

Tabla de contenidos

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Evaluación in vitro de extractos vegetales de *Prosopis spp* para su uso como reemplazo de AGP en aves

Ardoino, S.M.; Mariani E.L.; Cachau, P.D. y Toso, F.....Pp. 2-9

Micobacterias no tuberculosas autóctonas de La Pampa (Argentina) y su capacidad de reacción cruzada en el diagnóstico de tuberculosis bovina

Oriani, D.S.; Gastaldo, M.F.; Tortone, C. A.; Staskevich, A.S.; Ramirez P.; Valle, H. y Fernandez, E.....Pp. 10-18

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

El complejo braquial - bíceps braquial como etiopatogenia de la displasia del codo canino

Audisio, S.A. y Ocampo, L.N.....Pp. 19-26

REPORTE DE CASOS CLÍNICOS, MÉDICOS O QUIRÚRGICOS

Presentación de un caso de artrogriposis en un felino

Sosa, R.A.; Vaquero, P.G.; Mancuso, A.S. y Sosa R.E.....Pp. 27-32

ÍMÁGENES DE MEDICINA VETERINARIA

Presentación del síndrome de malformación occipital caudal en un canino.

Vaquero, P.G.; Alvarez, M. y Audisio, S.A.....Pp. 33-35

Evaluación in vitro de extractos vegetales de *Prosopis spp* para su uso como reemplazo de AGP en aves

Ardoino, S.M.¹; Mariani E.L.²; Cachau, P.D.² y Toso, F.³

¹Cátedra Producción de Aves, CIDEF, Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, calle 5 esquina 116, General Pico, La Pampa. silviardoino@hotmail.com

²Cátedra Producción de Aves, FCV, UNLPam

³Cátedra Farmacología, CIDEF, FCV, UNLPam

RESUMEN

Las consecuencias negativas del uso de antibióticos promotores de crecimiento en las dietas de aves llevaron a su prohibición en numerosos países. Esto también ha ocurrido en Argentina recientemente. En la búsqueda de ingredientes que ofrezcan un resultado similar en la ración se ha comenzado a ensayar el uso de extractos y aceites esenciales derivados de especies vegetales. Se evaluaron *in vitro* extractos metanólicos de cuatro especies de *Prosopis* frente a *Salmonella gallinarum gallinarum*, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* con el objetivo de poner en evidencia su efecto antimicrobiano y la posibilidad de utilizarlos como reemplazo de antibióticos promotores de crecimiento en la ración. Los resultados demostraron que los extractos metanólicos de *Prosopis flexuosa flexuosa* y *Prosopis strombulífera* inhibieron completamente el crecimiento de *Salmonella gallinarum gallinarum* y *Clostridium perfringens*, pero no inhibieron el crecimiento de *Escherichia coli*. *Prosopis flexuosa depressa* y *Prosopis alpataco* no inhibieron el crecimiento de ninguna de las tres especies bacterianas ensayadas de esta manera.

Palabras clave: AGP, extractos vegetales, antibióticos promotores de crecimiento, resistencia antimicrobiana, *Prosopis*

In vitro evaluation of vegetable extracts of *Prosopis spp* for its use as replacement of AGP in poultry

ABSTRACT

The negative consequences of the use of antibiotic growth promoters in poultry diets led to their prohibition in many countries. This has also happened in Argentina recently. In the search for ingredients that offer a similar result in the ration, the use of extracts and essential oils derived from plant species has begun to be tested. Methanolic extracts of four species of *Prosopis* were evaluated in vitro against *Salmonella gallinarum gallinarum*, *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* to demonstrate their antimicrobial effect and the possibility of using them as a replacement for antibiotic growth promoters in the ration. The results showed that the methanolic extracts of *Prosopis flexuosa flexuosa* and *Prosopis strombulífera* completely inhibited the growth of *Salmonella gallinarum gallinarum* and *Clostridium perfringens* but

did not inhibit the growth of *Escherichia coli*. *Prosopis flexuosa depressa* and *Prosopis alpataco* did not inhibit the growth of any of the three bacterial species tested in this way.

Keywords: AGP, vegetable extracts, antibiotics growth promoters, antimicrobial resistance, *Prosopis*

INTRODUCCIÓN

La carne de pollo es uno de los principales aportes de proteína a la dieta a nivel mundial, su producción se caracteriza por requerir de espacios reducidos y costos bajos, en comparación con otras carnes. La producción global de carne de pollo en el año 2021 se estima fue de 135.400.000 toneladas, superior a la producción de carne bovina y de cerdo (FAO 2021). En la República Argentina durante 2021 se faenaron 741.395.000 cabezas de pollos, lo que permite estimar un consumo aparente de 45,56 kg por habitante por año (MAGyP, 2022).

Para lograr llegar a niveles de producción que permitan obtener estas cantidades de carne la industria avícola invirtió en los últimos 70 años grandes cantidades de recursos en investigación relacionada con genética, sanidad y alimentación. Así fue posible, en nuestro país, pasar de pollos que a los cinco meses pesaban 2,3 kg en la década de 1950 a los actuales 2,85 kg en 47 días en 2020 (CAPIA, 2022).

Una de las prácticas de manejo alimenticio que colaboró para llegar a estos resultados productivos fue la incorporación de antibióticos como promotores de crecimiento (AGP, antibiotics growth promoters) utilizados en las raciones de alimentos balanceados. Esta adición continuada de antibióticos en dosis subterapéuticas en la ración permitió la modificación de la flora intestinal mediante la reducción de las bacterias habitantes normales del intestino del ave, pero que ejerciendo un efecto negativo sin llegar a una acción patógena específica. Esta acción mejoraba la absorción y aprovechamiento de nutrientes y la disminución de la inflamación a nivel intestinal. Sin embargo, también provocó una lenta pero constante selección de bacterias resistentes al antibiótico utilizado, las cuales se fueron volcando al medio ambiente y trasladando esa resistencia a las próximas generaciones bacterianas. Es así que ya a mediados de la década de 1970 comienzan a desarrollarse estudios que alertan sobre este problema y evalúan sus futuras implicancias. En 1986 Suecia se convierte en el primer país en prohibir el uso de antibióticos como promotores de crecimiento fundamentando su decisión en el desarrollo de la resistencia antimicrobiana (RAM) y la inseguridad de los efectos de este proceso a futuro (Wierup, 1999; Cepero Briz, 2005).

Ante esta situación de ausencia de los AGP se puso el foco en dos cuestiones: la microbiota intestinal y los ingredientes que pudieran reemplazar a los AGP sin los efectos contraproducentes sobre la salud pública. Consecuentemente, se inició un importante área de estudio relacionada con la microbiota intestinal y su importancia en la digestión de los nutrientes y la inflamación intestinal. Cuando la microbiota se ve alterada se produce un proceso inflamatorio que trae aparejado la disminución de la permeabilidad intestinal, la proliferación de bacterias no deseables, la disminución del tamaño de las vellosidades y consecuentemente disminución de la absorción. A raíz de ello, se genera competencia entre los microorganismos indeseables tales como *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringens* y los mecanismos de absorción del ave por los nutrientes, incrementando el costo metabólico y de activación del sistema inmunitario (López et al., 2016).

Dentro de los ingredientes propuestos para el reemplazo de los AGP se ensayaron numerosos compuestos, sobre todo aquellos considerados “naturales”: probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y fitobióticos (Denli y Demirel, 2018). Los términos fitogénicos y fitobióticos se han usado como sinónimos. Se denomina así a compuestos naturales provenientes de las plantas y utilizados como aditivos en la producción animal, tales como los extractos vegetales y los aceites esenciales. Estos compuestos son metabolitos secundarios de las plantas y desde el punto de vista químico incluyen terpenos, flavonoides, alcaloides y fenoles (Abd El-Ghany, 2020). Numerosos informes destacan los resultados positivos de estos compuestos sobre parámetros de producción, efecto antimicrobiano y antibacteriano, anticoccidial e inmunomodulador en varias especies animales, con especial atención en aves (Deminicis et al. 2021; Liu et al., 2019; Peralta et al., 2019; Gonçalves Koiyama et al., 2014; Mathouli et al., 2012). Además se ha observado una modificación en la histomorfología de la pared intestinal, relativa al largo de las vellosidades intestinales, profundidad de las criptas y relación vellosidad/cripta que también favorece los resultados productivos. (Deminicis et al., 2021)

Especialmente se han probado para esta finalidad plantas aromáticas, tanto en forma individual como utilizando combinaciones de aceites o extractos de diferentes plantas (Xue et al., 2020). El orégano (*Origanum vulgare*) fue uno de los primeros en ensayarse, desde fines del siglo pasado (Hammer et al., 1996), describiéndose para el mismo actividad antimicrobiana, anticoccidial, antioxidante y de aumento de consumo de alimento, (Denli y Demirel, 2018; Bona et al., 2012; Mathouli et al., 2012). El extracto de orégano y el aceite esencial de orégano se utilizan en forma comercial en varios países desde mediados de la década de 1990 para su uso como aditivo en dietas de aves.

Dentro de las numerosas especies ensayadas en aves como reemplazo de los AGP incluyen extractos o aceites esenciales derivados de *Allium sativum* (ajo), *Piper nigrum* (pimienta negra), *Euphorbia hirta* (hierba de sapo), *Thymus vulgaris* (tomillo), *Cinnamomum cassia* (canela china, casia), *Curcuma longa* (cúrcuma), *Laurus nobilis* (laurel), *Citrus limonum* Risso (limonero), *zingiber officinale* (jengibre), *Quercus cortex* (roble), *Ginkgo biloba* (ginkgo), *Camelia sinensis* (té), *Azadirachta indica* (nimbo de la India), *Trigonella foenum* (fenogreco), *Copaifera sp* (copaífera) (Deminicis et al, 2021; Abd El-Ghany, 2020)).

El objetivo de gran parte de estos trabajos incluyó identificar los compuestos químicos responsables del efecto antimicrobiano. Se puso en evidencia que el timol y su isómero el carvacrol, el cinamaldehído, presentes en gran parte de las aromáticas, todos con gran cantidad de componentes fenólicos o terpénicos presentaron resultados que pueden llegar a ser comparables con los obtenidos por los AGP (Huberman et al., 2021; Ullah et al., 2020, Wang et al., 2018).

También se han ensayado otras especies no aromáticas como reemplazo de los AGP. Un estudio realizado con *Schinopsis lorenzii* (quebracho colorado) reveló que *in vitro*, su extracto tiene una actividad similar a la Bacitracina Zn (Prosdócimo et al, 2010).)

Las especies leñosas en general son una fuente importante de compuestos fenólicos, los cuales han demostrado tener efecto antimicrobiano. Estudios sobre *Prosopis flexuosa* var. *depressa* determinaron su efecto antimicrobiano *in vitro* frente a *Br. canis* en la forma de extracto metanólico. La caracterización química del mismo determinó la presencia de taninos, núcleos esteroidales y triterpénicos, flavonoides y alcaloides, los que en forma separada o asociativa podrían justificar el citado efecto (Ardoino et al., 2012). El extracto hidroetanólico de *Prosopis pallida* demostró efecto antibacteriano a

diferentes concentraciones frente a bacterias productoras de gingivitis (Grillo Patiño y Livia Valladolid, 2018), en tanto que *Prosopis alba* presentó actividad antimicrobiana media frente a *Salmonella* en un extracto con acetona y agua. El mismo estudio demostró que se obtiene una mayor concentración de compuestos fenólicos cuando la extracción se realiza con acetona y agua que cuando se realiza con etanol y agua, independientemente que la metodología de extracción sea agitación o ultrasonido. (Ruiz et al., 2019) En el mismo estudio se ensayó el efecto antimicrobiano frente a *E. coli*, el cual es negativo. Similares resultados encontraron Corzo et al. (2009) utilizando tintura, decocción e infusión de hojas de *Prosopis alba*. Sin embargo, Correa Arellano (2021) encuentra efectos inhibitorios del extracto acuoso de la algarroba (“algarrobina”) en forma de preparado comercial sobre *E. coli*, logrando una CIM del 50%. En el análisis de la composición del extracto describe la presencia de azúcares reductores, saponinas, polifenoles, nitratos entre otros.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto antimicrobiano de distintas especies de prosopis frente a *Samonella gallinarum*, *Escherichia coli* y *Clostridium perfringes* para su potencial uso como reemplazo de AGP en aves.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especies vegetales: se utilizaron partes aéreas (tallos, hojas y corteza, no frutos) de *Prosopis flexuosa* var. *flexuosa*, *Prosopis flexuosa* var. *depressa*, *Prosopis alpataco* y *Prosopis strombulifera*.

Obtención de los extractos vegetales: se maceraron 20 g de partes aéreas trituradas de cada planta en 100 mL de una solución etanol:agua (1:1, v/v) durante 24 h (3x). De esta manera se obtuvieron los Extractos Hidroalcohólicos, los cuales se juntaron y fueron llevados a sequedad en rotavapor a una temperatura de 70°C. Los extractos secos se retomaron con 200 mL de metanol (3X). Se juntaron y llevaron a sequedad en rotavapor a 70°C obteniendo los Extractos Metanólicos Desecados. Estos extractos desecados se conservaron a - 20°C hasta el momento de realizar los ensayos. Antes de los ensayos, los Extractos Metanólicos Desecados correspondientes al extracto obtenido a partir de 4 g de partes aéreas secas se resuspendieron en un volumen total de 5 mL de agua destilada estéril obteniendo el Extracto Metanólico para ensayar.

