamaño con patrón intersticial en el 100% del tejido. En la superficie de corte se observó salida de moco y sangre, y en un área se observaron de 3 a 4 abscesos del tamaño de un alfiler. El corazón presentó hipertrofia del ventrículo derecho. El esófago no presentó cambios.

En el hígado se observó un incremento en el patrón lobulillar con congestión y abundante salida de sangre al corte. El bazo también se encontraba aumentado de tamaño y con zonas pequeñas de infarto en la cápsula. El estómago contenía escasa cantidad de alimento líquido. El intestino delgado y el intestino grueso no presentaron lesiones aparentes; en el recto había heces bien formadas. Los ganglios gástrico y hepático estaban aumentados de tamaño, este cambio también se encontró en todos los ganglios mesentéricos. Ambos riñones presentaron zonas de congestión en la cápsula. La cavidad craneana presentó

congestión leptomeníngea moderada. Las articulaciones y cornetes nasales no se revisaron.

Los diagnósticos morfológicos fueron los siguientes: eritema moderado zonal en piel; tonsilitis abscedativa; neumonía intersticial 100%; hipertrofia severa del ventrículo derecho del corazón; esplenomegalia con infartos periféricos múltiples; linfoadenomegalia severa

El diagnóstico presuntivo fue de FPC. Se enviaron muestras a diferentes laboratorios para confirmar o descartarla:
VIROLOGÍA – Tonsila, linfonodos, bazo, ileon, suero, encéfalo y pulmón para diagnóstico de FPC, Enfermedad de Aujezsky (EA) y Ojo azul (OA).
SEROLOGÍA – Suero para diagnóstico de FPC, EA, PRRS, PPV y OA; además lavado bronquial para diagnóstico de PRRS.
ANÁLISIS CLÍNICOS – Heces / Coproparasitoscópico
HISTOPATOLOGIA – Vísceras

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS
ENCÉFALO – Se observa congestión y hemorragia severa en meninges. Hay reacción inflamatoria vascular severa, compuesta principalmente por linfocitos, asimismo se observa edema perivascular moderado. También hay focos de gliosis moderada en diversas zonas. Estas lesiones son más evidentes en la parte media del encéfalo.
PULMÓN – Se observa congestión y hemorragia leve, así como engrosamiento de los alveolos por proliferación de neumocitos tipo II e infiltrado inflamatorio linfocitario que se extiende hasta los bronquiolos. Los bronquios y bronquiolos presentan metaplasia del epitelio con presencia de polimorfonucleares, piocitos, macrófagos reactivos y células plasmáticas en su luz. Incluso en algunas secciones, se observa pérdida del epitelio y presencia de moco moderado. También hay edema en los septos.
TONSILA – Presencia de células gigantes abundantes formando sincitios. En una célula gigante se aprecia una estructura sugestiva a un cuerpo de inclusión intracitoplasmático.
LINFONODO – Presencia de células gigantes abundantes formando sincitios.
HIGADO – Reacción inflamatoria mixta (principalmente por polimorfonucleares y linfocitos) de manera multifocal, así como focos de necrosis de los hepatocitos.
RIÑON – Se observa infiltrado inflamatorio linfocitario en el instersticio de la nefrona (túbulos contorneados y glomérulos), con presencia de material proteináceo abundante en el espacio de Bowman y algunos túbulos, sugiriendo pérdida de proteína.
INTESTINO – Presencia de células gigantes abundantes formando sincitios, así como presencia de gran cantidad de macrófagos y linfocitos reactivos.

El diagnóstico morfológico fue como sigue:
ENCÉFALO – Vasculitis no supurativa de moderada a severa.
PULMÓN – Bronconeumonía intersticial no supurativa severa difusa.
TONSILA – Tonsilitis granulomatosa severa difusa.

LINFONODO – Linfadenitis granulomatosa severa difusa.
HÍGADO – Hepatitis necrótica multifocal moderada.
RIÑÓN – Glomerulonefritis no supurativa moderada a severa.
INTESTINO – Enteritis linfohistiocítica severa difusa.

PRUEBAS COMPLEMENTARIAS
Bacteriología de pulmón e hígado negativos al aislamiento.
Suero por técnicas de inmunoperoxidasa y ELISA negativo a FPC, Enfermedad de Aujezsky, Ojo azul y PRRS; y por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación positivo a Parvovirus porcino (título 1:4096).
Aislamiento viral negativo a FPC, Enfermedad de Aujezsky, Ojo azul y PRRS.

CRITERIO DIAGNÓSTICO
En base a las lesiones macroscópicas y microscópicas y la ausencia tanto de anticuerpos como del aislamiento de otras enfermedades diferenciales, se concluye que el diagnóstico final fue CIRCOVIRUS PORCINO TIPO II.

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES
El diagnóstico diferencial debe incluir FPC, FPA, erisipela porcina y el síndrome del estrés porcino. Asimismo, las enfermedades bacterianas que causan coloración rojiza de la piel, petequias o cianosis, tales como *Actinobacillus suis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis* y salmonelosis sitémica por *Salmonella choleraesuis*, que se deben considerar y descartar, para establecer un diagnóstico definitivo del PDNS. En sus etapas iniciales, el PDNS se puede confundir con sarna sarcóptica.(3)

DISCUSIÓN
Con base en las lesiones macroscópicas y microscópicas, el animal cursó con un cuadro de circovirosis. Este tipo de virus es inmunosupresor y coactivo con otros virus (parvovirus porcino o síndrome respiratorio y reproductivo de los cerdos) y bacterias (*Salmonella sp., Pasteurella sp.*), causando cuadros mixtos y en algunas ocasiones la muerte del animal. Hasta el momento, no se conocen métodos para prevenir el síndrome. Sin embargo, algunas medidas de bioseguridad, como aislar animales de reemplazo (cuarentena), evitar el mezclado de animales de diferentes edades (sistema "todo dentro-todo fuera") y programas de medicación estratégica, se recomiendan para disminuir el impacto de la enfermedad. (3)

IMPORTANCIA MÉDICA O SANITARIA DEL CASO
La forma epidémica del PDNS tiene signos similares a la fiebre porcina clásica (FPC), hay problemas para diferenciar sus signos clínicos y lesiones. La diferenciación entre FPC y PDNS fue un grave problema durante el brote de FPC en Reino Unido, en el año 2000. (3)

Ambas enfermedades producen pirexia (fiebre), mortalidad superior a 10% en cerdos del área de crecimiento y finalización, muertes en animales adultos, y claudicación acompañada de signos neurológicos. Además producen lesiones en los linfonodos, éstos están aumentados de tamaño y hemorrágicos; asimismo, se

observan hemorragias (de diferentes dimensiones) en varios tejidos, órganos y cavidades corporales (pericárdica, peritoneal y pleural), y se encuentran acumulaciones anormales de fluidos. (3)

En México, y dentro del marco legal de la campaña de control y erradicación de la FPC, el no contemplar el informe de esta combinación de signos y lesiones macroscópicas podría considerarse un delito, sobre todo para los médicos veterinarios quienes faltarían a su deber de cumplir con la normatividad sanitaria existente.

REFERENCIAS

1. Harding JC. *Postweaning* multisystemic wasting syndrome (PMWS): preliminary epidemiology and clinical presentation. Proc of the Am Assoc of Swine Pract 1997; 28:503.
2. Ellis J, Hassard L, *et al.* Isolation of circovirus form lesions of pigs with posweaning multisystemic wasting syndrome. Vet. Journal 1998; 39:40-51.
3. Martínez G.R., Carreón N.R., *et al.* Sistema de Producción Animal II Cerdos. División Sistema Universidad Abierta y Educación a Distancia UNAM-FMVZ. 1ª ed, 2002; pág. 138-141.
4. Ellis J., Krakowka S., *et al.* Reproduction of lesions of posweaning multisystemic wasting síndrome in gnotobiotig piglets. J. Vet. Diagnostic Investigations 1999: 11:3-14.
5. Krakowka S., Allan G.M., *et al.* Experimental reproduction of wasting diseases and death bye co-infection of piglets with porcine circovirus and porcine parvovirus. J Comp. Pathology 1999; 121(1):1-11.

MIOSITIS EOSINOFÍLICA ASOCIADA A *Sarcocystis sp.* EN UN EQUINO INFORME DE UN CASO

Orduña Sumarán Alberto[1], Téllez Ballesteros Elizabeth Eugenia[2]

[1] Jefe del Depto de Análisis Clínicos del CENASA, km 37.5 Carr. México-Pachuca, Santa Ana, Tecamac. Tels. 5934 6524, 30, Fax 5934 6531. depto.ac@senasica.sagarpa.gob.mx
[2]Responsable de área de histopatología del CENASA, km 37.5 Carr. México-Pachuca, Santa Ana, Tecamac. Tels. 5934 6515. kenatb@hotmail.com

RESUMEN

Se recibió un cadáver de caballo hembra de 450 kg, raza criolla, proveniente del Estado de México. La historia clínica menciona claudicación del miembro posterior izquierdo y de la mano derecha durante 10 días. En el día 11 se postró. Al día 12 se encontró muerta. A la necropsia se encontró ictericia moderada difusa y edema a nivel del tejido subcutáneo, siendo más evidente en la región ventral. A la revisión muscular presentó cambios de coloración en forma multifocal en todos los músculos, siendo los más afectados los que se localizan en miembros anteriores y posteriores. Los hallazgos microscópicos fueron mionecrosis eosinofílica severa difusa con presencia de quistes parasitarios sugestivos a *Sarcocystes sp.,* necrosis hepática periacinar severa difusa, atrofia linfoide esplénica severa difusa, glomerulonefritis multifocal leve con necrosis tubular leve. Con base a la historia clínica, los hallazgos macroscópicos y microscópicos, el daño muscular se asocia con una infestación parasitaria por *Sarcocystes sp.*, ocasionando necrosis muscular. Este caso es interesante ya que la literatura menciona que en mínimas ocasiones estos parásitos llegan a producir reacción inflamatoria. Aunque la infestación no fue la causa de muerte del animal seguramente exacerbó los signos clínicos observados. Se concluye que la muerte del animal fue ocasionada por el daño hepático periacinar, el cual sugiere una intoxicación por químicos, donde los más comunes son: fósforo, cresol, tetracloruro de carbono y metales (cobre, hierro). Para llegar a un diagnóstico final se requieren técnicas de inmunohistoquímica específicas contra el parásito, situación que actualmente no se tiene montada.

PALABRAS CLAVE: *protozoarios, caballo, Sarcocystis spp., mionecrosis, claudicación.*

EOSINOPHILIC MIOSITIS ASOCIATED TO *Sarcocystis sp* IN A HORSE CASE REPORT

ABSTRACT

720 lb Death mare was received to necropsy. It was referred with signs of stiffness, first the left hind limb, then on the right hand for 10 days. On day 11 was prostrated. On day 12 was found dead. The macroscopic findings were severe jaundice, subcutaneous edema mostly ventrally. The muscular masses presented

multifocal coloration changes (darkness), mostly in legs. Microscopic findings were severe eosinophilic mionecrosis with parasitary cysts suggestive to *Sarcocystes sp.*, severe periacinar necrosis, severe splenic lymphoid atrophy, multifocal glomeruloneprhitis with tubular necrosis. On the basis of clinic history, macroscopic and microscopic findings, the muscular damage is associated with a parasitary infestation by *Sarcocystes sp.*, producing muscular necrosis. This particular case is interesting; studies mention that just in some rare cases these parasites can produce inflammatory reaction. Though the infestation was not the main cause of death, surely it exacerbated the clinical signs observed. It is concluded that the death was caused by hepatic damage because of chemical intoxication where phosphorus, carbon tetrachloride, cresol and metals like cupper and iron, are the most common. To achieve a final diagnosis, it is required specific inmunohistochemical techniques against the parasite, which is not developed yet.

KEY WORDS: *protozoan parasites, horses, Sarcocystis spp., mionecrosis, lameness.*

INTRODUCCIÓN

El *Sarcocystis* es un parásito protozoario de los músculos en animales que tiene un desarrollo obligatorio en dos huéspedes y se ha encontrado en el músculo de caballos como huésped intermediario. [1,2] Los sarcocistos son ingeridos con la hierba contaminada por heces de carnívoros. Los esporozoitos son liberados y migran a diversos sitios. La segunda o tercera generación de los esquizontes se desarrolla en las fibras musculares dentro de quistes de pared delgada. La introducción o migración de los protozoarios en las fibras musculares produce un daño extenso con degeneración y liberación exacerbada de enzimas si la infestación es severa. El crecimiento de los quistes ocurre aproximadamente en los siguientes 100 días, produciendo daño muscular y claudicación. [1,2]

Existe controversia sobre si los sarcocistos producen una signología muscular clínica en caballos [1,2]. En un estudio se encontró que 12 de 91 caballos con historia de problemas musculares crónicos, fueron positivos a sarcocistos mediante biopsia muscular. Sin embargo, no se pudieron encontrar diferencias entre los caballos afectados y los que no estaban infectados mediante historia clínica, signos clínicos o hemogramas. En un caso se reportó pérdida de peso, letargia, dificultad al masticar o deglutir, debilidad muscular generalizada y fasciculaciones. Estos signos fueron atribuidos a una infestación severa por sarcocistos. Asimismo se reportó enfermedad crónica en un pony infectado experimentalmente. [3]

Se han reconocido 3 especies de sarcoystes (*S. bertrami, S. equicanis y S. Feyeri*) [1,2]. Se ha reportado una elevada prevalencia postmortem de sarcocistes con evidencia de infección transplacentaria [4], sugiriendo que probablemente la

infección inaparente es muy común. La infestación por sarcocistos se encuentra involucrada en la mieloencefalitis protozoaria equina. (1,2,5)

En algunas ocasiones, el número de bradizoitos dentro del quiste es de tal magnitud (trillones), que el quiste de protozoarios se puede observar macroscópicamente como nódulos blancos. Estudios reciencientes han asociado al *Sarcocystis* con una miositis eosinofílica. Macroscópicamente se observa como áreas bien demarcadas y focal o localmente extensas de decoloración verde en el músculo. Al examen microscópico las áreas afectadas revelan degeneración muscular e infiltrado eosinofílico. (1)

HISTORIA

El 3 de febrero del año en curso, se recibió un cadáver de caballo hembra con peso aproximado de 450 kg, de raza criolla, proveniente de Texcoco, Estado de México. La historia clínica menciona claudicación del miembro posterior izquierdo y 3 días después de la mano derecha. La claudicación duró 10 días. En el día 11 se postró. Al día 12 se encontró muerta.

HALLAZGOS MACROSCÓPICOS

El cadáver, presentó buen estado de conservación. La condición corporal era buena, la piel y el pelo no presentaban alteraciones aparentes. La mucosa conjuntival y oral estaban pálidas, y en la región perianal la vulva se encontraba edematosa. El tejido subcutáneo se encontró ictérico y tenía abundante tejido adiposo con edema severo entre subcutáneo y músculos en la región ventral. Las masas musculares estaban con cambios de color de aspecto negro las cuales eran más evidentes en los miembros anteriores y posteriores. Se observó necrosis muscular multifocal difusa. La lengua, el paladar blando y duro y la epiglotis no presentaron lesiones.

Al incidir la cavidad torácica se observó la tráquea sin cambios. La cápsula del pulmón se encontraba ictérico. Los lóbulos pulmonares derechos e izquierdos en su porción dorsal (craneal y caudal), presentaban petequias y sufusiones. Al corte se observó abundante salida de sangre. El parénquima afectado era del 30%. El corazón presentaba abundantes petequias en el epicardio a nivel de los surcos paraconal, subsinusal y coronario. Al corte se observó sufusión general del endocardio (principalmente en el corazón derecho), también había hemorragia endocárdica de 5 x 3 cm. El esófago no tenia lesiones aparentes.

En la cavidad abdominal se observó ictericia de todo el tracto gastroentérico. El hígado estaba de color amarillo-ocre; al corte, se observó abundante salida de sangre. Asimismo, el bazo presentó petequias en la cápsula. Los compartimentos gástricos, el intestino delgado y grueso, contenían alimento compactado. El recto tenía heces bien formadas. Al corte, el riñón presentó necrosis a nivel de la corteza con presencia de áreas sugestivas a fibrosis y necrosis que se extendían a médula. En la vejiga, se observó abundante sedimento en la orina.

La cavidad craneana no presentó cambios.

Los diagnósticos morfológicos fueron los siguientes:
Ictericia moderada difusa.
Mionecrosis multifocal coalescente moderada.
Edema subcutáneo de la región ventral severo difuso.

Para el diagnóstico de laboratorio, se remitieron las siguientes muestras:
1. Virología: Suero / AIE y Piroplasmosis
2. Análisis clínicos: Orina / EGO, frotis de sedimento; Heces / Coproparasitoscópico
3. Histopatología: Varios órganos

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS

PULMÓN – Se observaron los bronquios con infiltrado inflamatorio linfoide y macrófagos, presencia de abundante moco y obstrucción de grandes vasos por ateromas.
HIGADO – Se observó en todos los espacios porta la necrosis severa de hepatocitos con vacuolización y núcleos picnóticos.
RIÑON – Presencia de infiltrado inflamatorio moderado de tipo linfocitario en los glomérulos. También se observó nefrosis multifocal leve de glomérulos y túbulos contorneados.
BAZO – Ausencia de linfocitos alrededor de vasos sanguíneos, indicando una atrofia linfoide severa difusa debida a un proceso crónico. Asimismo se observó pigmentación ocre en el parénquima, debido a la fagocitación de hemoglobina por hemólisis de eritrocitos, además de la presencia abundante de células plasmáticas.
MÚSCULO – Se observaron áreas de necrosis muscular con crenación de fibras musculares y de miositis con infiltrado severo de eosinófilos y neutrófilos en el perimisio. Donde la reacción inflamatoria era más evidente se observaron estructuras quísticas de tipo parasitario, unas en un estadío de necrosis, otras de calcificación y otras todavía íntegras.
Los diagnósticos morfológicos fueron los siguientes:
MÚSCULO – Miositis eosinofílica parasitaria severa difusa.
HÍGADO – Necrosis hepática periacinar severa difusa.
BAZO – Atrofia linfoide esplénica severa difusa.
RIÑÓN – Glomerulonefritis multifocal leve con necrosis tubular aguda.

PRUEBAS COMPLEMENTARIAS
Suero por técnicas de inmunodifusión y fijación del complemento negativo a AIE y Piroplasmosis, respectivamente.
Coproparasitoscópico negativo.
Sedimento urinario con presencia de abundante cantidad de oxalatos.

CRITERIO DIAGNÓSTICO

Lamentablemente, para llegar a un diagnóstico final de *Sarcocystes sp*. se requieren estudios de inmunohistoquímica y biología molecular. En el caso de inmunohistoquímica sólo se llega a realizar diagnóstico para *Sarcocistes neurona* en equinos, por su relevancia diagnóstica. Este tipo de sarcocistos se encuentran en algunas áreas del sistema nervioso y no se hace referencia de que afecte músculo. Esta técnica también nos podría a ayudar a diferenciar si se trata de *Neospora caninum* o *Toxoplasma gondii*. Esto se realizará en una etapa posterior. Por otro lado, en el caso de biología molecular no se cuenta con la secuenciación específica para poder determinar de qué tipo de sarcocistes se trata, por lo que el diagnóstico histopatológico es la herramienta es la herramienta utilizada para la conclusión del caso.

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

El diagnóstico diferencial debe incluir malformación vertebral, mieloencefalopatía por herpesvirus equino, encefalitis virales, osteomielitis vertebral, hepatoencefalopatía y enfermedad del lunes o hemoglobinuria paralítica. Según la literatura, dentro de las causas que llegan a ocasionar mionecrosis eosinofílica, se encuentran *Toxoplasma spp. y Neospora spp.*

DISCUSIÓN

Con base a la historia clínica, los hallazgos macroscópicos y microscópicos, el daño muscular se asocia con una infestación parasitaria por *Sarcocystes sp.*, ocasionando necrosis muscular. Este caso es interesante ya que la literatura menciona que en mínimas ocasiones estos parásitos llegan a producir reacción inflamatoria. Aunque la infestación no fue la causa de muerte del animal seguramente exacerbó los signos clínicos observados. Se concluye que la muerte del animal fue ocasionada por el daño hepático periacinar, el cual sugiere una intoxicación por químicos, donde los más comunes son: fósforo, cresol, tetracloruro de carbono y metales (como cobre, hierro). Para llegar a un diagnóstico final se requieren técnicas de inmunohistoquímica específicas contra el parásito, situación que actualmente no se tiene montada.

CONTRIBUCIÓN / IMPORTANCIA MÉDICA O SANITARIA DEL CASO

Siempre se ha creído que los sarcocistos no causan ningún transtorno en los animales y que se sólo se reporta como un hallazgo incidental a la necropsia. Sin embargo, en este caso al observar el daño muscular tanto macroscópicamente como microscópicamente y la signología que se menciona en la historia clínica, se podría sospechar que existen algunas especies de *Sarcocystis* que pueden llegar a producir cuadros patológicos. Consideramos que es de vital importancia determinar el tipo de *Sarcocystis* que estamos observando, ya que pudiese ser un problema de importancia zoosanitaria. Algo que es lamentable es que no se tiene ningún laboratorio de diagnóstico para realizar técnicas de diferenciación por inmunohistoquímica, por lo que todavía hay mucho que seguir estudiando y trabajando sobre el tema de *Sarcocystis* a nivel mundial.

Referencias

1. Hulland T.J. Muscles and tendons. Pathology of domestic animals. Editores Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. 3ª ed. Academic Press 1985;188-191.
2. Harris P.A. Musculoskeletal diseases. Equine Internal Medicine. W.B. Saunders Co 1998; 371.
3. Freestone J.F., Carlson G.P. Muscle disorders in the horse: a retrospective study. Equine Vet J 1991.
4. Edwards G.T. Prevalence of equine sarcocystis in British horses and a comparison or two detection methods. Vet Rec 1984; 115:265.
5. Dubey J.P., Davis S.W., Speer C.A. et al. Sarcocystis neurona n.sp (protozoa: apicomplexa): the etiologic agent of equine protozoal myeloencephalitis. J Parasitol 1991.

TETRALOGÍA DE FALLOT EN UN PERRO

Luis Enrique García Ortuño[1], Enrique Aburto Fernández[1], Jose Luis Cárdenas Sierra[2], Yukie Tachika Ohara[2], Rosa Elena Méndez Aguilar[2]

1. Departamento de Patología, 2. Hospital de Pequeñas Especies
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

Resumen

La Tetralogía de Fallot es una malformación cardiaca compleja, rara en el perro cuyas características son: 1) defecto del septo interventricular, 2) obstrucción del tracto de salida del ventrículo derecho (estenosis pulmonar), 3) aorta que cabalga sobre el defecto y 4) hipertrofia del ventrículo derecho. Las consecuencias clínicas de esta anomalía (aparición de cianosis) dependen principalmente del grado de estenosis pulmonar, aunque otras alteraciones como la hipertensión pulmonar también pueden surgir.

El caso corresponde a un perro Cocker Spaniel, macho de 1 año 8 meses de edad el cual presentaba disnea, fatiga, tos y cianosis. El estudio ecocardiográfico reveló hipertrofia del ventrículo derecho, defecto del septo interventricular y estenosis de la válvula pulmonar, obteniendo como diagnóstico presuntivo una Tetralogía de Fallot. En los hallazgos de laboratorio se encontró eritrocitosis absoluta secundaria, hiperazotemia prerrenal y acidosis metabólica por ganancia de ácidos. Los hallazgos macroscópicos durante la necropsia confirmaron el diagnóstico de Tetralogía de Fallot. Los hallazgos microscópicos más importantes se encontraron en pulmones y semejaban los de la denominada arteropatía plexiforme asociada a hipertensión pulmonar avanzada. En el presente trabajo se discute la patogenia y se hace énfasis en las alteraciones anatómicas, patológicas y clínicas que esta compleja malformación conlleva.

Palabras clave: Perro, corazón, hipertensión pulmonar, cianosis, congénita.

Abstract

The Tetralogy of Fallot is a complex heart malformation, wich rarely occurs in the dogs strange in the dog whose characteristics are: 1) Ventricular septal defect, 2) obstruction of the right ventricular outflow (stenosis), 3) An aorta that overrides the ventricular septal defect and 4) right ventricular hypertrophy. The main clinical consequences of this anomaly (cyanosis) depend primarily on the severity of pulmonary stenosis, although other complications such as pulmonary hypertension may also develop.

This case is from a 1 year 8 month-old, male Cocker Spaniel dog, referred because of a history dyspnea, faigue, cough and cyanosis. Ecocardiographic studies reveales hypertrophy of the right ventricle, ventricular septal defect, and pulmonary stenosis wich is consitent with tetralogy of Fallot. Laboratory findings were those of absolute erythrocytosis (secondary), prerenal azotemia and metabolic acidosis. Microscopic features on postmortem examination confirmed the diagnosis of tetralogy of Fallot. The most remarkable hystomorphologic

features were vascular changes in lung tissue characteristic of the so-called plexogenic pulmonary arterophaty, wich is associated to advanced pulmonary hypertension. The goal of this presentation is to dicuss the pathogenesis with emphasis in the natomical, pathological and clinical alterations caused by this complex heart malformation.

