



# LIBRO DE ACTAS

**XV REUNIÓN  
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
ANATOMÍA PATOLÓGICA VETERINARIA**

**Córdoba 4-6 de Junio de 2003**

ORGANIZADA POR

DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y  
ANATOMÍA PATOLÓGICA COMPARADAS

FACULTAD DE VETERINARIA

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



## **COMITÉ ORGANIZADOR:**

D. Amador Jover Moyano  
D. Alfonso Blanco Rodríguez  
D. Tomás Moyano Navarro  
D. Miguel Angel Sierra Plana  
D<sup>a</sup>. Elena Mozos Mora  
D. Aniceto Méndez Sánchez  
D<sup>a</sup>. Juana Martín de las Mulas González-Albo  
D. Librado Carrasco Otero  
D. José Carlos Gómez Villamandos  
D. José Pérez Arévalo  
D<sup>a</sup>. María José Bautista Pérez  
D. Pedro Sánchez Cordón  
D<sup>a</sup>. Patricia García Carmona  
D<sup>a</sup>. Mari Paz Martín Hernando  
D. Javier Ordás Bustamante  
D<sup>a</sup>. Jessica Nineth Gutiérrez Godínez  
D. Alejandro Núñez Castel  
D<sup>a</sup>. María del Mar Fernández de Marco  
D. Rafael Zafra Leva  
D<sup>a</sup>. Esther López Párraga

## **COMITÉ CIENTÍFICO:**

D. Amador Jover Moyano  
D. Alfonso Blanco Rodríguez  
D. Tomás Moyano Navarro  
D. Miguel Angel Sierra Plana  
D<sup>a</sup>. Elena Mozos Mora  
D. Aniceto Méndez Sánchez  
D<sup>a</sup>. Juana Martín de las Mulas González-Albo  
D. Librado Carrasco Otero  
D. José Carlos Gómez Villamandos  
D. José Pérez Arévalo  
D<sup>a</sup>. María José Bautista Pérez

**ENTIDADES COLABORADORAS:**

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD DE VETERINARIA

JUNTA DE ANDALUCÍA

EXCMO. AYUNTAMIENTO DE CÓRDOBA

EXCMA. DIPUTACIÓN PROVINCIAL DE CÓRDOBA

CAJASUR

DAKOCYTOMATION

PHILIPS IBÉRICA

REGO & CÍA (GRUPO IZASA)

PACISA & GIRALT

LEICA, S.A.

ALBUS, S.A.

COPISTERÍA DON FOLIO

## **INDICE**

|  |   |
|--|---|
| Programa de Actividades                | - |
| Programa Científico                    | - |
| Resúmenes de las Ponencias.            | - |
| Resúmenes de las Conferencias          | - |
| Resúmenes de las Comunicaciones Orales | - |
| Resúmenes de las Comunicaciones Póster | - |
| Resúmenes de los Casos Clínicos        | - |

## PROGRAMA DE ACTIVIDADES

### Miércoles 4 de Junio de 2003

18'00 horas.- Entrega de Documentación en el Aula Magna. Campus Universitario de Rabanales.

20'00 horas.- Inauguración de la XV Reunión de la SEAPV en la Exma. Diputación Provincial de Córdoba.

### Jueves 5 de Junio de 2003

9'00 h. The pathogenesis, pathology and diagnosis of deep-seated bovine mycoses. Professor Dr. Henrik Elvang Jensen, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Dinamarca.

10'00 h. Comunicaciones libres.

11'15 h. Café-Pausa.

11'45 h. Nuevos avances en el carcinoma inflamatorio de la mama canina. Prof. Laura Peña. Facultad de Veterinaria. Madrid.

12'30 h. Comunicaciones libres.

14'00 h. ALMUERZO

15'30 h. Visita a la Biblioteca del Campus Rabanales

16'00 h. Varamiento masivo de zifios en las islas canarias durante las maniobras navales "neotapón 2002" a cargo del Prof.Dr. Antonio Fernández Rodríguez. Facultad de Veterinaria de las Palmas.

17'00 h. Comunicaciones libres.

19'00 h. Asamblea de la SEAPV.

21'00 h. Visita guiada a la Mezquita-Catedral.

22'00 h. Cena en el Hotel Hesperia

### Viernes 6 de Junio de 2003

9'00 h. Enfermedades Emergentes en Pequeños Rumiantes a cargo del Prof. Marcelo de las Heras. Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

10'00 h. Comunicaciones libres.

11'15 h. Café-Pausa.

11'45 h. New aspects of the pathology, pathogenesis and aetiology of disseminated lung lesions in slaughter pigs. Professor Dr. Henrik Elvang Jensen, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Dinamarca.

12'30 h. Comunicaciones libres.

14'00 h. Almuerzo.

15'30 h. Visita al Hospital Clínico Veterinario.

16'00 h. Docencia en Histología y Anatomía Patológica a cargo del Prof.Dr Martí Pumarola. Facultad de Veterinaria de Barcelona.

17'00 h. Comunicaciones libres.