Cepas microbianas: las cepas utilizadas fueron provistas por el Departamento de Bacteriología del INEI ANLIS “Carlos G. Malbrán”. Todas las cepas son cuarto repique de cepas derivadas ATCC.

Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales contra *Salmonella gallinarum gallinarum* y *Escherichia coli*: las pruebas de actividad antimicrobiana se realizaron sobre placas de Petri de 60 mm de diámetro con 10 mL de agar Mueller Hinton a la que se le adicionaron 100 µL de extracto por placa obteniendo una concentración del extracto en la placa de 1/100. Cada placa se sembró con una suspensión bacteriana del agente etiológico en solución fisiológica estéril correspondiente al 0,5 en la escala de Mc Farland. Además se sembraron dos placas control negativo sin extracto para verificar crecimiento y dos placas control positivo con disco de antibiótico para verificar inhibición del crecimiento. Se utilizó como antibiótico control norfloxacin para el caso de *E. coli*, y gentamicina para *Salmonella gallinarum gallinarum*. Se incubó en estufa a 37°C durante 24 horas y se realizó la lectura de la presencia o no de crecimiento bacteriano en las placas con extracto y control negativo y el halo de inhibición en las placas con disco de antibiótico control positivo. En las placas en que se observó inhibición del crecimiento se realizó una ansada y tinción a fin de verificar la

ausencia de crecimiento bacteriano. Se realizaron cuatro repeticiones de cada extracto.

Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos vegetales contra *Clostridium perfringens*: las pruebas de actividad antimicrobiana se realizarán sobre placas de Petri de 60 mm de diámetro con 10 mL medio agar sangre a la que se le adicionaron 100 µL de extracto por placa obteniendo una concentración del extracto en la placa de 1/100. Cada placa se sembró con una suspensión bacteriana del agente etiológico en solución fisiológica estéril correspondiente al 0,5 en la escala de Mc Farland. Además, se sembraron dos placas control negativo sin extracto para verificar crecimiento y dos placas control positivo con disco de antibiótico para verificar inhibición del crecimiento. Se utilizó como antibiótico control lincomicina. Se incubó en estufa en anaerobiosis a 37°C durante 24 horas y se realizó la lectura de la presencia o no de crecimiento bacteriano en las placas con extracto y control y el halo de inhibición en las placas con disco de antibiótico control. En las placas en que se observó inhibición del crecimiento se realizó una ansada y tinción a fin de verificar la ausencia de crecimiento bacteriano. Se realizaron cuatro repeticiones de cada extracto.

Concentración inhibitoria mínima (CIM): se realizó en placas de 60 mm con 9 mL del medio de cultivo correspondiente y 1 mL de cada dilución del extracto vegetal correspondiente a las diluciones 1/10, 1/20, 1/40 y 1/80. Posteriormente se procedió a la siembra de la misma manera descrita en la evaluación de la actividad antimicrobiana.

RESULTADOS

Los resultados de la evaluación de la actividad antimicrobiana se muestran en la tabla 1.

	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella gallinarum gallinarum</i>
<i>Prosopis alpataco</i>	Inhibición total de crecimiento	Crecimiento normal	Crecimiento normal
<i>Prosopis flexuosa var. flexuosa</i>	Inhibición total de crecimiento	Crecimiento normal	Inhibición total de crecimiento
<i>Prosopis flexuosa var. depressa</i>	Crecimiento normal	Crecimiento normal	Crecimiento normal
<i>Prosopis strombulifera</i>	Inhibición total de crecimiento	Crecimiento normal	Inhibición total de crecimiento

Tabla 1: Evaluación de la actividad antimicrobiana

En el caso de los extractos que inhibieron el crecimiento bacteriano se realizó la CIM, obteniéndose inhibición completa hasta una dilución de 1/20 en el caso de *Prosopis strombulifera* frente a *Clostridium perfringens*, en tanto que *Prosopis flexuosa var. flexuosa* y *Prosopis alpataco* no lograron inhibición en las diluciones. Para *Salmonella gallinarum gallinarum* se logró inhibición del crecimiento hasta una dilución de 1/10 con *Prosopis flexuosa var. flexuosa* y hasta 1/20 con *Prosopis strombulifera*.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos son coincidentes en algunos aspectos con los encontrados en la bibliografía (Huberman et al. 2021; Ruiz et al., 2019; Corzo et al., 2009) y muestran mejores resultados en cuanto a la inhibición del crecimiento de *S. gallinarum gallinarum* y *C. perfringens* que para *E. coli*. Tal como sugieren Xue et al. (2020), se podrían ensayar combinaciones de diferentes especies de *Prosopis* o de *Prosopis* con otras especies vegetales, especialmente con extracto o aceite esencial de alguna aromática, para incorporar diferentes principios activos y lograr un efecto aditivo.

De acuerdo a los diferentes estudios publicados, *E. coli* no parece ser inhibida en su crecimiento por extractos derivados de especies de *Prosopis* (Ruiz et. al, 2019), ni por otras formas de extracción ensayadas por Corzo et.al (2009). Correa (2021) encuentra efecto inhibitorio de *Prosopis alba* sobre *E. coli*, en un extracto acuoso de frutos, por lo que se puede plantear evaluar extractos de frutos, dado que en el ensayo aquí descrito no se utilizaron frutos. El efecto de inhibición obtenido por este autor proviene de un extracto acuoso, es decir con un solvente más polar que el metanol. Esto también podría ser la causa de extracción de otros grupos químicos responsables del efecto de inhibición. A partir de aquí se podrían plantear dos nuevas hipótesis: el efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *E.coli* se debe a grupos químicos que están presentes en las flores y no en el resto de las partes aéreas, o bien el efecto se debe a grupos químicos que se encuentran en el extracto acuoso, pero no en el metanólico.

En base a estas consideraciones se plantea la posibilidad de ensayar la extracción con solventes de distinta polaridad, e identificar grupos de compuestos responsables del efecto obtenido en cada extracción. El efecto obtenido que describen Ruiz et al. (2019), se expresa con extractos obtenidos con menos polares que el metanol, y el descrito por Correa (2021) en un extracto con solvente más polar. También sería conveniente identificar los grupos químicos responsables del efecto inhibitorio en próximos trabajos.

CONCLUSIONES

Los extractos de *Prosopis* han demostrado inhibición del crecimiento bacteriano en el caso de *Salmonella gallinarum gallinarum* y *Clostridium perfringens*, en tanto que no han inhibido el crecimiento de *E. coli*. Se plantea la posibilidad de ensayar extracciones de frutos y con solventes diferentes, también combinaciones de los extractos para comprobar la existencia de efectos aditivos o efecto sobre *E. coli*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abd El-Ghany, W.A. (2020). Phytobiotics in Poultry Industry as Growth Promoters, Antimicrobials and Immunomodulators - A Review. J. World Poultry Res., 10(4): 571-579. DOI: <https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2020.65>

Ardoino, S. M., Boeris, M. A., Baruta, D., & Toso, R. E. (2012). Comparación del efecto antimicrobiano de partes aéreas y corteza de *Prosopis flexuosa* var. *depressa* sobre *Brucella canis*. *Ciencia Veterinaria*, 14(1), 7-13. Recuperado a partir de <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1834>

Bona, T.D.M.M; Larissa Pickler, L.; Miglino, L.B.; Kuritza, L.N.; Vasconcelos, S.P.; Santin, E. (2012) Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de *Salmonella*, *Eimeria* e *Clostridium* em frangos de corte. *Pesq. Vet. Bras.*. Vol. 32(5):411-418. DOI: 10.1590/S0100-736X2012000500009

CAPIA. (2022) Estadísticas anuales 2021. <https://docs.google.com/spreadsheets/d/1LXmkHls6xwSgcZe5RdEegyKcWu90RY6-/edit?usp=sharing&oid=109105502003866536851&rtpof=true&sd=true>

Cepero Briz, R. (2005) Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la unión europea: causas y consecuencias. Ponencia presentada en XII Congreso Bienal Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Avícola (AMENA)

Correa Arellano, C.E. (2021) Efecto antibacteriano de la algarrobina de *Prosopis pallida* sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar al grado académico de Doctor en bioquímica y nutrición. Repositorio Académico UPSM. dc.identifier.uri: <https://hdl.handle.net/20.500.12727/8778>

Corzo, A. G.; E. Bravo; F. Serrano; M. A. Vattuone (2009). Actividad antibacteriana de extractos de hojas de *Prosopis alba*, Griseb, frente a cepas patógenas humanas y fitopatógenas. *Revista de Ciencias Forestales – Quebracho* Vol.17(1,2):106-114.

Deminicis, R. G. Da S.; Meneghetti, C.; Oliveira, E. B. De; Garcia Júnior, A. A. P. .; Farias Filho, R. V. .; Deminicis, B. B. (2021) Revisão sistemática do uso de fitobióticos na nutrição de frangos de corte. *Revista de Ciências Agroveterinárias, Lages*, v. 20, n. 1, p. 098 - 106. DOI: 10.5965/223811712012021098. Disponível em: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/18816>.

Denli, M.; Demirel, R (2018). Replacement of antibiotics in poultry diets. *CAB Reviews* 13, No. 035.: 1-9. doi: 10.1079/PAVSNR201813035

FAO. (2021) *Food Outlook – Biannual Report on Global Food Markets*. Food Outlook, November 2021. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb7491en> ISSN 1560-8182 [online]

Gonçalves Koiyama, N.T.; Pires Rosa, A.; Sangoi Padilha, M.T.; Schröder Boemo, L.; Scher, A.; da Silva Melo, A.M.; de Oliveira Fernandes, M. (2014). Desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte alimentados com mistura de aditivos fitogênicos na dieta. *Pesq. agropec. bras.*, v.49, n.3, p.225-231. DOI: 10.1590/S0100-204X2014000300009

Grillo Pátiño, M.; Livia Valladolid, N.E. (2018). Efecto antibacteriano in vitro de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida* (algarrobo), *Plantago major* (llantén) y *Ruta graveolens* (ruda) sobre *Porphyromonas gingivalis* ATCC33277. Tesis. Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas. URI <https://hdl.handle.net/20.500.12692/26356>

Hammer KA, Carson CF, Riley TV. (1996). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol.* 86 (6):985-90. doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x. PMID: 10438227.

Huberman, Y. D.; Malena, R. C.; Lomónaco, J.; Nievas, P.A. (2021). Evaluación de la eficiencia in vitro de extractos vegetales polifenoles sobre el crecimiento de *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *S. gallinarum* y *Escherichia coli* aisladas de aves. Pertenece al libro: I Congreso de Microbiología Veterinaria. Libro de resúmenes <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/122095> <https://doi.org/10.35537/10915/122095>

Liu SD, Song MH, Yun W, Lee JH, Kim HB, Cho JH. 2019. Effect of carvacrol essential oils on immune response and inflammation-related genes expression in broilers challenged by lipopolysaccharide. *Poult Sci.* 1;98(5):2026-2033. doi: 10.3382/ps/pey575. PMID: 30590708.

López, A., Parra, J.E., Chávez, L.A. (2016) Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. *Archivos de Zootecnia* 65(249):51-58. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49544737008>

MAGyP. (2022). Indicadores del sector avícola: carne aviar. https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/aves/estadistica/carne/_archivos/000001_Indicadores%20Mensuales/000000_Indicadores%20de%20%20Oferta%20y%20Demanda%202016-2022.pdf Consultado: 15-7-2022

Mathlouthi, N.; Bouzaienne, T.; Oueslati, I.; Recoquillay, F.; Hamdi, M.; Urdaci, M.; Bergaoui, R. (2012) Use of rosemary, oregano, and a commercial blend of essential oils in broiler chickens: In vitro antimicrobial activities and effects on growth performance. *J. Anim. Sci.* 90:813-823 <http://dx.doi.org/10.2527/jas.2010-3646>

Peralta, M.F., Nilson A., Miazzi, R.D. (2019) Nutrición aviar: alternativas naturales para optimizar la funcionalidad gastrointestinal. *Revista Científica FAV-UNRC Ab Intus* 4 (2): 103-109

Prosdócimo, F; Sosa, N.; Batallé, M.; Barrios, H.; De Franceschi, M (2010). Determinación in vitro del efecto antibacteriano de un extracto obtenido de quebracho colorado, *Schinopsis lorentzii*. *InVet*, 12(2),139-143.[fecha de Consulta 7 de Agosto de 2022]. ISSN: 1514-6634. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179119233003>

Ruiz, S.C.; García, E. M.; Nediani, T.; Zimerman, M.; Nazareno, M. A.; Martínez, S. L. (2019). Potencial antioxidante y Actividad antimicrobiana de extractos de hojas de Mistol (*Zizyphuz mistol*), Algarrobo blanco (*Prosopis alba*) y Tusca (*Acacia aroma*) procedentes de Santiago del Estero, Argentina. *Revista del Foro de la Alimentación, la Nutrición y la Salud* 1 (1) : 10-19. <http://fanus.com.ar/rfanus/2019-01.pdf>

Ullah A, Munir S, Badshah SL, Khan N, Ghani L, Poulson BG, Emwas AH, Jaremko M. (2020). Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*. 11;25(22):5243. doi: 10.3390/molecules25225243. PMID: 33187049; PMCID: PMC7697716.