Key words: Dog, heart, congenital, cyanosis, pulmonary hypertension

Introducción

La tetralogía de Fallot (TF) es un anormalidad cardiaca congénita que se origina por un defecto en el desarrollo del septo conotroncal[1-3] y se caracteriza por la presencia de un defecto del septo interventricular (DSIV), estenosis pulmonar, dextraposición de la aorta e hipertrofia del ventrículo derecho.[3-7] La TF es un defecto poco común, ya que se presenta en aproximadamente 1 por 4000 perros,[5] por otro lado es la más frecuente de aquellas anormalidades cardiacas que cursan con cianosis.[4,5] En un estudio retrospectivo de anomalías cardiacas congénitas en 151 perros, la TF fue la menos frecuente presentándose en el 0.6 %, siendo la estenosis aórtica la más común observándose en el 35% de los perros.[8] La mayoría de los animales que llegan a la clínica son jóvenes, con edades que comprenden entre 2 y 8 meses y las razas que comúnmente se ven afectadas son: Keeshound, Poodle, Schnauzer miniatura, Beagle, Bulldog inglés, Collie, Pastor de Shetland y diversas razas de terriers.[4-6] Dicha malformación también ha sido descrita en gatos.[3] La embriología y heredabilidad de la TF se ha estudiado particularmente en perros Keeshound. En esta raza, el defecto se ha determinado como hipoplasia y posición anormal del septo conotroncal y se trata de una anomalía hereditaria como rasgo autosómico recesivo simple.[1,5,9-11]

Las consecuencias fisiológicas de la TF dependen del grado de estenosis pulmonar, la resistencia vascular sistémica y la amplitud del DSIV .[5,6] El grado de desviación de la aorta no es muy importante desde el punto de vista hemodinámico.[5] La dirección (derecha-izquierda o izquierda-derecha) y magnitud de la corriente sanguínea a través del DSIV también depende del grado de obstrucción de la salida del ventrículo derecho.[1,2,6,12,13] Si la estenosis pulmonar es ligera, patofisiológicamente la alteración asemeja a un DSIV solamente y por lo tanto la dirección sanguínea puede ir de izquierda a derecha y no se presenta cianosis.[6,7,12] Conforme aumenta la obstrucción y la resistencia al flujo de salida, el ventrículo derecho aumenta proporcionalmente (hipertrofia). Cuando se acerca al nivel de las resistencias vasculares periféricas predomina la circulación derecha a izquierda y con ello aparece la cianosis clásica.[5,12]

Los signos clínicos pueden variar, desde no presentar alteraciones o presentar disnea, intolerancia al ejercicio, retraso en el crecimiento, debilidad, síncope y cianosis continua o episódica especialmente durante el ejercicio.[4,10,11]

Como tratamiento se han utilizado procedimientos paliativos que pueden incrementar el flujo de sangre a través de los pulmones mediante la creación

quirúrgica de comunicaciones de circulación sistémica a pulmonar.[2] También se ha informado el uso de un globo el cual al ser inflado en el tracto de salida del ventrículo derecho puede aliviar la estenosis e incrementar el flujo sanguíneo a los pulmones,[13] sin embargo, se considera que la única terapia definitiva consiste en la corrección quirúrgica a corazón abierto para cerrar el defecto interventricular y disminuir la estenosis.[2]
El pronóstico depende del grado de la estenosis pulmonar y el estado de la eritrocitosis. Los animales con afección ligera o aquellos sometidos a procedimientos quirúrgicos satisfactorios pueden vivir cerca de 4 a 7 años, sin embargo son habituales la hipoxemia progresiva, eritrocitosis y muerte súbita a una edad más temprana.[10]

Caso clínico

Reseña: Perro, Coker Spaniel, macho, de 1 año 8 meses.
Anamnesis: El perro se presentó a consulta debido a que presentaba dificultad para respirar, fatiga, tos, cianosis y soplo de 4/6.

Pruebas complementarias
- En el electrocardiograma se encontró el eje eléctrico desviado a la derecha por hipertrofia ventricular derecha.
- En el ecocardiograma se observó hipertrofia del ventrículo derecho, defecto del septo interventricular, turbulencia y dilatación de la arteria pulmonar. En el estudio de burbujas se aprecia comunicación del ventrículo derecho al izquierdo a través del defecto del septo interventricular. La velocidad del flujo de la sangre a través de la válvula pulmonar fue de 301.8 cm/seg (velocidad normal: 165 cm/seg) por lo cual se interpretó como estenosis ligera.
- En los hallazgos de laboratorio presentó eritrocitosis (hematocrito, 65 L/L) absoluta secundaria. En la bioquímica sanguínea se observó hiperazotemia prerrenal (urea 30.4 mmol/L, creatinina 224 µmol/L y densidad urinaria 1.032), Incremento de CK (243 mmol/L) por actividad muscular y ligera acidosis metabólica por ganancia de ácidos (bicarbonato 12 mmol/L y anión gap 25).

Hallazgos macroscópicos
Las mucosas oral y conjuntival se apreciaron ligeramente cianóticas. En sistema cardiovascular, la aurícula y ventrículo derecho estaban moderadamente agrandados. Se encontró un defecto en el septo interventricular de aproximadamente 2 cm de diámetro localizado en la porción membranosa del septo. El tronco pulmonar estaba marcadamente dilatado. Se apreció tejido fibroso en la parte inferior de la válvula pulmonar y las válvas semilunares estaban engrosadas y blanquecinas. La aorta estaba desplazada a hacia el lado derecho del septo interventricular y emerge por encima del defecto. La pared del ventrículo derecho estaba engrosada (midió 1 cm).La pared del ventrículo izquierdo midió 1.4 cm. La relación ventrículo izquierdo:ventrículo derecho fue 1.4:1 (relación normal, 1:3).

Hallazgos microscópicos:

En las secciones histológicas de los pulmones algunas arterias de pequeño calibre presentaban un aumento en el espesor de la capa media de los mismos y una reducción discreta de la luz del vaso. Otros vasos exhibían proliferación endotelial que forman canales y estructuras que recuerdan glomérulos (arteropatía plexiforme). Había moderada cantidad de material eosinofílico claro acelular en la luz de los alvéolos pulmonares (edema).
En los cortes de riñón se observó una área de necrosis coagulativa bien delimitada a nivel de la médula (infarto), la cual estaba rodeada de moderada cantidad de eritrocitos fuera de los vasos sanguíneos.

Discusión

Las características morfológicas macroscópicas encontradas en el corazón de este perro (estenosis de la pulmonar, defecto del septo interventricular, dextraposición de la aorta e hipertrofia del ventrículo derecho) son consistentes con una TF. Como se observó en este caso, el corazón suele estar aumentado de tamaño y puede tener forma de "bota", esto es debido a la intensa hipertrofia del ventrículo derecho, especialmente de la porción apical. El DSIV suele ser grande y su diámetro comúnmente se aproxima al de la aorta. La válvula aórtica está formada en el borde superior del DSIV y por lo tanto cabalga sobre el defecto y sobre las dos cámaras ventriculares.[12] La estenosis puede ser subvalvular, valvular o supravalvular.[2] La obstrucción del tracto de salida del ventrículo derecho puede darse también por la estrechez del área infundibular secundario a la hipertrofia del ventrículo contribuyendo con mucha frecuencia con consecuencias hemodinámicas importantes y es un componente comúnmente progresivo.[2,5,12]

Un hallazgo observado en este caso que se presenta con poca frecuencia en perros con TF corresponde a la dilatación del tronco pulmonar y arteropatía plexiforme, los cuales son secundarios a hipertensión pulmonar, esto puede explicarse debido a que la estenosis pulmonar no era grave y a su vez el diámetro del DSIV era muy amplio (2 cm), esto provocó que inicialmente la dirección del flujo sanguíneo fuera de izquierda a derecha[2,5-7,12] y por lo tanto ocurriera hiperflujo pulmonar.[2] En el pulmón, las arterias y arteriolas musculares pequeñas responden inicialmente al aumento de presión presentando hipertrofia de la media y vasoconstricción arterial pulmonar, que mantiene así en valores bastantes normales la presión capilar y la presión venosa de los pulmones, lo anterior evita la aparición de edema pulmonar; sin embargo, cuando la vasoconstricción arterial persiste, se favorece el desarrollo de lesiones obstructivas e irreversibles de la íntima, en las que las luces vasculares son sustituidas por múltiples estructuras capilares, estableciéndose así la arteropatía plexiforme o plexogénica, que se manifiesta de forma destacada en la hipertensión pulmonar primaria o en cardiopatías congénitas con comunicación izquierda-derecha.[12] El término de arteropatía plexiforme deriva de la formación de estructuras capilares que forman redes o penachos (que recuerdan glomérulos renales) y que atraviesan la luz de arterias dilatadas y de paredes delgadas.[12] Por último las presiones y la resistencia vascular pulmonar se elevan hasta igualarse o superar los valores de

la circulación general lo cual produce también que se agrave la hipertrofia del ventrículo derecho y que a su vez se reduzca más el tracto de salida del ventrículo y esto va seguido de la inversión del flujo sanguíneo que acaba convirtiéndose en una derivación derecha-izquierda con paso de sangre no oxigenada a circulación general.[12]

Un signo clínico característico de la TF y que presentó este perro, corresponde a cianosis, como se explicó anteriormente la resistencia del flujo a través de la válvula pulmonar es mayor que la resistencia vascular sistémica, como consecuencia pasa una gran cantidad de sangre del ventrículo derecho hacia la aorta a través del DSIV para mezclarse con la sangre que viene del ventrículo izquierdo, el resultado neto es una disminución en la presión parcial de oxígeno en la sangre sistémica lo cual produce cianosis.[5,6,11] La gravedad de la hipoxia refleja de forma directa la cantidad de sangre que pasa por el defecto y es un medio preciso y específico para determinar la gravedad de la comunicación. La presión parcial de oxígeno en los pacientes con signos clínicos evidentes suele estar por debajo de los 40 mm/Hg en reposo o durante el ejercicio.[5]

En las pruebas de laboratorio de este caso se observó eritrocitosis, hiperazotemia prerrenal y acidosis metabólica por ganancia de ácidos. La eritrocitosis es una secuela frecuente y aparece debido a que los receptores del riñón detectan concentraciones reducidas de oxígeno en sangre arterial y son estimulados para sintetizar eritropoyetina.[5,6] La eritropoyetina es una glucoproteína sensible al oxígeno que se produce en un subgrupo de células peritubulares de la membrana basal de la corteza renal, la cual estimula la producción de eritrocitos a través de la tirosina proteinquinasa. Las proteinquinasas estimulan la activación biológica de las células eritrocíticas por fosforilación de proteínas nucleares. El consiguiente aumento del hematocrito aumenta la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre, lo que resulta beneficioso para el paciente con hipoxia siempre que el valor del hematocrito se mantenga entre e0.55 y el 0.75 L/L.[5] La hiperazotemia prerrenal es consecuencia de la poca disponibilidad de oxígeno tisular atribuido a la hipoxemia severa y a hipoperfusión sanguínea de las nefronas[14] secundario hiperviscosidad por eritrocitosis.[6] La acidosis metabólica por ganancia de ácidos se atribuye a la formación principalmente de ácido láctico que se genera como producto del metabolismo de vías anaeróbicas de obtención de energía por la carencia de oxígeno.[14]

El infarto observado en el riñón de este perro puede asociarse a hipoxia, aunque se ha descrito en los casos de TF el desarrollo de embolismo paradójico, cuando émbolos provenientes del sistema venoso evitan la circulación pulmonar y pasan directamente a través del DSIV a la circulación arterial sistémica, lo cual puede originar infartos renales, coronarios, cerebrales o en otros órganos.[2,10-12]

Conclusión

La presentación y discusión de este caso es importante debido a la poca frecuencia de esta malformación cardiaca en perros y al desarrollo de una complicación anatomofuncional rara en la TF como es la hipertensión pulmonar.

Referencias

1. Robinson FW, Maxie GM. The cardiovascular system in: Jubb FV, Kennedy CP, Palmer N. Pathology of domestic animals. 4a ed, Vol II, California:Academic Press, 1993:12-13.
2. Lew LJ, Fowler JD, McKay R, Egger CM, Rosin MW. Open-heart correction of tetralogy of Fallot in an acyanotic dog. JAVMA 1998, 213:652-657.
3. Fruganti A, Cerquetella F, Beribé A, Spaterna A, Tesei B. Clinic and ultrasonographic findings in a Cat with tetrallogy of Fallot. Vet Res Comm 2004, 28:343-346.
4. Orton EC, Mama K, Hellyer P, Hacket TB. Open surgical repair of tetralogy of Fallot in dogs. JAVMA 2001, 219:1089-1093.
5. Kittelson MD. Tetralogía de Fallot en: Kittelson MD, Kienle RD, editores. Medicina cardiovascular de pequeños amnimales. 2ª ed. Barcelona:Mosby, 2000:240-247.
6. Goodwin JK. Congenital heart disease, in: Tilley LP, Goodwin JK, editors Manual of canine and feline cardiology. 3a ed. Philadelphia:W.B. Saunders Company, 2001:290-292.
7. Jones TC, Hunt RD, King NW. Veterinary pathology. 6ª ed. Baltimore:Lippincott Williams & Wilkins, 1997.
8. Tidholm A. Retrospective study of congenital heart defects in 151 dogs. J Small An Practice 1997, 38:94-98.
9. Thomson, Vleet JV, Ferrans VJ. Cardiovascular system, in:Thomson's Special veterinary pathology in: McGavin MD, Carlton WW, Zachary JF, editors Thomson's Special veterinary pathology. 3a. ed, Philadelphia:Mosby, 2001:205-207.
10. Ware AW. Enfermedades del sistema cardiovascular, en: Nelson RW, Couto CG, editores. Medicina interna de pequeños animales. Buenos Aires:Inter-Médica, 2000:173-175.
11. Sisson DD, Thomas PW, Bonagura JD. Enfermedad cardiaca congenita, en: Ettinger SJ, Feldman EC, editores. Tratado de medicina interna veterinaria. Bogotá: Inter-Médica, 2002:868-872.
12. Cotran SR, Kumar V, Collins T. Robbins Patología estructural y funcional. 6ª ed. Bogotá:Mc Graw-Hill, 2000.
13. Oguchi Y, Matsumoto H, Masuda Yuko, Takashima H,Takashima K, Yamane Y. Balloon dilation of right ventricular outflow tract in a dog with tetralogy of Fallot. J Vet Med Sci 1999, 61:1067-1069.
14. Latimer KS, Mahaffey EA, Prasse KW. Veterinary laboratory medicine. Clinical pathology. 4th ed. Iowa: Iowa State Press, 2003.

DETERMINACION DE PARAMETROS HEMATOLOGICOS EN CABALLOS CUARTO DE MILLA AMERICANO EN EL MUNICIPIO DE CULIACAN, SINALOA.

López Valenzuela Martin[1], Juárez Barranco Felipe[1], Silva Hidalgo Gabriela[1], Aguilar Romo Gerardo[2]
[1] Laboratorio de patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UAS.
[2] Prestador de servicio social universitario

Con el objetivo de determinar los valores de los principales parámetros hematológicos se estudiaron 62 caballos aparentemente sanos, raza cuarto de milla americano en el municipio de Culiacán, Sinaloa. Se clasificaron en grupos de acuerdo al sexo, edad (2 a 3, 3.5 a 5 y 6 años o mas) y condición de machos castrados o no; se obtuvieron muestras de sangre y fueron procesadas en un equipo automatizado determinando los siguientes parámetros hematológicos: leucocitos, linfocitos, granulocitos, eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media y concentración de hemoglobina corpuscular media. Los valores hematológicos obtenidos varían en los distintos grupos, la media general de los valores de leucocitos, eritrocitos y hemoglobina fue de $9.1x10^3$/µl, $7.3x10^{12}$/l y 12.3x10 g/l, con limites que van de 5.8 a 14.0 $x10^3$/µl, 5.7 a 8.8 $x10^{12}$/l y 9.4 a 15.4 x10 g/l, respectivamente, los cuales son menores a los valores de referencia. Se concluye que la variación observada en cada parámetro hematológico estudiado concuerda con lo reportado por otros autores en caballos de diferentes razas, por lo tanto es necesario realizar estudios con un mayor tamaño de muestra para tratar de establecer valores de referencia en el caballo cuarto de milla americano bajo las condiciones del municipio de Culiacán, Sinaloa.

Palabras clave: biometría hemática, células sanguíneas, valores de referencia.

DETERMINATION OF HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF AMERICAN QUARTER HORSE IN THE CULIACÁN MUNICIPALITY, SINALOA

ABSTRACT
With the main of determine the values of the principles hematological parameters, we studied 62 horses appareantely health, american quarter horse breed in the Culiacán municipality, Sinaloa. The animals were clasificated accord the sex, age (2 to 3, 3.5 to 5 and 6 years or more) gelding or not; we obtained blood samples and were procesed in a automatic equipment which determinate the next parameters: leukcocytes, lymphocytes, granulocytes, red cells, hemoglobin, packed cell volume, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration. The hematological values that we obtained varied between the groups, the general mean values of the leukcocytes, red cells and the hemoglobin was of $9.1x10^3$/µl, $7.3x10^{12}$/l y 12.3x10 g/l, with limits since 5.8 to 14.0 $x10^3$/µl, 5.7 to 8.8 $x10^{12}$/l and 9.4 to 15.4 x10 g/l, respectivaly, which one is lower than the reference values. We concluded that the variation observed in each hematological parameters is agree with others authors in the diferent horse´s breed, therefore it is necessary in other studies with a higher

sample to obtain reference values in the american quarter horse on the climatic conditions of the municipality Culiacán, Sinaloa.

Key words: hemogram, blood cells, reference values.

INTRODUCCION

El caballo cuarto de milla americano desciende de la raza árabe y es considerado como de sangre caliente[1]. La principal característica de esta raza es la fuerte musculatura que le permite desarrollar altas velocidades, pudiendo recorrer los 350 metros en 21 segundos o menos[2]. En los animales atletas se puede predecir su desempeño en competencias deportivas basándose en el análisis de parámetros hematológicos[3]. La información precisa de la hematología es esencial para el diagnostico de muchas enfermedades; la sangre que se utilice para pruebas hematológicas, debe ser tomada de una vena de gran calibre e inmediatamente colocada en un tubo con anticoagulante. Un conteo de sangre completa provee valores que pueden ser determinantes y efectivos para valorar el estado de salud del animal, los parámetros hematológicos mas comunes son: hematocrito, hemoglobina, eritrocitos, volumen globular medio, hemoglobina globular media, concentración de hemoglobina globular media, leucocitos (linfocitos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos) y trombocitos[4].

Es importante señalar, en cuanto a los valores de referencia para cada parámetro hematológico en caballos, que existen diversas fuentes de consulta publicados por varios autores (ver tabla 1).

Existen factores que pueden influenciar los resultados de un análisis hematológico tales como: ubicación geográfica, el clima, el estado fisiológico, el ejercicio, el temperamento, la edad, el sexo, entre otros; también el tipo de vida del caballo es un factor que influye sobre el número de eritrocitos, el volumen de glóbulos rojos en los caballos inactivos es menor, en comparación con los caballos que trabajan[5]. Debido a que no se han determinado los valores hematológicos normales del caballo cuarto de milla americano en el municipio de Culiacán, se considera importante conocerlos con el fin de poder aplicarlos en la práctica clínica de este tipo de animales.

OBJETIVO

El objetivo del estudio fue determinar los parámetros hematológicos en caballos cuarto de milla americano, aparentemente sanos en el municipio de Culiacán, Sinaloa.

MATERIAL Y METODOS

La investigación se realizó durante los meses de mayo y junio de 2005, se censó la población de caballos cuarto de milla americano en el municipio de Culiacán, mediante el cual se ubicaron 98 caballos, teniendo acceso solamente a 62 de ellos, de ambos sexos y diferentes edades (ver tabla 2) la dieta que recibieron consistió de alfalfa y alimento balanceado comercial. Los caballos sujetos de muestra fueron aquellos que presentaron temperatura rectal, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y tiempo de llenado capilar dentro de los limites normales, Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción de la vena yugular y fueron procesadas en un equipo automatizado (Cell–Dyn 1400 Abbott^{MR}) en el

laboratorio de patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

RESULTADOS

Los parámetros hematológicos de hembras se muestran en el cuadro 1.

Parámetros	Edad en años		
	2 a 3	3.5 a 5	6 o mas
Leucocitos	8.31 ± 1.60 * (7.7 - 8.92) **	10.15 ± 1.77 * (9.19 – 11.11) **	8.38 ± 1.39 * (7.68 – 9.08) **
Linfocitos %L	2.68 ± 0.76 (2.39 – 2.97)	2.19 ± 0.37 (1.99 – 2.39)	2.19 ± 0.57 (1.91 – 2.47)
Granulocitos %G	5.39 ± 1.41 (4.84 – 5.94)	7.98 ± 2.11 (6.83 – 9.13)	6.19 ± 1.54 (5.45 – 6.93)
Eritrocitos M /μL	7 ± 0.44 (6.83 – 7.17)	7.52 ± 0.18 (7.41 – 7.63)	6.99 ± 0.66 (6.66 – 7.32)
Hemoglobina g / dL	11.74 ± 0.91 (11.39 – 12.09)	12.66 ± 0.34 (12.45 – 12.87)	11.67 ± 1.38 (10.98 – 12.36)
Hematocrito %	11.74 ± 0.91 (11.39 – 12.09)	31.81 ± 1.93 (30.78 – 32.84)	30.18 ± 4.30 (28.06 – 32.3)
MCV fL	27.75 ±2.74 (26.66 – 28.84)	42.25 ± 2.43 (40.96 – 43.54)	43 ± 2.87 (41.61 – 44.39)
MCH pg	16.74 ± 0.50 (16.56 – 16.92)	7.52 ± 0.18 (7.41 – 7.63)	6.99 ± 0.66 (6.66 – 7.32)
MCH C g / dl	42.54 ± 3.23 (41.31 – 43.77)	39.94 ± 2.24 (38.72 – 41.16)	38.79 ± 1.87 (37.99 – 39.59)

* Media más menos la desviación estándar, ** Intervalo de confianza para la media, [a] Valor de un solo animal

Los parámetros hematológicos de caballos enteros se muestran en el cuadro 2.

Parámetros	Edad en años		
	2 a 3	3.5 a 5	6 o mas
Leucocitos X10^3 /μl	9.86 ± 2.11 * (9.04 – 10.68) **	9.51 ± 1.21 * (8.86 – 10.16) **	10.90 [a]
Linfocitos X10^3/μl	3.23 ± 0.81 (2.91 – 3.55)	2.49 ± 0.32 (2.33 . 2.65)	4.60
Granulocitos %G	6.64 ± 1.70 (5.9 9 – 7.29)	6.71 ± 1.61 (6.08 – 7.34)	6.30
Eritrocitos x10^{12}/l	7.3 ± 0.82 (6.98 – 7.62)	7.66 ± 0.53 (7.42 – 7.9)	7.05
Hemoglobina x10g/l	12.31 ± 1.61 (11.68 . 12.94)	13.09 ± 1.02 (12.58 . 13.6)	11.70
Hematocrito %	28.68 ± 3.53 (27.31 – 30.05)	33.39 ± 2.96 (31.95 – 34.83)	33.10
MCV fL	38.95 ± 1.21 (38.48 – 39.42)	43.5 ± 3.06 (41.91 – 45.09)	47
MCH pg	16.72 ± 0.48 (16.54 – 16.9)	17.04 ± 0.39 (16.86 – 17.22)	16.6
MCHC g/dl	43.0 ±1.67 (42.33 – 43.67)	39.33 ± 2.56 (37.99 – 40.67)	35.30

Los parámetros hematológicos en caballos castrados se muestran en el cuadro 3.

Parámetros	Edad en años		
	2 a 3	3.5 a 5	6 o mas
Leucocitos x$10^3/\mu l$	8.58 ± 1.09 * (8.96 – 8.2) **	9.69 ± 1.45 * (8.99 – 10.39) **	8.65 ± 1.62 * (7.8 – 9.5) **
Linfocitos x$10^3/\mu l$	2.79 ± 0.60 (2.56 – 3.02)	2.09 ± 0.10 (2.04 – 2.14)	1.83 ± 0.38 (1. 65 – 2.01)
Granulocitos %G	5.8 ± 0.92 (5.49 – 6.11)	7.59 ± 1.34 (6.94 – 8.24)	6.83 ± 1.79 (5.91 – 7.75)
Eritrocitos x10^{12}/l	7.24 ± 0.85 (6.92 – 7.56)	6.93 ± 0.61 (6.62 – 7.24)	7.65 ± 0.50 (7.37 – 7.93)
Hemoglobina g/dl	12.19 ± 1.56 (11.61 – 12.77)	11.28 ± 1.01 (10.75 – 11.81)	13.16 ± 1.23 (12.47 – 13.85)
Hematocrito %	27.56 ± 4.09 (26.05 – 29.07)	28.65 ± 2.79 (27.22 – 30.08)	32.92 ± 2.39 (31.77 – 34.07)
MCV fL	37.88 ± 1.50 (37.31 – 38.45)	41.25 ± 0.46 (41.01 – 41.49)	43.08 ± 2.39 (41.96 – 44.2)
MCH pg	16.8 ± 0.57 (16.6 – 17)	16.25 ± 0.15 (16.16 – 16.34)	17.18 ± 0.77 (16.81 – 17.55)
MCHC g /dl	44.42 ± 2.50 (43.4 – 45.4)	39.39 ± 0.62 (39.01 – 39.77)	40 ± 2.70 (38.71 – 41.29)

*Media mas menos la desviación estándar
**Intervalo de confianza para la media

DISCUSIÓN

Los valores promedio de cada parámetro hematológico varían, tanto dentro de grupo como entre grupos, de acuerdo al sexo, la edad y caballos castrados o enteros; la variación observada posiblemente se deba a la influencia de factores reportados por otros autores tales como, la edad, sexo, ejercicio, estado nutricional, lactación, embarazo, excitación (por liberación de epinefrina), volumen sanguíneo (hemodilución o hemoconcentración), etapa del ciclo estral, hora del día, temperatura ambiental y otros factores climáticos[6].

En general el promedio encontrado para los parámetros de leucocitos 9.1 x10^3/µl, eritrocitos 7.3 x10^{12}/l y cantidad de hemoglobina 12.3 x10 g/l es menor que los valores de referencia[5].

CONCLUSIÓN

Los valores promedio y límites de cada parámetro hematológico varían entre los distintos grupos de hembras, caballos enteros y caballos castrados, así como entre sexos.

Es necesario realizar estudios con un mayor tamaño de muestra para determinar valores locales de referencia.