20'00 h. Visita al Jardín Botánico

21'30 h. Cena de Clausura en el Castillo de la Albaida

## PROGRAMA CIENTÍFICO

### Jueves 5 de Junio de 2003

9'00 h. **Ponencia primera: The pathogenesis, pathology and diagnosis of deep-seated bovine mycoses.** Prof. Dr. Henrik Elvang Jensen, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Dinamarca.  
**Moderadores: Profs. Antonio Bernabé y Librado Carrasco.**

10'00 -11'15 h **Primera sesión de comunicaciones: Enfermedades víricas.**  
**Moderadores: Profs. José C. Gómez y F. Javier Salguero**

**1. VALORACIÓN DE DIFERENTES NÓDULOS LINFÁTICOS, BAZO Y PLACA DE PEYER PARA EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DE CIRCOVIROSIS PORCINA**

M. Muñoz, M.J. García Iglesias, J.F. García Marín

**2. MIELITIS COMO ÚNICA LESIÓN NERVIOSA ASOCIADA A MAEDI-VISNA EN TRES OVINOS CON SINTOMATOLOGÍA NERVIOSA.**

J. Benavides, M<sup>a</sup>.C. Ferreras, M. Fuertes, C. García-Pariente, R. A. García, J. F. García Marín, V. Pérez.

**3. DIAGNOSTICO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME OVINA (SCRAPIE O TEMBLADERA) DESDE ENERO DE 1996 A MAYO DE 2003**

M. Fuertes; R.A. García-Fernández; M.C. Ferreras; C. García-Pariente; V. Pérez; J. Benavides; L.E. Reyes; J. González; J.F. García-Marín.

**4. DETECCIÓN DE PrPsc EN MUESTRAS DE TEJIDO NERVIOSO CENTRAL CON UN AVANZADO ESTADO DE AUTOLISIS (ESTADO LÍQUIDO)**

E. Monleón, M. Monzón, P. Hortells, A. Vargas, J.J. Badiola.

**5. SÍNDROME DE LA LIEBRE PARDA EUROPEA (EBHS) EN UNA LIEBRE NORTEÑA (*Lepus europaeus*) DEL PIRINEO ARAGONÉS**

D. Fernández de Luco; M.C. Arnal; C. Gortázar y D. Gavier-Widen

**6. PESTIVIROSIS DEL SARRIO / ISARD (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*) ¿UNA ENFERMEDAD NUEVA O DESCONOCIDA?**

D. Fernández de Luco; M.C. Arnal; L. Riba; M. Maley y P. Nettleton

11'45 h. **Nuevos avances en el carcinoma inflamatorio de la mama canina.** Prof. Laura Peña. Facultad de Veterinaria. Madrid.

**Moderadoras: Profs. Juana M<sup>a</sup> Flores y Juana Martín de las Mulas**

12'30 – 14'00 h. **Segunda sesión de comunicaciones: Neoplasias.**

**Moderadores: Profs. Martí Pumarola y Antonio Espinosa de los Monteros**

**7. TENASCIN-C EXPRESSION IN NORMAL, ATROPHIC, HYPERPLASTIC AND NEOPLASTIC CANINE PROSTATE GLAND.**

C.T. Frias , H. Nederbragt

**8. CARACTERIZACION DE LAS NEOPLASIAS PRESENTADAS POR RATONES NULOS PARA LOS GENES P16,P19ARFY P21.**

J. Martín-Caballero, P. García, M. Serrano. J.M<sup>a</sup>. Flores

**9. MASTOCITOMA VISCERAL EN UN PERRO**

D. Rigaut, A. Nieto, E. Martínez, M. Castaño, M. Rodríguez

**10. DIVERSIDAD Y HETEROGENEIDAD CELULAR EN TUMORES DE VAINA NERVIOSA: CARACTERIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA.**

C. Costa, E. Vidal, R. Tortosa, M. Pumarola y J.M. Vela

**11. NEUROLINFOMATOSIS EN UNA GATA**

R. Tortosa, C. Aparici, C Costa, J. M. Vela, E. Vidal y M.Pumarola.

**12. ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO Y VALORACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DEL TUMOR INTRANASAL ENZOÓTICO EN OVINOS DE LA REGIÓN CASTELLANO-LEONESA.**

M. P. Rúa, V. Pérez, M. C. Ferreras, J. F. García Marín.

**13. CANINE MAMMARY COMPLEX TUMOURS: A TRIPLE IMMUNOSTAINING ASSESSMENT WITH CYTOKERATIN, Ki-67 AND MUSCLE-SPECIFIC ACTIN.**

Dias I., Gärtner F

16'00 h. **Conferencia: Varamiento masivo de zifios en las Islas Canarias durante las maniobras navales “neotapón 2002”.** Prof. Antonio Fernández Rodríguez. Facultad de Veterinaria de las Palmas de Gran Canaria.

**Moderadores: Profs. Luis Gómez y Ana M<sup>a</sup> Bravo**

17'00 – 18'00 h. **Tercera sesión de comunicaciones: Enfermedades víricas.**

**Moderadores: Profs. María Castaño y Manuel Pizarro**

**14. ESTUDIO GEOANATÓMICO DE LA PRESENCIA DE PROTEÍNA PRIÓN EN OVINOS POSITIVOS A SCRAPIE.**

Bolea, R; Monleón, E; Acín, C; Vargas, F; Hortells, P; Martín-Burriel, I y Badiola, J.J.

**15. EVALUACIÓN DE LA VACUNA INGELVAC® PRRS ATP FRENTE A LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA INDUCIDA POR TRES CEPAS HETERÓLOGAS DEL VIRUS DEL PRRS ALTAMENTE VIRULENTAS**

F.J. Pallarés, P.G. Halbur, E. Thacker, T. Opriessnig, A. Vincent, D. Nilubol, A. Muñoz

**16. EXPRESIÓN DE IFN $\gamma$  POR LAS POBLACIONES DE LINFOCITOS DE BAZO Y TIMO DURANTE LA PESTE PORCINA CLÁSICA.**

P.J. Sánchez-Cordón, M.J. Bautista, A. Núñez, F.J. Salguero, M. Pedrera y J.C. Gómez-Villamandos.