Wang T, Liu Y, Li X, Xu Q, Feng Y, Yang S. (2018) Isoflavones from green vegetable soya beans and their antimicrobial and antioxidant activities. *J Sci Food Agric*. 98(5):2043-2047. doi: 10.1002/jsfa.8663. Epub 2017 Oct 24. PMID: 28885710.

Wierup M. (1999) Los métodos preventivos reemplazan a los antibióticos promotores del crecimiento: 10 años de experiencia en Suecia. *Enf Infec Microbiol*. 19(1):18-22.

Xue F, Shi L, Li Y, Ni A, Ma H, Sun Y, Chen J. (2020) Effects of replacing dietary Aureomycin with a combination of plant essential oils on production performance and gastrointestinal health of broilers. *Poult Sci*. 99(9):4521-4529. doi: 10.1016/j.psj.2020.05.030. Epub 2020 Jun 24. PMID: 32867996; PMCID: PMC7598001.

SECCIÓN ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Micobacterias no tuberculosas autóctonas de La Pampa (Argentina) y su capacidad de reacción cruzada en el diagnóstico de tuberculosis bovina.

Oriani, D.S.; Gastaldo, M.F.; Tortone, C. A.; Staskevich, A.S.; Ramirez P.; Valle, H. y Fernandez, E.

Pp. 10-18

Micobacterias no tuberculosas autóctonas de La Pampa (Argentina) y su capacidad de reacción cruzada en el diagnóstico de tuberculosis bovina.

Oriani, D.S.¹; Gastaldo, M.F.¹; Tortone, C. A.¹; Staskevich, A.S.; Ramirez P.; Valle, H.² y Fernandez, E.²

¹Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Pampa, calle 5 esquina 116, General Pico (6360) La Pampa. ctortone@vet.unlpam.edu.ar

² SENASA.

RESUMEN

Para el diagnóstico de la tuberculosis bovina se utiliza un método indirecto que detecta inmunidad celular mediante intradermorreacción del derivado proteico purificado de *Mycobacterium bovis* (PPD bovino). Uno de sus inconvenientes es la aparición de reactores falsos positivos debido a la posibilidad de que *M. bovis* y el resto de las especies del género compartan algunos determinantes antigénicos. En este trabajo se intenta demostrar si existe reacción cruzada con el PPD bovino o PPD aviar cuando se inocula micobacterias no tuberculosas (MNT) vía intramuscular (IM). Se seleccionaron 15 bovinos hembras de destete cruce británica no reaccionantes a las PPDs. Se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos de 5 animales cada uno. El grupo BCG se inoculó con una suspensión de *M. bovis* BCG ajustado a 10^4 bact/mL. El grupo MNT se inoculó con 5 mL de una suspensión (15 mg/mL) de un pool de las siguientes cepas seleccionadas: *M. kansasii*, *M. nonchromogenicum*, *M. gordonae*, *M. arupense*, *M. phlei*, *M. fortuitum* y *M. peregrinum*, aisladas de suelos y humedales de la provincia de La Pampa. El grupo control con 5 mL de agua destilada estéril. A los 60 días posteriores a la inoculación se realizó la primera prueba de sensibilidad empleando en tabla del cuello la prueba Cervical Comparada. La misma práctica se realizó a los 135 días posteriores a la descarga de micobacterias. El grupo MNT mostró a los 60 días de inoculación solamente un animal con reacción positiva a la PPD aviar y a la PPB bovina, y un animal sospechoso a PPD bovina desapareciendo dichas reacciones a los 135 días. Estos resultados indican que puede haber reacción inespecífica entre las especies de MNT pero que las mismas no se mantienen en el tiempo.

Palabras clave: micobacterias ambientales, reacción cruzada, tuberculosis bovina, intradermorreacción.

Native non-tuberculous mycobacteria from La Pampa (Argentina) and their ability to cross-reaction in the bovine tuberculosis diagnosis.

ABSTRACT

To diagnose bovine tuberculosis, it is employed an indirect method that detects cellular immunity through the purified *Mycobacterium bovis* protein derivative intradermal reaction (bovine PPD). One of its inconveniences is the emergence of false positive reactors due to the possibility of *M. bovis* and the rest of the gender species to share certain antigens. The aim of this paper is to demonstrate if a crossed reaction exists in bovine PPD or aviary PPD when nontuberculous mycobacteria (NTM) is inoculated via an intramuscular injection. Fifteen British crossed female bovines nonreactive to both PPDs were selected, to be later randomly distributed in three groups of five animals each. The BCG group was inoculated with a *M. bovis* BCG suspension at 10^4 bact/ml. The MNT group was inoculated with a pool of selected strains (5 ml, 15mg/ml): *M. kansasii*, *M. nonchromogenicum*, *M. goodii*, *M. arupense*, *M. phlei*, *M. fortitum*, and *M. peregrinum*; all of them were taken from soils from La Pampa and wetlands. The control group was inoculated with 5ml of sterile distilled water. 60 days after the inoculation, the first sensibility test was done at the bovine's cervical anterior area of neck through comparative intradermal reaction. The same test was done again 135 days after the inoculation of mycobacteria. After 60 days of the inoculation, the MNT group showed a single animal with a positive reaction to aviary PPD and bovine PPB, both disappearing 135 days after inoculation. These results indicate that unspecified reactions between the MNT species can appear, but that they do not last in time.

Keys words: environmental mycobacteria, cross reaction, Bovine tuberculosis, intradermal reaction

INTRODUCCIÓN

Las micobacterias no tuberculosas (MNT) o micobacterias ambientales se distribuyen geográficamente con nichos específicos en el ambiente (Lin *et al.*, 2009) y esto se ve afectado por factores asociados con la actividad humana y la fauna presente pudiéndose encontrar como saprófitas o comensales. No son patógenas obligadas, pero pueden causar infecciones oportunistas en individuos inmunocomprometidos e incluso en inmunocompetentes, produciendo lesiones compatibles con tuberculosis (TB) (Vaerewijck *et al.*, 2005). Sin embargo, no sólo es relevante que las MNT pueden ser patógenas, sino que ciertas especies pueden interferir con el diagnóstico de la TB (Scherrer *et al.*, 2019). Los antígenos compartidos entre las distintas especies de micobacterias pueden ser responsables de las reacciones cruzadas inmunológicas de sus hospedadores y reducir la especificidad de las pruebas de diagnóstico inmunológico comunes, así como también la eficacia de la vacuna BCG (Jenkins *et al.*, 2017).

Para el diagnóstico de la tuberculosis bovina en nuestro país se utiliza un método indirecto que detecta inmunidad celular mediante intradermorreacción (IR) del derivado proteico purificado de *Mycobacterium bovis* (PPD bovino) y en ella se basa el Programa Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis (SENASA 128/2012) sin dejar de mencionar que es el método de referencia de la Organización Internacional de Sanidad Animal (OIE). Asimismo, el PPD derivado de *Mycobacterium avium* se utiliza para detectar paratuberculosis en los rodeos. Existen pruebas diagnósticas específicas para diferenciar estas enfermedades como la prueba cervical comparada (CC). Uno de sus inconvenientes es la aparición de reactores falsos positivos debido a la posibilidad de que *M. bovis* y el resto de las especies del género compartan algunos determinantes antígenicos. En rodeos donde se llevan a cabo los planes de control y erradicación de la tuberculosis es donde se comienza a detectar la aparición de reacciones falsas

positivas por la aparición de otras micobacterias capaces de producir estados alérgicos en los animales, incluso lesiones compatibles con TB. Sin embargo, desde ya hace algunos años, existe controversia respecto a la importancia de las MNT como fuente de reacciones cruzadas cuando se realiza el diagnóstico de la TB (Bernardelli *et al.*, 2017). También se ha informado que la presensibilización a MNT influye en el diagnóstico de ganado infectado con *M. bovis* porque tanto la prueba cutánea como las pruebas diagnósticas de IFN γ se vieron comprometidas (Hope *et al.*, 2005).

Algunos investigadores sugieren que la cercanía genética entre micobacterias atípicas particulares y especies del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) generalmente indica un mayor nivel de homología para ciertos antígenos protectores compartidos. Esto da como resultado un nivel más alto de respuestas inmunitarias de reacción cruzada en comparación con otras micobacterias atípicas que están genéticamente más alejadas. Así se explicaría los diferentes efectos de las micobacterias ambientales sobre los distintos estudios que se han reportado en cuanto al diagnóstico y prevención de la tuberculosis. En otras palabras, la dirección del sistema inmunitario del huésped en respuesta a la exposición a MTBC dependería del tipo de micobacteria ambiental que se encontrara en su exposición inicial (Jenkins *et al.* 2017). Estudios realizados por Water *et al.* (2006) demostraron que la infección de terneros con *Mycobacterium kansasii*, aislado de un ganglio piogranulomatoso compatible con TB, provoca respuestas específicas que pueden confundir la interpretación de las pruebas de tuberculosis bovina.

Se ha informado que algunas especies, por ejemplo, *M. kansasii*, *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium avium* Complex (MAC) que comprende un grupo de micobacterias relacionadas, incluida *Mycobacterium szulgai*, dan infecciones esporádicas en humanos y animales (Griffith, 2010; Hughes *et al.*, 2005). Ocasionalmente, se informa que las lesiones causadas por estos patógenos son similares a la TB, como se observa en la infección con *M. kansasii* (Water *et al.*, 2006). Además, varios de estos microorganismos también se han descrito como responsables de la respuesta inmunitaria de reacción cruzada lo que lleva a resultados falsos positivos (Jenkins *et al.*, 2017). Otros investigadores han identificado genes y proteínas expresadas por miembros del MCTB y MNT no patógenas. Se ha demostrado la presencia de dichas proteínas en PPD bovina y PPDs de MNT seleccionadas (Gcebe *et al.*, 2016) reforzando la hipótesis de las reacciones inespecíficas en el diagnóstico inmunológico.

En nuestras primeras investigaciones determinamos la presencia y diversidad de MNT en suelos de la provincia de La Pampa, Argentina (Oriani y Sagardoy, 2002), y en distintas fuentes de agua de la ciudad de General Pico y zonas de influencia (Tortone *et al.*, 2019). Luego continuamos tratando de establecer si las distintas especies autóctonas son capaces de interferir con el diagnóstico de la tuberculosis bovina. Con resultados anteriores (Oriani y Sagardoy, 2007) se demostró que algunas especies de MNT aisladas de suelos al ser inoculadas en *Mus musculus* provocaron lesiones granulomatosas, además se observaron reacciones cruzada a la PPD bovina en cobayos inoculados con cepas de MNT aisladas de suelos de la provincia de La Pampa (Bernardelli *et al.*, 2017). En un ensayo sobre un total de 50 animales con antecedentes de tuberculosis se practicó la tuberculinización en la tabla del cuello empleando PPD bovina, PPD aviar y sensitinas de *Mycobacterium phlei* y de *Mycobacterium fortuitum*, estas últimas elaboradas a partir de cepas provenientes de suelos pampeanos. Los resultados mostraron que el 6% de los reactivantes positivos a la PPD bovina no

reaccionaron a las sensitinas de *M. phlei* y *M. fortuitum*. Cabe resaltar que en este trabajo se observó un 16% de reacciones sospechosas a las nombradas sensitinas (Oriani *et al.*, 2011). Teniendo en cuenta estos antecedentes nuestro próximo objetivo fue seleccionar cepas de MNT aisladas a partir de suelos y distintas fuentes de agua e inocularlas intramuscular a bovinos para estudiar el efecto directo sobre el diagnóstico de la tuberculosis bovina a través de la prueba de IR. En este trabajo se muestran los primeros resultados obtenidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas de MNT empleadas: Se seleccionaron cepas de MNT aisladas de suelos y aguas de acuerdo a su prevalencia y su capacidad de formación de biofilm. La identificación de los aislamientos se realizó a través de pruebas fenotípicas y/o métodos moleculares (PRA, secuenciación parcial de 16SrARN y secuenciación de *hsp65*) (Tortone *et al.*, 2018). Las cepas seleccionadas fueron: *M. phlei* (ID:35), *M. kansasii* (ID:15), provenientes de suelos y *M. fortuitum* (ID:117), *Mycobacterium nonchromogenicum* (ID:69), *Mycobacterium gordonae* (ID: 44A), *Mycobacterium arupense* (ID: 88B), y *Mycobacterium peregrinum* (ID: 122) recuperadas de distintas fuentes de agua.