Tabla 1

Parámetro	Schalm (1964)	Benjamin (1991)	Taylor y Hillyer (1997)	Medway (1980)	Kobluk (1995)	Merk (2000)
Eritrocitos 10^{12}/L	7 – 13	8 – 13	7.2 – 9.6	6.5 – 12.5	6 - 10	6 - 12
Hb x10g/l	10 - 18	11 – 17	13.3– 16.5	11 - 19	12 - 17	10 - 18
Hematocrito %	32 - 55	35 – 58	40 - 46	32 - 52	32 - 50	ND
VCM fl	37 - 50	ND	48 - 58	34 - 58	42 - 58	34 - 58
HCM pg	ND	ND	14.1– 18.1	ND	15 - 20	13 - 19
CHCM %	31 - 35	ND	34 - 36	31 - 37	32 - 38	31 - 37
Leucocitos 10^3/µL	7 – 14	8 – 15	ND	ND	ND	6 – 12
Linfocitos 10^3/µL	25 - 70	35 – 60	ND	ND	ND	25 – 60

Tabla 2

Sexo	Edad (años)			Total animales
	2 a 3	3.5 a 5	6 o mas	
Hembras	11	8	1	20
Machos E*	8	4	6	18
Machos C[1]	10	4	10	24

REFERENCIAS

1. Enríquez, GC. Caballos. Editorial Universidad Autónoma de Aguascalientes. 1987.
2. Guzmán, CC. Temas Generales de Veterinaria y Zootecnia Practica del Caballo. Segunda Edición, D.R. 2004.
3. Gurcan N, Erbas D, Ergen E, Bilgehan A, Dundar S, Dikmenoglu A. Aricioglu and N. Changes in blood haemorheological parameters after submaximal exercise in trained and untrained subjects. Physiol Res. 1998; 47: 23-27.
4. Bennington. Diccionario enciclopédico del análisis clínico. Editorial Panamericana. pp. 677. 1991.
5. Schalm, OW. Hematología Veterinaria. Capitulo 4. Editorial Hispano Americana. pp. 174- 186. 1964.
6. Swenson MJ, Reece W.O. Fisiología de los animales domésticos de Dukes. Tomo 1. Editorial UTEHA. pp. 27.1999.

EXUDADO EOSINOFÍLICO EN MUCOSA NASAL DE OVINOS PELIBUEY CON RINITIS CATARRAL

Silva Hidalgo Gabriela, Juárez Barranco Felipe, López Valenzuela Martín

Laboratorio de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Sinaloa, Km. 3.5 Carretera Internacional Sur, Culiacán, Sinaloa, 80070, México.

RESUMEN

Durante las reacciones inflamatorias, los leucocitos migran a través de las paredes de los vasos sanguíneos hacia el tejido extravascular donde ejercen gran variedad de funciones biológicas. Entre esa variedad de leucocitos están los eosinófilos cuyas funciones son entre otras: la defensa contra los parásitos y la inactivación de algunos mediadores liberados por los mastocitos por acción directa de antígenos parasitarios. Por otra parte la rinitis catarral es un trastorno que generalmente se asocia a problemas de vías respiratorias altas principalmente debido a infecciones de origen viral, micótico, alérgico, considerando a las ocasionadas por parásitos como hallazgos incidentales a la necropsia. El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de exudado eosinofílico en mucosa nasal de ovinos pelibuey con rinitis catarral. El estudio consistió en obtener exudado catarral de la mucosa nasal de ovinos pelibuey de explotaciones pecuarias con antecedentes de oestrois. En un 52% de las muestras (26/50) se observó abundante exudado eosinófilico. Algunos autores tanto a nivel experimental como en infestación natural con *Oestrus ovis*, han observado a nivel de mucosa respiratoria de la cavidad nasal (septo nasal, cornetes, senos) una eosinofilia severa. Los hallazgos citológicos encontrados sugieren que un agente etiológico de origen parasitario esté involucrado en el desarrollo de rinitis catarral, de acuerdo a la literatura existente. Es conveniente conducir un estudio de seguimiento a rastro de los animales muestreados para corroborar la presencia de parasitismo nasal.

Palabras clave: ovinos, eosinofília, mucosa nasal, rinitis catarral

EOSINOPHILIC EXUDATE ON NASAL MUCOSAE OF PELIBUEY SHEEPS WITH CATARRHAL RHINITIS

ABSTRACT

During the inflamatory reaction, the inflamatory cells cross over the blood vessels toward the extravascular tissue where they realize on a grand variety of biological functions. Among these inflamatory cells are the eosinophils, which the principal functions are: the defense against the parasites and the inactivations of some mediator liberate by mast cells by direct action of parasitic antigens. By the way, the catarrhal rhinitis is a reaction that generally is associated with viral, mycotic or allergic infections, although the rhinitis associated with parasites are considerate like incidental discovery of necropsy. The aim of this work was to determine the appearance of eosinophilic exudate on the nasal mucosae of Pelibuey sheeps with

catarrhal rhinitis. The study consisted in get catarrhal exudate of the nasal mucosae of feed lots sheep´s with oestrosis preceding. In a 52% of the samples (26/50) was observed abundant eosinophilic exudate. Some authors, experimental or natural infestation with *Oestrus ovis*, were observed on the respiratory mucosae of the nasal cavity (nasal septum, turbinates and sinus) recruitment of numerous eosinophils. The citological discovery find in this study are suggestive that a parasitic etiological agent is implicate on the development of the catarrhal rhinitis, accordance with the cientific reference. It is neccesary to follow the animals to the slaugtherhouse for to corroborate the presence of nasal parasitic.

Key words: sheeps, eosinophilic, nasal mucosae, catarrhal rhinitis

INTRODUCCIÓN

Durante las reacciones inflamatorias, desencadenadas por diversos agentes, los leucocitos migran a través de las paredes de los vasos sanguíneos hacia el tejido extravascular donde ejercen gran variedad de funciones biológicas.[1] Los mecanismos de daño y las células efectoras responsables de estos, son distintos en función del tipo de reacción inflamatoria. Los eosinófilos tienen en ésta última dos importantes funciones: la defensa contra los parásitos y la inactivación de algunos mediadores liberados por los mastocitos por acción directa de antígenos parasitarios. Para la eliminación del parásito invasor contienen una proteína básica en sus gránulos citoplasmáticos que al contactar con la superficie parasitaria provoca su lisis. [2]

La rinitis catarral es un trastorno que generalmente se asocia a problemas de vías respiratorias altas principalmente debido a infecciones de origen viral, micótico, alérgico, considerando a las ocasionadas por parásitos como hallazgos incidentales a la necropsia. [3]. En un estudio realizado por Tabouret y cols [4] observaron exudado eosinofílico debido a *Oestrus ovis* en ovinos con rinitis catarral. En otro estudio realizado en borregos inoculados experimentalmente con larvas L1 de *O. ovis*, se observó en la mucosa nasal un marcado exudado eosinofílico.[5] Por otra parte, Dorchies y cols [6] por medio de un análisis multifactorial establecieron una correlación positiva entre el número de eosinófilos en la mucosa nasal y la carga parasitaria debida a *O. ovis.* De tal manera que resulta importante considerar a los parásitos como agentes involucrados en procesos inflamatorios de la cavidad nasal, ya que su incidencia, puede afectar la producción de carne y lana. [7]

OBJETIVO

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de exudado eosinofílico en mucosa nasal de ovinos pelibuey con rinitis catarral

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio consistió en obtener exudado catarral de la mucosa nasal de ovinos pelibuey en el mes de febrero de 2006, el trabajo se efectuó en el Ejido Plan de Oriente localizado en el municipio de Culiacán, Sinaloa en dos explotaciones con antecedentes de oestrosis y en el Laboratorio de Patología de la Facultad de

Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Culiacán, Sinaloa.

Animales. Para determinar el tamaño de la muestra se tomó en cuenta la población de las dos explotaciones seleccionadas por conveniencia (370 animales), nivel de confianza 95% de detectar al menos un animal positivo y prevalencia esperada de 34%. Se muestrearon 50 ovinos adultos, de ambos sexos.

Procedimiento. Los animales se sometieron por contención física; se introdujo en la cavidad nasal un hisopo estéril previamente humedecido con solución fisiológica para la obtención del exudado catarral. Dicho hisopo se rodó en un portaobjetos previamente identificado y se fijó en alcohol etílico de 96º. Los portaobjetos se remitieron al Laboratorio de Patología donde fueron teñidos con la tinción de Papanicolaou.

RESULTADOS

En el análisis citológico de las muestras remitidas se observó en diecisiete de ellas gran cantidad de leucocitos polimorfonucleares y células propias del epitelio respiratorio; en siete de las láminas analizadas se observaban escamas y células epiteliales superficiales y en veintiséis se observaron células caliciformes, células cilíndricas ciliadas, leucocitos polimorfonucleares y abundantes eosinófilos.

DISCUSIÓN

La presencia de células propias del epitelio respiratorio en el 86% de las láminas (43/50) indica que la toma de la muestra fue de buena calidad; por otra parte en el 14% (7/50) se observaron únicamente elementos celulares propios de la región vestibular de la cavidad nasal, lo que indica que no se introdujo lo suficiente el hisopo para alcanzar la región respiratoria de dicha cavidad; en un 52% (26/50) se observó además abundante exudado eosinófilico. Algunos autores, tanto a nivel experimental como en infestación natural con *Oestrus ovis*, han observado a nivel de mucosa respiratoria de la cavidad nasal (septo nasal, cornetes, senos) una eosinofilia severa. [4, 5, 8, 9]

CONCLUSIONES

Los hallazgos citológicos encontrados en el 52% de las muestras analizadas sugieren que un agente etiológico de origen parasitario esté involucrado en el desarrollo de una rinitis catarral, de acuerdo a la literatura existente. Es conveniente conducir un estudio de seguimiento a rastro de los animales muestreados para corroborar la presencia de parasitismo nasal.

REFERENCIAS

1. Montoya CJ, Olivares MA, Cardona RU**.** Asma e Inmunología. Revista de la Asociación Colombiana de Alergia. 2002;11:4.
2**.** Dorchies PC, Duranton CA, and Jacquiet PO. Pathophysiology of Oestrus ovis infection in sheep and goats: a review. Veterinary Record. 1998;142:487-489.
3. Carlton W.W., McGavin M.D. 1995. Thomson´s Special Veterinary Pathology. 2 a ed. Edit. Mosby. pp. 124-130.

4. Tabouret GA, Vouldoukis TI, Duranton FC, Prevot NF, Bergeaud JP, Dorchies PS, Mazier DC, Jacquiet, PB. *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae): effects of larval excretory/secretory products on nitric oxide production by murine macrophages Parasite Immunology. 2001: 23: 111-119.
5. Yacob HT, Jacquiet PC, Prevot FC, Bergeaud JP, Bleuart CU, Dorchies PG, Hoste HW. Examination of the migration of first instar larvae of the parasite OEstrus ovis (Linne 1761) [Diptera: OEstridae] in the upper respiratory tract of artificially infected lambs and daily measurements of the kinetics of blood eosinophilia and mucosal inflammatory response associated with repeated infection. Vet Parasitol. 2004;126(3):339-47
6. Dorchies OS, Jacquiet AD, Duranton UI. Pathophysiology of *Oestrus ovis* infection in sheep and goats : a review. Vet. Rec. 1998 ;142 : 487-489.
7. Peralta, JG. Prevalencia de las enfermedades endoparasitarias en ovinos y su incidencia en la producción de carne y lana. Rev Biomed. 1996.
8. Nguyen VK, Bourges NE, Concordet DH, Dorchies PK. Mast cells and eosinophils of the respiratory mucosa of sheep with Oestrus ovis (Linné, 1761) infection. Parasite. 1996; 3(3):217-21.
9. Yacob HD, Hoste HF, Jacquiet PJ, Duranton –Grisez CS, Dorchies OW, Gruner IE. Mucosal inflammatory responses after experimental infection with gastrointestinal nematodes in resistant and susceptible sheep naturally infected with Oestrus ovis. Revue Méd. Vét. 2001;152:717-722

Lesiones inducidas en ratones transgénicos portadores del gen VPU del VIH-1

Raúl, Fajardo; Christian Lemaire; Gaetan Mayer; Allegria Kessous-Elbaz. Departamento de Patología y Biología Celular, Universidad de Montreal. U. de Montreal, Canadá.

Resumen
La infección por el virus VIH-1 afecta severamente el sistema inmune y nervioso. Además, los pacientes sidáticos desarrollan complicaciones pulmonares y renales, cáncer e infecciones oportunistas. Los datos biomoleculares y de patogénesis sobre el VIH-1 sugieren que ciertos genes como env, tat o vpu pueden estar implicados en las lesiones asociadas a este virus. En este trabajo se generaron algunas líneas de ratones transgénicos con el gen vpu del VIH-1. Se establecieron varias colonias transgénicas y se estudió la patogénesis de los efectos de la expresión del gen. Algunas de las lesiones observadas en estos ratones como la linfoproliferación y la nefropatía, son lesiones que se observan en el paciente sidático y que podrían estar asociadas a una desregulación de IL-6. El uso de modelos animales transgénicos para estudiar enfermedades humanas es prometedor, ya que reproducen muchas de las lesiones que se observan en pacientes y que ayudan a entender mejor la patogénesis de enfermedades que afectan al ser humano.
Palabras clave: SIDA, VIH-1, Vpu, Ratón transgénico, Linfoproliferación.

Summary

Induced lesions in transgenic mice carrying the Vpu gene of the HIV-1
The infection by virus HIV-1 affects the immune and nervous systems severely. In addition, the Aids patients develop pulmonary and renal complications, opportunistic infections and cancer. The biomolecular data and pathogenesis on the HIV-1 suggest certain genes like env, tat or vpu can be implied in the injuries associated this virus. In this work, some lines of transgenic mice with the vpu gene of the HIV-1 were generated. Several transgenic mice colonies settled down, the pathogenesis of the effects of the expression of this gene were studied. Some of the injuries observed in these mice like the lymphoproliferation and the nephropathy, are injuries that are observed in the Aids patients and which they could be associated to an IL-6 deregulation. The use of transgenic animal models to study human diseases is promising, since they reproduce many of the injuries that are observed in patients and who help to understand better the pathogenesis of diseases that affect the human being.
Key words: Aids, HIV-1, Vpu, Transgenic mice, Lymphoproliferation.

Introducción
Un síndrome de inmunodeficiencia adquirida (Sida) fue detectado en 1981 en tres hospitales de los Ángeles USA. Diferentes grupos de investigadores aislaron un retrovirus T-linfotrópico al que hoy conocemos ser el agente causal del Sida 1. El SIDA es causado por dos lentivirus el HIV-1 y el HIV-2. Ambos se aceptan que

son de origen zoonótico; el HIV-1 está relacionado al SIV del Chimpancé (SIVcpz) y el HIV-2 Está relacionado al SIV del Mangabes (Cercocebus atys) (SIV-sm sooty mangabeys).
Los SIVs pertenecen a la familia retrovirus y a la subfamilia de los lentivirus.
Los virus de todos los linajes tienen una estructura genómica básica similar: gag, pol, vif, vpr, tat, rev, env y nef. Los virus del linaje SIVcpz/HIV-1 tienen un gen adicional el vpu. Los virus del linaje SIV/HIV-2 tienen un gen central de su genoma el vpx. El VIH-1 presenta dos genes estructurales, gag y env, un gen enzimático pol, dos genes reguladores tat y rev y cuatro genes accesorios: vif, nef, vpr y vpu. Vpu promueve la degradación de CD4 y ayuda a la liberación de virus, formando canales aniónicos en la membrana celular. Para conocer mas sobre los efectos de la expresión solo del gen vpu, sin los otros genes del virus, se crearon líneas de ratones transgénicos y se estudió la patogénesis de su expresión.

Objetivos
El objetivo del presente trabajo es contribuir a definir mejor el papel del gen vpu en la patogénesis inducida por el VIH-1 en un modelo *in vivo* de ratones.

Material y Métodos
Se creó una línea de ratones transgénicos (Tg) portadores de este gen. Se estudió la patogénesis en los animales Tg. Los animales se sacrificaron a diferentes edades en tres grupos: de 1 a 6 meses de edad, de 7 a 12 y de mas de 13 hasta 18 meses de edad. Los animales fueron mantenidos en un ambiente libre de patógenos específicos (aire filtrado, agua y alimento esterilizados). Se les practicó la necropsia y se tomaron muestras para histopatología e inmunohistoquímica para la detección de IL-6 según la técnica de Zhang, L. y Tarleton, R. L (1996) 2. Los resultados fueron comparados con los resultados de ratones normales (Ntg) de la misma línea B6/C3H, a las mismas edades.

Resultados
El 50-65% de los animales transgénicos desarrollaron una esplenomegalia con linfoproliferación en el bazo y alrededor de vasos sanguíneos del riñón y de bronquios. Además estos animales desarrollaron una glomerulopatía mesangioproliferativa. En una cinética de aparición de evolución de estas lesiones se encontró que eran mas frecuentes a la edad de 9-12 meses de edad, y que la hiperplasia linfoide puede evolucionar hacia un linfoma. También se encontró en las linfoproliferaciones, una sobre-expresión de IL-6 en células de tipo dendrítico/macrofágico.

Discusión
La linfoproliferación en varios tejidos principalmente en el bazo, la hiperplasia mesangial y la sobre-expresión de IL-6 sugieren una estimulación del sistema inmune de forma crónica 3,4, 5, que finalmente evoluciona hacia una neoplasia o al desarrollo de la enfermedad de Castleman-like 6,7,8,9 parecida a la observada en pacientes sidáticos y parecida igualmente a la que desarrollan los ratones transgénicos Knock-out de la proteína reguladora del gen IL-6, la C-EBP-b 4,

10,11. La sobre expresión de IL-6 en nuestros ratones, sugiere que esta citosina pudiera estar implicada en la patogénesis de las linfoproliferaciones 8 y de la neuropatía 2,3, observada en pacientes en estado de SIDA. Por otro lado, no se descarta la posibilidad de participación del proteosoma celular, ya que se ha reportado que la proteína Vpu acarrea a otras proteínas al proteosoma, entre estas podría estar implicada el INF-kappa B, que al ser degradado, libera la forma activa de factor de transcripción NF-kappa B. Este a su vez, se une al ADN y hace que se inicie la transcripción de varias citocinas entre estas IL-6 11.

Conclusiones

En la activación crónica no específica del sistema inmune en este modelo murino, una desregulación de IL-6 podría estar implicada.

Este modelo animal, podrá ser utilizado para determinar el papel de VPU y los mecanismos implicados en la génesis de las lesiones, ya que reprodujo lesiones muy similares a las desarrolladas por los pacientes con SIDA.

Referencias:

1.- Greenspan, D., Pindborg, J. J., Greenspan, J. S., Schiodt, M. Dans Pathologie SIDA au cabinet dentaire. Éditions DdP, Paris. Ch 4, p27-34, 1987.

2.- Zhang, L., Tarleton, R. L. Characterization of cytokine production in murine *Trypanosoma cruzi* infection by *in situ* immunochemistry: lack of association between susceptibility and type 2 cytokine production. Eur. J. Immunol. 26: 102-109, 1996.

3.- Alpers, C. E., McClure, J., Burstein, S. L. human mesangial cells are resistant to productive infection by multiple strains of human immunodeficiency virus types 1 and 2 . Am. J. Kid. Dis. 19:126-130, 1992.

4.- Adler, S. G., Cohen, A. H. , Glassock, R. J. 1996. Secondary glomerular diseases (infectious diseases). In: The kidney. Ed by Brenner, B. M. fifth ed. W.B. Saunders Company. ch 31, 1547-1552 .

5.- Boue, F., Wallon, C., Goujard, C., Barré-Sinoussi, F., Galanaud, P., Delfraissy, J. HIV induces IL-6 production by human lymphocytes. L. Immunol. 148:3761-3767, 1992.

6.- Ishiyama, T., Nakamura, S., Akimoto, Y., *et al*., Immunodeficiency and Castleman's disease. Br. J. Haematol. 86:843-849, 1994.

7.- Larroche, C., Cacoub, P., Godeau, P. La maladie de Castleman. Rev. Méd. Interne. 17:1003-1013, 1996.

8.- Leger-Ravet, M. B., Peuchmaur, M., devergne, O., et al., Interleukin-6 gene expression in Castleman's disease. Blood. 78:2923-2930, 1991.

9.- Miller, R. T., Mukai, K., Banks, P., Frizzera, G. Systemic lymphoproliferative disorder with morphologic features of Castleman's disease. Arch. Pathol. Lab. Med. 108:626-630, 1984.

10.- Kirschning, C. J., Unbehaun, A., Giedler, G., Hallatschek, W., Lamping, N., Pfeil, D., Schumann, R. R. The transcriptional activation pattern of lipopolysaccharide binding protein (LBP) involving transcription factors AP-1 and C/EBP-b. Immunobiol. 198:124-135, 1997.

11.- Elliott, P.J.,Ross, J.S. The Proteosome: A new target for Novel Drug Therapies. Am J Clin Pathol 116(5)637-646, 2001.

ASPERGILOSIS PULMONAR EN DELFINES, INFORME DE UN CASO, DIAGNOSTICO SEROLOGICO Y SU CORRELACION A LA NECROPSIA.

MVZ María Concepción López Romahn1, MVZ Raúl Torres Salcedo1, MVZ Ana Dalila Saldaña Ramos1, Dr. Roberto Cervantes Olivares2, M en C Carolina Segundo Zaragoza2 Dr. Enrique Aburto Fernández3, MVZ Juan José Bolaños Guerra1, Biol. Tomas Capote1 MVZ Leonardo Ibarra Vargas4

1 Grupo Via Delphi S.A. de C.V. , Av. del Sol No. 11 SM 45 M 1 Esquina Andrés Quintana Roo, Plaza Arte Locales 1 al 7 Cancún Quintana Roo C.P. 775
2 Laboratorio de Micología, Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.
3 Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.
4 Atlántida. Blvd. Kukulkán Km. 25, L-5, Zona Hotelera, Cancún Quintana Roo. C.P. 77500

Resumen:
Cría de delfín (*Tursiops truncatus*) desde su nacimiento presenta disnea y frecuencia respiratoria aumentada debido a un cuadro neumónico de origen bacteriano por una posible bronco aspiración de agua marina. Los conteos celulares sanguíneos muestran leucocitosis severa persistente con predominio de neutrófilos que en ocasiones tiende a presentar desviación a la izquierda, moderada linfopenia, anemia normocítica normocrómica, un severo aumento de la velocidad de sedimentación globular, presenta hipoferremia y disminución en la ALKP sérica, inicia antibioterapia misma que se va modificando dependiendo de las respuestas de estos parámetros de inflamación. El ejemplar presenta notable mejoría y estabilidad y se suspende la antibioterapia, dos meses después el ejemplar inicia nuevamente con un aumento de la frecuencia respiratoria, se monitorea nuevamente la sangre encontrando una vez más parámetros alterados. Se remite suero para correr la técnica de doble inmunodifusión,con dos antígenos somáticos de *A. fumigatus*, el suero mostró bandas de precipitación que fueron tan intensas y claras como las que mostró el suero control positivo. Los hallazgos a la necropsia revelan lesiones compartibles con aspergilomas en el 60 % del parénquima pulmonar. El diagnóstico histopatológico revela una bronconeumonía piogranulomatosa multifocal coalescente grave con escasas hifas ramificadas y septadas intralesionales consistentes con *Aspergillus sp*, así también se puede apreciar una hiperplasia linfoide moderada en linfonodo.

Palabras clave: Toninas, Aspergilosis, diagnóstico, serología, necropsia.

Introducción:
La Aspergilosis es conocida como una infección ampliamente distribuida en mamíferos, los perros, caballos, vacas y delfines son las especies que son más susceptibles. Por otro lado, en aves es la mayor causa de mortalidad. (1) El aspergilo es un patógeno considerado como oportunista y una gran variedad de condiciones donde se incluye la condición inmunológica del individuo, contribuyen a la presentación de la enfermedad. (2) También la duración y la cantidad de exposición al organismo patógeno son determinantes importantes en el hospedador y se han descubierto diversas formas de aspergilosis en individuos aparentemente sanos. La colonización y exposición de antígenos en huéspedes pueden dar enfermedades que pueden ir de un proceso alérgico hasta una aspergilosis broncopulmonar, además puede causar aspergilomas en los sinusoides paranasales o en cavidades preexistentes en el pulmón.(3) *A. fumigatus* es la especie de levadura más frecuentemente aislada de casos saprofititos, alérgicos y manifestaciones de enfermedad invasiva en humanos y animales. (2) La Aspergilosis pulmonar en delfines se manifiesta como una neumonía adquirida básicamente por la inhalación de aerosoles (4). El *Aspergillus fumigatus* es un hongo filamentoso que causa una micosis sistémica sobre todo en pacientes inmunocomprometidos. Se han identificado a partir de este organismo un gran número de antígenos de proteínas, carbohidratos y glicoproteínas, asimismo se ha estudiado su crecimiento intracelular y sus requerimientos de crecimiento extracelulares en el suero, así la enfermedad puede ser muy diversa y por lo tanto la variedad de antígenos que se encuentran relacionados con ella y como van modulando la enfermedad, también se relaciona con la manera en la que se introduce al cuerpo, la unión de anticuerpos y la interacción de antígenos con células inmunes es de relevancia diagnóstica y pronóstica en la enfermedad. Actualmente se han codificado 20 genes a partir de antígenos de A. fumigatus mismos que han sido clonados y sus proteínas expresadas (5).

Descripción del caso clínico.