**17. LOS MACRÓFAGOS PULMONARES EN LA PESTE PORCINA CLÁSICA EXPERIMENTAL.**

A. Núñez, P.J. Sánchez-Cordón, F.J. Salguero, A. Jover, J.C. Gómez-Villamandos y L. Carrasco.

**18. DIAGNÓSTICO PRECLÍNICO DE SCRAPIE EN OVEJAS Y CABRAS MEDIANTE BIOPSIA DE TERCER PÁRPADO**

F. Vargas; R. Bolea; C. Acín; E. Monleon; P. Hortells, Luján L y J. Badiola.

18'00 -19'00 h. **Cuarta sesión de comunicaciones: Patología de animales exóticos y silvestres.**

**Moderadores: Profs. Elena Mozos y Valentín Pérez**

**19. LESIONES MACROSCÓPICAS OBSERVADAS EN AVES MARINAS RECOGIDAS EN LAS COSTAS GALLEGAS TRAS EL VERTIDO DE PETRÓLEO DEL BUQUE “PRESTIGE”**

Virginia Santamaría, José L.Cascallana, Ceferino López, Lucas Moya, Javier Balado y Ana Bravo .

**20. CUADRO LESIONAL OBSERVADO EN LAS AVES MARINAS HALLADAS EN LAS COSTAS ASTURIANAS COMO CONSECUENCIA DEL VERTIDO DEL PRESTIGE.**

Balseiro A., Espí A., Márquez I., Ferreras M.C., Pérez V. , García Marín F., Prieto J.M.

**21. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO EN RAPACES**

Martín, M.P.; Aguilar, J.M ; Quevedo, M.A. ; Zafra, R. ; Méndez A. , Mozos, E.

**22. UVEITIS GRANULOMATOSA TUBERCULOSA EN UN LINCE IBÉRICO (*Lynx pardinus*).**

B. Sánchez , M. Galka , A. Benito, A. Rodríguez, E.V. Martín , F. Sanz , P. García, P. Fernández , C. Sánchez , L. Peña

**23. PATOLOGÍA FORENSE APLICADA AL ESTUDIO DE CABEZAS DE CIERVOS CAZADOS EN EPOCA DE VEDA Y SU REPERCUSIÓN SOBRE EL FURTIVO.**

A. Méndez, V. Sánchez-Llanzón, J.L. Méndez, L. Matres, E. Mozos, J. Pérez.

### Viernes 6 de Junio de 2003

9'00-10'00 h. **Conferencia: Enfermedades Emergentes en Pequeños Rumiantes.** Prof. Marcelo de las Heras. Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

**Moderadores: Profs. Miguel A. Sierra y Lluís Luján**

10'00-11'15 h. **Cuarta sesión de Comunicaciones: Enfermedades bacterianas.**

**Moderadores: Profs. Aniceto Méndez y Juan Francisco García**

**24. ESTUDIO LESIONAL E INMUNOHISTOQUÍMICO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL, GANGLIO TRIGÉMINO Y NERVIOS PERIFÉRICOS EN CASOS NATURALES DE LISTERIOSIS OVINA**

S. Soto, M. C. Ferreras, V. Pérez, J. Benavides, J.F. García Marín

**25. PSEUDOTUBERCULOSIS OVINA: LOCALIZACIONES ATÍPICAS, ASOCIADAS A LESIONES Y CLÍNICA GRAVES.**

O. Moreno; V. Pérez; C. García-Pariente; M. Fuertes; M. C. Ferreras; J. Benavides; L. E. Reyes, C. Pérez-Martínez; J. F. García-Marín.

**26. DETERMINACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE CITOQUINAS EN EL PULMÓN DE CERDOS INFECTADOS NATURALMENTE CON *Mycoplasma hyopneumoniae***

H. Lorenzo, A. Fernández, G.A. Ramírez, A. Castro, O. Quesada, F. Rodríguez

**27. INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR *COXIELLA BURNETII* EN CABRAS GESTANTES.**

A.J. Buendía, A. Souriau, C.M. Martínez, N. Arrican-Bouveray, A. Rodolakis, J.A. Navarro, J. Sánchez.

**28. DESARROLLO DE UN MODELO MURINO DE INFECCIÓN INTRANASAL PARA EL ESTUDIO DEL ABORTO ENZÓOTICO OVINO**

C.M. Martínez, A. J. Buendía, J. Sánchez, N. Ortega, J. Salinas, J.A. Navarro

**29. BROTE DE SALMONELLOSIS SEPTICÉMICA AGUDA EQUINA ASOCIADA A *SALMONELLA ENTERITIDIS* Y *MUCOR SPP.***

J. Pérez, R. Zafra, A. Méndez, E. Mozos, C. Tarradas., A. Arenas, R. Astorga

11'45 h. **Segunda Ponencia:** New aspects of the pathology, pathogenesis and aetiology of disseminated lung lesions in slaughter pigs. Professor Dr. Henrik Elvang Jensen, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Dinamarca.