Inóculo: El volumen inoculado vía intramuscular (IM) fue de 5 mL. El grupo BCG (control positivo) se inoculó con una suspensión de *M. bovis* BCG (10^4 bact/mL) en PBS estéril (Gonzalez Gonzalez *et al.*; 2012). El grupo MNT se inoculó con un pool de las cepas de MNT seleccionadas resuspendidas en PBS estéril (15 mg/mL) a partir de su cultivo en medio Löwenstein Jensen a 35°C. Se utilizó la metodología descrita en (Kantor, 1979) para la preparación de una suspensión bacteriana en comparación con una suspensión bacilar patrón de turbiedad. Se tomó 10 ± 1 mg de bacilos a partir del cultivo de cada cepa con un ansa estéril y para cada dosis. Se disolvieron en un frasco estéril con 20 perlas de vidrio de 3-5 mm de diámetro conteniendo el volumen adecuado de PBS estéril para 5 dosis. El grupo control fue inoculado con 5 mL IM de agua destilada estéril (ADE).

Animales: se seleccionaron 15 bovinos hembras de destete, de madres no reactivas a la prueba de la PPD con buen estado corporal y sanitario, distribuidas en tres grupos: Grupo I MNT (5 animales), Grupo II BCG (5 animales) y Grupo III control (5 animales). Fueron mantenidos en un sistema pastoril extensivo, en un lote separado del resto de los animales del establecimiento (Unidad demostrativa experimental y productiva, UDEP, FCV-UNLPam). Todos los estudios y procedimientos se realizaron de acuerdo con un protocolo aprobado por el CAICUAE (Comisión Asesora Interna para el Cuidado y Uso de Animales de Experimentación) siguiendo los lineamientos del Reglamento Institucional para el cuidado y uso de Animales de experimentación de La UNLPam (Res.233/2018 CS). Los animales se identificaron con números de caravana y el uso de chips electrónicos.

Metodología de sensibilización y corroboración: Los animales se inocularon de la manera descrita, conformando los tres grupos de forma aleatoria. Sesenta días previos a la inoculación, a los 15 animales del ensayo se les realizó intradermorreacción para corroborar su negatividad a ambas PPDs. 60 días posteriores a la inoculación de las MNT y BCG se realizó la primera de las pruebas de PPD empleando PPD bovina y aviar en

tabla del cuello, prueba cervical comparada (CC). Este mismo esquema se realizó a los 135 días posteriores.

Prueba de PPD: se realizó según lo establecido en la resolución 528-2012-SENASA, utilizando derivado proteico purificado de tuberculina bovina (PPD bovina), elaborada con *Mycobacterium bovis* (Cepa «AN5») de 1mg/ml de concentración y la PPD aviar elaborada con una cepa de *Mycobacterium avium* (Cepa «D4») de 0,5 mg/ml de concentración, autorizadas en el país por el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, controladas y aprobadas por este Organismo. Las tuberculinas utilizadas fueron preparadas de acuerdo con los requerimientos de la Organización Mundial de la Salud en lo que respecta a: orígenes de los materiales, métodos de producción, precauciones, sustancias agregadas libres de contaminantes, identidad, seguridad, potencia, especificidad y ausencia de agentes sensibilizantes (Bernardelli, 2007).

RESULTADOS

Se pudo observar que *M.bovis* BCG produce intradermorreacción contra PPD bovino y se mantiene, por lo menos hasta 135 días (Grafico 1) no observándose reacción a la PPD aviar (gráfico 2). Los resultados individuales de la prueba CC en este grupo dieron positivos o sospechosos (Cuadro 1). El grupo MNT mostró a los 60 días de inoculación un animal (20%) con reacción positiva a la PPD aviar (diferencia en el grosor de la piel de 25mm) y a la PPB bovina (diferencia en el grosor de 11 mm). También se detectó un animal (20%) sospechoso a PPD bovina (diferencia de grosor de 3 mm), desapareciendo las reacciones en ambos casos a los 135 días. El grupo control no reaccionó a la PPD bovina y PPD aviar en las dos lecturas posteriores (60 y 135 días).

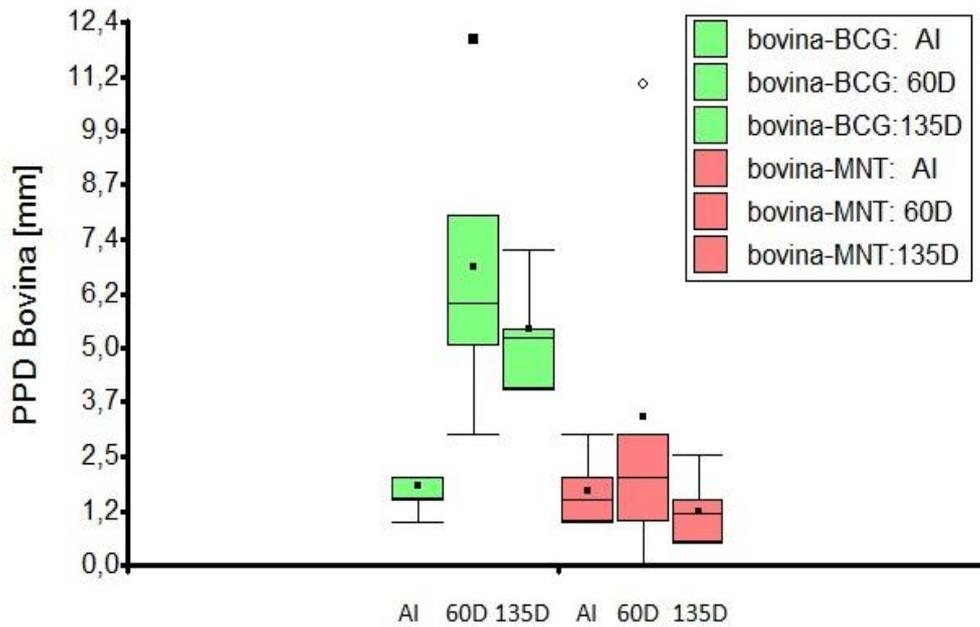


Grafico 1: Comparación de las lecturas de la PPD bovina en el grupo de terneras inoculadas con BCG y con MNT. En este diagrama de cajas se puede observar valor de la media, máximos y mínimos típicos y valores atípicos. *Bovina BCG*: lectura de la prueba de intradermorreacción a PPD bovina en el grupo de animales inoculados con *M.bovis BCG*. *Bovina MNT*: lectura de la prueba de intradermorreacción a PPD bovina en el grupo de animales inoculados con MNT. AI: antes de inocular. 60D: lectura a los 60 días posinoculación. 135D: lectura a los 135 días posinoculación.

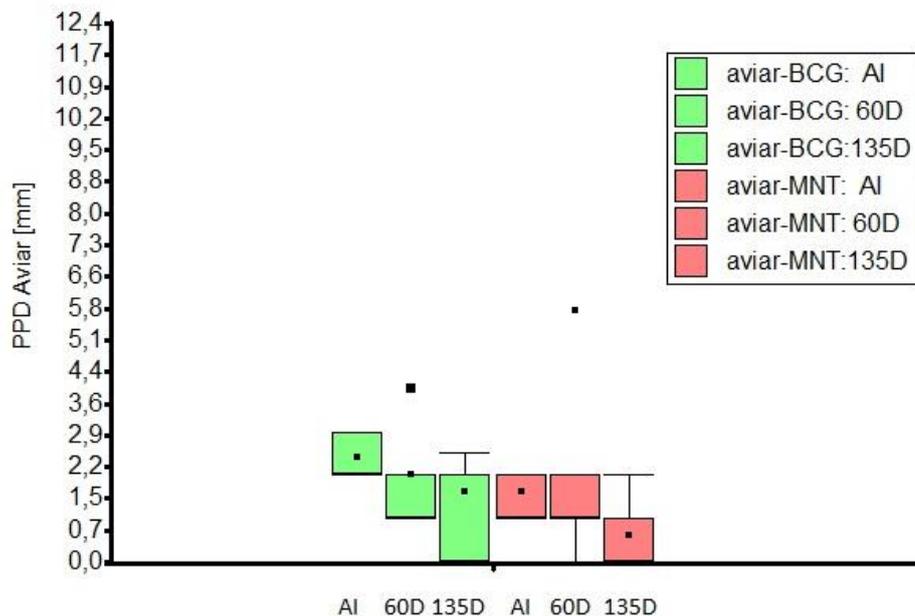


Grafico 2: Comparación de las lecturas de la PPD aviar en los grupos de terneras inoculadas con BCG y con MNT. En este diagrama de cajas se puede observar valor de la media, máximos y mínimos típicos y valores atípicos. *Bovina BCG*: lectura de la prueba de intradermorreacción a PPD bovina en el grupo de animales inoculados con *M.bovis BCG*. *Bovina MNT*: lectura de la prueba de intradermorreacción a PPD bovina en el grupo de animales inoculados con MNT. AI: antes de inocular 60D lectura a los 60 días posinoculación. 135D: lectura a los 135 días posinoculación. (Valor hallado aviar- MNT a los 60D de 25 mm no mostrado en el gráfico)

Cuadro 1 Resultados de la Intradermorreacción

GRUPO	Lectura a los 60 días	Lectura a los 135 días
I (BCG)	PPD bovina 100% positivo PPD aviar 40% positivo	PPD bovina 100% positivo PPD aviar no reactivo
II (NTM)	PPD bovina 20% positivo PPD aviar 20% positivo PPD aviar 20% sospechoso	PPD bovina no reactivo PPD aviar no reactivo
III (CONTROL)	No reactivo	No reactivo

PPD: derivado proteico purificado de tuberculina

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

De acuerdo a Griffith et al. (2007), conocer las especies de micobacterias, en una región proporciona información sobre los factores de exposición geográficamente específicos, asociados al clima, al medio ambiente y a la fauna presente. Esto llevaría a pensar que las especies autóctonas de MNT en una región geográfica determinada pueden interferir de manera diferente en el diagnóstico de la tuberculosis bovina. Además, diferentes respuestas inmunes están asociadas con diferentes especies o cepas de micobacterias y/o a su virulencia (Demangel *et al.*, 2005) así como a la resistencia natural a la tuberculosis (González Ruiz *et al.*, 2018).

Nuestros resultados indican que puede existir reacción inespecífica entre las especies de MNT autóctonas y el diagnóstico de la TB por IR no manteniéndose en el tiempo. Coincidimos con otros investigadores en que los animales pueden sensibilizarse con las micobacterias ambientales y que se debería continuar realizando ensayos en rodeos bovinos con diferentes historias sanitarias con respecto a la tuberculosis. También consideramos que es necesario evaluar la presencia de determinados antígenos, como ESAT-6 y CFP-10, en las cepas de MNT aisladas en nuestra provincia, ya que se ha descrito que algunas especies o cepas los comparten con el MTBC (Vordeirmer *et al.*, 2007, Sherrer *et al.*, 2019). La identificación de proteínas inmunogénicas homólogas de las MNT capaces de provocar respuestas inmunitarias de reacción cruzada con antígenos de MTBC debería ser objetivo de una investigación más profunda. También es necesario valorar distintas vías de inoculación (aerógenas y/o digestivas) que se aproximen más a la exposición real del agente etiológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bernardelli, A. (2007) Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria Producción y control de tuberculina bovina y aviar. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Derivado Proteico Purificado (DPP). Bs.As. Argentina. <https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/file1011-tuberbov.pdf>

Bernardelli A.; Oriani D. S.; Alonso, B. (2017). *Elaboración y prueba de potencia de sensitinas correspondientes a Mycobacterium phlei y Mycobacterium fortuitum aisladas de suelos pampeanos en la República Argentina*. Ciencia Veterinaria, 14(1), 85-91 <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1839/1794>

Demangel, C.; Garnier, T.; Rosenkrands, I.; Cole, S. T. (2005). *Differential effects of prior exposure to environmental mycobacteria on vaccination with Mycobacterium bovis BCG or a recombinant BCG strain expressing RD1 antigens*. Infection and immunity, 73(4), 2190-2196. <https://doi.org/10.1128/IAI.73.4.2190-2196.2005>

Gcebe, N.; Michel, A.; Gey van Pittius, N. C.; Rutten, V. (2016). *Comparative Genomics and Proteomic Analysis of Four Non-tuberculous Mycobacterium Species and Mycobacterium tuberculosis Complex: Occurrence of Shared Immunogenic Proteins*. *Frontiers in microbiology*, 7, 795. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00795>

González González, X. E.; Jaramillo Meza, L.; Lascurain Ledezma, R.; Torres Barranca, J.; Quevillon Cardinal, E.L.; Díaz Otero, F. (2012). *Evaluación de subpoblaciones de linfocitos T en bovinos vacunados contra la tuberculosis bovina: estudio longitudinal comparativo*. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 3(2),137-154. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000200001

González Ruiz, S.; Cantó Alarcón, G. J.; Rodríguez-Hernández, E.; Flores Villalba, S.; Román Ponce, S. I.; Milián Suazo, F. (2018). *Resistencia natural contra la tuberculosis en ganado*. Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 9(2), 328-345. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v9i2.4396>

Griffith, D. E.; Aksamit, T.; Brown-Elliott, B. A.; Catanzaro, A.; Daley, C.; Gordin, F.; et al. ATS Mycobacterial Diseases Subcommittee, American Thoracic Society, & Infectious Disease Society of America (2007). An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 175(4), 367-416. <https://doi.org/10.1164/rccm.200604-571ST>

Griffith, D. E. (2010). *Nontuberculous mycobacterial lung disease*. *Current opinion in infectious diseases*, 23(2), 185-190. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328336ead6>

Hope, J. C.; Thom, M. L.; Villarreal-Ramos, B.; Vordermeier, H. M.; Hewinson, R. G.; Howard, C. J. (2005). *Exposure to Mycobacterium avium induces low-level protection from Mycobacterium bovis infection but compromises diagnosis of disease in cattle*. *Clinical and experimental immunology*, 141(3), 432-439. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2005.02882.x>

Hughes, M. S., Ball, N. W.; McCarroll J.; Erskine M.; Taylor M. J.; Pollock J. M.; et. al. (2005). *Molecular analyses of mycobacteria other than the M. tuberculosis complex isolated from Northern Ireland cattle*. *Vet. Microbiol.* 108:101-112. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.03.001>

Kantor IN. (1979). *Bacteriología de la Tuberculosis Humana y Animal*. Centro Panamericano de Zoonosis. (Series Monográficas y Científicas CPZ-11). Ramos Mejia, Buenos Aires,p47.