Desde su nacimiento la cría de tonina (*Tursiops truncatus*) presento disnea, por lo que se mantuvo en estrecha observación y monitoreo de la frecuencia respiratoria, al no tener amamantamientos a las 26 horas de posparto se decidió iniciar con manejos para suplementarle calostro en una formula láctea a través de sonda gástrica (120 ml. Iniciales). A partir de ese momento se mantuvieron los manejos para suplementarle formula láctea según las indicaciones que se encuentran en informadas en la literatura (6). A los 5 días se tomo la primera muestra sanguínea misma que reveló, como todas las posteriores muestras sanguíneas, una leucocitosis severa persistente con predominio de neutrófilos que en ocasiones tiende a presentar desviación a la izquierda, moderada linfopenia, anemia normocítica normocrómica, un severo aumento de la velocidad de sedimentación globular, presenta hipoferremia y disminución en la ALKP sérica. En base a estos resultados se inicia un tratamiento con un

aminoglucósido intramuscular, tratamiento que se modifica retirándolo e incluyendo una quinolona flourada de primera generación de presentación oral.
Con este tratamiento la cría se estabiliza en los parámetros sanguíneos y se mantiene por un mes, se suspenden los manejos para alimentación artificial debido a que ya se amamanta por si sola, solo se continua el monitoreo de la cría a través de muestras sanguíneas.
El día 4 de febrero se nota un incremento en la frecuencia respiratoria, se toma una muestra sanguínea que revela un incremento en los valores totales de leucocitos y en la VSG, por lo que se implementa un nuevo esquema terapéutico en base a un antibiótico betalactámico de amplio espectro y acción prolongada, simultáneamente se realiza un cultivo bacteriano donde el laboratorio reporta *Estafilococo albus (-), Estafilococo saprofiticus (+) y Candida albicans.*
La cría se mantiene estable por dos meses y recae presentando los paramentos sanguíneos y celulares alterados como se menciona en un principio. Se inicia un tratamiento antibiótico a base de tetraciclina y serratio peptidasa, al mismo tiempo se recolecta suero para realizar la técnica de doble inmunodifusión en agar purificado al 1.5% en buffer de veronal con un pH de 7.2. Los antígenos de prueba fueron el antígeno metabólico de la cepa A 20 de *Aspergillus fumigatus* y antígeno metabólico de la cepa 29 de *A. fumigatus*, ambas cepas aisladas de casos clínicos de aspergilosis, y mostraron bandas de precipitación que fueron tan intensas y claras como las que mostró el suero control positivo. Se inicia en ese momento una terapia a base de ketoconazol reforzando el tratamiento anterior.
El ejemplar muere súbitamente y los hallazgos a la necropsia más relevantes fueron los siguientes:
Se revisa el parénquima pulmonar mismo que es de consistencia firme, al tacto rezume líquido serosanguinolento en cantidad moderada, al corte la superficie es granular, quedando sobre relieve un puntilleo fino de color blanquecino, sólido al tacto, este puntilleo es más evidente hacia los bordes apicales de los campos pulmonares (dicho puntilleo se encuentra presente en aproximadamente el 60% del parénquima pulmonar), asimismo se encuentran áreas donde el puntilleo coalece y forma manchas en forma de parches de color blanquecino de la misma consistencia distribuidas zonalmente en los bordes ventrales de los pulmones, en el área que se encuentra colapsada se puede apreciar aparente neoformación de estructuras tubulares de aspecto cartilaginoso (compatibles con bronquios y bronquiolos) Asimismo en el parénquima se encuentran 3 cavidades (de aproximadamente 1.5 cm. de diámetro cada una de ellas) bien delimitadas de aparentemente tejido conectivo, a la presión rezume contenido de consistencia cremosa de color blanquecino. En la serosa del órgano se pueden apreciar conductos aparentemente de neoformación mismos que se originan de la serosa de la cadena ganglionar pulmonar y se distribuyen indistintamente hacia los bordes caudales de los pulmones.
El diagnóstico histopatológico revela una bronconeumonía piogranulomatosa multifocal coalescente grave con escasas hifas ramificadas y septadas intralesionales consistentes con *Aspergillus sp*, así también se puede apreciar una hiperplasia linfoide moderada en linfonodo.

Discusión:

De las micosis sistémicas en cetáceos más frecuentemente informadas se encuentra la Aspergilosis (6). Este hongo es ubicuoto y oportunista. En el ambiente es un saprofito que produce conidioforos con cadenas de esporas infecciosas, mismas que entran al hospedador a través de la inhalación y se instala en los pulmones, donde las esporas rápidamente proliferan y agresivamente invaden el parénquima bronquial (2). Las infecciones tienen diversas formas de presentación, aspergilosis alérgica, aspergilosis crónica necrotizante, presentación en forma de aspergilomas y la variedad de aspergilosis invasiva, Las tres primeras presentaciones son de tipo crónico y debilitante, estas pudieran dar paso a la diseminación, siendo la aspegilosis invasiva la que esta seguida de una muerte rápida (2,3).Los perfiles hematológicos practicados en los ejemplares que presentan infecciones fungales oportunistas son prácticamente indistinguibles de infecciones virales o bacterianas. Lo único que proporcionan las muestras son elevación en las determinaciones indicativas de inflamación en cetáceos como por ejemplo anemias no resposivas inespecíficas, leucocitosis por neutrofilia, valores elevados de velocidades de sedimentación e hipoferremia, así también las presentaciones clínicas neumonía de *Aspergillus sp.* son inespecíficas en la mayoría de las especies de mamíferos y algunas veces incluyen tos y disnea (6). Por ello la importancia de realizar una prueba serológica específica para ser concluyentes en el agente etiológico o patógeno involucrado.

Bibliografía Consultada:

1 Tell L.A., Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine, Med. Mycol, 43 Suppl 1:S71-3 2005.
2 Latgé Jean-Paul, Aspergilus fumigatus and Aspergilosis, Clinical Microbiology Reviews, p. 310 – 350 Vol. 12, No 2 Apr 1999.
3 Kurup V.P. and Kumar A.; Immunodiagnosis of Aspergillosis, Clinical Microbiology Reviews, p 439 – 456, Vol. 4 No 4, 1991.
4 Reidarson T. H, Harrell H. J, Rinaldi M.G. and McBain J., Bronchoscopic and serologic diagnosis of *Aspergillus fumigatus* pulmonary infection in a Bottlenose Dolphin *(Tursiops truncatus*), Journal of Zoo and Wildlife Medicine 29(4): 451 - 455, 1998.
5 Coleman R. M. and Kaufman L., Use of the Immunodiffusion Test in the serodiagnosis of Aspergilosis, Applied Microbiology, Vol. 23 No 2 p. 301 – 308, 1972.
6 Reidarson, T.H., J. McBain, M. Rinaldi and L. Dalton; Diagnosis and treatment of fungal infections in marine mammals. In Fowler, M., and E. Miller (eds.). Zoo and Wildlife Medicine: Current Therapy, 4th ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia Pennsylvania, Pp 478 – 485.

Estandarización de la técnica de inmunohistoquímica para el diagnóstico de tuberculosis en tejidos

David Solano Terreros[1]*, Omar Castillo Martínez[1], Julio Martínez Burnes[1], Ned Iván de la Cruz Hernández[1], Jaime Campuzano Granados[2], Félix Acosta Martínez[1], José Ramos Vara[3]

[1] Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Univ. Aut. de Tamaulipas, México.
Proyecto Fondos Mixtos CONACYT-Tamaulipas
[2] Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Univ. Nacional Aut. de México.
[3] School of Vet. Med, Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA.

RESUMEN

La mayoría de las pruebas diagnósticas de Tuberculosis no son totalmente confiables para discriminar entre un paciente infectado y no infectado, excepto por el aislamiento, considerado prueba de elección. Sin embargo, no todos los laboratorios regionales pueden desarrollarlo, además, del riesgo y tiempo requerido. Laboratorios especializados están estandarizando técnicas moleculares pero no están disponibles de rutina. La técnica de Inmunohistoquímica (IHQ) ha sido ampliamente utilizada en investigación, pero no usada rutinariamente para diagnóstico de Tuberculosis, a pesar de que ha demostrado ser sensible y específica en tejidos, además de ser una técnica segura para el personal de laboratorios. Se considera de importancia la búsqueda y estandarización de técnicas seguras y rápidas para diagnóstico de esta importante zoonosis. Anticuerpos policlonales fueron obtenidos de suero hiperinmune en conejos inoculados con bacilos *(M. tuberculosis)* H37/Rv muertos y proteínas filtradas de cultivo. Para la estandarización de IHQ se utilizaron muestras de pulmón de ratón inoculado experimentalmente con *M. tuberculosis*, nódulos linfáticos de bovinos que resultaron positivos a *M. bovis* por aislamiento bacteriológico y con lesiones granulomatosas positivas a tinción Ziehl Neelsen(ZN), además de muestras de intestino positivas a *M. paratuberculosis.* Se utilizó como control negativo suero inespecífico. Los bloques de tejidos fueron cortados, la actividad del bloqueo de peroxidasas, avidina, biotina y fosfatasa alcalina endógenas evaluada y se uso suero normal de caballo. Como anticuerpo secundario biotinilado se uso caballo anti-conejo. Se incubaron con Complejo Avidina-Biotina Peroxidasa, revelado con diaminobenzidina y contratinción con hematoxilina. Después de diferentes modificaciones al protocolo inicial, se logró estandarizar la técnica. Los anticuerpos policlonales demostraron con mayor facilidad comparada con ZN la presencia de las micobacterias en macrófagos en controles positivos. La titulación del anticuerpo policlonal demostró buena detección del antígeno hasta la dilución 1:7500. Los resultados indican que la IHC es una buena alternativa para el diagnostico de Tuberculosis en laboratorios de patología, se pueden visualizar simultáneamente lesiones así como antígeno, puede usarse en tejidos previamente fijados en formol, evitando problemas de conservación y la factibilidad de trabajar muestras incluidas en parafina posibilita también estudios retrospectivos.

Palabras Clave: Inmunohistoquímica, tuberculosis, granulomas, anticuerpos.

Standardization of Immunohistochemistry for the diagnosis of tuberculosis in tissues

Summary

Most of the current diagnostic tests for Tuberculosis cannot accurately discriminate between infected and non-infected animals. The definitive diagnosis of tuberculosis is based on isolation and identification of *Mycobacterium.* However, the health risk and time required for isolation preclude the use of this method in most regional laboratories. Molecular techniques for the identification of *Mycobacterium* are being standardized in some laboratories, but are not yet available as routine tests. Immunohistochemistry (IHC) has been used for research purposes in tuberculosis, but not for routine detection of *Mycobacterium* in tissues despite its high sensitivity and specificity. Two major advantages of IHC are the low health risk for technicians and the real possibility of identifying the organisms within the lesions. It is crucial to look for new methods with a high sensitivity and specificity for the routine diagnosis of Tuberculosis. These methods should also pose minimal health risk for technicians. Polyclonal antibodies were obtained from the serum of hyperimmunized rabbits inoculated with killed H37/Rv *Mycobacterium tuberculosis* and filtered proteins derived from bacterial cultures. The IHC technique was tested in lung samples from mice experimentally inoculated with *M. tuberculosis,* as well as from bovine lymph nodes having granulomas that were positive to *M. bovis* isolation and positive for acid-fast organisms (Ziehl Neelsen stain). Also, bovine intestines positive for *M. paratuberculosis* were used for IHC. Serum obtained from non-inoculated rabbits was used as negative control. Tissues sections were blocked for endogenous peroxidase, avidin, biotin and alkaline phosphatase and biotinilated horse anti-rabbit antibody was used as secondary marker. The Avidin-Biotin Peroxidase Complex was used as the detection system, diaminobenzidine as the chromogen and hematoxylin as the counter stain. Standardization of IHC was achieved following several modifications to the initial protocol. *Mycobacterium* in macrophages of positive control tissues was more easily detected using polyclonal antibodies than it was when using acid-fast stain. Antibody titration showed that antigen recognition was achieved up to a 1:7500 dilution. These results demonstrate that IHC is a reliable alternative for the diagnosis of bovine tuberculosis. Further, IHC can be used in formalin fixed tissues, thus avoiding health risk for laboratory personnel by handling fresh or refrigerated specimens. In addition, IHC allows for retrospective studies in paraffin embedded tissues in cases where tuberculosis may be suspected.

Keywords: Immunohistochemistry, tuberculosis, granulomas, antibodies

INTRODUCCION

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa de curso crónico, causada por el complejo *Mycobacterium,* el cual esta constituido por *M. tuberculosis, M. bovis* y *M. africanum*. La tuberculosis representa una importante zoonosis y es considerada una emergencia a nivel mundial. México está considerado por la OPS como un país con una morbilidad media, mientras que Tamaulipas se encuentra entre los primeros lugares de incidencia de esta enfermedad en humanos. La elevada morbilidad de la tuberculosis en humanos en Tamaulipas presenta un grave problema de salud pública, por lo que requiere atención prioritaria. Además, Tamaulipas se encuentra en la etapa de erradicación en la campaña contra la tuberculosis bovina, por lo que es importante mantener este status y buscar llegar a la etapa libre. Para facilitar esta meta es importante contar con técnicas adecuadas para el correcto diagnóstico.

Existen diferentes métodos para el diagnóstico de la tuberculosis entre las que se aceptan oficialmente las pruebas de campo, el aislamiento del agente etiológico, histopatología y la tinción de Ziehl-Neelsen[1]. Las pruebas intradérmicas no han demostrado una confiabilidad total, mientras que el aislamiento del agente es un proceso técnico difícil, tardado, riesgoso y no disponible en todos los laboratorios. La detección del agente en tejidos por medio de histopatología y la tinción de Ziehl-Neelsen es un recurso importante de diagnóstico, pero con baja sensibilidad[2]. Las técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son una herramienta útil en diagnóstico; sin embargo solo se desarrollan en algunos laboratorios del país[3,4]. La mayoría de las pruebas diagnósticas no son totalmente confiables para discriminar entre un paciente infectado y otro no infectado, excepto por el aislamiento e identificación del agente, y es considerada prueba de elección[4].
La inmunohistoquímica (IHQ) ha demostrado ser una técnica con alta sensibilidad y especificidad[5,6], más segura para el personal de los laboratorios y con mayor rapidez en el resultado que otras técnicas para el diagnóstico de tuberculosis[7,8]. Sin embargo, no esta disponible para su uso de rutina en los laboratorios del país.
El Laboratorio de Diagnóstico de la Fac. de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Univ. Aut. de Tamaulipas es el único en el Estado acreditado para realizar el aislamiento bacteriológico y el diagnóstico histopatológico por medio de Ziehl-Neelsen en casos de lesiones sospechosas de tuberculosis. Sin embargo, las técnicas mencionadas dificultan el diagnóstico por el tiempo requerido y por la baja sensibilidad, respectivamente. Por ello, es importante contar con métodos de laboratorio sensibles y específicos que permitan establecer el diagnóstico oportuno, preciso y confiable así como aplicar medidas de prevención y control que contribuyan a reducir el riesgo de transmisión de esta importante zoonosis. Por lo que se considera relevante la estandarización de la técnica de inmunohistoquímica que ha demostrado tener alta sensibilidad y especificidad, lo cual permitirá detectar con mayor certeza las micobacterias en tejidos de casos sospechosos de tuberculosis en bovinos y su uso como recurso alternativo en apoyo a casos en animales y humanos en los que no sea posible el aislamiento u otras técnicas.

OBJETIVO

Estandarizar la técnica de inmunohistoquímica para el diagnóstico de micobacterias en tejidos en bovinos para su uso como recurso alternativo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los anticuerpos policlonales se obtuvieron siguiendo el protocolo de obtención de suero hiperinmune descrito por Espitia y proporcionados por el Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Tres conejos Nueva Zelanda de 2 meses de edad se inocularon las primeras 2 semanas con bacilos de *M. tuberculosis* H37/Rv muertos por calor y 3mg de proteínas filtradas de cultivo suspendidas en 1 ml de Al (OH). Posteriormente, los conejos se inocularon semanalmente por vía intramuscular y subcutánea con bacilos y proteínas suspendidas en PBS. La presencia de anticuerpos en suero se monitoreo por inmunoelectroforesis. Cuando el número máximo de bandas se observó, los conejos se desangraron y el suero se fraccionó y almacenó a -70°C hasta su uso.

Histopatología

Los tejidos controles incluyeron secciones de pulmón de ratón inoculados experimentalmente con *Mycobacterium tuberculosis* (amablemente proporcionados por el Dr. Jaime Campuzano, UNAM). Se usaron también secciones de nódulos linfáticos de bovino con lesiones características y que resultaron positivos al aislamiento de *M. bovis* y a ZN proporcionados por el Comité para el Fomento y Protección Pecuaria del Estado de Nuevo León. En la ultima etapa, se utilizaron secciones de intestino de caprino con enteritis proliferativa y positivos a *M. paratuberculosis*, proporcionados por el Dr. José Ramos Vara de la Universidad de Purdue en Indiana. Los tejidos en bloques de parafina se cortaron a 4 µm de grosor y se tiñeron con hematoxilina y eosina y con tinción de Ziehl Neelsen.

Inmunohistoquímica

Los bloques de tejidos en parafina se procesaron inicialmente de acuerdo a la modificación del protocolo experimental de Campuzano[8]. Posteriormente fue necesario hacer modificaciones. Se utilizaron los mismos controles positivos mencionados; secciones de tejidos de pulmón de ratón, de nódulo linfático de bovino, así como intestino de cabra. En el control negativo se usó suero de conejo. Las laminillas se trataron previamente con 3-aminopropyltriethoxysilane al 3% (Sigma Lab., St. Louis). Los cortes de tejido se realizaron a 4 µm y se colocaron en baño sin gelatina para ser puestos en laminillas tratadas, se desparafinaron a 60°C durante 5 -10 min., se colocaron en Xilol con 2 cambios de 5 min. cada uno. Las laminillas se pasaron a una solución de alcohol absoluto - Xilol (50% / 50%) con 2 cambios de 5 min. cada uno. Al terminar se colocaron en alcohol absoluto durante 5 min. Posteriormente las laminillas se trataron metanol

y peróxido de hidrógeno al 3% a temperatura ambiente por un periodo de 3 horas hasta alcanzar la inhibición de las peroxidasas endógenas. Las laminillas se depositaron por cinco min. en etanol al 96% y se lavaron con agua tridestilada durante 5 min.
Suero de caballo (Kit Vectastain Elite Pk-6200 Universal, Vector Lab. CA) se colocó en el tejido por sesenta min. a temperatura ambiente. Se decantó el suero y se colocó el anticuerpo primario; suero hiperinmune de conejo contra micobacterias (Diluido en PBS 1x/BSA 1%/Tween 0.01%) durante 12 horas a 4°C. Para los lavados de las laminillas se utilizó solución de fosfatos tamponada (PBS). Para la dilución del anticuerpo primario se utilizó inicialmente una solución de PBS/Tween/BSA. Las diluciones del anticuerpo primario inicialmente fueron 1:50, 1:100, 1:250 y 1:500. Concluida la incubación con el anticuerpo primario, las laminillas se lavaron con PBS 1x/tween 0.01% 2 veces durante 5 min. cada vez y se agregó el anticuerpo secundario biotinilado (Anti-IgG de conejo producido en caballos; Kit Vectastain Elite Pk-6200 Universal, Vector Lab.,CA) durante una hora. Se lavaron las laminillas 2 veces durante 5 min. El complejo Avidina-Biotina (Kit Vectastain Elite Pk-6200 Universal, Vector Lab., CA) se colocó inmediatamente por treinta min., concluido este periodo de incubación, las laminillas se lavaron con PBS.
Al tejido en las laminillas se agregó diaminobenzidina (DAB) (Sigma Fast 3,3, Sigma Laboratorios, St. Louis) con duración de 40 seg. a un min. cada laminilla de acuerdo a la intensidad con que se tiñó el tejido y se detuvo la acción del cromógeno con un lavado de agua tridestilada. Posteriormente, se tiñeron con Hematoxilina de Harris, y se montaron y evaluaron por medio de microscopía óptica los resultados del bloqueo de peroxidasas endógenas y la ausencia de tinción inespecífica en los controles negativos. En los controles positivos se evaluó la presencia e intensidad de la coloración de la reacción. Se establecieron las mejores condiciones de bloqueo de reacciones inespecíficas así como la dilución más alta del anticuerpo primario que genere una reacción positiva fácilmente visible.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos con el protocolo original produjo en controles positivos la detección de antígenos de micobacterias en macrófagos y células gigantes. Se observaron escasas esferas de apariencia granular color marrón y no necesariamente la forma del bacilo. La presencia de los antígenos en los granulomas se observó principalmente en la zona intermedia, entre la periferia de la necrosis y el área de proliferación de fibroblastos. En los controles negativos se comprobó la ausencia de tinción específica.
En las primeras laminillas se observó tinción inespecífica en forma importante. Fue posible detectar la presencia de antígeno, sin embargo, se observó tinción inespecífica o de fondo que dificultaba la detección. Además, la tinción se observó tanto en controles positivos como negativos.
Para disminuir el grado de tinción inespecífica o de fondo se usaron diferentes procedimientos. Se procedió a la inclusión de un detergente para la solución de lavado, por lo que se usó una solución de Sorbitan Tween 20% para lavados en el

tejido. Se modificó el tiempo de bloqueo de peroxidasas endógenas de una hora hasta tres horas. Se logró una importante reducción de la tinción inespecífico.
Con la finalidad de incrementar la detección de antígenos se uso un sistema de recuperación de antígenos, por medio de vapor a una temp. de 90°C a 95°C con buffer de citratos durante veinte minutos. Este método no contribuyó a incrementar la detección de antígenos e incrementó la tinción de fondo.
Se evaluó también el uso de otro anticuerpo policlonal comercial producido en conejo contra *Mycobacterium bovis* (DakoCytomation, Carpintería CA. 93013 USA). Se obtuvieron las mismas reacciones positivas que con el anticuerpo policlonal *M. tuberculosis* H37/Rv en las mismas diluciones. Sin embargo, también se observó tinción de fondo en la periferia de los tejidos y áreas de necrosis. Se procedió al bloqueo de la actividad endógena de la biotina, por medio de un sistema de bloqueo de Avidina y Biotina (HK 102-SK, Biogenex, San Ramon CA). Este procedimiento no disminuyó la tinción de fondo de la periferia del tejido o áreas de necrosis.
La gran avidez a la precipitación de cromógeno o tinción de fondo manifestada por los tejidos con necrosis y calcificación en los granulomas, impedía la evaluación adecuada de las reacciones. Se optó por descalcificar los tejidos en una solución de acido clorhídrico al 10% y evaluar si la remoción del calcio impedía la avidez. Lo anterior permitió una mejor observación de las reacciones, sin embargo, disminuyó considerablemente la adhesión del tejido a las laminillas preparadas con silane, lo que provocó un desprendimiento considerable de tejidos.
En una segunda etapa del trabajo y con la finalidad de incrementar la sensibilidad en la detección de las micobacterias y con el menor fondo inespecífico se hicieron las siguientes modificaciones[9]. Considerando que los anticuerpos policlonales producen mucho fondo inespecífico, se modificaron las soluciones tanto para las diluciones así como para lavados. Para la dilución de los anticuerpos policlonales se utilizó un diluyente comercial para anticuerpos con componentes para reducción de fondo (Dako S3022, DakoCytomation, Inc, California, USA). Para los lavados de las laminillas se utilizó la solución salina bufferada con Tween 20, (TBST Dako S3306, Dako-Cytomation, Inc, CA). Para asegurar el bloqueo de peroxidasas y otras posibles enzimas endógenas se utilizó un bloqueador de peroxidasas y fosfatasa alcalina (Dako S2003, DakoCytomation, Inc, CA, USA).
Se uso otra presentación de cromógeno del mismo fabricante que el sistema de detección, el Substrato DAB para peroxidasa (SK-4100, Vector Laboratorios, CA).
Con las modificaciones mencionadas se logró la reducción completa del fondo inespecífico, así como el incremento en la sensibilidad e intensidad de la detección de los antígenos. Los antígenos fueron fácilmente detectados principalmente en el interior de los macrófagos y con una coloración marrón intensa en los controles positivos. Con las modificaciones al procedimiento fue posible obtener resultados positivos hasta una dilución 1:7500. En los controles negativos de suero no se observó tinción específica ni tinción de fondo.

CONCLUSIONES

En base a los resultados del presente estudio se concluye que la técnica de inmunohistoquímica estandarizada constituye una importante herramienta de diagnostico de micobacterias en tejidos. En base a su principio de magnificación de la respuesta antígeno-anticuerpo, permitirá con mayor facilidad la detección de micobacterias en tejidos en los que por el número mínimo de bacterias se dificulta la detección por métodos convencionales como Ziehl Neelsen. Su uso disminuirá el tiempo requerido para el diagnóstico en comparación con el aislamiento.
La IHQ ofrece la ventaja de mayor seguridad para el personal de laboratorios ya que al trabajar con tejido previamente fijados en formol se reduce totalmente el riesgo de exposición accidental. Otra de las ventajas de la IHQ es que puede ser utilizada a partir de cortes de bloques de tejidos embebidos en parafina y almacenados para estudios retrospectivos de diagnostico y epidemiología.
Una vez estandarizada la técnica de Inmunohistoquímica para el diagnostico de micobacterias en tejidos, será necesario un estudio completo de validación comparándola con el aislamiento del agente así como con la tinción de Ziehl Neelsen y establecer su sensibilidad y especificidad.

AGRADECIMIENTOS:

Se agradece el apoyo para la realización de este trabajo a Fondo Mixto de Fomento a la Investigación Científica y Tecnológica CONACYT-Gobierno del Estado de Tamaulipas, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia y Consejo Tamaulipeco de Ciencia y Tecnologia.

REFERENCIAS

1. Estrada-Chávez,C., Mancilla,R., Arriaga-diaz,C., Perez-Gonzáles,R., Diaz-Otero,F. 2001. Determinación de anticuerpos anti-PPD en hatos lecheros con distintas prevalencias de tuberculosis Bovina en México. Vet. Méx. 32,3: 207-211.

2. Zenteno Cuevas,R. 2003. Pasado, presente y futuro de las técnicas diagnósticas de tuberculosis. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. 16: 181-186.

3. Escamilla-Carlos,A., Trejo-Chávez,A., Mendoza-Dávila,G., Álvarez-Ojeda,G., Martínez-Vázquez,O., Morales-Loredo,A. 2004. Comparación de histopatología, aislamiento microbiológico y PCR en el diagnóstico de tuberculosis bovina. XIII Congreso Nacional de Patología Veterinaria; 1 p.Nuevo Vallarta, Nayarit

4. González-Salazar,D., Valero-Elizondo,G., Ramirez C,I.C., Arellano R,B. 1995. Comparación entre inmunohistoquímica y tinciones para bacterias ácido resistentes en cortes histológicos. Memorias Reunión Nacional de Investigación Pecuaria 1995. 26: 43-43.

5. Haines,D.M., Chelack,B.J. 1991. Technical considerations for developing enzyme immunohistochemical staining procedures on formalin-fixed paraffin-embedded tissues for diagnostic pathology. J Vet Diagn Invest. 3: 101-112.

6. Thoresen,O.F., Falk,K., Evensen,O. 1994. Comparison of immunohistochemistry, acid-fast staining, and cultivation for detection of *Mycobacterium paratuberculosis* in goats. J Vet Diagn Invest. 6: 195-199.

7. Sumi,M.G., Mathai,A., Sheela,R., Radhakrishnan,N.S., Radhakrishnan,V.V., Indhulekshmy,R., Mundayoor,S. 2001. Diagnostic utility of polymerase chain reaction and immunohistochemical techniques for the laboratory diagnosis of intracranial tuberculoma. Clin Neuropathol. 20: 176-180.