**Moderadores: Profs. Amador Jover y Francisco Rodríguez**

12'30 – 14'00 h. **Quinta sesión de comunicaciones: Enfermedades Bacterianas.**

**Moderadores: Profs. José M<sup>a</sup> Nieto y Esther Duran**

**30. EVALUACIÓN EN CERDOS DE UNA VACUNA EXPERIMENTAL FRENTE A *Streptococcus suis* INACTIVADA CON CEFTIOFUR**

F.J. Pallarés, P.G. Halbur, C.S. Schmitt, J.A. Roth, R.B. Evans, J.M. Kinyon

**31. FASCIOSIS EXPERIMENTAL OVINA: EFECTO DE REINFECCIONES Y TRATAMIENTO EN LA RESPUESTA INMUNE LOCAL**

Ortega J, Corpa JM, Peris B, Martaínez-Moreno A, López, C, Morrondo, P, Pérez J.

**32. *PNEUMATOSIS CYSTOIDES INTESTINALIS* EN UNA EXPLOTACIÓN CUNÍCOLA ECOLÓGICA.**

Corpa, J.M.; Segura, P.; García, V.; Martínez, J.; Ortega, J.; Peris, B.

**33. LOCALIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL ANTÍGENO DE *Leishmania donovani* EN RIÑONES DE PERROS AFECTADOS POR LEISHMANIOSIS VISCERAL Y SU RELACIÓN CON EL CUADRO LESIONAL.**

Andrade-Marina, M., Pérez-Martínez, C., García-Marín, J.F.

16'00 h. **Conferencia: Docencia en Histología y Anatomía Patológica.** Prof. Martí Pumarola.  
Facultad de Veterinaria de Barcelona.  
**Moderadores: Profs. Alfonso Blanco y M<sup>a</sup> Carmen Ferreras**

17'00-18'30 h. **Sexta sesión de comunicaciones:** Miscelánea.  
**Moderadores: Profs. Jose A. Navarro y José Pérez**

**34. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO Y CLÍNICO DE UN CASO DE DEFICIENCIA DE COBALTO Y VITAMINA B12 EN OVEJAS.**

B. Moreno, G. Aduriz, J. Barandika, A. L. García-Pérez

**35. DESCRIPCIÓN DE LA LESIÓN NASAL ASOCIADA AL “ESTERTOR NASAL CRÓNICO OVINO” DE OVEJAS LATXAS DEL PAIS VASCO.**

J. García-Sanmartín, N. Gómez, R.A. Juste, E. Berriatua, B. Moreno

**36. UN CASO DE ENFERMEDAD DE NEURONA MOTORA EQUINA (ENME)**

E. Vidal, C. Costa, R. Tortosa, J. M. Vela, D. Segura, L. Monreal, D. Shelton, M. Pumarola

**37. MALFORMACIÓN OCCIPITOATLANTOAXIAL EN UNA YEGUA DE PURA RAZA ESPAÑOLA.**

S. Gómez, M.A. Gómez, A. Buendía.

**38. ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE LA MUCOSA DEL CANAL ALIMENTARIO DEL RODABALLO (*SCOPHTHALMUS MAXIMUS*).**

L. Quintáns, M. I. Quiroga, S. Vázquez, N. Alemañ, J. M. Nieto

**39. ESTUDIO MORFOLÓGICO DE CÉLULAS RODLET EN BRANQUIAS DE JUVENILES DE PEJERREY, *Odontesthes bonariensis* (Pisces, Atherinidae)**

F.A. Vigliano, M. I. Quiroga, S. Vázquez, N. Alemañ, J. M. Nieto

**40. LESIONES VERTEBRALES EN TERNEROS DE LIDIA POSIBLEMENTE POR DESPARASITACION DE SUS PROGENITORES CON LEVAMISOL**

A. Méndez, A. Núñez, J. Alvarez, P. Sánchez, M. Novales y L. Carrasco.

**41. CREACIÓN DEL BANCO DE TEJIDOS ANIMALES DE CATALUNYA**

J.M. Vela y M. Pumarola

# RESÚMENES DE LAS PONENCIAS

## 1ª Ponencia

### **The pathogenesis, pathology and diagnosis of deep-seated bovine mycoses**

HENRIK ELVANG JENSEN

Department of Pharmacology and Pathobiology, Royal Veterinary and Agricultural University, Ridebanevej 3, DK-1870 Frederiksberg C, Denmark

In cattle the omasum is the most important portal of entry for fungi and subsequent systemic spread. *Aspergillus fumigatus* and *Absidia corymbifera* are the main causes of omasal mycosis and other deep-seated mycotic lesions in cattle. The pathology and pathogenesis of the early stages of omasal aspergillosis and zygomycosis is identical, and so are the forms in which the infections are spread within and from the omsum. The general sequence of fungal nidation, penetration, proliferation, and dissemination seems, from histopathological observations, to be as follows: 1) Adherence of spores and hyphae to the epithelial surface; 2) Parallel proliferation of hyphae within the stratum corneum; 3) Vertical growth of hyphae resulting in penetration into lamina propria; 4) Heavy subepithelial proliferation of hyphae with extension into adjacent tissues; 5) Hyphal angioinvasion accompanied by thrombosis and vacuities; and 6) Intravascular spread of hyphae to other organs, especially the liver and lungs. Early omasal mycosis is dominated by necrosis, thrombosis, vasculitis, congestion, hyperaemia, haemorrhage, exudation of fibrin, and infiltration by neutrophils. Apart from haematogenous spread of fungi from the omasum, dissemination to other organs may also be established through lymphogenic spread and spread of hyphae by implantation. By contrast, infection of the pregnant bovine uterus seems to be established through the spread of fungal spores or hyphae. Within the placenta, the spores typically will not turn into hyphae, or the hyphae will not come into the placenta, before the last trimester, when abortion is seen.