Lin, M. Y.; Reddy, T. B.; Arend, S. M.; Friggen, A. H.; Franken, K. L.; van Meijgaarden, K.; et. al. (2009). *Cross-reactive immunity to Mycobacterium tuberculosis DosR regulon-encoded antigens in individuals infected with environmental, nontuberculous mycobacteria*. *Infection and immunity*, 77(11), 5071-5079. <https://doi.org/10.1128/IAI.00457-09>

Jenkins A.O.; Michel A.; Rutten V. (2017). *Original Mycobacterial Sin, a consequence of highly homologous antigens?* *Veterinary Microbiology* Vol. 203, 286-293. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.03.028>

Oriani, D.S.; Sagardoy, M.A. (2002). *Nontuberculous mycobacteria in soils of La Pampa province (Argentina)*. *Rev. Arg. Microbiol.* 34:132-137

Oriani, D.S.; Sagardoy, M.A. (2007). *Lesiones en Mus musculus inoculados con Mycobacterium phlei, Mycobacterium kansasii y Mycobacterium fortuitum aislados de suelos pampeanos (República Argentina)* *InVet.* 9(1): 43-51

Oriani, S. D.; Dubarry, J. R.; Errea, A. R.; Vera, O. A, María, A. E.; Cavagión, L. J.; et.al. (2011); *Asociación entre el diagnóstico de Tuberculosis bovina por intradermorreacción, la anatomopatología, la bacteriología y la posible interferencia con micobacterias ambientales*. *Revista Ciencia Veterinaria.* 13 (1): 42-47. <https://cerac.unlpam.edu.ar/index.php/veterinaria/article/view/1859>

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. (2012). Disponible en <http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-128-2012-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>

Scherrer, S.; Landolt, P.; Friedel, U.; Stephan, R. (2019). *Distribution and expression of esat-6 and cfp-10 in non-tuberculous mycobacteria isolated from lymph nodes of slaughtered cattle in Switzerland*. *Journal of veterinary diagnostic investigation* : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, 31(2), 217-221. <https://doi.org/10.1177/1040638718824074>

Tortone, C.A.; Zumárraga, M.J.; Gioffre, A.K.; Oriani, D.S. (2018) *Utilization of molecular and conventional methods for the identification of nontuberculous mycobacteria isolated from different water sources*. *Int J Mycobacteriol*; 7:53-60. https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_192_17

Tortone, C. A.; Oriani, D. S.; Staskevich, A. S.; Oriani, A. S.; Gino, L. M.; Marfil, M. J.; et.al. (2019). *Diversidad de especies de micobacterias no tuberculosas aisladas en ambientes acuáticos de la ciudad de General Pico, La Pampa, Argentina*. *Rev. Arg. Microbiol.*, 51(3), 259-267. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.08.005>

Vaerewijck, M. J.; Huys, G.; Palomino, J. C.; Swings, J.; Portaels, F. (2005). *Mycobacteria in drinking water distribution systems: ecology and significance for human health*. FEMS microbiology reviews, 29(5), 911-934. <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.02.001>

Vordermeier, H. M.; Brown, J.; Cockle, P. J.; Franken, W. P.; Drijfhout, J. W.; Arend, S. M.; et. al. (2007). *Assessment of cross-reactivity between Mycobacterium bovis and M. kansasii ESAT-6 and CFP-10 at the T-cell epitope level*. Clinical and vaccine immunology: CVI, 14(9), 1203-1209. <https://doi.org/10.1128/CVI.00116-07>

Waters, W. R.; M. V. Palmer, T. C.; Thacker, J. B.; Payeur, N. B.; Harris, F. C.; Minion, R.; et. al. (2006). *Immune responses to defined antigens of Mycobacterium bovis in cattle experimentally infected with Mycobacterium kansasii*. Clin. Vaccine Immunol., 13:611-619. <https://doi.org/10.1128/CVI.00054-06>

El complejo braquial - bíceps braquial como etiopatogenia de la displasia del codo canino

Audisio, S.A.¹ y Ocampo, L.N.¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 esquina 116, General Pico, La Pampa, Argentina. saudisio@vet.unlpam.edu.ar

RESUMEN

La enfermedad del coronoide medial es una de las afecciones que comprenden la displasia del codo en el perro. Una de las etiologías que se formulan para esta afección es el accionar del complejo que conforman los músculos *brachialis* y *biceps brachii*. En la revisión bibliográfica se relaciona la disposición anatómica del complejo muscular en el brazo y las particularidades de inserción de ambos músculos a medial del codo. Esas peculiaridades en condiciones dinámicas provocan cizallamiento a nivel de la cisura radioulnar y compresión del proceso coronoides medial contra la cabeza del radio. La identificación de esta etiología en pacientes con displasia de codo contribuirá a la adopción medidas quirúrgicas oportunas.

Palabras clave: Bíceps braquial, braquial, enfermedad del coronoide medial, codo, displasia, perro.

THE BRACHIALIS COMPLEX – BRACHII BICEPS AS ETIOPATHOGENY OF THE CANINE ELBOW DISPLASIA

ABSTRACT

Medial coronoid disease is a condition which is encompassed in the elbow dysplasia in dogs. One of the proposed etiologies for this disease is the action produced by the muscle complex made up by the *brachialis* and *biceps brachii* muscles. In the literature review, the authors relate the anatomical disposition of the muscle complex in the arm and the particularities of the insertion of both muscles in the medial region of the elbow. In dynamic conditions, these peculiarities produce shearing at the level of the radioulnar joint and compression of the medial coronoid process against the head of the radius. The identification of this etiology in patients with elbow dysplasia will contribute to the adoption of timely surgical treatment.

Keywords: Biceps brachii, brachialis, medial coronoid disease, elbow, dysplasia, dog.

INTRODUCCIÓN

La displasia del codo (DC) del perro, es una enfermedad poligénica del desarrollo frecuentemente diagnosticada en pacientes jóvenes de razas grandes y gigantes (Samoy *et al.*, 2011). La comprenden la enfermedad del proceso coronoides medial

(EPCM), el proceso ancóneo no unido (PAN), la osteocondritis disecante del cóndilo medial del húmero (OCD) e incongruencia del codo (IC)(Hazewinkel, 2002).

La EPCM es la causa más común de claudicación de las extremidades torácicas que se informa en perros inmaduros (Tromblee *et al.*, 2007; Cook y Cook 2009, Fitzpatrick *et al.*, 2009; van Bruggen *et al.*, 2010). Afecta principalmente a razas medianas y grandes, como Golden y Labrador Retrievers, Rottweiler, Boyero de Berna y Ovejero Alemán (Meyer-Lindenberg y otros 2002, Gemmill y Clements 2007, Burton y Owen 2008) y que también puede ocurrir en razas condrodistróficas (Tromblee, 2007). No obstante, se informa un número creciente de perros maduros que padecen esta condición (Vermote *et al.*, 2010).

La etiología de la EPCM es incierta y multifactorial. Intervienen factores genéticos, la tasa de crecimiento, aspectos nutricionales, isquemias del proceso coronoides medial (PCM), osteocondrosis, e incongruencia de la articulación radiocubital (Goldhammer *et al.*, 2010). La incongruencia radiocubital es la etiología más aceptada (Burton *et al.*, 2008, Burton y Owen, 2008, Mason *et al.*, 2008, Fitzpatrick y Russell 2009, Burton *et al.*, 2010) ya que altera las áreas de contacto articulares y modifica las fuerzas de compresión, cizallamiento y rotación trans articulares (Preston *et al.*, 2000). La excesiva presión a la que es sometido el PCM provoca fatiga que se traduce en microdaños del hueso subcondral (Danielson *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2009).

En perros esqueléticamente maduros se ha propuesto una etiología musculotendinosa secundaria producto de una sobrecarga mecánica que ejerce el complejo muscular braquial-bíceps braquial en del PCM contra la cabeza del radio al momento de la contracción muscular. (Fitzpatrick, 2006; Fisztpatrick 2009; Fitzpatrick y Yeadon, 2009; Hulse, 2008; Hulse *et al.*, 2010).

El objetivo del presente artículo es hacer una revisión bibliográfica de la etiopatogenia musculotendinosa de la EPCM mediante análisis anatómicos y biomecánicos del complejo braquial-bíceps braquial.

Complejo braquial-bíceps braquial

Las particularidades anatómicas y funcionales de la inserción de los tendones de los músculos *brachialis* y *biceps brachii* motivó que se lo denomine complejo braquial-bíceps braquial (Figura N^o1).

Músculo *biceps brachii*

El músculo bíceps braquial (*biceps brachii*) (MBB) se origina en la tuberosidad supraglenoidea del húmero por medio de un fuerte y largo tendón de origen. El tendón cruza la articulación del hombro y entra en el surco intertubercular para acceder a la superficie craneal del húmero donde el tendón se convierte en un músculo fuerte. Estudios del MBB en perros de la raza CoonHound el MBB indican que es un músculo de fibra pennada con un tendón central y un ángulo de penación de 20°. En especímenes cadavéricos el área de la sección transversal (AST) fue de 3,4 cm². En la articulación del codo, el tendón de inserción se divide en dos porciones. La mayor, se inserta en la tuberosidad ulnar, y la más pequeña en la tuberosidad radial. La tuberosidad radial se encuentra en la superficie caudomedial del radio y la tuberosidad ulnar se encuentra de 2 a 3 mm en distal al margen articular y se extiende distalmente por aproximadamente 17 mm (rango 15-20 mm) quedando definido las dimensiones del tendón de inserción. La ubicación de la tuberosidad ulnar fue de aproximadamente 12 mm (rango 10-13 mm)

caudal al borde más craneal al PCM. Esta distancia es el brazo de momento para la fuerza ejercida por el complejo bíceps-braquial (Hulse *et al.*, 2010).

El tendón de inserción del MBB se divide en dos ramas, una rama craneal principal, de mayor tamaño, se inserta en la tuberosidad radial; y, una rama caudal más delgada, se inserta en forma de una lámina ancha en la porción proximal del borde medial del PCM en la ulna. La inserción cubital penetra en la bolsa de la articulación distomedial del codo y, se dirige superficial al ligamento colateral medial, termina en una inserción en forma de abanico de proximal a distal a lo largo de un tubérculo ubicado en la base del PCM de la ulna. El segmento del tendón que se inserta en la ulna ingresa a la cavidad articular y se extiende desde inmediatamente craneal al ligamento colateral medial hasta el punto de inserción distal (Wilson *et al.*, 2012)(Figura N°1).

El MBB desempeña un papel activo en la protracción de las extremidades (Goslow *et al.* 1981). La prolongación rápida de los miembros es esencial para que los animales rápidamente alcancen altas velocidades durante la locomoción. Por lo tanto, las adaptaciones anatómicas para reducir el tiempo de prolongación son muy beneficiosas. El MBB tiene un pequeño momento en el hombro y, por lo tanto, tampoco es probable que desarrolle la fuerza suficiente para extender la extremidad por medios activos. En la articulación del codo el momento del MBB aumenta con la extensión de la articulación. Por lo tanto, el MBB puede crear su mayor momento en el codo cuando los miembros se hallan extendidos como sucede en la estación. De esta forma se permite la estabilidad del codo y del hombro cuando se carga la extremidad para evitar el colapso de la extremidad. Esta condición también significa que con el acortamiento del bíceps habría una flexión rápida del codo y una flexión más lenta del hombro, requerido para la protracción de la extremidad cuando se desplaza a mayor velocidad (Williams *et al.*, 2008).

Músculo *Brachialis*

El músculo *Braquialis*(MB) surge de la superficie caudoproximal del húmero. Recorre el surco musculoespiral. Los exámenes ecográficos determinaron que el MB es similar a un músculo de fibras paralelas y, en algunos especímenes cuenta con un pequeño tendón central. El AST se encuentra en el orden de 1,75 cm² (Hulse *et al.*, 2010). En la articulación del codo tiene una inserción principal en la base del PCM en forma de abanico abierto en distal a la rama caudal del MBB; y una porción más pequeña que se une al tendón de inserción craneal del MBB. El tendón del MB pasa entre las dos ramas del tendón del MBB rodeado por una vaina fibrosa y tejido sinovial del receso sinovial, reforzada por la rama craneal del ligamento oblicuo del codo (Villamonte-Chevalier *et al.*, 2012). La función del MB es flexionar el codo (Figura N°1).