8. Campuzano,G.J., Yela,M.I., Chávez,G.G., Díaz,O.F., Suárez-Guemez,F. 1995. Evaluación de la prueba de inmunohistoquímica en el diagnóstico de la tuberculosis bovina en animales sospechosos. Vet. Méx.. 26, 2: 36.

9. Ramos-Vara,J.A. 2005. Technical Aspects of Immunohistochemistry. Veterinary Pathology. 42: 405-426.

Reporte de un caso de Intoxicación por *Cestrum dumetorum* en ganado bovino en Tamaulipas.

Jesús Antonio Medellín Ledezma*, Julio Martínez Burnes y Ned Iván de la Cruz Hernández
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, "Dr. Norberto Treviño Zapata",
Universidad Autónoma de Tamaulipas.

RESUMEN
El objetivo de este trabajo es la descripción de un caso de intoxicación aguda por *Cestrum dumetorum* en ganado bovino en Tamaulipas, durante la temporada otoño-invierno 2005-2006, con depresión severa, tremores musculares, temperatura subnormal (35.5-37.5°C), sialorrea, recumbencia, convulsiones, coma y muerte. En inspección postmortem se observó distensión cardiaca congestiva, hemorragias difusas en epi y endocardio, úlceras gástricas, enteritis catarral y hemorrágica severas, esplenomegalia, hepatomegalia, ictericia y hemorragias severas en uréteres. Hallazgos microscópicos incluyeron: Necrosis hepática periacinar y difusa severa, aguda, cambio graso y estructuras eosinofilicas en citoplasma de hepatocitos. Hemorragias multifocales moderadas en encéfalo, vasculopatia y edema perivascular. Edema pulmonar leve, vasculopatia, atelectasia y enfisema pulmonar. Nefrosis tubular moderada con depósito de pigmentos y proteinuria. Abomasitis ulcerativa, enteritis linfocitaria y hemorrágica severa. La signología y lesiones son característicos de intoxicación aguda por alcaloides de plantas del genero *Cestrum* y concuerda con la literatura.
Palabras Clave: Intoxicación, *Cestrum*, bovinos

Intoxication by *Cestrum dumetorum* in cattle in Soto la Marina, Tamaulipas. A case report.

The aim of the study is to describe an acute intoxication by Cestrum *dumetorum* in cattle in Tamaulipas, during the fall to winter season, 2005-2006, with severe depression, muscular tremors, abnormal body temperature (35.5-37.5°C), sialorrea, recumbence, convulsions, coma and death. Postmortem examination revealed congestive cardiac dilatation, diffuse epi and endocardial hemorrhage, abomasal ulcers and hemorrhages, severe catarrhal and hemorrhagic enteritis, splenomegaly, hepatomegaly, icterus and severe uretral hemorrhage. Microscopical findings included acute, severe and diffuse periacinar hepatic necrosis, fatty change, and eosinophilic intracytoplasmic inclusions. Multifocal brain hemorrhages, vasculopathy and perivascular edema. Mild pulmonary edema and emphysema, vasculopathy, and athelectasia. Moderate tubular nephrosis with proteinuria. Ulcerative abomasitis and hemorrhagic and lymphocytic enteritis. Clinical signs and morphological changes are characteristic of an acute intoxication with alkaloids from *Cestrum sp* genus plants and are similar to those described on the literature.

Palabras Clave: Intoxication, *Cestrum*, cattle

Introducción

Los reportes de envenenamiento de animales de granja por consumo de plantas tóxicas se han documentado en varios países. En México, se conocen varias plantas que afectan la salud, principalmente de rumiantes.[1] En el estado de Tamaulipas, durante épocas de escasez de pastos y ramoneo para el ganado, se acentúan los casos de intoxicación por plantas.[2] Avendaño y Gudiño, en 1998 citan las principales plantas consideradas tóxicas para el ganado en el estado de Veracruz; donde describen los signos de intoxicación por la planta conocida como "Palo hediondo", "Huele de noche", "Galán de noche, "Horcajudas" entre otros nombres. Esta planta pertenece a la familia de las solanáceas y se encuentra en selva mediana subperennifolia, selva baja caducifolia y duna costeras de los estados de México, Veracruz, Oaxaca, Nuevo león y Tamaulipas, entre otros. El consumo de estas plantas se ha asociado a trastornos nerviosos, salivación, gastroenteritis, debilidad excesiva, colapso y muerte.[3] Estos autores, citan otras especies de *Cestrum* que causan intoxicación similar en México.[3] En otras partes del mundo como Brasil (1990), Sudáfrica (1991), Chile (1999) y Nueva Zelanda (2005), se han reportado casos de intoxicación en caprinos, ovinos o en bovinos por plantas de la familia *Solanaceae* y por especies del género *Cestrum*.[4, 5, 6,7]

Historia Clínica

El problema se presentó en una zona al sur de Soto la Marina, Tamaulipas en el paralelo 23° 27' 23.06" latitud norte y el meridiano 97° 55' 45.42" longitud oeste, con clima subhumedo con selva baja. El problema se presentó en dos ranchos en terrenos abiertos recientemente al cultivo de gramíneas forrajeras de pastos Guinea o Privilegio (*Panicum maximum*) y Estrella Africana (*Cynodon plectostachyus*), en terrenos perturbados con desmonte reciente, de 2 a 3 años.
Lo casos se presentaron de octubre de 2005 a enero de 2006, en bovinos de las razas Brangus y Beef Master, de ambos sexos y a partir de 1 año de edad.
En los casos que se presentan se observó debilidad, salivación excesiva, dolor abdominal, depresión severa, temperatura subnormal de 35.7° a 37.5° C, midriasis, signología nerviosa con incoordinación, hiperestesia, estertores musculares y pataleo, postración, convulsiones tónico-clónicas, coma y muerte, con un curso de 24 a 72 horas en promedio.

Hallazgos macro y microscópicos

Las condiciones de los cadáveres remitidos para estudio postmortem eran buenas al igual que su estado de carnes. En la inspección inicial se observó distensión abdominal, además de salida de líquido ruminal por cavidad bucal y fosas nasales, secreción conjuntival leve y palidez de mucosas. También se observó la presencia de ectoparásitos (Garrapatas), escoriaciones y hematomas, además de formación de costras alrededor de ubres y pezones,
En la inspección postmortem se encontraron hematomas postraumáticos en región lateral derecha en caja torácica de forma moderada multifocal acompañado de edema focal.

Presencia de hemorragias equimóticas en pulmón, áreas de consolidación de consistencia firme y difusas, adherencias pleurales, enfisema pulmonar intersticial y leve opacidad pleural en lóbulos caudales.
Distensión cardiaca congestiva, acompañado de hemorragias severas equimóticas en pared externa cardiaca. El hígado presento hepatomegalia por congestión sanguínea además de cambios de coloración blanquecina en parénquima hepático**,** focos hemorrágicos severos.
En riñones se observó leve ictericia de la grasa perirenal con la presencia de hemorragias petequiales y equimoticas en pared interna de uréteres de forma severa y difusa**.** Esplenomegalia congestiva leve con presencia de hematoma subcapsular. En el intestino delgado se observo exudación catarral moderada acompañada de hemorragias difusas moderadas.

Hallazgos microscópicos
Los hallazgos microscópicos más relevantes fueron: Necrosis hepática periacinar y difusa severa aguda con hemorragias, cambio graso severo, disociación de cordones hepáticos y presencia de estructuras eosinofilicas en citoplasma de hepatocitos.
Presencia de hemorragias multifocales moderadas en encéfalo con hialinización de vasos y edema perivascular, satelitosis, vacuolización neuronal y de neuropila. Infiltración discreta de mono y polimorfonucleares alrededor de vasos. Pigmento color amarillo intra y perivascular leve.
Edema pulmonar leve, hialinización de vasos, atelectasia y enfisema pulmonar.
Nefrosis tubular moderada con depósito de pigmentos y proteinuria. Focos de nefritis intersticial leve, hemorragias y hialinización de vasos.
Enteritis linfocitaria y hemorrágica severa, con presencia de eosinófilos y quiste de *Eimeria sp*.

Diagnostico morfológico
Necrosis hepática periacinar y difusa severa con cambio graso. Enteritis hemorrágica con vasculopatia. Nefrosis tubular con proteinuria y depósito de pigmentos. Hemorragias en diferentes tejidos.

Discusión y conclusiones
Las lesiones hepáticas corresponden a un proceso hepatotóxico agudo. Por la historia clínica y lesiones encontradas, además de la confirmación de la presencia de plantas ramoneadas del genero *Cestrum sp.* en el lugar, el proceso es característico de intoxicación por dichas plantas.

Las lesiones hepáticas con necrosis aguda severa, cambio graso y la presencia de inclusiones eosinofílicas en el citoplasma de hepatocitos dañados, se ha descrito como hallazgo característico en intoxicaciones por estas plantas.[5,7]

Las hemorragias en diferentes tejidos están descritas en estos procesos y se deben al daño vascular y a la falta de factores de coagulación por el daño hepático.[5,6,7]
Las plantas del genero *Cestrum sp* son abundantes en la zona y se les conoce vulgarmente con los siguientes nombres: Chacuaco, esencia, palo hediondo,

horcajudas, huele de día, huele de noche, hediondilla, poloxihuite, pototnxihuite y teozan.
Por la historia clínica de signos nerviosos, el daño vascular y hemorragias se debe considerar en el diagnostico diferencial Fiebre Catarral Maligna y Haemofilosis.
Es importante considerar que la intoxicación por plantas del género *Cestrum sp se* presenta generalmente en épocas de sequía o cuando los animales son de nuevo ingreso o son movidos de potrero y forzados a consumir estas plantas. No existe un antídoto o tratamiento específico, por lo que se deben de mover los animales del potrero y evitar su consumo.

Bibliografía

1.- Principales plantas tóxicas en los agostaderos de Tamaulipas. Comisión Técnico Consultiva Para la Determinación de Coeficientes de Agostadero. Subdelegación de Ganadería. Secretaría de agricultura y Recursos Hidráulicos. Cd. Victoria, Tamaulipas. 1991.

2.- Plantas tóxicas para el ganado. Armando González Stuart. Editorial Limusa-Noriega. México. 1989.

3.- Registro de plantas tóxicas para el ganado en el estado de Veracruz, México. Sergio Avendaño Reyes y José Salvador Flores Gudiño. 1998.

4.- Experimental poisoning of bovines, ovines and goats by *Sessea- brasilensis* (Solanaceae). Chaulet JHF, Peixoto PV, Tokarina CH. Pesquisa Veterinaria Brasileira 10 (3-4): 71-84 Jul.-dic. 1990.

5.- The patology of *Cestrum- laevigatum* (schlechtd) poisoning in cattle. VanderlugJJ, Nel PW, Kitching JP. Onderspoort Journal of Veterinary Research 58 (3) : 211- 221, sep. 1991.

6.- Lesiones observadas en intoxicaciones accidentales con *Cestrum parqui* (L' herit) en bovinos. C. Brevis; M.V., Quezada, M.V.Dr. Vet.; L. Carrasco M.V., Dr. Vet.; A. Ruiz, M.V. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Concepción, Chile. Avda. Medina Azahara,9, 14005 Córdoba, España. Arch. Med. Vet. v. 31 n.1 Valdivia 1999.

7.- Suspected *Vestia foetida* (*Solanaceae*) poisoning in young goats. McKeough VL, Collet MG, Parton KH. New Zealand Veterinary Journal 53 (5): 352-355 Oct. 2005.

Cambios morfológicos y hematológicos por la administración de clenbuterol y zilpaterol en pollo de engorda. Resultados preliminares.

Antonio Joel Ruiz Uribe[1], Fidel Infante Rodriguez, Ned Ivan de la Cruz Hernández, Julio Martínez Burnes.
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia "Dr Norberto Treviño Zapata", Universidad Autónoma de Tamaulipas.

RESUMEN

El objetivo del estudio fue describir los hallazgos macroscópicos y hematológicos atribuibles al uso de dos drogas beta adenérgicas (BAR) a dosis estándar promotoras de crecimiento en la dieta de pollos de engorda durante la tercer y cuarta semana del ciclo productivo. Sesenta animales de la línea comercial Ross fueron divididos al azar en tres tratamientos. El grupo 1 recibió clenbuterol, el dos zilpaterol y el tercero como testigo sin medicación. Cuatro animales de cada grupo (n= 12) fueron sacrificados en las semanas 3, 4, 5, 6, 7. Se tomaron registros de alteraciones macroscópicas de diferentes tejidos, análisis hematológicos, peso de músculo (pechuga), hígado, riñón, corazón (total y ventrículos). Los resultados muestran que los órganos como hígado, riñón y corazón de los tratados con betaadrenergicos incrementaron su peso a las 3 y 4 semanas. Se observaron también hepatomegalia congestiva, hipertrofia cardiaca ventricular e hidropericardio. En los grupos tratados con betaadrenérgicos se encontró un ligero aumento del hematocrito y disminución inicial del conteo de leucocitos comparado con el testigo. Después de la cuarta semana no se observaron cambios en tejidos en ningún grupo.
Palabras Clave: clenbuterol, zilpaterol, pollo de engorda.

Macroscopic and hematological findings by administration of clenbuterol and zilpaterol in broilers. Preliminary results.

The aim of the study was to describe macroscopic and hematological changes associated to the administration of two beta adrenergic drugs (BAR) on diet of broilers at third and fourth week of the productive cycle. Sixty Ross-line chickens were divided in 3 experimental groups. Group 1 received clenbuterol, group 2 zilpaterol and group 3 as control without medication. Four animals per group (n= 12) were euthanized on weeks 3, 4, 5, 6, 7 and data from tissue weight and macroscopic findings from muscle (pectoral), liver, kidney, and hearth (total weigh and ventricles) were collected. In addition, blood samples were taken for haematological analysis. Results showed increased weight from liver, kidney and heart from BAR-treated animals compared with control at 3 and 4 weeks. Congestive hepatomegaly, heart ventricular hypertrophy and hydropericardium were associated to BAR-treated animals, along with a mild increase of haematocrit

[1]Antonio J. Ruiz Uribe. Fac. de Medicina Vet. y Zoot., Univ. Aut. de Tam, Km. 5 Carretera Victoria-Mante Cd. Victoria, Tam CP P87000, Tel (834)3125078 fax: (834) 31 20985 Email: ajruiz@uat.edu.mx

and decrease of white blood cells counts compared with controls. Macroscopic and haematological changes after 4 weeks were not longer observed.
Key Words: Clenbuterol, Zilpaterol, Broilers

Introducción

La avicultura es una rama de la ganadería nacional que se encuentra en un nivel tecnológico desarrollado y favorable, con grandes avances en la genética y alimentación. Cabe mencionar que la industria avícola tiene un gran mercado por la producción de alimento altamente nutritivo y a un bajo costo, por lo que este alimento es consumido por la mayor parte de la población nacional y mundial.[1, 2] En la producción animal se usan diferentes métodos para obtener una mayor producción de carne. Para lograr este objetivo, por ejemplo, se procede a la selección de animales de acuerdo a sus características fenotípicas.[3] También se han obtenido grandes avances en la alimentación, como el uso de aditivos que mezclados en la dieta, mejoran la eficiencia alimenticia y reducen la cantidad de grasas y aumentan la producción de carne más magra. Las alternativas terapéuticas para incrementar las conversiones alimenticias son variadas, el uso de antibióticos, hormonas, anabólicos y beta agonistas han sido utilizados para mitigar las pérdidas ocasionadas por la falta de recursos naturales o buena genética. Además hay que denotar que el uso de alguno de los tratamientos antes mencionados puede representar un riesgo en la salud pública.[3]
El clenbuterol y otros beta agonistas se utilizan de forma ilegal como promotores de crecimiento. Los residuos farmacológicos activos en los tejidos comestibles conducen a brotes de intoxicación en muchos países.[4] Debido a los problemas ocasionados en la salud, a partir de 1988 se consideró ilegal el uso de este compuesto en los E.U, Canadá y Europa. Sin embargo se ha utilizado aún de forma ilegal.[5] Aunque existen descripciones del efecto de estos compuestos en otras especies animales, sin embargo, no existe información publicada sobre la evaluación del uso y los efectos farmacológicos del zilpaterol en aves de engorda.

El uso de aditivos químicos debe ser monitoreado para obtener patrones de comportamiento del medicamento en el organismo (farmacocinética y efecto residual) con el fin de determinar hasta que punto el animal tratado es apto para el consumo humano y que no represente un riesgo para la salud o que produzca efectos indeseables de la medicación tales como la resistencia, alergia, etc. La presente investigación pretende evaluar las posibles lesiones de dos drogas beta adrenérgicas, clenbuterol y el zilpaterol a una dosis media citada en la literatura como promotora de crecimiento, durante la tercer y cuarta semana del ciclo productivo de pollo de engorda y determinar cambios macroscópicos en diferentes tejidos (músculo, riñón, corazón, hígado) así como también analizar patrones hematológicos y correlacionar las alteraciones encontradas. Lo anterior permitirá tener un mejor conocimiento sobre el uso de estos beta-agonistas.

Material y Métodos.

El presente trabajo se llevo a cabo en la Posta Zootécnica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia "Dr. Norberto Treviño Zapata" de la Universidad

Autónoma de Tamaulipas, localizada en el kilómetro cinco de la carretera Victoria - Mante en Cd. Victoria Tamaulipas.

La caseta experimental cuenta con iluminación artificial, con calefacción eléctrica en donde se situaron 12 jaulas de (1 x 1.30 m), de reja metálica, cada jaula con una lámpara cónica de 75 watts para iluminación/calefacción, comedero y bebedero de iniciación y finalización, con cama de aserrín de madera.

Animales

Se utilizaron 60 pollos de engorda de la línea comercial Ross mixtos, de un día de edad, con un peso de 46 g. promedio, los cuales se distribuyeron al azar en grupos de 5 aves por corral.

Los pollos se alimentaron con dietas comerciales a base de sorgo de grano, aceite de cártamo, pasta de soya y base, con un 23% de proteína en la fase de iniciación y un 18 % en su finalización. Los pollos se alimentaron considerando dos etapas en el ciclo productivo del pollo de engorda: iniciación (0 a 3 semanas de edad), y finalización (4 a 7 semanas de edad). Se utilizaron 3 tratamientos en la tercer y cuarta semana de producción. El primer tratamiento consistió en alimento medicado con 12mg/kg de clenbuterol[6]. El segundo tratamiento consistió en alimento con 6 mg/kg de zilpaterol obtenido por Zilmax® de Laboratorios Intervet©.[7] El tercer tratamiento no tubo ninguna medicación con beta adrenérgicos. A todos los tratamientos (zilpaterol, clenbuterol y testigo) se les agregó 1% de aceite comestible y bicarbonato de calcio como vehículos para las drogas, estos fueron homogenizados en una micromezcladora de 100kg. El agua y el alimento se ofreció *ad líbitum* durante los cuarenta y nueve días del estudio.

La distribución de los grupos de tratamiento fue aleatoria por sorteo para evitar inferencias grupales.

El alimento medicado se administro durante la tercera (iniciación) y cuarta (finalización) semana de producción, ya que durante estas semanas se lleva acabo una adecuada conversión alimenticia, además que también se manejaron 21 días posteriores al tratamiento, lo cual permitió que el animal metabolice y elimine el medicamento más eficientemente que los 15 días de retiro mencionados en la literatura.[8,9]

Toma de muestras.

Un animal de cada corral fue sacrificado en los días 21, 28, 35, 42, 49 postexposición mediante la electrocución. Antes de sacrificar a los animales se colectaron muestras de sangre con tubo de ensayo ya preparado con EDTA al 10% para su posterior análisis hematológico. Durante la necropsia se colectaron muestras de músculo, corazón, riñón y hueso. Todas las muestras fueron pesadas en bascula analítica digital, guardadas e identificadas con números asignados de lote, tratamiento, fecha, numero de ave y tejido [8]

Resultados

Los hallazgos al final de la tercera semana de desarrollo de los pollos, con 7 días de exposición a las drogas muestran que el músculo pectoral (pechuga), presentó diferencias respecto a volumen y masa, las que fueron mayores en el grupo tratado con clenbuterol con respecto al zilpaterol y testigo. El mismo patrón de aumento de peso se presentó en los otros tejidos estudiados.

A nivel macroscópico, en el grupo tratado con clenbuterol se observó hepatomegalia congestiva e hipertrofia cardiaca ventricular de los organismos tratados teniendo mayor peso el grupo con clenbuterol. En los análisis hematológicos se observo aumento del hematocrito en los organismos tratados y una disminución de leucocitos en el caso de clenbuterol respecto al testigo.
A la cuarta semana de desarrollo y con tratamiento por 14 días, el patrón de hallazgos macroscópicos fue muy similar al anterior muestreo. Los grupos tratados con beta agonistas mostraron mayor peso en los tejidos colectados. Sin embargo, el grupo tratado con zilpaterol presentó mayor peso que el de clenbuterol en el caso de el músculo pectoral. El grupo con clenbuterol consistentemente mostró mayor peso y alteraciones en los demás tejidos analizados. En los animales tratados con clenbuterol se observó nuevamente hepatomegalia congestiva. En el caso de zilpaterol a diferencia de los demás grupos presentó una marcada incidencia de hidropericardio de todos los organismos de este grupo.
En los análisis hematológicos no se observaron cambios en los glóbulos rojos en los diferentes grupos, sin embargo, se encontró un marcado incremento, casi al doble, en el conteo blanco del grupo de clenbuterol comparado con los otros dos grupos.
En la quinta semana del estudio, después de 7 días sin tratamiento, el grupo testigo superó los pesos de los tejidos estudiados comparado con los tratados. No se observaron cambios morfológicos en tejidos entre los diferentes grupos y así se mantuvo el patrón hasta el final del estudio.

Discusión y Conclusiones

Existen en la literatura escasas referencias del efecto de los betaadrenergicos en el pollo de engorda, y las existentes no describen información significativa de los cambios morfológicos atribuibles a la utilización de este tipo de medicamentos. Se han descrito efectos marcados cuando se utiliza clenbuterol como un tratamiento para síndrome ascitico con aumento en la masa muscular y disminución de la grasa corporal. [10] Este mismo patrón se observó en el presente estudio, durante el tratamiento con clenbuterol y el incremento en masa muscular ha sido descrito por Ortiz. [5] La mayor demanda de nutrientes por los tejidos susceptibles a los betaadrenergicos genera una mayor producción, así mismo los eritrocitos se ven aumentados ya que el músculo demanda mayor cantidad de elementos y por resultante el hígado tiene que trabajar mas en la glucogénesis. Así mismo, el corazón tiende a trabajar mas, lo cual puede ser correlacionado con los hallazgos encontrados en este estudio de hepatomegalia e hipertrofia tisular[1, 1, 12]. En el caso de las células blancas, se encontró que los betaadrenergicos tienen un marcado efecto depresor tanto del conteo total así como de los leucocitos mientras estén medicados. Este resultado es similar a lo reportado por Graczyk[43] en pavos a los que se les administró propranolol con fines de inmovilización.
De acuerdo a los resultados preliminares del presente estudio, es importante que la adición de drogas betaadrenergicas en pollos generan cambos morfológicos tisulares y hematológicos. La mayor demanda de nutrientes por los órganos blanco es muy evidente, por lo que se producen hepatomegalia e hipertrofia

ventricular. Otros cambios como el hidropericardio y la inmunosupresión podrían ser un indicativo del los efectos del clenbuterol y zilpaterol en pollo de engorda.
En una segunda etapa se realizan la determinación de cambios microscópicos en los tejidos estudiados. Se recomienda continuar con estudios de efectos tanto morfológicos, bioquímicos y fisiológicos de los beta adrenérgicos en el pollo de engorda, no solo por inocuidad alimentaría e impacto en salud publica, ademas, para conocer sobre la toxicología y patología de este grupo de compuestos que cada día es mas común su uso y no llevar a cabo un beneficio a la alimentación humana a costa de el bienestar animal.

Bibliografía

1. Alpízar Salas Oscar, Pérez Gil Romo Fernando, Ávila González Ernesto, Valles Sánchez Victoria, López Coello Carlos, Ocampo Camberos Luís. 1993. Efecto de un agonista B-adrenérgico en la alimentación de pollos de engorda. Rev. Vet. Méx. 24: 1: 37-41
2. Montalvo Valdenegro Hugo H., Barría Pérez Nelson. 1998. Mejoramiento Genético de Animales. Ciencia al Día. 1: 1-19
3. Maynard Leonard A. 1995. Nutrición animal. Editorial McGraw-Hill. 4ª edición, 381-397
4. Mazzanti Gabriela, Daniele Claudia, et al. 2003. New B-adrenergic agonists result illicitly as growth promoters in animal breeding: chemical and pharmacodynamic studies. Toxicology. 187: 2-3: 91-99.
5. Ortiz Borges Julio C., Alcocer Vidal Víctor M., Castellanos Ruelas Arturo F. 2005. Determinación de clenbuterol por el método de gases/masas y su cuantificación en bovinos sacrificados en dos rastros. Téc. Pecu. Méx. 43: 1: 57-67.
6. Pontes Pontes Miguel, Castello Llobet A. José. 1995. Alimentación para aves. Editorial Real academia de avicultores. 202-203
7. Zilmax. Boletín veterinario. Intervet Labs www.intervet.com.mx/binaries/86_89905.pdf
8. Quintana José Antonio. 1999. Avitecnia. Manejo de las aves más comunes. Editorial Trillas. 3ª edición, 46-47.
9. Malucelli A. Ellendorff F. and Meyer H. H. D. 1994. Tissue distribution and residues of clenbuterol, salbutamol, and terbuline in tissue of treated broiler chikens. Jou. anim. Sci. 6: 76: 1555-1560
10. Ocampo Luís, Cortez ulises, Sumano Héctor, Ávila Ernesto. 1998. Use of Low Doses of Clenbuterol to Reduce Incidence of Ascites Syndrome in broilers. Poultry science. 77: 1297-1299
11. Sumano L. Héctor, Ocampo C. Luís, Gutiérrez O. Lilia. 2002. Clenbuterol y otros B- agonistas. ¿una opción para la producción pecuaria o un riesgo para la salud pública?. Rev. Vet. Méx.2:33:38-156
12. Katzung Bertram G. 2005. farmacología Básica y Clínica. Manual Moderno S.A de C.V, 123-141.
13. Graczyc S., Pliszczak A., Kotonsky B., Wilczek J. 2003. Examination of hematological and metabolic changes mechanism of acute stress in turkeys. Electr. Jou. Of Polish Agric Univ. Vet Med Series. 6:1

CURSO DE CITOPATOLOGIA PARA PATÓLOGOS VETERINARIOS

CITOLOGÍA DE LESIONES DE PIEL

Eugenia Candanosa de M.