Lesions of aspergillosis and zygomycosis in organs outside the gastrointestinal tract are similar to those of the gastrointestinal tract in the acute and subacute phases, whereas chronic lesions usually are quite different. Abscesses are typically formed in chronic aspergillosis lesions, whereas chronic zygomycosis lesions are predominantly of the granulomatous/pyogranulomatous type.

Most cases of deep-seated mycosis lesions of cattle are not diagnoses until histopathology is applied. Histologically, morphological details may provide a tentative mycological diagnosis, and sometimes a species specific one. However, the appearance of fungi in sections is affected by steric orientation, age of the fungus, type of infected tissue, and host response. Consequently, several highly sensitive and specific indirect immunohistochemical techniques have been developed for identification of the most prominent causes of bovine aspergillosis and zygomycosis. A panel of monoclonal antibodies are used for obtaining an overall diagnosis of aspergillosis and zygomycosis, respectively. Differentiation among species of *Aspergillus* and zygomycetic fungi (order Mucorales) can be achieved through the application of appropriate diluted and heterologously absorbed polyclonal antibodies raised towards somatic antigens of the fungus in question.

Detection of serum antibodies to *A. fumigatus* may also be of value for the clinical diagnosis of bovine aspergillosis. Although very high titers or an increase in titer in consecutive samples of serum signify deep-seated bovine aspergillosis immunoblotting analysis of serum samples allows a more accurate immunodiagnosis of aspergillosis. Reactivity, when an exocellular *A. fumigatus* antigen is used, is specific with low molecular masses, i.e. the 22 and 32 kDa antigens. Moreover, immunoblotting and inhibition ELISA techniques may also be applied for the detection of specific antigen of *A. fumigatus* and *A. corymbifera*, respectively, in samples of urine from infected cattle. Antigens of *A. fumigatus* and *A.*

*corymbifera* can also be detected in extracts from disintegrated tissue specimens by means of ELISA and X-immunoelectrophoresis techniques.

## 2ª Ponencia

### NEW ASPECTS OF THE PATHOLOGY, PATHOGENESIS, AND AETIOLOGY OF DISSEMINATED LUNG LESIONS IN SLAUGHTER PIGS.

Henrik Elvang Jensen.

Department of Pharmacology and Pathobiology, Royal Veterinary and Agricultural University, Ridebanevej 3, DK-1870 Frederiksberg C, Denmark

From 40 pigs rejected for human consumption at slaughter due to an apparent presence of pyemic lung lesions (defined as disseminated processes containing pus and/or necrotic material), the lungs, spleen, liver, and kidneys were subjected to an extended macroscopic examination. Several lung lesions were sampled from each animal for histological and bacteriological examination. Samples from the kidneys and spleens were also subjected to bacteriological examination.

At gross level, four groups of lung lesions were identified: 1) disseminated foci with contents of pus and/or necrotic material (n=26); 2) disseminated or multi focally located ecchymoses with a central area of fibroplasia (n=9); 3) non-pneumonic lesions, i.e., disseminated areas of atelectasis (n=1) or haemorrhagic areas developing due to the process of slaughter (n=1); and 4) suppurative lesions without a disseminated distribution pattern (n=3).

Histologically, the disseminated suppurative/necrotic foci were identified as: A) abscesses (n=10); B) necrotic lesions (n=6); and C) ectatic or ectatic-like bronchioles with contents of pus and necrotic material (n=10). The macroscopic observation of disseminated centres of fibroplasia with peripheral ecchymoses (n=9) was confirmed histopathologically.

The livers of five pigs contained multiple areas of chronic interstitial fibrosis related to migration of *Ascaris suum* larvae ("milk spotted liver"). Such hepatic lesions were significantly ( $p < 0.01$ ) related to the simultaneous occurrence of disseminated pulmonary ecchymoses with a central area of fibroplasia.

Generally, all lung lesions of each individual animal contained identical monocultures of bacteria in the following pattern: *Staphylococcus aureus* (abscesses); *Actinomyces hyovaginalis* (necroses); *S. aureus*, *A. hyovaginalis*, and *Arcanobacterium pyogenes* (ectatic and ectatic-like bronchioles). Areas with fibrosis were sterile or contained bacteria considered to be a result of contamination.

Apart from one kidney, from which *S. aureus* was cultured, all other organs were sterile.

It is concluded that difficulties exist in differentiating pulmonary pyemic lesions from non-pyemic lesions at gross level. Thus, it was not possible to distinguish between abscesses/necroses and ectatic bronchioles, the pathogenesis of the latter being uncertain. However, the chronic non-pyemic lesions related to the migration of *A. suum* larvae should be identified by the absence of pus/necrosis. *S. aureus* was predominantly isolated from abscesses, whereas, and most surprisingly, *A. hyovaginalis* was the dominant bacterium isolated from the pulmonary necroses.



# RESÚMENES DE LAS CONFERENCIAS

## 1ª Conferencia

### NUEVOS AVANCES EN EL CARCINOMA INFLAMATORIO MAMARIO CANINO

Ponente: Laura Peña.

Autores: L. Peña<sup>1</sup>, G. Silván<sup>2</sup>, M.D. Pérez Alenza<sup>1</sup>, A. Nieto<sup>1</sup>, J.C. Illera<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Patología Animal II. <sup>2</sup> Dpto. Fisiología Animal. Facultad de Veterinaria. UCM.