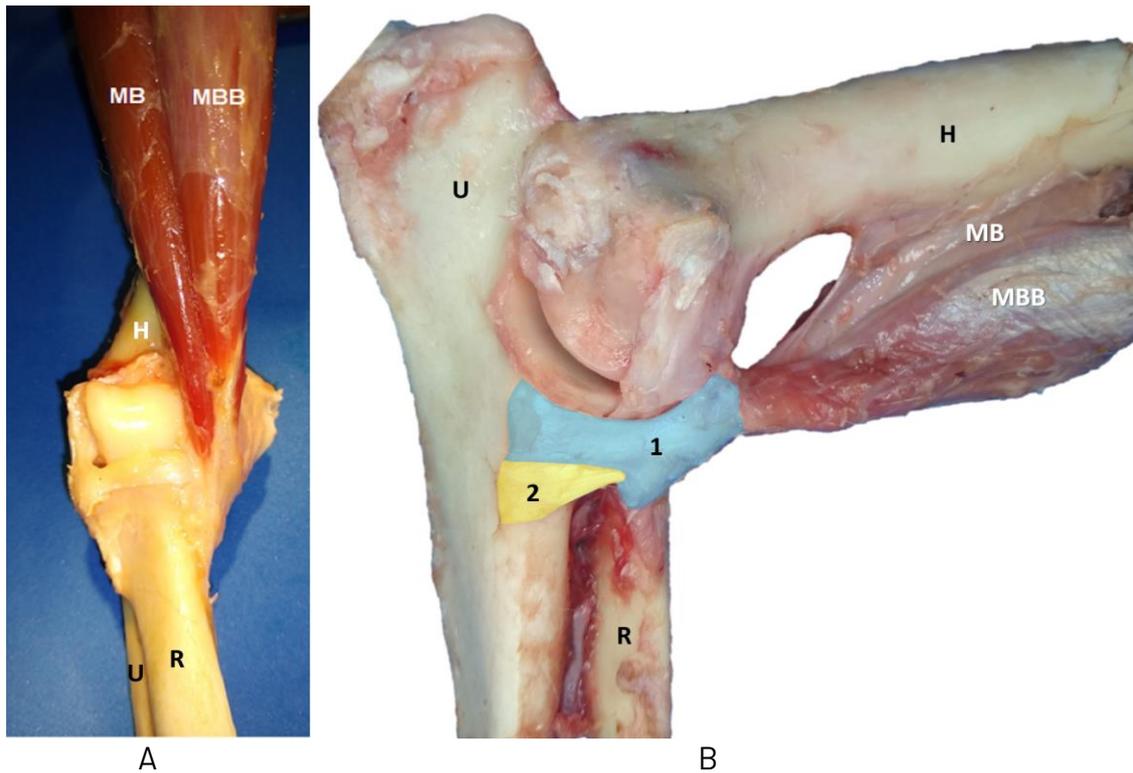


Figura N°1. Complejo braquial-bíceps braquial del perro. A) Vista dorsal del brazo, codo y antebrazo derecho donde se aprecian a los músculos brachialis (MB) y bíceps brachii (MBB); B) Características de inserción del complejo braquial-bíceps braquial: tendones del m. bíceps brachii (1) y m. brachialis (2), H) húmero, U) ulna; R) radio.

Etiopatogenia musculotendinosa de la EPCM

La etiología musculotendinosa responde al accionar del complejo braquial-bíceps braquial. Para que esta condición se produzca se ha hipotetizado que se combina la existencia de una incongruencia en el plano transversal de la incisura radio ulnar (Figura N°2) a la que se suma al momentum producido por la contracción del complejo braquial-bíceps braquial cuando se produce la flexión del codo. Bajo esta condición el complejo braquial-bíceps braquial genera una tracción excéntrica que provoca la rotación de la ulna que provoca la compresión del PCM contra la cabeza del radio (Hulse, 2008; Fitzpatrick, 2006, 2009; Fitzpatrick y Yeadon, 2009; Michelsen, 2013, Palmer, 2011).

Vekšins *et al.*, (2019) hallaron que el tendón del MBB presenta diferencias particulares de inserción en perros que padecían EPCM y animales libres de la enfermedad. En perros sanos el tendón del MBB se inserta a $1,27 (\pm 0,20)$ cm del PCM y en perros con EPCM el tendón se inserta a $1,42 (\pm 0,26)$ cm y en una posición más abaxial al PCM. Esta información señala diferencias en el brazo de momento del codo que posibilitan la presión entre el PCM y el radio.

Las fuerzas generadas por la acción combinada del complejo braquial-bíceps braquial provocan la supinación del antebrazo y a la vez generan una fuerza de cizallamiento a nivel de la cisura radio ulnar (Fitzpatrick y Yeadon, 2009). Con el tiempo, el resultado del accionar repetitivo de las fuerzas de compresión que recaen en el PCM provoca una disipación de energía a través de grietas que se generan en el hueso subcondral (Nyman *et al.*, 2009) que pueden o no provocar la fragmentación del proceso coronoides medial (FPCM). Por otra parte, en los animales en desarrollo la compresión mecánica causa alteraciones en la osificación endocondral en conformidad con la teoría de Hueter-Volkmann (Stokes, 2002).

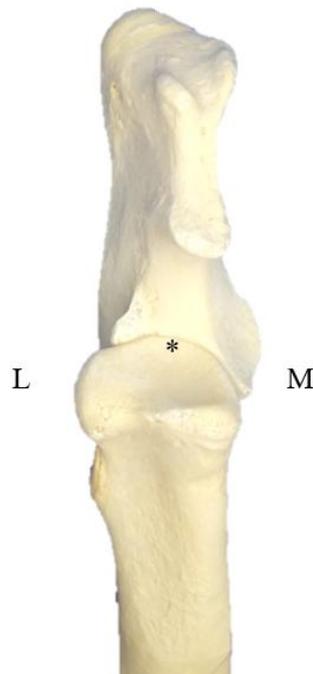


Figura Nº2. Vista dorso craneal de la superficie articular correspondiente a la ulna y radio. En ella se aprecia la incisura radio ulnar (*). Fuente propia.

DIAGNÓSTICO

Los signos y síntomas que manifiestan los perros corresponden a la EPCM con dolor y/o claudicación en uno o ambos codos, cambios artroscópicos mínimos mínimos que afectan al codo contralateral cuando la enfermedad es unilateral. Los perros a los que potencialmente se puede determinar que la etiología de la EPCM es el complejo braquial-bíceps braquial, son aquellos que en el diagnóstico por imágenes presentan fisuras sin fragmentación en la incisura radio ulnar, incongruencia manifiesta e incongruencia dinámica. Los últimos casos corresponden a animales jóvenes.

TRATAMIENTO

El tratamiento quirúrgico de esta etiología consiste en realizar tenotomía de la porción ulnar del MBB (Fitzpatrick, 2009; Hulse *et al.*, 2010; Wilson *et al.*, 2014). Los mismos autores informaron el acceso por vía de la artrotomía medial del codo para proceder a la tenotomía a caudal de la porción abaxial del PCM.

La tenotomía libera la supinación excesiva de la ulna, evita los consecuentes signos y síntomas y el progreso de la artritis hacia osteoartritis (Fitzpatrick y Danielski, 2010). Los resultados comunicados son satisfactorios para aquellos casos en donde se realizaron diagnósticos tempranos (Fitzpatrick, 2009; Fitzpatrick y Danielski, 2010). No obstante, no se cuenta con información de resultados a largo plazo, respecto si la tenotomía altera la progresión de la enfermedad, si previene la enfermedad del cartílago articular, evita la EPCM o bien la abrasión del cartílago articular (Fitzpatrick y Yeadon, 2009).

El nervio mediano discurre en una orientación proximal a distal craneal al ligamento colateral medial a medida que cruza la articulación del codo en un plano inmediatamente profundo a los músculos pronador teres y pronador superficial de la unión musculotendinosa del MBB. El nervio se ramifica a distal del codo, en una rama muscular que recorre distalmente el margen distal de la inserción cubital del tendón del

bíceps para inervar los músculos flexores digitales superficial y profundo respectivamente (Wilson *et al.*, 2014).

La íntima relación del nervio mediano con la cara medial del codo y el área anatómica de abordaje quirúrgico para realizar la artrotomía y realizar la tenotomía del MBB, motivó que Wilson *et al.* (2014) describieran la vía artroscópica para proceder a la tenotomía (Figura N°4). Luego de la tenotomía, la contracción del vientre del MBB resulta en el desplazamiento proximal del tendón seccionado. Se desconocen los resultados finales de la tenotomía, pues la capacidad biológica para la curación de los tendones y ligamentos intraarticulares se ve comprometida por la exposición al ácido hialurónico, la elevada actividad de metaloproteinasas de la matriz sinovial y el fracaso de la formación de coágulos de fibrina como andamiaje provisional dentro del espacio tisular (Sun *et al.*, 2012). El seguimiento y evolución postquirúrgica de la tenotomía es factible de realizarse por ultrasonografía empleando un transductor lineal de 18 MHz (Villamonte-Chevalier *et al.*, 2014).

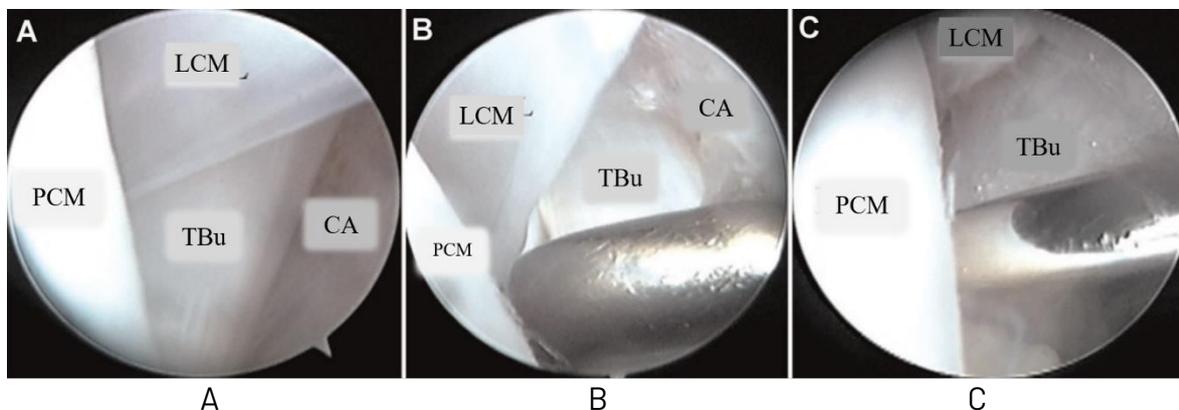


Figura N°3. Procedimiento de tenotomía por vía artroscópica del tendón del m. bíceps braquii; (A) vista artroscópica del compartimiento medial del codo observado distalmente hacia la bolsa articular distal. (B) El posicionamiento de la cámara proporciona una vista del horizonte del borde abaxial del proceso coronoides medial (PCM) y el margen libre de la porción ulnar del tendón del m. bíceps braquii (uTB) y la cápsula articular (CA). Una sonda roma eleva al ligamento colateral medial (LCM). (C) Colocación de un escalpelo de empuje meniscal colocado sobre el margen libre del uTB inmediatamente en caudal al LCM. Modificado de Wilson *et al.*, 2014.

CONCLUSIÓN

En el presente artículo se hizo revisión de los aspectos anatómicos y biomecánicos del complejo bíceps braquial-braquial como así también la forma que constituye una etiología musculotendinosa de la displasia del codo en el perro. Una etiología que la/el médica/o veterinaria/o debe considerar cuando recepcionan casos sospechosos de displasia de codo. La identificación de la etiología contribuirá a la toma de decisiones quirúrgicas oportunas.