Departamento de Patología. FMVZ- UNAM
ieca@servidor.unam.mx

Un buen número de consultas en la clínica veterinaria se deben a la presencia de lesiones cutáneas. La piel es el órgano de mayor extensión en el cuerpo, por lo que es muy susceptible de sufrir o reflejar una amplia variedad de enfermedades de los animales domésticos y silvestres. Con el empleo de la citopatología diagnóstica es posible llegar a un diagnóstico definitivo e implementar una terapia adecuada en un corto periodo de tiempo.
Las técnicas de toma de muestra citológica más empleadas son la punción con aguja delgada, improntas y el raspado.

a. Punción con aguja delgada: esta se emplea en lesiones palpables, que generalmente se observan a simple vista; también se emplea en lesiones inflamatorias profundas y recurrentes o lesiones vesiculares recientes.
b. Improntas: esta técnica resulta de mucha utilidad cuando las lesiones están ulceradas o bien cuando se realizó la resección quirúrgica de un nódulo
c. Raspado: este se realiza en lesiones superficiales de la piel, como sería el caso de sarnas o micosis. Es necesario seguir las indicaciones de un buen raspado, ya que frecuentemente solo se obtiene material contaminante, escamas y pelo, que no siempre brindan información diagnóstica.

1. Evaluación de los procesos inflamatorios.

Los procesos inflamatorios se deben evaluar de acuerdo a la célula que predomina en el frotis y su estado de conservación. Es importante observar con cuidado el fondo del frotis, en donde se pueden encontrar eritrocitos, escamas, cristales de colesterol, bacterias (en ocasiones contaminantes), entre otros. lo cual es de ayuda para identificar la causa del proceso.

Proceso inflamatorio	etiología posible
Predominancia de neutrófilos	
Abundantes neutrófilos degenerados	bacterias, abscesos, cuerpo extraño, neoplasia.
Pocos neutrófilos degenerados	bacterias, hongos, protozoarios, cuerpos extraños, enfermedades inmunomediadas, daño químico o traumático, abscesos.
Neutrófilos no degenerados	bacterias, paniculitis, daño químico o traumático, abscesos, hongos, cuerpo extraño.
Exudado mixto	
15% - 40% macrófagos	bacterias, hongos, ectoparásitos, protozoarios, neoplasias, paniculitis, reparación.
> 40% macrófagos	hongos, cuerpo extraño, protozoarios, reparación, inflamación crónica alérgica.
células gigantes	hongos, cuerpo extraño, protozoarios, colagenolísis, paniculitis, ectoparásitos.
> 10% eosinófilos	alergia, parásitos, colagenolísis, mastocitoma.

Hay que recordar, que también se pueden enviar muestras a diferentes laboratorios, como bacteriología, micología o parasitología, para complementar el diagnóstico.

2. Evaluación de neoplasias cutáneas, subcutáneas o asociadas a mucosas.
Debido a la gran cantidad de neoplasias cutáneas, en este trabajo solo se mencionarán más frecuentes, de acuerdo al servicio de diagnóstico en el Departamento de Patología de la FMVZ de la UNAM.

Mastocitoma.
Estas neoplasias son muy frecuentes en perros, poco común en otras especies. Los hallazgos citológicos dependerán del mastocitoma. Son células redondas de núcleo ligeramente excéntrico que se tiñe pálido la mayoría de las veces; el citoplasma es moderado y generalmente contiene gran cantidad de gránulos metacromáticos. Se pueden observar la presencia de eosinófilos y el fondo puede ser hemorrágico.

Linfoma
La población de linfocitos normales en un órgano linfoide es de 70 a 95% de linfocitos pequeños y de 5 a 30% de linfoblastos. En los linfomas esta población se ve reemplazada por una población homogénea de células linfoides de proliferación autónoma. Estas pueden ser de tamaño o forma uniforme o ser pleomórficas. La mayoría de las veces presentan numerosas mitosis atípicas. El fondo tiene abundantes cuerpos linfoglandulares.

Tumor venéreo transmisible.
Es un tumor muy frecuente en países donde no se cuenta con un buen control de la población canina. Se desconoce el origen de las células que componen esta neoplasia, pero se sabe que tiene 59 cromosomas, que es menor al normal que se encuentra en el perro. Se transmite a través del coito o el rascado. El frotis se caracteriza por células que exfolian en forma abundante. Su núcleo es grande redondo con núcleolo evidente central con cromatina marginal. El citoplasma es moderado ligeramente vacuolado. Son frecuente las figuras mitóticas; así como también el fondo hemorrágico y neutrofílico.

Carcinoma de células escamosas.
Es un tumor agresivo de células epidermales en los cuáles se presenta una diferenciación a queratinocitos. En el frotis se presentan abundantes células epiteliales planas queratinizadas pleomorficas con anisocariosis y cambios de la polaridad; así como canibalismo y mitósis atípicas. También, hay escamas, hiperquetatosis, detritus celulares, exudado inflamatorio.

Para la identificación de otras neoplasias es necesarios documentarse de los componentes citológicos de las mismas, y tratar de armar el rompecabezas. No olvidar el comentario final, mencionando el pronóstico de la lesión.

LITERATURA CONSULTADA

1. Baker R. Color atlas of cytology of the dog and cat. Ed. Mosby. St. Louis Missouri, 2000.
2. Bibbo M. Comprehensive cytopathology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997. .
3. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology of the dog and cat. California: American Veterinary Publications, Inc., 1989.
4. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology and hematology of the horse. 2nd ed. St Louis: Mosby, 2002.
5. Proceeding of the 32nd Postgraduate Institute for Pathologists in clinical Cytopathology. The Johns Hopkins University School of Medicine and The John Hopkins Hospital. Maryneland, 1991
6. Santiago H, De la Torre FE. Patología del ganglio linfático. Curso- taller. XXXIV Reunión Anual en Provincia, Chihuahua, Chih. Asociación Mexicana de Patólogos, AC. Mayo, 1991.
7. Jacobs RM, Messick JB, Valli VE. Tumors of hemolymphatic System. In: Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 4th ed. Iowa State Press: USA, 2002.
8. Jain NC. Essentials of veterinary hematology. Lea & Febiger: Philadelphia, 1993.

CITOLOGÍA DE TUMORES MESENQUIMALES

Laura P. Romero R.
Departamento de Patologia, FMVZ-UNAM

Los tumores de tejidos blandos y hueso se desarrollan a partir de tejidos que derivan del mesodermo embrionario y están compuestos por elementos celulares heterogéneos, entre los que las células neoplásicas se encuentran mezcladas con tejidos en diferentes estadios de maduración; algunos se encuentran en forma primitiva, mientras que otros están altamente diferenciados y forman patrones tisulares específicos, o contienen organelos citoplásmicos especializados, capaces de producir sustancias activas que pueden ser detectadas bioquímica o inmunológicamente.

Determinar el origen celular de muchos de los tumores de tejidos blandos implica un gran reto, aun en un estudio histopatológico, ya que la mayoría de ellos se originan de células mesenquimales primitivas pluripotenciales las cuales presentan una enorme gama de componentes celulares, apariencia ultraestructural y reacciones inmunohistoquímicas, por lo que con frecuencia análisis inmunológicos, de microscopia electrónica y aun estudios de DNA, son de poca utilidad en el diagnóstico específico de una neoplasia mesenquimal. Por esta razón, se debe enfatizar precaución en el diagnóstico citológico de este tipo de lesiones, y en muchos de los casos, deberá limitarse a enlistar las entidades patológicas que deben ser consideradas en el diagnóstico diferencial. No obstante, los hallazgos citológicos y estructurales, en conjunto con los datos clínicos y radiológicos, permiten a la citología un alto grado de precisión.

Dada la variedad y complejidad de estas entidades clínico-patológicas, el enfoque inicial se debe basar en el análisis del patrón citoarquitectónico. Para esto, se han establecido seis categorías básicas en función de la forma celular, las características del estroma y su semejanza con el tejido maduro normal:

- Tumores ricos en matriz mixoide
- Tumores de células redondas
- Tumores de células fusiformes
- Tumores de células pleomórficas
- Tumores de células epitelioides
- Tumores de células semejantes a las células maduras

Tumores ricos en matriz mixoide.

Tienen consistencia suave, la PAD de estas lesiones proporciona material con cantidad variable de matriz viscosa extracelular. La matriz mixoide se observa color verdoso con la tinción de Papanicolaou, pero es difícil de visualizar con otras tinciones. Las células tumorales se encuentran dispersas en forma individual o en pequeños agregados, en ocasiones embebidas en la matriz mixoide. La morfología celular varía de acuerdo a la neoplasia. Algunos de los tumores mixoides más comunes son: mixoma, liposarcoma mixoide, mixofibrosarcoma y condrosarcoma mixoide.

Tumores de células redondas.

Estos tumores son más comunes en pacientes pediátricos y en adultos jóvenes. Algunas de las lesiones más comunes y mejor caracterizadas son: rabdomiosarcoma, neuroepitelioma, sarcoma sinovial indiferenciado, neuroblastoma, tumor desmoplásico intrabdominal y tumor neuroectodérmico melanótico. Las biopsias por aspiración de estos tumores generalmente proporcionan frotis muy celulares, con células malignas homogéneas, relativamente pequeñas, con núcleos hipercromáticos y alta proporción núcleo:citolplasma. Algunos hallazgos citológicos de interés incluyen la presencia de rabdomioblastos atípicos, lipoblastos atípicos, rosetas de neuroblastos, glicógeno citoplásmico, pigmento melánico, inclusiones citoplásmicas hialinas y fragmentos de tejido conectivo asociado a las células redondas.

Tumores de células fusiformes.

Son los más numerosos y heterogéneos de los tumores de tejidos blandos. También representan un reto diagnóstico debido al gran número de lesiones reactivas que semejan neoplasias, por lo que la correlación clínica es de particular importancia. Estos tumores tienen el mayor potencial de diagnósticos tanto falsos-positivos, como falsos-negativos. Los hallazgos citológicos más importantes incluyen: celularidad bifásica con núcleos alargados, en ocasiones ondulados, que se estrechan en los extremos; núcleos en palizadas; núcleos elongados, rectos, con extremos romos; patrón estoriforme o espiral; fragmentos de tejido con fibras de colágena o fibras elásticas degeneradas; y células fusiformes dispersas en un fondo de eritrocitos. Los tumores de células fusiformes incluyen: leiomioma, neurofibroma, schwannoma, angioma, sarcoma sinovial, fibrosarcoma, leiomiosarcoma, hemangiopericitoma.

Tumores de células pleomórficas.

Se caracterizan por variaciones en la forma y el tamaño de las células y sus núcleos. En los frotis de punciones con aguja delgada, los sarcomas pleomórficos son casi siempre rápidamente diagnosticados como malignos. Los frotis son generalmente muy celulares, con una cierta tendencia de las células malignas a formar agregados, y contienen fragmentos de tejido y un fondo necrótico. Las células pleomórficas pueden ser mononucleadas o multinucleadas, con núcleos de forma irregular de cromatina grumosa y nucleólos prominentes. Los tumores pleomórficos más representativos incluyen: histiocitoma fibroso maligno, leiomiosarcoma pleomórfico, rabdomiosarcoma pleomórfico, liposarcoma pleomórfico y angiosarcoma.

Tumores de células epitelioides.

Esta categoría incluye tumores que pueden ser fácilmente confundidos con carcinomas o melanomas metastásicos. Las lesiones más comunes de este tipo son: sarcoma epitelioide, sarcoma alveolar de tejidos blandos, sarcoma de células claras y hemangiosarcoma epitelioide. Los frotis contienen numerosas células malignas dispersas y en pequeños agregados planos. Estas células son de forma redonda o poligonal, con bordes celulares bien definidos y cantidad variable de citoplasma. Es común que presenten núcleos redondos excéntricos, con cromatina vesicular, membrana nuclear gruesa y uno o más nucleólos evidentes. En cualquiera de estas lesiones se encuentran pocas células fusiformes, y se pueden apreciar células binucleadas o multinucleadas.

Tumores de células semejantes a las células maduras.
Incluye lesiones compuestas por células bien diferenciadas dispuestas en patrones que semejan a los del tejido maduro, como son: liposarcoma bien diferenciado, leiomioma, rabdomioma, condroma y condrosarcoma bien diferenciado. Los frotis de estos tumores tienen generalmente escasa celularidad y las muestras pueden ser confundidas con tejido normal debido a la presencia de células de aspecto maduro.

LITERATURA CONSULTADA

1. Weiss S. W., Goldblum J. R. Enzinger and Weiss´s Soft Tissue Tumors. 4th ed. St. Louis Missouri: Mosby Inc., 2001.
2. Bibbo M. Comprehensive cytopathology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997.
3. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology and hematology of the horse. 2nd ed. St Louis: Mosby, 2002.
4. De Buen N. Citología Diagnóstica Veterinaria. 1ª ed. México DF: El Manual Moderno, 2001.

CITOLOGÍA DE GLÁNDULA MAMARIA

Eugenia Candanosa de M.

Departamento de Patología. FMVZ- UNAM
ieca@servidor.unam.mx

La glándula mamaria en algunos animales domésticos es muy apreciada por su aporte económico y por ello sobre utilizada, como es el caso de la vaca. En el caso de los animales de compañía no llega en muchas ocasiones a cumplir su función orgánica en el transcurso de la vida de la hembra. En el servicio de diagnóstico de citopatología veterinaria de la FMVZ de la UNAM se reciben aproximadamente 750 casos anualmente y una de las patologías que más frecuentemente se diagnostican son los tumores de glándula mamaria en la perra, antecedidos por el mastocitoma, linfoma y tumor venéreo transmisible.
En la vaca la patología más frecuente de la glándula mamaria es la mastitis, debido al uso frecuente de la ordeñadora mecánica y en ocasiones la desinfección inadecuada del equipo. Sin embargo, la PAD no es empleada en estas patologías.
En medicina humana, el empleo de PAD en tumores de glándula mamaria no es tan frecuente como en el casos de la citología vaginal, debido al riesgo que implica el diagnóstico de falsos positivos.
Las indicaciones para realizar una PAD en glándula mamaria se enlistan a continuación:

- lesiones palpables.
- lesiones no palpables identificadas por imagenología (punción guiada).
- diferenciación de quistes versus masas sólidas.
- ansiedad del dueño de saber el diagnóstico de su mascota.
- evaluación de neoplasias recurrentes.
- empleo de estudios adicionales: receptores hormonales citometría de flujo, microscopía electrónica, biología molecular, entre otros.

El protocolo que se sigue en medicina veterinaria cuando se detecta una masa en glándula mamaria es solicitar inicialmente la PAD y posteriormente realizar la resección quirúrgica. Generalmente, no se realiza una biopsia excisional previa como sucedería en medicina humana.
Es necesario solicitar la historia clínica y evaluación clínica del animal, considerando:

- Signos
- Condición general
- Duración de los signos
- Rango de crecimiento tumoral
- Recurrencia
- Tamaño
- Localización
- Consistencia del tumor
- **Castración**
- Número de glándulas involucradas
- Forma de crecimiento
- Ulceración
- Fijación a la piel o a otras estructuras
- Linfonodos aumentados de tamaño
- Linfaedema de extremidades.
- Deformidad de los pezones
- Presencia de metástasis a distancia
- **Campos pulmonares y linfonodos**

DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO

Las células que se obtienen de una PAD de glándula mamaria son:

- células ductales
- células acinares o glandulares
- células mióepiteliales
- células espumosas: de apariencia similar a un macrófago activado.
- linfocitos
- células plasmáticas
- células cebadas
- fibroblastos
- células de epitelio estratificado plano (piel).

El aspirado de una glándula mamaria normal, generalmente ofrece poco material.

A. Lesiones benignas

Mastitis.

Puede involucrar a una o varias glándulas, o como lesión focal. Se asocia principalmente a la lactación o a la pseudo preñez y puede resultar en un proceso ascendente (septicemia).

Se pueden observar neutrófilos, linfocitos macrófagos y células espumosas. Dependiendo del curso del agente etiológico y el curso de la inflamación, existirá un predominio de algunas células.

En infecciones de origen bacteriano, es importante verificar que las bacterias se presenten dentro de las células fagocíticas. En caso de lesiones inflamatorias de apariencia nodular (granuloma) se caracteriza por la presencia de necrosis, linfocitos y macrófagos.

Quistes.

Son frecuentes los procesos displásicos, donde hay dilatación de los ductos mamarios. En estos casos durante la punción hay la salida de abundante líquido de coloración amarillo pajizo y presencia de algunas células ductales displásicas.

Tumores benignos

Aproximadamente el 70% de las neoplasias en glándula mamaria de perra son benignas. Se clasifican en:

a. Adenoma

- **Simple**

- **Basaloide**
- **Complejo**

b. Tumor mixto benigno

Fibroadenoma

Cambio fibroadenomatoso

Papiloma ductal

B. Lesiones Malignas

En lesiones malignas es frecuente que se realice el diagnóstico de falsos positivos, es decir, que se diagnostique un proceso maligno cuando en realidad es benigno. La causa más frecuente de esto es el mal manejo de la muestra:

1. Incidencia

- Es la neoplasia maligna más frecuente en perra.
- Incidencia anual: 198/100,000.
- Su presentación es tres veces mayor que en mujeres.
- El 30% de los tumores de glándula mamaria en perras son malignos.
- Los tumores mamarios se encuentran en el 3er. Lugar de presentación después de los tumores de piel y los linfomas.
- Se calcula que son el 12% de todos los tumores y el 17% de las reinas,
- Incidencia anual de 25.4/100,000 reinas.

2.Etiología

a. Factores endógenos

- Factores de crecimiento y hormonales
- Son casi exclusivos de las hembras; en perros con alteraciones hormonales como tumor de células de Sertoli.
- Imbalance de hormona del crecimiento o prolactina inducen la carcinogénesis.
- ¿Causas? Seudo preñez o ciclos estrales irregulares.

b. Factores exógenos

- Aplicación de progestina para prevenir el estro.
- Reina: fibroadenoma por aplicación de progestina exógena o gestación.
- Tratamientos prolongados de dietilestilbestrol o estrógenos exógenos no incrementan la incidencia de tumores mamarios.
- Tumores mamarios malignos: tratamiento combinado de progesterona y estrógenos, altas dosis de progesterona, esteroides (contracepción).

c. Receptores

- Crecimiento normal y neoplásico: esteroides y hormonas peptídicas o factores del crecimiento.
- Estrógenos, progesterona, prolactina y factores de crecimiento epidermal.
- Carcinomas indiferenciados ⇓ receptores.
- Carcinoma complejo: ⇑ ER y PR.

d. Alimentación, virus e irradiación

- Dietas altas en grasa y la obesidad.

- FeLV, solo en carcinomas mamarios.
- Rayos X, incidencia es igual solo en perras más jóvenes.
- Dietas altas en grasa y la obesidad.
- FeLV, solo en carcinomas mamarios.
- Rayos X, incidencia es igual solo en perras más jóvenes.
- Dietas altas en grasa y la obesidad.
- FeLV, solo en carcinomas mamarios.
- Rayos X, incidencia es igual solo en perras más jóvenes.

e. Predisposición de raza

- Raza puras, doble riesgo.
- Mayor riesgo: Dachshund y Pointer.
- Menor riego: Collie y boxer.
- Mayor riesgo: Siameses.

f. Oncogenes y genes supresores

- Oncogen c-erB2 o neu (perros).
- EGF-R amplificador del gen receptor del factor de crecimiento epidermal (gato).
- Genes supresores p53.

g. Ovario histerectomía

- Para que tenga beneficio se debe realizar antes del primer estro.
- En perras con cáncer mamario no representa beneficio.
- Tamoxifen (antiestrógeno): serios efectos colaterales.

3. Histiogénesis

Tumor mixto

- Células tallo
- Metaplasia de células mioepiteliales.
- Metaplasia de células epiteliales.
- Metaplasia del tejido conectivo.

Carcinoma mamario canino

- Reactividad de las células luminales y del estrato basal a sus diferentes tipos de queratina.
- Acumulación de condroidin sulfato: células tumorales de carcinoma complejo e hiperplasia y tumores mixtos.
- El tumor puede reincidir después del tratamiento.
- Reactividad de las células luminales y del estrato basal a sus diferentes tipos de queratina.
- Acumulación de condroidin sulfato: células tumorales de carcinoma complejo e hiperplasia y tumores mixtos.

5. Diagnóstico

Dificultan la diferenciación de benigno o maligno:

- Rápido crecimiento.
- Tamaño tumoral.
- Ulceración.

- Fijación a la piel u otros tejidos.
- Anaplasia
- Formación tubular
- Actividad mitótica
- Pleomorfismo nuclear
- Actividad mitótica
- Pleomorfismo
- Infiltración de piel u otros tejidos
- Invasión celular a vasos sanguíneos.

6. Clasificación

En citología

a. Carcinomas

- No infiltrante o in situ
- Complejo: lobulado, componentes epitelial y mioepitelial, arreglo tubulo papilar, en ocasiones metaplasia escamosa o mucina intersticial.
- Simple: tubulopapilar, sólido, cribiforme y anaplásico. Se caracteriza por un solo tipo celular.

b. Carcinomas de tipos especiales

- de células fusiformes
- con diferenciación escamosa
- Mucinoso
- Rico en lípidos

c. Sarcomas

- Fibrosarcomas
- Osteosarcomas
- Carcinosarcomas

LITERATURA CONSULTADA

9. Baker R. Color atlas of cytology of the dog and cat. Ed. Mosby. St. Louis Missouri, 2000.
10. Bibbo M. Comprehensive cytopathology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997.
11. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology of the dog and cat. California: American Veterinary Publications, Inc., 1989.
12. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology and hematology of the horse. 2nd ed. St Louis: Mosby, 2002.
13. Proceeding of the 32nd Postgraduate Institute for Pathologists in clinical Cytopathology. The Johns Hopkins University School of Medicine and The John Hopkins Hospital. Maryneland, 1991

14. Smith-Maxie LL, Parent J, Rand J, Wilcock BP, Norris AM. Cerebrospinal fluid analysis and clinical outcome of eight dogs with eosinophilic meningoencephalomyelitis. J Vet Inter Med; 3:167- 174.
15. Vandevelde M, Spano J. Cerebrospinal fluid cytology in canine neurologic disease. Am J Vet Res 19977; 38: 1827- 1832.
16. Santiago H, De la Torre FE. Patología del ganglio linfático. Curso- taller. XXXIV Reunión Anual en Provincia, Chihuahua, Chih. Asociación Mexicana de Patólogos, AC. Mayo, 1991.
17. Jacobs RM, Messick JB, Valli VE. Tumors of hemolymphatic System. In: Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 4th ed. Iowa State Press: USA, 2002.
18. Jain NC. Essentials of veterinary hematology. Lea & Febiger: Philadelphia, 1993.

CITOLOGÍA DE LÍQUIDOS CORPORALES: PERITONEAL Y PLEURAL

Meza León Asela Berenice*, Rangel Luna Lucía*

Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN
La acumulación inapropiada de líquido fuera de los conductos vasculares o linfáticos, así como de estructuras viscerales se conoce como efusión, lo cual se pueden presentar en la cavidad abdominal y/o torácica. Dichas efusiones no representan una enfermedad por si misma, pero son indicativas de un proceso patológico en la producción o en el sistema de drenaje de líquido, o bien, por un acúmulo proveniente de una fuente ectópica.
La mayoría de las efusiones generalmente no son detectadas por el propietario del animal hasta que éstas se vuelven severas y se puede observar signología clínica, siendo frecuentemente letargia y poca o nula resistencia al ejercicio. Cuando la efusión es severa, dependiendo en donde se localiza ésta, suele observarse disnea, extensión de la cabeza y cuello, respiración abdominal, postración en decúbito esternal y miembros anteriores separados de tórax.
El estudio citológico de los líquidos pleural y peritoneal es un método de diagnóstico poco invasivo, de interpretación rápida, bajo costo y las complicaciones posteriores a la toma de la muestra son mínimas. Es importante recalcar que en muchas ocasiones, el diagnóstico citológico de los líquidos pleural y peritoneal puede complementarse con análisis físico químico, siempre y cuando la cantidad de los mismos lo permita. Aunado a lo anterior, se recomienda tener una historia clínica detallada, así como toma y procesamiento de la muestra sean adecuados y la observación de la misma por un citopatólogo con experiencia, con la finalidad de emitir un diagnóstico integral y tratamiento adecuado.

Palabras clave: citología, líquidos, pleural, peritoneal, diagnóstico.

INTRODUCCIÓN

La acumulación inapropiada de líquido fuera de los conductos vasculares o linfáticos y de estructuras viscerales se conoce como efusión. Las efusiones, ya sea que se presenten en la cavidad abdominal o torácica, no representan una enfermedad por si misma, pero son indicativas de un proceso patológico en la producción o en el sistema de drenaje de líquido, o por un acumulo proveniente de una fuente ectópica.
El análisis de las efusiones ha sido aplicado desde 1867 y tiene varias ventajas, entre las que puede destacarse que es rápido, fácil, barato y rinde frutos en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento, ya que va encaminado a determinar si existe hemorragia, inflamación (con o sin infección), o una exfoliación de células neoplásicas, así como otros procesos que producen acumulación de líquido en abdomen y tórax.

TÉCNICAS DE COLECCIÓN

- Toracocentesis: El animal se coloca en decúbito esternal y se toman las medidas adecuadas de asepsia en el sitio de punción, no suele ser necesaria la tranquilización y/o la anestesia local. Se utiliza un catéter con jeringa de 10 ml y aguja calibre 18-20Ga. En especies pequeñas se punciona ventralmente entre el 7° u 8° espacio intercostal, se acopla la jeringa al catéter y se aspira la cantidad de liquido necesaria (5 a 10 ml), posteriormente se retira el catéter junto con la jeringa.
  En caballos, del lado derecho se punciona entre el 6° y 7° espacio intercostal 10 cm dorsal al nivel de la articulación costocondral y del lado izquierdo usualmente se punciona del 6° al 9° espacio intercostal 4 a 6 cm dorsal a nivel de la articulación costocondral.
- Abdominocentesis: Se realiza con el animal en pie o en decúbito lateral y el sitio de punción más frecuente es línea media del abdomen 1-2 cm caudal a la cicatriz umbilical utilizando un catéter con aguja calibre 20Ga. Si existe una incisión quirúrgica previa la aguja se inserta al menos a 1.5 cm de esta para evitar las vísceras abdominales. Se ha comprobado que la técnica con aguja abierta es más sensible que la aspiración con jeringa.