E-mail: laurape@vet.ucm.es

## 1. Introducción

Aproximadamente el 50% de los tumores mamarios caninos (TMC) son malignos y dentro de éstos, el carcinoma inflamatorio (CI) es el de mayor gravedad. La denominación de carcinoma "inflamatorio", tanto en la mujer como en la perra, refleja su aspecto clínico inicial (semejante a mastitis o dermatitis) y describe un tipo de cáncer de mama poco frecuente, muy agresivo, con un desarrollo clínico muy rápido y un pronóstico muy desfavorable. Hasta que comenzaron nuestros trabajos en este tipo tumoral (Pérez-Alenza et al., 2001; Peña et al., 2003, a,b), muy poco se conocía sobre su existencia en la perra, ya que sólo se había publicado una breve descripción que recogía las características clínicas más evidentes de diez animales afectados por este tipo de cáncer (Susaneck et al., 1983). El carcinoma inflamatorio de la mujer es también escasamente conocido. Sólo en los últimos años se ha comenzado a investigar algo más este tumor de marcada agresividad debido, sobre todo a varias circunstancias: el incremento en su incidencia, su posible uso como modelo de estudio de invasión tumoral y la necesidad de encontrar tratamientos verdaderamente efectivos, hasta el momento inexistentes.

Nuestra idea es que, puesto que la especie canina es la única especie animal que desarrolla espontáneamente este tipo de neoplasia, podría constituir un modelo natural de interés para estudios sobre el carcinoma inflamatorio humano. Este hecho, unido a la escasísima información que existía sobre el CI canino, nos indujeron a profundizar en su estudio. Los objetivos globales que nos propusimos fueron caracterizar epidemiológica, clínica, histológica e inmunohistoquímicamente este tipo tan especial de cáncer canino. A medida que los resultados nos marcaban la hipótesis de la implicación de un mecanismo endocrino especial en el desarrollo de estas neoplasias, decidimos estudiar también la secreción y regulación de diferentes hormonas tanto en suero como en el propio tejido mamario.

## 2. Resultados. Prevalencia del carcinoma inflamatorio canino.

Cuatrocientas treinta y seis perras fueron examinadas clínicamente durante el periodo de estudio (5 años) a consecuencia de la presencia de displasias o tumores de mama. De ellas, 186 tuvieron al menos un tumor maligno y de éstas, 33 presentaron evidencias clínicas de un carcinoma inflamatorio. Por tanto, la prevalencia del carcinoma inflamatorio mamario en la perra es del 7,6% (33/436) respecto al total de tumoraciones mamarias y un 17,7% (33/186) de los tumores malignos. Sólo en 15 de los 33 casos de CI diagnosticados clínicamente el estudio citológico de la neoplasia (mediante punción-aspiración con aguja fina) permitió la confirmación citológica de la presencia de una neoplasia en la piel, gracias a la presencia de células epiteliales malignas, coalescentes o no, con características de malignidad celular. En el resto, la aspiración con aguja fina no proporcionó un número suficiente de células como para realizar el diagnóstico.

## 3. Características clínicas del carcinoma inflamatorio canino.

Clínicamente, el carcinoma inflamatorio es un tumor que presenta un curso clínico fulminante y una supervivencia extremadamente baja. Los signos clínicos iniciales aparecen en la piel que recubre el tejido mamario que se presenta con edema, eritema, aumento de la temperatura y sensación de dolor en la piel que recubre la glándula mamaria. Todos estos síntomas son característicos de inflamación lo que unido al hecho de que en muchas

ocasiones no se observan nódulos mamarios, provoca que el diagnóstico inicial de cáncer sea difícil en muchas ocasiones, ya que se confunde con una dermatitis o mastitis. Es, sin embargo, un proceso tumoral muy agresivo de difícil tratamiento.

El número de glándulas mamarias afectadas es múltiple en todas las perras que desarrollan CI. Además, en un 55% de los casos se implican las dos cadenas mamarias. Pero sólo un 24% presentan nódulos mamarios clínicamente palpables. En cambio, un 61% evidencian edema en la parte proximal de las extremidades asociado mayoritariamente con cojeras. La severidad del dolor durante la exploración se clasifica como moderado en un 55% de los casos y severo en el 45% restante.

No suelen existir anomalías importantes en la analítica sanguínea.

El único tratamiento que se aplica por el momento es paliativo consistente en antibióticos y glucocorticoides. La eutanasia se produce a consecuencia de su mal estado clínico, siendo el tiempo medio de supervivencia de las perras con CI de 25,5 días desde el diagnóstico hasta el sacrificio (entre 4 y 55 días,  $\pm$  SEM 1,7 días).

#### Tipos clínicos de carcinoma inflamatorio

Hemos identificado dos formas clínicas en los CI: CI primarios, que se desarrollan repentinamente sin un historial previo de nódulos en las glándulas mamarias y CI secundarios, que son aquellos en los que la perra ha tenido anteriormente tumores mamarios. En nuestro estudio, el 42% son CI primarios y el 58% son CI secundarios. En muchos casos de CI primarios se realiza la eutanasia prácticamente tras confirmar el diagnóstico.

En los CI secundarios postquirúrgicos, las perras desarrollan los síntomas clínicos de CI en la región mamaria donde previamente se ha extirpado un tumor mamario. El tiempo medio desde la cirugía hasta la aparición de CI es de 48 días (SEM  $\pm$  104 días, rango entre 16- 152 días).

Los signos de dolor son significativamente mayores en las perras con carcinomas inflamatorios primarios que con secundarios. En cambio, la proporción de perras con evidencia de metástasis en el pulmón y en otros órganos en el momento del diagnóstico no es significativamente diferente entre las perras con CI primario o secundario.