BIBLIOGRAFÍA

- Burton, N., Owen, M. (2008). *Canine elbow dysplasia 1. Aetiopathogenesis and diagnosis*. In Practice; 30:508-512
- Burton, N.J., Perry, M.J., Fitzpatrick, N., Owen, M.R. (2010). *Comparison of bone mineral density in medial coronoid processes of dogs with and without medial coronoid process fragmentation*. American Journal of Veterinary Research, 71(1),41-46. doi: 10.2460/ajvr.71.1.41.
- Cook, C.R., Cook, J.L. (2009). *Diagnostic imaging of canine elbow dysplasia: a review*. Veterinary Surgery, 38(2),144-153. doi:10.1111/j.1532-950x.2008.00481.x

- Fitzpatrick, N. (2006). *Subtotal coronoid ostectomy (SCO) for the treatment of medial coronoid disease: A prospective study of 228 dogs (389 elbows) evaluating short and medium term outcome*. In: Proceedings British Veterinary Orthopaedic Association, Autumn Scientific Meeting—Enigmas of the Canine Elbow, Chester, UK, pp. 22-29.
- Fitzpatrick, N. (2009). *Biceps ulnar release procedure for treatment of medial coronoid disease in 49 elbows*. In: Proceedings of 36th Annual Conference, Veterinary Orthopaedic Society, Steamboat Springs, Colorado, USA, p. 44.
- Fitzpatrick, N., Yeadon, R. (2009). *Working algorithm for treatment decision making for developmental disease of the medial compartment of the elbow in dogs*. *Veterinary Surgery* 38(2), 285-300. doi: 10.1111/j.1532-950X.2008.00495.x.
- Fitzpatrick, N., Smith, T.J., Evans, R.B., Yeadon R. (2009). *Radiographic and arthroscopic findings in the elbow joints of 263 dogs with medial coronoid disease*. *Veterinary Surgery*, 38(2),213-223. doi:10.1111/j.1532-950X.2008.00489.x
- Fitzpatrick, N., Yeadon, R. (2009). *Working algorithm for treatment decision making for developmental disease of the medial compartment of the elbow in dogs*. *Veterinary Surgery* 38(2),285-300.
- Fitzpatrick, N., Danielski, A. (2010). *Biceps ulnar release procedure for the treatment of medial coronoid disease in 164 elbows*. British Veterinary Orthopedic Association. 22-24 Nov. 2010, Dublin, Ireland. pag 72-73.
- Gemmill, T.J., Clements, D.N. (2007). *Fragmented coronoid process in the dog: is there a role for incongruency?*. *The Journal of Small Animal Practice*; 48(7),361-368. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2007.00320.x>
- Gemmill, T.J., Mellor, D.J., Clements, D.N., Clarke, S.P., Farrell, M., Bennett, D., Carmichael, S. (2005). *Evaluation of elbow incongruency using reconstructed CT in dogs suffering fragmented coronoid process*. *Journal of Small Animal Practice*, 46(7):327-333. doi:10.1111/j.1748-5827.2005.tb00328.x.
- Goldhammer, M.A., Smith, S.H., Fitzpatrick, N., Clements, D.N. (2010). *A comparison of radiographic, arthroscopic and histological measures of articular pathology in the canine elbow joint*. *Veterinary Journal*, 186(1),96-103. doi: 10.1016/j.tvjl.2009.07.025
- Goslow, G.E., Jr Seeherman, H.J., Taylor, C.R., McCutchin, M.N., Heglund, N.C. (1981). *Electrical activity and relative length changes of dog limb muscles as a function of speed and gait*. *Journal Experimental Biology*. 94:15-42.
- Hazewinkel H. (2002). *The clinical diagnosis of elbow dysplasia*. In: Proceedings 13th Annual Meeting International Elbow World Group. Granada, Spain.
- Hulse, D. (2008). *Co-contraction of the biceps/brachialis muscle complex produces a rotational moment which may induce fragmentation/microfracture of the medial coronoid*. In: Proceedings of the American College of Veterinary Surgeons Symposium, San Diego, USA, p. 466
- Hulse, D., Young, B., Beale, B., Kowaleski, M., Vannini, R. (2010). *Relationship of the biceps-brachialis complex to the medial coronoid process of the canine ulna*. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 23(3),173-176 doi:10.3415/VCOT-09-06-0063
- Mason, D.R., Schulz, K.S., Fujita Y., Kass, P.H., Stover, S.M. (2008). *Measurement of humeroradial and humeroulnar transarticular joint forces in the canine elbow joint after humeral wedge and humeral slide osteotomies*. *Veterinary Surgery*, 37(1), 63-70. doi:10.1111/j.1532-950x.2007.00349.x
- Michelsen, J. (2013). *Canine elbow dysplasia. Aetiopathogenesis and current treatment recommendations*. *Veterinary Journal*. 196(1):12-19. doi: 10.1016/j.tvjl.2012.11.009
- Meyer-Lindenberg, A., Langhann, A., Fehr, M., Nolte, I. (2002). *Prevalence of fragmented medial coronoid process of the ulna in lame adult dogs*. *Veterinary Record*; 151:230-234
- Nyman, J.S., Leng, H., Neil Dong, X., Wang, X. (2009). *Differences in the mechanical behavior of cortical bone between compression and tension when subjected to progressive loading*. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2(6):613-619. doi:10.1016/j.jmbbm.2008.11.008
- Palmer, R.H. (2011). *BURP: Arthroscopy vs. mini-arthrotomy*. In: Proceedings of the American College of Veterinary Surgeons Symposium, Chicago, USA, pp. 120-122.
- Samoy, Y., Gielen, I., van Bree, H., Van Ryssen, B. (2011). *Dysplastic elbow diseases in dogs*. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 80(5):327-338.
- Sun, L., Zhou, X., Wu, B., Tian, M. (2012). *Inhibitory effect of synovial fluid on tendon-to-bone healing: an experimental study in rabbits*. *The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*; 28(9):1297-1305. doi: 10.1016/j.arthro.2012.02.017

- Tromblee, T.C., Jones, J.C., Bahr, A.M., Shires, P.K., Aref, S. (2007). *Effect of computed tomography display window and image plane on diagnostic certainty for characteristics of dysplastic elbow joints in dogs*. American Journal of Veterinary Research; 68: 858–871.
- van Bruggen, L.W.L, Hazewinkel, H.A.W, Wolschrijn, C.F., Voorhout, G., Pollak, Y.W.E.A., Barthez, P.Y. (2010). *Bone scintigraphy for the diagnosis of an abnormal medial coronoid process in dogs*. Veterinary Radiology & Ultrasound; 51:344–348
- Vekšins, A., Kozinda, O. (2018). *Assessment of maximum cross-sectional area and volume of the canine biceps brachii – brachialis muscles*. Rural Sustainability Research, 40(335) 28-31. <https://doi.org/10.2478/plua-2018-0008>
- Vekšins, A., Kozinda, O., Sandersen, C. (2019). *Computed tomographic morphometry of the biceps brachii muscle tendon of dogs affected by the medial coronoid disease*. Anatomy, Histology, Embryology, 49(2):196-202. doi: 10.1111/ahe.12513.
- Vermote, K.A.G., Bergenhuyzen, A.L.R, Gielen, I., van Bree, H., Duchateau, L., van Ryssen, B. (2010). *Elbow lameness in dogs of six years and older: arthroscopic and imaging findings of medial coronoid disease in 51 dogs*. Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology; 23:43–50
- Villamonte-Chevalier, A., Soler, M., Sarria, R., Agut, A., Latorre, R. (2012). *Anatomical study of fibrous structures of the medial aspect of the canine elbow joint*. Veterinary Record, 171(23), 596–596. doi:10.1136/vr.100981
- Villamonte-Chevalier, A.A., Soler, M., Sarria, R., Agut, A., Gielen, I., Latorre, R. (2014). *Ultrasonographic and anatomic study of the canine elbow joint*. Veterinary Surgery, 44(4):485–493. doi:10.1111/j.1532-950x.2014.12249.x
- Williams, S.B., Wilson, A.M., Daynes, J., Peckham, K., Payne, R.C. (2008). *Functional anatomy and muscle moment arms of the thoracic limb of an elite sprinting athlete: the racing greyhound (Canis familiaris)*. Journal Anatomy 213:373–382. doi: 10.1111/j.1469-7580.2008.00962.x
- Wilson, D.M., Goh, C.S.S., Palmer, R.H. (2014). *Arthroscopic biceps ulnar release procedure (BURP): technique description and in vitro assessment of the association of visual control and surgeon experience to regional damage and tenotomy completeness*. Veterinary Surgery. 43:734–740. doi:10.1111/j.1532-950X.2014.12127.x

Presentación de un caso de artrogriposis en un felino

Sosa, R.A.¹; Vaquero, P.G.²; Mancuso, A.S.³ y Sosa R.E.⁴

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional De Río Negro. Pacheco 460. Choele Choel, Río Negro (8360). asosa@unrn.edu.ar

²Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional De Río Negro. Pacheco 460. Choele Choel, Río Negro. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 y 116, General Pico

³Clínica Veterinaria Aarón. Actividad Privada. Villegas 487. Santa Rosa, La Pampa, Argentina

⁴Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 esquina 116. General Pico, La Pampa.

RESUMEN

La artrogriposis es una malformación congénita caracterizada por un disturbio locomotor, frecuentemente observada en el sistema muscular de los animales; posee una distribución mundial y se caracteriza por la contracción permanente de los miembros en flexión o extensión y atrofia muscular. El origen de esta enfermedad es desconocido, pero se la atribuye a cualquier situación que conduzca a disminución del movimiento en el útero, incluida la hipotonía prolongada, puede derivar en contracturas congénitas articulares. En este trabajo se describe la presentación de esta patología en un paciente felino de 8 meses de edad que acudió a consulta con dificultad en la deambulación causada por una deformación bilateral a nivel del tarso. Se realizaron radiografías de los tarsos evidenciándose la anormalidad de los mismos.

Palabras clave: artrogriposis, felino, tarso, congénita.

Presentation of a case of arthrogryposis in a feline

ABSTRACT

Arthrogryposis is a congenital malformation characterized by locomotor disturbance, frequently observed in the muscular system of animals. It has a worldwide distribution and is characterized by permanent contraction of the limbs in flexion or extension and muscular atrophy. The origin of this disease is unknown, but it is attributed to any situation that leads to decreased movement in the uterus, including prolonged hypotonia, which can lead to congenital joint contractures. Surgical treatment called joint arthrodesis was indicated to correct the angulation of the tarsal joint. This paper describes the presentation of this pathology in an 8-month-old feline patient that came to the clinic consulting room with difficulty in walking caused by a bilateral deformity at the level of the tarsus. X-rays of the tarsi were performed, evidencing their abnormality.

Keywords: arthrogryposis, feline, tarsus, congenital.

INTRODUCCIÓN

El término artrogriposis múltiple congénita o contracturas articulares congénitas múltiples, se describió por primera vez en el año 1841 por el alemán Adolph Wilhelm Otto (Otto y Peltier, 1985), como una miodistrofia (Hall, 1997). La palabra *artro* proviene de *articulación*; por su parte *gryp* se refiere a *curva*). La incidencia de presentación en seres humanos es de 1/1000 nacimientos vivos (Lee, 2005).

La etiología de la artrogriposis es desconocida. Se han propuesto múltiples factores siendo en algunos casos atribuida a un defecto primario de los músculos o más frecuentemente, a una lesión primaria del sistema nervioso central, caracterizándose por la atrofia muscular. Ésta es consecuencia de la ausencia de neuronios en las astas ventrales de la médula y desmielinización de los nervios motores, pudiendo afectar a los miembros anteriores, posteriores (bimelia) o a los cuatro miembros (tetramelia). Se describen también causas genéticas asociadas a un gen autosómico recesivo y ambientales (Cardona Álvarez *et. al*, 2012). Con respecto a las causas ambientales se propone un aumento en la presión intrauterina disminuyendo la movilidad fetal (Cepero, 1993).

En estudios en animales y en humanos se ha observado que cualquier situación que conduzca a disminución del movimiento en el útero, incluida la hipotonía prolongada, puede derivar en contracturas congénitas articulares (Quiroz y Rebollar, 2019).

Desde el punto de vista anatomopatológico se observa aplasia e hipoplasia de las fibras musculares. Estas se encuentran reemplazadas por fibras conjuntivas. En ocasiones existe degeneración grasa del tejido muscular, cápsula articular con aumento en su espesor y fibrosis secundaria por inactividad durante el desarrollo fetal. La cápsula articular aparece acortada en su longitud. Existe en ocasiones luxación de la articulación de la cadera y rodilla, así como deformaciones de los miembros (Castro, 1956).

El diagnóstico se fundamenta principalmente en un examen clínico detallado y evaluación del correcto funcionamiento neurológico. También pueden utilizarse exámenes complementarios, como radiografías donde se puede observar deformidades en calcáneo valgo o metatarsos aductos y fusión de los huesos del tarso (Quiroz y Rebollar, 2019).

Los diagnósticos diferenciales, como pruebas toxicológicas e histológicas se realizan en caso de sospecha de alguna etiología viral.

El tratamiento se debe iniciar precozmente, en la primera semana de nacido, teniendo como objetivo corregir las deformaciones descritas. Se logra mediante maniobras delicadas, repetidas frecuentemente y aplicando férulas que sostengan la articulación, de esta manera se va logrando la corrección paulatinamente. En individuos mayores el tratamiento es quirúrgico (Castro 1956).

El objetivo de este trabajo es realizar el reporte de un paciente felino que acudió a consulta con artrogriposis bilateral, pudiendo resultar de interés debido a que no existen estadísticas correspondientes a la prevalencia de dicha afección en esta especie.