TÉCNICAS DE CONSERVACIÓN Y ENVÍO

Una vez recolectado el líquido deberá enviarse inmediatamente al laboratorio, en tubo con anticoagulante etil diamino tetra acético (EDTA) para realizar el conteo de células nucleadas, determinación de proteínas y examen citológico; en el caso que se requiera el estudio bioquímico, el líquido deberá remitirse en un tubo sin anticoagulante.
Si el líquido tarda en ser evaluado las células aparecerán picnóticas y la morfología celular será difícil de evaluar, por lo que deben realizarse varios extendidos; en el caso de líquidos muy claros se hace un frotis del sedimento después de centrifugar por 5 minutos a 165-360G, en caso de no contar con centrífuga se realiza un extendido lineal, y en líquidos de aspecto turbio un frotis terminal (igual a la técnica sanguínea). Deberá consultarse con el laboratorio si requieren fijación húmeda de los extendidos. Otro método de conservación es añadir alcohol etílico al 96% en partes iguales para realizar el estudio citológico.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Examen físico-químico: Se deben de tomar en cuenta los siguientes puntos:

- Aspecto y color: Es de utilidad ya que puede orientar el proceso patológico; de esta forma, un líquido claro y transparente sugiere poca celularidad; uno opaco-cremoso sugiere la presencia de leucocitos; rojizo, la presencia de eritrocitos; verdoso, la presencia de bilis y blanco lechoso, presencia de quilo.
- Cuenta celular: Puede realizarse por medio de métodos manuales o automatizados, sin embargo estos últimos tienen la desventaja de que contabilizan restos celulares. En el caso de efusiones hemorrágicas se recomienda la determinación del hematocrito.

- Determinación de proteínas totales: Puede ser determinado bioquímicamente o por refractometría. Junto con la cuenta de células nucleadas, la determinación de proteínas se utiliza para clasificar las efusiones.
- Densidad: Refleja la cantidad de solutos disueltos en el líquido como proteínas, glucosa, urea, bilirrubina y electrolitos.
- Pruebas bioquímicas: Existen algunas patologías donde la determinación de algunos analitos sirve para corroborar el diagnóstico. En el caso de sospechar de peritonitis biliar debe medirse la bilirrubina en suero y en el líquido, en el que los valores serán mayores. En el caso de uroperitoneo los valores de creatinina del líquido serán mayores que en suero. En una efusión quilosa, se determinan triglicéridos y colesterol para confirmar el diagnóstico. Valores de amilasa en líquido mayores que en suero, confirman la presencia de pancreatitis.

EXAMEN CITOLÓGICO

La preparación de la muestra para su estudio citológico depende de la cantidad y características del líquido. **Si se obtienen solo unas gotas la prioridad es la citología.** En el laboratorio, los extendidos de líquidos claros se realizan utilizando citocentrífuga (1500 rpm/5 min.), la cual brinda la ventaja de concentrar el material en un área determinada de la laminilla y la fijación de estos depende de la tinción a utilizar. Para tinciones como Diff-Quick se fijan al aire, y en alcohol al 96% durante por lo menos 10 minutos si la tinción a utilizar es Papanicolaou. Los frotis de líquidos densos son directos.

CLASIFICACIÓN DE LAS EFUSIONES

A continuación se presentan las características a tomar en cuenta para realizar la clasificación de las efusiones, de acuerdo a sus características físico-químicas y citológicas (Cuadro1).

Cuadro 1. Clasificación de efusiones pleural y/o peritoneal.

	TRASUDADO	TRASUDADO MODIFICADO	EXUDADO
FISIOLOGÍA	↑ Presión hidrostática y permeabilidad, ↓ presión oncótica	↑ Presión hidrostática y permeabilidad de capilares o vasos linfáticos	↑ Permeabilidad vascular por inflamación
COLOR	Claras e incoloras	Ámbar a blanco y rojo	Ámbar a blanco y rojo
CONTEO CELULAR	< 1.5 x 10^9/L	< 5 x 10^9/L	> 5 x 10^9/L
	Caballo 1.5-5x10^9/L	Caballo < 5 - 10 x 10^9/L	Caballo > 10 x 10^9/L
PROTEÌNAS	< 25 g/L	> 25 g/L	> 25 o 30 g/L
	Caballo < 25 g/L	Caballo > 25 –50 g/L	Caballo > 30 g/L
CÈLULAS	Mononucleares (mesoteliales, linfocitos y macrófagos), algunos neutrófilos	Mesotelial / macrófago, neutrófilos. Células neoplásicas	Neutrófilos y macrófagos. Séptico o aséptico
	Caballo hasta 60% neutrófilos	Caballo hasta 60% neutrófilos	
CAUSAS	Glomerulopatía renal, insuficiencia hepática, enteropatía perdedora de proteínas	ICCD, uroabdomen, neoplasias, trastornos hepáticos. Proceso intestinal (caballos), PIF	Inflamación, PIF, uroperitoneo, pancreatitis y neoplasias

Las proteínas son el criterio más importante para separar trasudados de trasudados modificados, y la celularidad lo es para distinguir trasudados modificados de exudados. Citológicamente no pueden diferenciarse los dos tipos de trasudados.

Las principales células que se observan en los líquidos normales son células del epitelio de revestimiento (mesoteliales), macrófagos, neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, células plasmáticas y eritrocitos.

La mayoría de las efusiones torácica y abdominal generalmente no son detectadas por el propietario del animal hasta que éstas se vuelven severas.
En el caso de efusión pleural leve los signos clínicos que pueden presentar los animales son letargia y falta o poca resistencia al ejercicio. Cuando la efusión es severa suelen presentar disnea, extensión de la cabeza y cuello, respiración abdominal, postración en decúbito esternal y miembros anteriores separados de tórax. En la efusión abdominal pueden manifestar letargia, debilidad y distensión abdominal. Esta última suele ser confundida por parte de los propietarios, en muchos de los casos, con ganancia de peso, ingesta excesiva o presencia de gases.

A continuación se mencionarán las etiologías que con mayor frecuencia se pueden encontrar en líquido torácico y abdominal, de acuerdo a su clasificación (trasudado, exudado aséptico, exudado séptico), así como neoplasias y otras

entidades. Al momento de tomar la muestra del líquido, ésta se puede contaminar con diversos agentes contaminantes, los cuales pudiesen dificultar o enmascarar el diagnóstico, por lo que también serán mencionados.

Trasudado: Entre las principales causas se encuentran:

- Falla cardiaca congestiva (en el perro desarrollan con mayor frecuencia ascitis, en cambio, el gato desarrolla hidrotórax).
- Hipoproteinemia (albúmina).
- Insuficiencia hepática severa.
- Enteropatía perdedora de proteínas.
- Síndrome abdominal agudo (caballo).
- Enfermedad glomerular.

Citológicamente se observa escasa celularidad, principalmente células mesoteliales y macrófagos.
El diagnóstico definitivo de cualquiera de las patologías antes mencionadas se complementa con examen físico completo, estudios radiográficos y/o de ultrasonografía, así como análisis físico-químico del líquido.

Exudado aséptico: Al examen citológico se encuentran numerosas células inflamatorias como son neutrófilos, macrófagos, linfocitos, eosinófilos y células plasmáticas. Las etiologías que se asocian a este tipo de exudado son:

- Peritonitis infecciosa felina (PIF): El fondo es denso y finamente granular azul-violáceo, ya que contiene grandes cantidades de proteína. El infiltrado está compuesto por neutrófilos, macrófagos, linfocitos y ocasionalmente células plasmáticas. La mayoría de las células mesoteliales pueden exhibir nucléolos evidentes (reactividad) y presentar corona radial (membrana citoplasmática).
- Enfermedades inmunomediadas.
- Presencia de cuerpo extraño.
- Parasitosis: Se observan eosinófilos en mayor cantidad que el resto de las células inflamatorias antes mencionadas. Entre los agentes etiológicos se encuentran nemátodos pulmonares (Aelurostrongyllus sp) y microfilarias (Dirofilaria immitis).

Exudado séptico: Este tipo de exudado se asocia principalmente a agentes bacterianos. Citológicamente se encuentran células polimorfonucleares, las cuales se caracterizan por presentar cambios degenerativos nucleares (hipersegmentación o fragmentación del núcleo), macrófagos y flora bacteriana libre o fagocitada. En menor cantidad se pueden encontrar linfocitos y células plasmáticas, lo cual va a depender de la cronicidad del proceso infeccioso.
Las principales causas son:

- Agentes bacterianos (diseminación por vía sanguínea): Comúnmente se involucran Fusobacterium sp, Nocardia sp, Actinomyces sp, Pasteurella sp, Clostridium sp, Mycoplasma sp y escasos agentes fungales.
- Cirugías.
- Aspiraciones pleurales o peritoneales repetidas.
- Traumatismo (cavidad abdominal) con ruptura de órganos internos.

- Neumonía.
- Gastroenteritis.
- Abscesos internos.

En el caso de Nocardia sp, la bacteria presenta forma bacilar o filamentosa. Cuando está involucrado Actynomices sp se pueden llegar a observar "gránulos azurófilos" entremezclados con las células inflamatorias.

Efusiones de quilo: El quilo está conformado por linfa rica en quilomicrones, las cuales son lipoproteínas ricas en triglicéridos, que se absorben en el intestino.
Las efusiones de quilo se producen por:

- Obstrucción del flujo linfático
    - Física: Se asocia generalmente a neoplasias, alteración inflamatoria en el mediastino y granulomas.
    - Funcional: Se puede presentar en patologías cardiovasculares (cardiomiopatía, parasitosis, efusiones pericárdicas) y en casos de congestión hepática, siendo ésta menos frecuente en medicina veterinaria.
- Ruptura del conducto torácico: Posquirúrgica y/o traumatismo.
- Idiopática.

Estas efusiones son inodoras y su color puede variar de blanco lechoso, amarillo o rosa. Esto va a depender de la dieta y al número de eritrocitos que contenga.
Citológicamente se aprecian numerosos linfocitos pequeños (maduros) y en menor cantidad se pueden observar neutrófilos y macrófagos. Se puede realizar tinción especial de Sudán III para confirmar que se trata de líquido quiloso, ya que pone de manifiesto a la grasa disuelta. Sin embargo, aunque no resulte positiva la muestra a la tinción antes mencionada, no se puede descartar ésta posibilidad. Para diferenciar de una efusión quilosa y un pseudoquilo, es recomendable realizar medición de triglicéridos en el líquido y en suero. En el caso de efusión quilosa, la concentración de triglicéridos es mayor en la efusión que en el suero. Por el contrario la concentración de colesterol es mayor en el suero que en el líquido.

Hemorragia: Su etiología es multifactorial, entre las causas más frecuentes se encuentran:

- Traumatismo.
- Neoplasias.
- Defectos en la hemostasis.

Es importante destacar que al momento de la toma de muestra se puede contaminar la misma, por lo que puede enmascarar el diagnóstico, por lo que es importante poder diferenciarlas. Se puede encontrar eritrofagocitosis y ausencia o presencia de plaquetas en una hemorragia aguda, mientras que en una hemorragia crónica se observa solamente eritrofagocitosis. En una muestra contaminada con sangre se observan numerosas plaquetas, pero ausencia de eritrofagocitosis.

Uroperitoneo: Este puede producirse por ruptura renal, uréteres, vejiga o uretra. En el líquido se pueden aprecian neutrófilos no degenerados, macrófagos y

células mesoteliales reactivas. El diagnóstico se confirma por medio de la medición de urea y creatinina en sangre y en el líquido, siendo ésta última la más confiable.

Peritonitis biliar: La causa puede ser ruptura de conductos y/o vesícula biliar, ocasionando peritonitis química. Se observan neutrófilos, células mesoteliales reactivas y macrófagos, en cuyo citoplasma hay pigmento verde azulado o amarillo verdoso (pigmento biliar). Se recomienda hacer medición de bilirrubina.

Neoplasias: Puede haber efusiones secundarias a neoplasias por medio de 2 mecanismos:

1. Que la neoplasia se encuentre en la membrana serosa (siendo tumor primario o por implante).
2. Por proceso inflamatorio secundario a la neoplasia, trastorno circulatorio (compresión u obstrucción).

Es importante hacer notar que no todas las neoplasias descaman, por lo tanto, no siempre se observarán células neoplásicas en las efusiones torácicas y/o abdominales. Al encontrar células neoplásicas en frotis se debe de establecer si son epiteliales, mesenquimales o mesoteliales con el fin de definir su origen.
La neoplasia que con mayor frecuencia ocasiona efusiones es el mesotelioma, en el cual, las células mesoteliales neoplásicas pueden tener características similares a las normales, sin embargo, las características más representativas son una abundante celularidad, agrupamiento, aumento del tamaño nuclear, nucléolos prominentes, multinucleaciones y vacuolización discreta del citoplasma. Debido a que el mesotelioma tiene características citológicas similares a los adenocarcinomas, es importante tener en cuanta a éstos como diagnósticos diferenciales, ya que se tendría que descartar probable metástasis.
Otras neoplasias que pueden ser diagnosticadas mediante efusión torácica y/o abdominal son:

- Linfomas.
- Carcinoma: colon, estómago, páncreas, endometrio, pulmón y ovario.

Contaminantes: Es importante reconocer a los contaminantes que se pueden encontrar frecuentemente en especimenes citológicos de líquidos peritoneal y torácico, ya que se podrían identificar como posibles agentes causales de enfermedad y por ende, emitir un diagnóstico erróneo.
Generalmente se pueden observar eritrocitos y plaquetas, fibras vegetales (lo que podía indicar ruptura de estómago y/o intestinal), partículas de talco, fibras de músculo estriado y adipocitos. Estos últimos normalmente se obtienen al momento de realizar la toma de la muestra.
Es frecuente encontrar como hongo contaminante a Alternaria, el cual tiene aspecto de tambor, o bien, se observan ramificados cuando se encuentran en gemación. Lo anterior indica que el tren de tinción está sucio y por lo tanto, mal mantenimiento de la tinción.

CASO CLÍNICO
Perro, hembra, mestiza de 13 años de edad, la cual es remitida al Hospital de Pequeñas especies de la FMVZ-UNAM por presentar aumento de volumen abdominal, dolor a la palpación de dicha zona, depresión disnea y convulsiones. Se realiza estudio ultrasonográfico, en el cual se observa una masa en abdomen, adyacente al píloro, sin embargo, no es posible determinar su origen y órgano(s) involucrado(s). La paciente es remitida al Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM para realizar punción con aguja delgada (PAD) de cavidad abdominal, obteniéndose 5.0 ml de líquido de aspecto serosanguinolento, del cual se realizan extendidos y se realizan tinciones de Dic-Quick y Papanicolaou para su examen citológico.

Se observan numerosos grupos cohesivos de células redondas y cúbicas, dispuestas en pequeñas papilas y sábanas. Presentan moderada cantidad de citoplasma, el cual presenta vacuolas de diferentes tamaños. Los núcleos son redondos, centrales, eucromáticos con cromatina fina granular y exhiben de 1 a 2 nucléolos evidentes, así como ligera anisocariosis. También se aprecian escasos macrófagos y neutrófilos, éstos últimos exhiben en el citoplasma eritrocitos y pigmento café ocre (pigmento hemático).
Diagnóstico citológico: Mesotelioma.

Este tipo de neoplasia es de comportamiento biológico maligno y se caracteriza por producción excesiva de líquido y ser altamente infiltrante. Se ha reportado con mayor frecuencia en el bovino perro, gato, equino y en el humano. Se origina a partir de las células de revestimiento de las cavidades torácica y abdominal (pleura), pericardio y túnica vaginal y está asociado a asbestosis, principalmente en el humano. Se presenta con mayor frecuencia en perros con edad promedio de 7.8 años e incidencia mayor en perros de las razas Pastor alemán y San Bernardo.

CONCLUSIONES

La evaluación citológica de líquidos (torácico y abdominal) es un método diagnóstico comúnmente empleado, ya que es una técnica no invasiva, de bajo costo, rápida interpretación y las complicaciones posteriores a la toma de la muestra son mínimas. Para una adecuada interpretación es necesario considerar la toma de la muestra, buena fijación, utilización de tinciones no caducas, así como auxiliarse de tinciones especiales en el caso de requerirse y el conocimiento del patólogo para su interpretación. Así mismo, hay que tomar en cuenta que en algunas ocasiones, cuando la cantidad y conservación de las muestras sean suficientes y adecuados, el diagnóstico citológico de los líquidos torácico y abdominal se puede complementar con el análisis físico-químico de los mismos, con el fin de tener un diagnóstico integral, lo cual está encaminado para la administración un tratamiento y pronósticos adecuados.

LITERATURA CONSULTADA

1. Meyer DJ. Veterinary Laboratory Medicine. Interpretation and Diagnosis. 3ª Ed. Saunders. Philadelphia, 2004.
2. Duncan JR, Prasse KW. Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology. 4ª Ed. Iowa State Press, USA, 2003.
3. Baker R. Color atlas of cytology of the dog and cat. Mosby. St. Louis Missouri, 2000.
4. Willard MD. Small animal clinical and diagnosis by laboratory. 4ª Ed. Saunders. St. Louis Missouri, 2004.
5. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat, Abdominal and Pleural Fluid. Mosby. St. Louis, 1999.
6. Heather L, DeHeer et al. Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse, Pleural Fluid. 2ª Ed. Mosby. USA, 2002.
7. Heather L, DeHeer et al. Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse, Peritoneal Fluid. 2ª Ed. Mosby, USA, 2002.
8. Buen de AN, Romero RL. Citología Diagnóstica Veterinaria. 1ª Ed. Manual Moderno. México, 2001.
9. Belford C, Lumsden J. Manual de Patología Clínica en pequeños animales. Harcourt. España, 2000.
10. Goldschmidt MH Hendrick MJ: Tumors of serosal surfaces, in Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 4ª Ed. Iowa State Press. USA, 2002; 477-478.

EVALUACION DE DAÑO CELULAR, INFLAMACIÓN Y REPARACIÓN

Laura P. Romero R.
Departamento de Patologia, FMVZ-UNAM

La morfología celular es indicativa de la actividad biológica. Por un lado, refleja el comportamiento biológico del individuo y del tejido, por otro lado, refleja las alteraciones moleculares y genéticas de la célula misma. Esto da al estudio citológico un papel clave en el entendimiento de los procesos normales y anormales que afectan al huésped, ya que aunque existen incontables estímulos que afectan a los tejidos, las respuestas celulares son limitadas.

Las células pueden responder a un estímulo fisiológico o patológico desarrollando un proceso de adaptación, lo cual permite su viabilidad, sin embargo, algunas de estas adaptaciones implican cambios morfológicos y de función en estas células. Algunas de las respuestas de adaptación incluyen hiperplasia, metaplasia, displasia, así como el almacenamiento intracelular excesivo de sustancias endógenas o exógenas.

Hiperplasia se refiere al incremento en el número de células de un tejido, por lo tanto, solo puede presentarse en células con capacidad mitótica. Los tejidos sufren hiperplasia en respuesta al aumento de un estímulo normal. Por ejemplo, la glándula mamaria sufre hiperplasia en respuesta a la estimulación hormonal durante la gestación y la lactancia; la corteza adrenal experimenta hiperplasia en respuesta a niveles elevados de ACTH; por otro lado, la hiperplasia prostática está causada por un desequilibrio en las hormonas sexuales. La hiperplasia de la tiroides puede ser secundaria a la deficiencia de yodo, exceso de yodo, o a la incapacidad de sintetizar tiroglobulina o tiroxina.

Las características citológicas de las células epiteliales hiperplásicas son similares, sin importar el estímulo causal. Generalmente aparecen agrupadas, aunque también pueden encontrarse de forma aislada. La relación núcleo/citoplasma está aumentada en comparación con las células normales. Los núcleos son monomórficos y con un patrón de cromatina finamente granular o filamentoso.

En algunos casos, la hiperplasia debe considerarse una transformación preneoplásica, por ejemplo, la hiperplasia prostática cuando no se acompaña de inflamación.

Metaplasia es un proceso celular de adaptación, reversible, en el cual una célula madura diferenciada, es sustituida por otro tipo de célula madura ajena a ese tejido. Este proceso no ocurre como resultado de alteraciones en las células maduras existentes, sino que depende de la proliferación de células germinales o troncales, cuya progenie sufre diferenciación modificada.

La metaplasia, en células epiteliales, se presenta como respuesta a una irritación crónica, incluyendo inflamación. Por ejemplo, la irritación crónica de las células del epitelio columnar ciliado de los bronquios, provoca su sustitución por células epiteliales estratificadas escamosas. Es decir, células sensibles a un estímulo, son sustituidas por células menos sensibles a dicho estímulo. El epitelio prostático también puede experimentar metaplasia escamosa bajo la influencia estrogénica de un tumor testicular de células de Sertoli. Citológicamente, las células metaplásicas son grandes, de apariencia aplanada y flexible, con citoplasma

acidofílico y núcleos picnóticos, que imitan al epitelio escamoso en maduración, y no deben confundirse con células neoplásicas.

Displasia significa literalmente crecimiento anormal, sin embargo, en un sentido estricto, describe una respuesta proliferativa acompañada de pérdida de diferenciación regular y de atipia celular, la cual se caracteriza por pleomorfismo e hipercromacia. En este proceso, hay pérdida de la progresión regular de células germinales a células completamente diferenciadas, y se observan mitosis en posiciones anormales. Por definición, displasia es una lesión no-neoplásica, y por lo tanto, reversible cuando la causa es eliminada.

La displasia indica asincronía en el desarrollo celular, por lo que se observa variación en el tamaño y forma de las células, aumento de la proporción núcleo/citoplasma, células teñidas mas obscuras, y mayor cantidad de células inmaduras. Estos cambios pueden ser difíciles de diferenciar de una neoplasia, y de hecho, se ha comprobado que algunas de estas lesiones corresponden a carcinomas incipientes, por lo que generalmente son consideradas como lesiones preneoplásicas.

INFLAMACIÓN

Con frecuencia la principal distinción que se debe hacer al interpretar una muestra citológica, es la que existe entre inflamación y neoplasia, para poder decidir el tipo de intervención terapéutica. En general, las muestras que contienen únicamente células inflamatorias y algunas células tisulares no displásicas, indican una lesión inflamatoria; en cambio, en muestras que contienen únicamente células tisulares, es necesario descartar un proceso neoplásico. Una mezcla de células inflamatorias y tisulares puede sugerir neoplasia, inflamación secundaria o inflamación con displasia celular secundaria.

Cuando hay confusión respecto a si un proceso es inflamatorio o neoplásico, se puede recomendar tratar la lesión con la terapia antibiótica y antiinflamatoria adecuada, si remite, se confirma que la lesión es inflamatoria. Si no remite, se recomienda repetir la muestra citológica para que una vez resuelto el componente inflamatorio, se pueda reconocer la lesión neoplásica. O bien, se puede recomendar la extirpación quirúrgica para su examen histopatológico.

Para determinar el tipo de lesión inflamatoria se deben evaluar la cantidad y proporción de las diferentes células inflamatorias, las cuales incluyen neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, células gigantes y linfocitos.

El tipo de células inflamatorias indicará si se trata de un proceso de curso agudo o crónico. Se considera un proceso **agudo** cuando más del 70% de las células inflamatorias son neutrófilos, mientras que en los **crónicos** predominan las células mononucleares, principalmente linfocitos, células plasmáticas y macrófagos. Asimismo, la respuesta inflamatoria puede clasificarse como **purulenta o supurativa** si mas del 85% de las células son neutrófilos; **granulomatosa** si hay abundantes macrófagos, células epitelioides y células gigantes; **eosinofílica** cuando se observan muchos eosinófilos y **linfocitaria** cuando predominan los linfocitos y las células plasmáticas. El tipo de infiltrado también depende del agente etiológico involucrado, por ejemplo, en los procesos bacterianos encontraremos predominio de neutrófilos, además de observarse la presencia de flora bacteriana. Habrá formación de granulomas en el caso de micobacteriosis, brucelosis o micosis, y aparecerán abundantes detritus celulares,

células gigantes y células epitelioides, bacilos Ziehl-Nielsen positivos o estructuras micóticas específicas. En los procesos inflamatorios virales predominan los linfocitos, aunque también puede haber células plasmáticas, y en ocasiones pueden encontrarse los cuerpos de inclusión intracelulares característicos. En la inflamación causada por parásitos se observan numerosos eosinófilos y a veces el agente causal, ya sean protozoarios, o bien, organismos pluricelulares como helmintos, ácaros, insectos, o en su defecto, fragmentos del cuerpo del parásito como ganchos, cubierta de quitina, etc.

REPARACIÓN

El proceso de reparación en cualquier tejido, depende de la naturaleza del daño y de la composición celular de ese tejido. En piel, que es en donde más observamos este proceso, se caracteriza por la formación de tejido de granulación, el cual está formado por fibroblastos proliferativos, pequeños vasos sanguíneos de nueva formación y células inflamatorias, como macrófagos y neutrófilos.

Debido a que los fibroblastos son células poco diferenciadas, con características anaplásicas, con frecuencia es difícil diferenciarlos citológicamente de células neoplásicas de tejido conectivo, por lo que es recomendable realizar una biopsia de la lesión para diferenciarlo definitivamente a través del estudio histopatólogico.

LITERATURA CONSULTADA

1. Baker R. Color atlas of cytology of the dog and cat. Ed. Mosby. St. Louis Missouri, 2000.
2. Bibbo M. Comprehensive cytopathology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997.
3. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology and hematology of the horse. 2nd ed. St Louis: Mosby, 2002.
4. De Buen N. Citología Diagnóstica Veterinaria. 1ª ed. México DF: El Manual Moderno, 2001.
5. Slauson DO and Cooper BJ. Mechanisms of Disease. 3rd ed. St Louis: Mosby, 2002.