#### **4. Características de las perras con carcinoma inflamatorio en comparación con otros tumores mamarios malignos “no carcinoma inflamatorio”.**

Las perras con CI presentan en el momento del diagnóstico una media de edad significativamente superior ( $11,4 \pm 0,3$  años; rango entre 7 y 15 años) que aquellas con otros tumores malignos ( $9,9 \pm 0,1$  años; rango entre 4 y 16 años). Las razas de las perras con CI es variable y no es diferente de la de las perras con otros tumores malignos.

El desarrollo del CI se asocia de forma significativa con la fase del ciclo ovárico. El carcinoma inflamatorio suele ser notado por los propietarios entre 7 y 240 días después del comienzo del último celo (*media*  $\pm$  SEM  $51,3 \pm 9,4$  días). Sin embargo, la aparición de otros tumores malignos no se relaciona significativamente con el celo. No existe una relación significativa entre la historia previa de administración de progestágenos para la prevención del celo y el desarrollo de CI.

La mayoría de las perras con CI a su llegada a nuestro Centro presentan una mala condición física. Un 94% muestra gran debilidad que se manifiesta con una pérdida de energía y una menor actividad comparado con el 8% que muestran los mismos síntomas entre las perras con cánceres mamarios no CI. El 53% de las perras con CI muestran anorexia mientras que sólo un 8% de las perras con otros tumores mamarios malignos presentan este signo clínico. El 34% de las perras con CI padecen poliuria y polidipsia en comparación con el 20% de las perras con otros tumores mamarios malignos; la diferencia entre ambos grupos no es significativa. Además, de la patología mamaria específico, el signo clínico más importante de los animales con CI es el dolor (categorizado en moderado o intenso) que se muestra a la palpación en la región mamaria, axilar, inguinal y la cara interna de las extremidades, apreciándose también edema y otras características asociadas a la inflamación. Los propietarios señalan que las perras se quejan al acariciarlas aunque no sea

en la zona afectada. En contraste con esto, sólo un 16% de las perras con cánceres mamarios no CI presentan síntomas de dolor, localizado en la región mamaria y asociado casi siempre a la existencia de ulceraciones de la piel a consecuencia del crecimiento neoplásico.

En cuanto al peso de las perras, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre el peso de los animales con CI y el de los que tienen otro tipo de tumor mamario maligno. El 43% de las perras con CI están delgadas, 36% normales y 21% obesas, a diferencia del 6% de perras delgadas que poseen tumores malignos no CI, 55% normales y 40% obesas. No se observan otras diferencias clínicas entre ambos grupos durante la exploración física general.

La exploración de los linfonodos axilares e inguinales sí evidencia afectación. Éstos aparecieron macroscópicamente aumentados en el 96% de las perras con CI frente al 51% en el caso de las perras con otros cánceres mamarios. Durante la exploración radiológica del tórax, se observan metástasis en pulmón en un 32% de los animales con CI y en un 12% de aquellos sin CI.

### **5. Hallazgos macroscópicos de necropsia.**

Los hallazgos macroscópicos más importantes son lesiones en la piel (con o sin nódulo mamario) y metástasis en los linfonodos regionales en el 100% de las perras. También se observa una intensa infiltración de los tejidos adiposo y muscular de la región y marcado edema subcutáneo. Los órganos afectados de metástasis difieren de los afectados habitualmente en otros tumores mamarios malignos, ya que se encuentran nódulos metastásicos de mayor tamaño que los pulmonares (en su caso) en localizaciones no usuales, como la vejiga de la orina y el útero (sin que haya continuidad de infiltración tumoral a través de la pared abdominal).

Considerando la clasificación clínica de los CI, la proporción de perras con CI de tipo secundario que presentan metástasis en la necropsia es significativamente superior que la de perras con CI primarios. En estos últimos casos, la evolución de la enfermedad y el dolor aconsejan el sacrificio antes incluso de la aparición de metástasis.

### **6. Hallazgos histopatológicos.**

La histopatología revela un tumor de elevada malignidad histológica que no está representado por un tipo histológico concreto. La única característica histológica diferencial del CI respecto a otros tumores mamarios malignos es la presencia de una masiva invasión tumoral de los vasos linfáticos de la dermis que son los causantes, en último extremo del edema y de otros signos de inflamación (Tavassoli, 1999). En la mayoría de los casos, los diagnósticos clínicos e histopatológicos coinciden pero puede haber pacientes con sólo la evidencia clínica o histopatológica de CI. La afectación de los vasos linfáticos de la dermis confirmada histológicamente, sin que existan signos clínicos de CI se denomina "carcinoma inflamatorio oculto" puesto que se cree que precede la presentación clínica de CI (Salzstein et al., 1974).

El diagnóstico histológico de los tumores de la glándula mamaria que clínicamente provocan el CI es variable: carcinomas simples (sólidos, tubulares o papilares), carcinomas adenoescamosos y carcinomas ricos en lípidos. Ya que el carcinoma rico en lípidos es un tumor de rara presentación, se considera relevante la elevada proporción de este tipo tumoral que hemos encontrado en los casos con CI (14,3%). El diagnóstico de carcinoma rico en lípidos se realiza, siguiendo criterios de Patología Humana, cuando más de un 80% de las células del tumor son productoras de lípidos y presentan el citoplasma ocupado por una o varias gotas lipídicas que son positivas a la técnica de tinción de Sudan III y negativas a la de Carmin de Best, confirmándose la naturaleza lipídica de esta secreción. Los carcinomas ricos en lípidos presentan las células en disposición tubular (adenocarcinomas). En una mayoría de CI no diagnosticados como carcinomas ricos en lípidos, también es frecuente encontrar grupos de células con una distribución multifocal que presentan gotas de lípidos en su citoplasma aunque en estos casos, el número de células no supera el 80%.