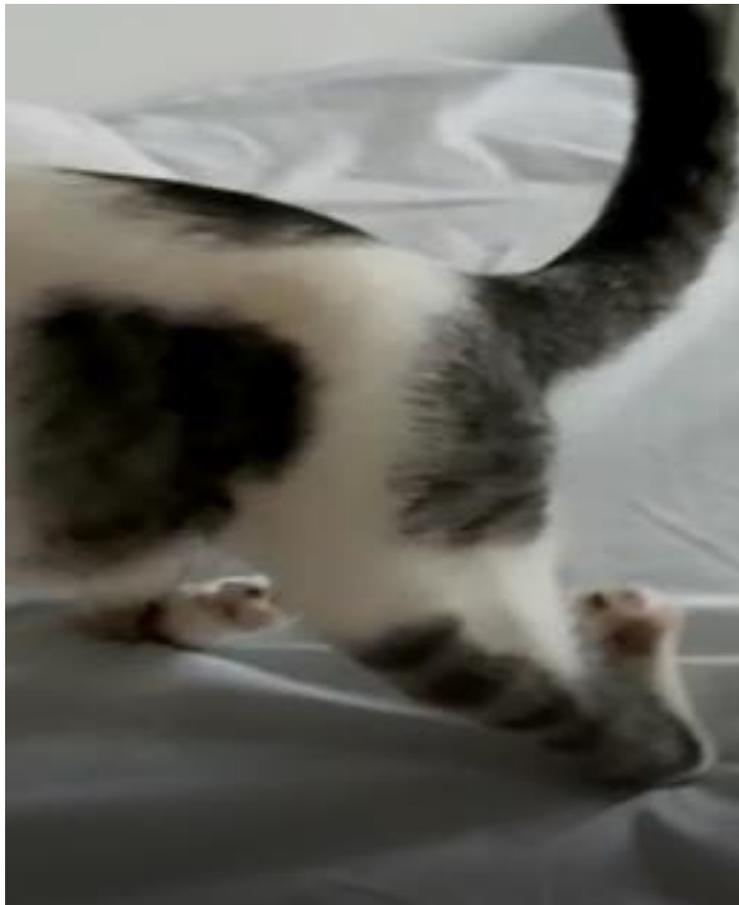
Presentación del caso

Se presentó a la consulta un felino hembra de raza europeo de 1,3 kg de peso, 8 meses de edad. Su propietaria aporta como dato anamnésico la dificultad del cachorro en la

deambulaci3n de los miembros posteriores, desde el nacimiento y siendo m1s evidente cuando comenz3 a caminar apoyando el dorso de los mismos, lo cual conduc3a a que la piel de esa zona se encontrara eritematosa. A la revisaci3n cl3nica evidenci3 dificultad en la deambulaci3n causada por una deformaci3n bilateral a nivel del tarso. Durante el examen cl3nico, se encontr3 hiperextensi3n tarsal bilateral y movimiento limitado de las articulaciones involucradas. La evaluaci3n neurol3gica confirm3 del correcto funcionamiento neurol3gico. El paciente cargaba peso en la cara dorsal del tarso y metatarso, presentando una desviaci3n de los miembros hacia medial (figura N31). Se realizaron radiol3gicas de los tarsos evidenci1ndose la anormalidad de los mismos. Se sugiere al propietario realizar la artrodesis para corregir la desviaci3n angular de los miembros posteriores.

La propietaria menciona que en la misma camada naci3 un cachorro muerto y otro con una desviaci3n angular que le afectaba un solo miembro.

Figura N31



Puede observarse el mal posicionamiento de los miembros posteriores.

Figura N° 2



Radiografía latero-lateral de miembro posterior izquierdo, de la zona tibio tarsal. Se observa un patrón geográfico en los huesos astrágalo y calcáneo con una desviación angular hacia posterior con inicio en la articulación intertarsal.

Figura N° 3



Radiografía dorsopalmar de miembro posterior izquierdo, de la zona tibio tarsal proyección. Se observa una desviación angular hacia lateral con inicio en la articulación intertarsal.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

No existe en la bibliografía actual la descripción de ningún caso en la especie felina con artrogriposis.

Existen estudios donde no se pudo relacionar señales claras de asociación entre fenotipo y marcadores genéticos para esta patología utilizando un modelo de regresión logística en casos de bovinos de raza piamontesa (Biscarini *et al.*, 2013).

En los Estados Unidos, la aparición de artrogriposis en caprinos está asociada con la ingestión de plantas que contienen alcaloides, que causan un aumento de temperatura durante la gestación (Panter *et al.*, 1990).

Algunos autores como Radostits *et al.* (2007), informa que muchas malformaciones ocurren en forma esporádica sin que estén asociados a alguna causa específica.

En este caso los autores desconocen la causa, que produjo la patología, pero algunos datos anamnésticos sugieren que podrían ser de tipo genéticos ya que el paciente presentó la patología desde el nacimiento y se pudo corroborar que nacieron otros dos hermanos; uno nació muerto y el otro presentó la misma malformación en un solo miembro posterior.

Se sugirió a la propietaria a realizar la intervención quirúrgica a los miembros afectados, ya que para realizar un tratamiento conservador era demasiado tarde dada la cronicidad del caso.

BIBLIOGRAFÍA

- Cardona Álvarez, J., Montes Vergara, D.; Perdomo Ayola, S. (2012). Artrogriposismetacarpofalangica bilateral en un mular (eqqusmulus). Reporte de un caso clínico. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 4(2), 498-505.
- Biscarini, F., Del Corvo, M., Stella, A., Albera, A., Ferencakovic, M., & Pollott, G. (2013). Búsqueda de las mutaciones causales para artrogriposis y macroglosia en vacuno de raza piemontesa: Resultados preliminares. Proceedings of the XV Jornadas sobre Producción Animal, Zaragoza, Spain, 14-15.
- Castro, V. M. (1956). Artrogriposis múltiple congénita (Lewin). *Revista de la Facultad de Medicina*, 24(4), 281-293.
- Cepero, C. S. (1993). Artrogriposis multiple congenita: Estudio clinico y experimental.
- Hall, J. G. (1997). Arthrogryposis multiplex congenita: etiology, genetics, classification, diagnostic approach, and general aspects. *Journal of pediatric orthopedics*. Part B, 6(3), 159-166
- Hall, J. G., & Kiefer, J. (2016). Arthrogryposis as a syndrome: gene ontology analysis. *Molecular syndromology*, 7(3), 101-109.)
- Lee, H. S. (2005). Amyoplasia congenita of the lower extremity: report in a premature baby. *Yonsei Medical Journal*, 46(4), 567-570.
- Otto, A. W., ; Peltier, L. F. (1985). A human monster with inwardly curved extremities. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 194, 4-5.
- Panter, K.E.; Bunch, T.D.; Keeler, R.F. et al. Multiple congenital contractures (MCC) and cleft palate induced in goats by ingestion of piperidine alkaloid-containing plants: reduction in fetal movement as the probable cause. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, v.28, p. 69-83, 1990
- Quiroz, P. Á., ; Rebollar, E. Y. (2019). Abordaje clínico y diagnóstico de la artrogriposis. *Acta Pediátrica de México*, 40(1), 44-50.
- Radostits, O.; Gay, C.; Hinchcliff, K.; Constable, P. 2007. *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 10th ed. Ed. Saunders Elsevier, Philadelphia
- Riet Correa, F. (1989). Diagnóstico diferencial de las enfermedades del sistema nervioso de los bovinos en el Uruguay y Río Grande del Sur. *XVII Jornadas Uruguayas de Buiatría*.

Presentación del síndrome de malformación occipital caudal en un canino.

Vaquero, P.G.¹; Alvarez, M.² y Audisio, S.A.³

¹Profesor Adjunto Cátedra Técnica Quirúrgica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional De Río Negro. Pacheco 460. Choele Choel, Río Negro. Jefe De Trabajos Prácticos Cátedra Técnica y Patología Quirúrgica, Jefe De Trabajos Prácticos Clínica De Pequeños Animales Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 y 116, General Pico (6060), La Pampa, Argentina. pvaquero@vet.unlpam.edu.ar

²Médico Veterinario Graduado, Actividad Privada Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 y 116, General Pico (6060), La Pampa, Argentina.

³Profesor Adjunto cátedra Técnica y Patología Quirúrgica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 y 116, General Pico (6060), La Pampa, Argentina.

RESUMEN

Se presentó a la consulta un canino de raza chihuahueño de 3 meses de edad con Ataxia hiperestesia, alodinia y rascado fantasma (tendencia a rascarse en la región cervical, hombro o cara sin que llegue a haber contacto). Se realizó hemograma, urianálisis y serología los cuales arrojaron resultados normales y fueron negativo a Toxoplasmosis y Neosporosis. Se le indicó una radiografía de la región craneal, bajo sedación, con incidencias radiográficas oblicuas rostradorsal y caudo-ventral del cráneo, observándose una malformación sobre el hueso occipital. El síndrome de malformación occipital caudal es una entidad clínica derivada de una malformación de la fosa craneal caudal que puede ocasionar protrusión cerebelar. Cuando el cerebelo, órgano encargado de controlar el equilibrio y la coordinación neuromuscular, desciende a través del *foramen magnum* y comprime el tronco encefálico provocando una herniación cerebral de la parte más caudal de este a través del foramen magno. La salida del cerebelo, y a veces incluso del tronco del encéfalo, pueden producir alteraciones en la dinámica de flujo normal del líquido cefalorraquídeo, llegando a originar cavidades denominadas siringomegalia. Esta patología es de pronóstico reservado ya que depende de la evolución de la lesión medular progresiva. Se instauró el tratamiento médico con prednisolona 10 mg/Kg mejorando inicialmente la sintomatología se indicó realizar el tratamiento quirúrgico sugiriendo la técnica de craniectomía subtotal occipital con durotomía.

Palabras clave: hipoplasia occipital, ataxia cerebelosa, herniación cerebelar

Presentation of caudal occipital malformation syndrome in a canine

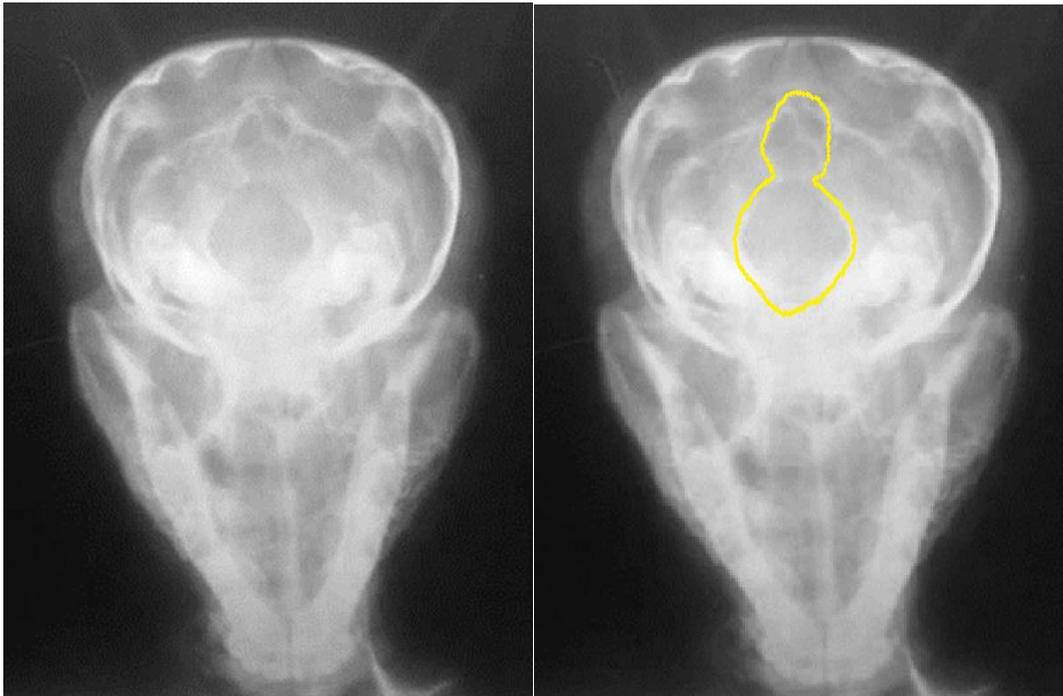
ABSTRACT

A 3-month-old chihuahua dog presented to the consultation with ataxia hyperesthesia, allodynia and phantom scratching (tendency to scratch the cervical region, shoulder or

face without contact). Hemogram, urinalysis and serology were performed, which yielded normal results and were negative for Toxoplasmosis and Neosporosis. An X-ray of the cranial region was indicated, under sedation, with oblique radiographic incidences of the face-dorsal and caudo-ventral part of the skull, showing a malformation on the occipital bone. Caudal occipital malformation syndrome is a clinical entity derived from a malformation of the caudal cranial fossa that can cause cerebellar protrusion. When the cerebellum, the organ responsible for controlling balance and neuromuscular coordination, descends through the foramen magnum and compresses the brain stem, causes brain herniation of the most caudal part of the brain through the foramen magnum. The output of the cerebellum, and sometimes even of the brainstem, can produce alterations in the normal flow dynamics of the cerebrospinal fluid, leading to the origin of cavities called syringomegaly. This pathology has a reserved prognosis since it depends on the evolution of the progressive spinal cord injury. Medical treatment with prednisolone 10 mg/Kg was established, initially improving the symptoms. Surgical treatment was indicated, suggesting the technique of subtotal occipital craniectomy with durotomy.

Keywords: occipital hypoplasia, cerebellar ataxia, cerebellar herniation.

Figura N°1



Radiografía craneana con incidencia rostro-dorsal/caudo-ventral del paciente, evidenciando la anomalía del foramen magno (imágenes propias).

Video N°1



Video de la marcha del paciente. Enlace en:
<https://drive.google.com/file/d/10qWEGbhNidUjo1Ey8rDZYkIDoyHMTzYu/view?usp=sharing>