EVALUACIÓN CITOLÓGICA DE LINFOMAS Y LEUCEMIAS

MVZ EPCV Luis Enrique García Ortuño

LINFOMA

El linfoma se define como una proliferación de células linfoides malignas que se originan en nódulos linfáticos u órganos viscerales sólidos, como el hígado o el bazo. Es el tumor hematopoyético más común en pequeñas especies y por lo general afecta a perros entre 5 y 11 años. Las razas que tienen predisposición a esta neoplasia se encuentran: Boxer, Basset hound, San Bernardo, Terrier Escoses, Aireadle Terrier, Cobrador Dorado y Bull-dog Inglés. En perros hay una incidencia de 3 a 6 casos de cada 100,000. En el gato las neoplasias hematopoyéticos abarcan un 33%, siendo el linfoma el 90% de los tumores. Se estima una frecuencia de 200 casos por cada 100,000 gatos.

La etiología es desconocida en su mayor parte, sin embargo, se sugieren algunos factores ambientales, particularmente el herbicida 2-4 diclorofenoxiacético y perros que se encuentran en constante exposición a campos electromagnéticos corren mayor riesgo de presentar linfoma. El origen retroviral ha sido demostrado en varias especies dentro de las cuales se incluyen a los gatos, pollos, vacas y humanos, sin embargo, en el perro no es concluyente la evidencia de esta etiología.

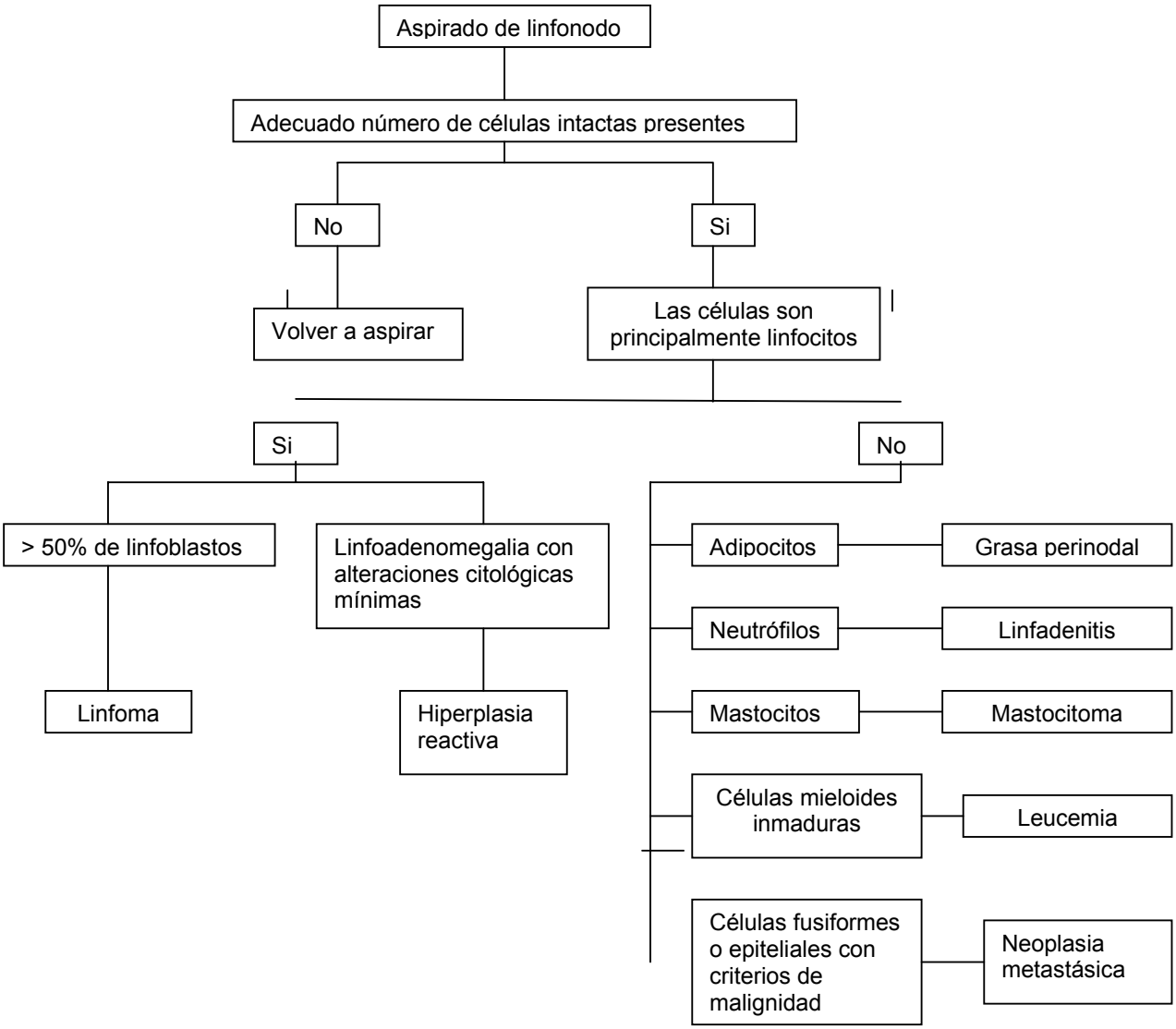
La presentación del linfoma de acuerdo a su localización anatómica puede clasificarse en 4 formas: multicéntrico, intestinal, mediastínico y extranodal. **El linfoma multicéntrico**, se caracteriza por una hipertrofia no dolorosa y generalizada de lo nódulos linfáticos. En el perro el 80 al 85% de los casos corresponden al linfoma del tipo multicéntrico y se presenta en animales de edad media a avanzada. No se observa predilección sexual ni racial. En los perros que manifiestan signos clínicos presentan hiporexia o anorexia, depresión y pérdida progresiva de peso, en algunos casos la hipercalcemia paraneoplásica puede inducir poliuria polidipsia. Cuando se encuentra afectada la médula ósea se pueden observar citopenias que pueden reflejarse clínicamente como sepsis por neutropenia, hemorragia por trombocitopenia y anemia. Si la linfoadenomegalia es muy marcada puede causar obstrucción mecánica de los vasos linfáticos produciendo edema en miembros y cara. Un 10 al 20% de los perros presentan hipercalcemia como síndrome paraneoplásico. **El linfoma intestinal** se presenta en el 7% de los perros y se caracteriza por una infiltración difusa o local del tracto gastorintestinal, con aumento del tamaño de los linfonodos mesentéricos. Los signos más frecuentes son vómito, anorexia, diarrea y pérdida de peso, en ocasiones pueden aparecer signos de obstrucción intestinal y peritonitis. El hígado, bazo y nódulos mesentéricos pueden o no estar involucrados. **El linfoma mediastínico** se caracteriza por la presencia de una masa mediastínica anterior causando signos respiratorios como disnea, tos, intolerancia al ejercicio, y derrame pleural, algunos animales llegan a presentar disfagia y rejurgitación. La hipercalcemia se presenta en un 40 a 50% de los casos en el perro y puede

provocar poliuria y polidipsia , anorexia y debilidad. **El linfoma extranodal** se presenta con mayor frecuencia como cutáneo y ocular en perros y ocular, neural y renal en gatos. Los signos clínicos son muy variables y dependen de la localización, en general son consecuencia de la compresión o el desplazamiento de la células normales del órgano por las células neoplásicas.

EVALUACIÓN CITOLÓGICA

La confirmación microscópica de linfoma es la base del diagnóstico, por lo tanto la evaluación citológica es uno de los métodos más adecuados para diferenciar los procesos neoplásicos e inflamatorios. Los sitios de punción con aguja fina dependen de la localización anatómica del tumor y de los órganos afectados, sin embargo, debido a que la mayoría de los animales presentan cierto grado de linfoadenomegalia, el diagnóstico se puede realizar en los diferentes nódulos linfáticos superficiales a los cuales se tiene acceso. El conocimiento de las características citológicas normales del linfonodo es de valiosa ayuda para la adecuada interpretación y el reconocimiento de los hallazgos anormales. Los linfonodos normales consisten principalmente de linfocitos maduros y pequeños (75-95%), el resto de las células son una mezcla de varios tipos de células principalmente linfoblastos y prolinfocitos y en menor número, células plasmáticas, neutrófilos y macrófagos. El linfoma se caracteriza por el infiltrado de una población homogénea de linfocitos, los cuales remplazan las células normales de los linfonodos y otros órganos. Debido a que la arquitectura del tejido no se puede identificar por medio de la citología, el linfoma se reconoce por el incrementos anormal de linfoblastos o prolinfocitos. En linfonodos no neoplásicos, los linfoblastos raramente exceden el 20% de la población celular total, mientras que en los casos de linfoma comúnmente los linfoblastos son más del 50%. Morfológicamente, los linfoblastos son células grandes, redondas y con escaso citoplasma basofílico, tienen patrón de cromatina fina granular y múltiples nucléolos. En muchas ocasiones no es posible diferenciar un linfoblasto no neoplásico de uno neoplásico, por lo tanto, es el porcentaje de linfoblastos, más que el criterio de malignidad el que se toma en cuenta para el diagnóstico. Los linfoblastos pueden ser clasificados también de acuerdo a su morfología como centroblastos, inmunoblastos o linfoblastos. El linfoma linfocítico de células pequeñas o bien diferenciadas es muy raro y representa cierta dificultad en el diagnóstico citológico, sin embargo, un incremento de los linfocitos pequeños en ausencia de otro tipo de células nos puede sugerir linfoma. Cuando se sospecha de linfoma pero no puede ser reconocido citológicamente, debe realizarse biopsia del linfonodo afectado, para su estudio histopatológico. El nódulo linfático es clasificado con hiperplasia reactiva cuando hay evidencia clínica de linfoadenomegalia y con ligera o ninguna modificación en la apariencia citológica. Los linfonodos submandibulares y mesentéricos frecuentemente están reactivos debido a la exposición crónica de antígenos provenientes de la boca e intestinos respectivamente, por esta razón, el aspirado de estos linfonodos debe evaluarse con precaución, debido a que la hiperplasia puede confundir el diagnóstico citológico.

Algoritmo de diagnóstico citológico de aspirado con aguja fina en linfonodos.



LEUCEMIAS

La leucemia se definen como una proliferación de células neoplásicas en médula ósea, dichas células pueden estar o no en sangre periférica. Las leucemias en animales son relativamente poco comunes y pueden originarse de cualquiera de las diferentes líneas hematopoyéticas, sin embargo, en perros aproximadamente el 30% de las leucemias son del tipo linfoide. Las leucemias linfoides pueden clasificarse en 2: leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia linfocítica crónica (LLC), esto con base a la historia clínica, el examen clínico, hallazgos clínico patológicos y el tipo celular predominante. En general las leucemias se reconocen clínicamente hasta que las células neoplásicas han invadido la mayor parte del tejido hematopoyético en médula ósea y como consecuencia se presentan signos relacionados con citopenias (anemia, trombocitopenia y neutropenia).

Leucemia linfoblástica aguda (LLA)

Se caracteriza por la proliferación de células linfooides inmaduras (linfoblastos) en médula ósea o sangre periférica y representa el 5 a 10% de todas las neoplasias linfoides. Se puede confundir con linfoma multicéntrico en aquellos que tienen estadio V (avanzado) y con infiltración en médula ósea. El componente principal de la LLA es el curso clínico rápido, progresivo y escasamente responsivo a la terapia. No hay predilección de raza o sexo, los perros afectados son de edad media a avanzada. La presentación de los signos clínicos es inespecífica y por lo común suele observarse letargia, pérdida de peso, pirexia intermitente, hepatoesplenomegalia, dolor abdominal y en algunas ocasiones anormalidades neurológicas. El 50% de los perros presenta linfoadenomegalia, pero esta es ligera a diferencia de los que presentan linfoma. La mayoría de los animales afectados tienen anemia y son comunes trombocitopenia y neutropenia en grados variables. Puede encontrarse también linfocitosis en sangre periférica que generalmente es menor a 50 $X10^9$

Leucemia linfocítica crónica

Se caracteriza por la proliferación de linfocitos maduros y se presenta principalmente en perros y gatos entre 8 y 10 años de edad. Es una enfermedad lenta y progresiva que puede durar meses o años. Los perros afectados usualmente no presentan signos clínicos y la enfermedad muchas veces se descubre de manera incidental cuando se realiza un hemograma por cualquier otra razón. Los perros que si presentan signos clínicos, estos suelen ser inespecíficos y pueden incluir letargia, hepatomegalia, esplenomegalia, poliuria y polidipsia, hemorragia (por trombocitopenia) y claudicación intermitente. Ligera linfoadenomegalia puede observarse en el 80% de los perros. Anemia ligera no regenerativa y trombocitopenias pueden presentarse, aunque las citopenias son más características de LLA que LLC. El conteo de leucocitos en sangre comúnmente excede el 50 $X10^9$ y predominan los linfocitos maduros

EVALUACIÓN CITOLÓGICA

El diagnóstico de cualquier tipo de leucemia se realiza de manera precisa con la evaluación citológica de un aspirado de médula ósea, hemograma y los hallazgos en la historia y el examen clínico. El análisis de médula ósea debe incluir celularidad, conteo de megacariocítos, relación mieloide:eritroide, diferencial de las líneas hematopoyéticas y descripción morfológica de las células. Para definir el tipo de leucemia, en medicina humana y veterinaria se ha utilizado la clasificación de la FAB (France, America y Grand Britain).

Las características morfológicas para la clasificación de las LLA, de acuerdo a la FAB se basan en la relación núcleo citoplasma, tamaño y forma nuclear, número y tamaño de nucléolos, basofilia y vacuolización citoplasmática. Los tres tipos de LLA corresponden a linfoblastos pequeños (L1), grandes y heterogéneos (L2) y grandes, homogéneos y con vacuolas citoplasmáticas (L3). En animales la que se presenta con mayor frecuencia es la L2. De manera general, las células neoplásicas son inmaduras, de medianas a grandes y heterogéneas. El nucléolo es uno o varios y se localizan centralmente. Tienen moderada cantidad de citoplasma y es basofílico. Ocasionalmente pueden observarse megacariocitos aislados y focos de células de la línea eritrocítica (hematopoyesis)

En la evaluación citológica del aspirado de médula ósea en LLC se observan principalmente linfocitos maduros, pequeños, con núcleo redondo y patrón de cromatina grueso, los nucléolos pueden estar presentes, sin embargo, estos no son aparentes. El citoplasma es muy escaso y basofílico. En el momento del diagnóstico por lo menos el 30% de las células de médula ósea tienen características morfológicas similares y de forma rara las células en LLC son grandes y con abundante citoplasma.

Literatura consultada

1. Jacobs RM, Messick JB, Valli VE. Tumors of the hemolymphatic System in: Meuten DJ, editor. Tumors in domestic animals. 5a ed, Iowa:Iowa State Press 2002.
2. Valli VE, Jacobs RM, Parodi AL, Vernau W, Moore PF. Histological classification of hematopoietic tumors of domestic animals. World Health Organization International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals. Vol VIII. Washington:Armed Forces Institute of Pathology, 2002.
3. Jain NC. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia:Lea & Febiger, 1993.
4. Cowell RL, Dorsey KE, Meinkoth JH. Lymph node cytology, in: Cowel RL, editor. The Veterinary Clinics of North America. Small animal practice. Cytology Part II Philadelphia:W.B. Sauders Company, 2002:47-67.
5. Grindem CB, Neel JA, Tarja AJ. Cytology of bone marrow, in: Cowel RL, editor. The Veterinary Clinics of North America. Small animal practice. Cytology Part I Philadelphia:W.B. Sauders Company, 2002:1313-1374.
6. Harvey JW. Atlas of veterinary hematology. Blood and bone marrow of domestic animals. W:B Saunders Company. USA. 2001.

7. Taylor AJ, Baker R. The Lymphatic system-Lymph nodes, spleen and thymus in: Baker R, Lumsden JH, editors. Color atlas of cytology of the dog and the cat. St.Louis, Missouri:Mosby. 2000:71-82.
8. Vail MD, Tumores hematopoyéticos en: Ettinger SJ, Feldman EC, editores. Tratado de medicina interna veterinaria. Bogotá: Inter-Médica, 2002:564-582.
9. Vonderhaar MA, Morrison BW. Lymphosarcoma, in: Morrison BW editor. Cancer in dogs and cats. Medical and surgical management in dogs and cats. Baltimore:Williams & Wilkins, 1998:667-695.
10. Hamilton TA. The leukemias, in: Morrison BW editor. Cancer in dogs and cats. Medical and surgical management in dogs and cats. Baltimore:Williams & Wilkins, 1998:721-729.
11. Wakely PE. Aspiration and touch preparation of lymph nodes. In: Atkinson BF editor. Atlas of diagnostic cytopathology. 2nd Ed. Philadelphia:Saunders, 2004:411-458.
12. Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH. Citología y hematología diagnóstica en el perro y el gato. Barcelona:Multimédica. 1999
13. Das DK. Lymph nodes. In Bibbo M, editor. Comprehensive cytopathology. Chicago:W.B. Saunders Company. 1991:671-702.

TOMA, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS CITOLÓGICAS.

Eugenia Candanosa A.

Departamento de Patología. FMVZ- UNAM
ieca@servidor.unam.mx

Una parte fundamental para tener éxito en el diagnóstico citológico es un buen manejo de la muestra. El objetivo del presente trabajo es realizar una breve descripción de los principales métodos de toma, conservación, envío de muestras, descripción citológica y emisión de resultados de las muestras citológicas en la práctica veterinaria.

Lineamientos básicos para el diagnóstico citológico.

- Historia clínica detallada.
- Contar con el equipo adecuado para la toma de muestra, como: jeringa, aguja, portajeringas, portaobjetos, anestesia, entre otros.
- Limpieza de la zona lesionada, ya sea empleando algún método de desinfección o retirando áreas de inflamación o necrosis.
- Obtener una muestra representativa.
- Hacer una fijación correcta del espécimen: húmeda o seca.
- Emplear una tinción que nos permita observar todos los componentes de la célula.
- Preparar el espécimen para el estudio microscopio y su almacenamiento permanente.
- La citología es un método útil y fácil de realizar.
- Diferenciación de alteración inflamatoria y células malignas o benignas en lesiones únicas y generalizadas.
- En casos en donde la evaluación citopatológica no es suficiente, realizar la biopsia quirúrgica.

1. Toma de muestra

Tracto vaginal

- Frotis vaginal. Este se realiza empleando un hisopo ligeramente humedecido en solución salina isotónica, para evitar que se dañen las células. Posteriormente, se distribuye rodando y presionando ligeramente el hisopo sobre el portaobjetos
- Raspado cervical. Con una cucharilla se raspan gentilmente las paredes cervicales y hacer el frotis.

- Aspiración endocervical. Este método se emplea cuando hay secreciones abundantes en la vagina. Se recomienda no emplear pipeta de vidrio para evitar que ésta se rompa dentro de la vagina.

Aparato respiratorio

- Frotis nasal. Este se realiza como se mencionó anteriormente.
- Lavado nasal y bronquial. Se introducen diferentes cantidades de solución salina isotónica empleando una sonda y bomba de vacío, perilla de hule o jeringa; posteriormente se succiona la solución salina ejerciendo una presión negativa.

Líquidos corporales

- Pleural y peritoneal. Se debe manipular a la mascota para dirigir el líquido hacia la zona que ofrezca menor riesgo para la punción, evitando puncionar algún otro órgano.
- Pericárdico. Se realiza con aguja 20 – 23 insertándola entre el 3ro y 5to espacio intercostal a nivel de la unión costocondral.
- Articular. Se emplea cuando existe fiebre de origen desconocido o excesivo líquido en articulaciones. Las articulaciones que con mayor frecuencia se puncionan son las carpales y las tarsales.

El material que se emplea para su obtención:

- Aguja calibre 21 corta o larga.
- Un contenedor limpio y de cierre hermético.
- Emplear heparina 3 U/ml.
- Sí el laboratorio esta cerrado, emplear formalina al 10% o alcohol etílico 95%, en una relación 3:1 de muestra:fijador.
- Mezclar cuidadosamente.

Líquido cefalorraquídeo (LCR)

En los perros y los gatos el LCR se colecta de la cisterna magna de la articulación atlanto-occipital. Las contraindicaciones para llevar a cabo éste procedimiento son: incremento de la presión intracraneal (edema cerebral, hidrocéfalo y hemorragia intracraneal) y trauma reciente. Es importante considerar anestesiar y asistir con respirador mecánico al animal. La cantidad ideal de LCR es de 3 ml, dependiendo de la cantidad de muestra se recomienda dividirla en 3 partes iguales para su estudio en:

- Citología
- Bacteriología
- Bioquímica.

El envío de la muestra tiene que ser inmediato, no mayor de media hora. Sí el laboratorio esta cerrado, emplear formalina al 10% o alcohol etílico 95%, en una relación 3:1 de muestra:fijador.

Punción con aguja delgada

La aspiración por punción con aguja delgada se puede emplear en lesiones inflamatorias y neoplásicas, localizadas en diferentes partes del cuerpo; se incluyen linfonodos y órganos internos. Se utiliza una jeringa de 10 ml con aguja 21 y preferentemente un porta jeringa.

- Se introduce la aguja en la lesión, realizando presión negativa gentilmente con la jeringa.
- Realizar ligeros movimientos, adelante-atrás, en la misma dirección donde se introdujo la aguja. Nunca modificar la dirección de la aguja, ya que se puede producir un daño innecesario en la zona.
- Antes de sacar la aguja del tejido, liberar paulatinamente la presión negativa de la jeringa.
- Sacar la aguja del tejido.
- Retirar la aguja de la jeringa.
- Hacer presión negativa con la jeringa.
- Colocar la aguja nuevamente en la jeringa.
- Expulsar el material en el portaobjetos y realizar el frotis.

Raspados

Este método se emplea, principalmente, en lesiones cutáneas superficiales. Se recomienda seguir los siguientes pasos:

- Cortar el pelo de la zona.
- Desinfectar la zona, preferentemente con alcohol.
- Hacer un raspado profundo y desechar éste material compuesto principalmente de escamas, sebo y costras.
- Realizar un segundo raspado enérgico y extenderlo sobre el portaobjetos.

Improntas

Estas se preparan a partir de tejidos colectados durante la cirugía, necropsia o lesiones externas ulceradas en el animal vivo. Se puede realizar con una hoja de bisturí o con el mismo portaobjetos.

En el caso específico de los linfonodos:

- Realizar un corte longitudinal del tejido fresco.
- Con unas pinzas tomar una mitad del nódulo y presionar su cara interna sobre un portaobjetos.
- Presionar el órgano uniformemente de manera que se imprima todo sobre la laminilla.

- Fijarlo inmediatamente.
- También se puede raspar la superficie de la lesión y hacer un frotis, para fijarlo inmediatamente.

2. Fijación de las muestras.

Esta se realiza inmediatamente después de realizado el frotis, independientemente de la técnica de toma de muestra que se haya empleado.

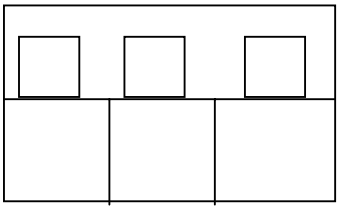
- Fijación húmeda. Sumergir los portaobjetos con la muestra en alcohol etílico al 70% o alcohol metílico.
- Fijación seca. Secar al aire los especimenes, agitando vigorosamente los portaobjetos, hasta ver el material seco. También, se puede usar secadora de pelo con aire frío.
- Citospray. Se aplica colocando los portaobjetos en una superficie plana dirigiendo el aerosol en un ángulo de 45 ° y a 20 cm de distancia.

3. Envío de las muestras.

Las muestras deben estar correctamente fijadas, incluir una historia clínica detallada con los datos del animal; así como los datos del clínico y dueño del animal.

De preferencia emplear empaques impermeables y resistentes al transporte. El tipo de empaque será de acuerdo a la forma de transportación de la muestra al laboratorio de diagnóstico, a continuación se mencionan algunos:

- Envoltura en hoja de papel seco y limpio. Una vez que la laminillas están secas se envuelven una a una de manera que no queden pegadas entre sí.
- Cartera con tarjetas de ficha bibliográfica. Engrapar las fichas como se indica en el diagrama.



- Contenedores de laminillas. Estos se venden con los distribuidores de material médico.
- Frasco de vidrio o plástico con alcohol al 70%.

Es cierto que la toma, preservación y envío de la muestra citológica en forma correcta, ayuda en gran medida al diagnóstico. Pero no debemos olvidar que, uno de los aspectos básicos, es la comunicación que debe haber entre los clínicos y el patólogo, en beneficio de la salud animal.

4. Tinciones de rutina

Las tinciones de rutina dependen de la preferencia del citopatólogo, debido a la habilidad que éste tenga para distinguir los diferentes componentes celulares de la muestra. Las tinciones más empleadas son: Papanicolaou, Diff quick y Giemsa. Dependiendo de la lesión, se pueden emplear otras tinciones especiales, para identificar células o productos celulares específicos; se mencionan las más empleadas: PAS, Gram, Groccott, azul de tolouidina y Tricrómica de Masson, entre otras.

El siguiente cuadro es para que se reflexione en algunos puntos:

¿ POR QUÉ SE EQUIVOCA EL CITOPATÓLOGO?

1. Material insuficiente y/o defectuoso por el manejo quirúrgico.
2. Información clínica nula o insuficiente.
3. Manejo inadecuado del laboratorio de Patología.
4. Exceso de confianza o falta de experiencia del Patólogo.
5. Carga de trabajo excesivo.

LITERATURA CONSULTADA

19. Bibbo M. Comprehensive cytopathology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1997.
20. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology of the dog and cat. California: American Veterinary Publications, Inc., 1989.
21. Cowell RL, Tyler RD. Diagnostic cytology and hematology of the horse. 2nd ed. St Louis: Mosby, 2002.
22. Proceeding of the 32nd Postgraduate Institute for Pathologists in clinical Cytopathology. The Johns Hopkins University School of Medicine and The John Hopkins Hospital. Maryneland, 1991.
23. Menard M, Papageorges M. Fine needle biopsies: How to increase diagnostic yield. Compendium. 1997; 19:738-740.
24. Rogers K, Barton C, Habron JM. Cytology during surgery. Compendium. 1996; 18:315-328.
25. Ramaiah S, Alleman AR. Cytologic evaluation of the liver: aspiration finding and limitations. Compendium. 2002; 24:798-809.

.