Todos los carcinomas inflamatorios se clasifican con el grado histológico de malignidad más elevado (GHM tipo III), presentan una formación de túbulos y pleomorfismo variables. No es infrecuente (40% de los casos) encontrar células gigantes multinucleadas de naturaleza tumoral. El índice mitótico es elevado y se encuentran mitosis atípicas (70%). Las áreas de necrosis pueden no estar presentes (50%), ser moderadas (25%) o extensas (25%). A veces (35%) aparecen necrosis en las zonas centrales de las formaciones tubulares (tipo comedocarcinoma). También se suele observar una marcada fibrosis perivascular alrededor de los vasos linfáticos (50%). En ocasiones existen hemorragias evidentes (30%). En cuanto a la presencia de células inflamatorias (linfocitos, células plasmáticas y macrófagos) y excluyendo las áreas ulceradas, ésta es mayoritariamente moderada (85%) y escasa en un 15% de los casos. Como vemos, la inflamación como tal no juega un papel relevante en los carcinomas inflamatorios.

En la piel se observa frecuentemente hiperplasia e hiperqueratosis de la epidermis y queratosis de los folículos pilosos. El tumor invade la dermis en el 82,2% de los casos y se observan émbolos tumorales en los vasos linfáticos de la dermis en el 73,7%. Los vasos linfáticos que no presentan émbolos suelen aparecer dilatados (linfangiectasias) y existe edema en la dermis. Se distinguen dos patrones histológicos diferentes de infiltración de la neoplasia en la dermis: (A) patrón túbulo-papilar con estructuras tubulares o papilares bien definidas (63,1%) y (B) patrón "sarcomatoso", caracterizado por una infiltración difusa formada por células independientes de elevada malignidad histológica (anaplásicas), de aspecto similar a un sarcoma (36,8%). El patrón de invasión en la dermis es sarcomatoso en algunos carcinomas mamarios CI diagnosticados como carcinomas de tipo tubular o papilar, incluyendo los carcinomas ricos en lípidos. En este último, el área de invasión tumoral en la dermis ofrece una imagen muy semejante a un liposarcoma. Sin embargo, el tipo histológico de invasión en la dermis coincide siempre con el tipo de invasión observado en el tejido adiposo y muscular de la región mamaria y de las extremidades. El tejido muscular infiltrado por la neoplasia suele presentar degeneración (depósito de sustancia hialina), atrofia o necrosis, y mostrar un grado variable de edema intersticial y de células inflamatorias (macrófagos y linfocitos) como parte de la reparación tisular. El músculo necrosado se sustituye frecuentemente por tejido adiposo.

En todos los casos se observan metástasis en los linfonodos regionales. En alguno de ellos esta metástasis es tan agresiva que reemplaza totalmente al tejido linfoide. En los carcinomas ricos en lípidos, las células con vacuolas lipídicas se observan metastatizando en los linfonodos, pero en ninguno de los casos se observan en las metástasis pulmonares.

El tipo histológico de infiltración en la dermis se asocia estadísticamente con el tipo clínico de CI (primario o secundario). Es decir, el CI primario presenta generalmente el tipo histológico de infiltración sarcomatosa que es el de mayor malignidad histológica.

## **7. Resultados inmunohistoquímicos**

El CI primario (el de mayor agresividad clínica e histopatológica) presenta además un menor porcentaje de tumores RP+ y mayor expresión de la proteína del gen supresor tumoral P53 de forma significativa. Al comparar los resultados inmunohistoquímicos en el CI respecto a otros tumores mamarios malignos no CI, destaca que los CI presentan un mayor grado de proliferación tumoral (% de Ki-67), mayor expresión de receptores de progesterona, de andrógenos, de IGF-1R y de la enzima esteroideogénica P450scc. Además todos los CI analizados hasta el momento son negativos al receptor de estrógenos  $\alpha$ .

## **8. Resultados del estudio hormonal**

Los resultados obtenidos hasta el momento (mayo de 2001) en el estudio del carcinoma inflamatorio canino hacían necesario un análisis en profundidad del estatus endocrino de las perras con CI y con otros tumores mamarios. Los hallazgos previos que nos indujeron al estudio hormonal fueron, principalmente:

- La aparición del carcinoma inflamatorio se produce frecuentemente en la fase lútea, mientras que otros tumores mamarios malignos no se asocian con ninguna fase del ciclo estral.

- Si las perras con CI habían sido sometidas previamente a tratamientos con progestágenos para inhibir el celo, el curso clínico de la enfermedad era aún más grave (desarrollaban CI primario).
- El 71.4% de los CI eran positivos a receptores de progesterona.
- El 100% de los CI eran negativos a receptores de estrógenos  $\infty$ .
- La elevada cantidad de carcinomas ricos en lípidos diagnosticados en los casos de CI.
- La gran cantidad de células productoras de lípidos encontradas en otros tipos histológicos de CI.

Estos hechos nos indujeron a emitir dos hipótesis respecto a la influencia hormonal del CI:

- *Hipótesis nº 1: En el desarrollo del CI canino intervienen mecanismos endocrinos especiales, probablemente progestágenos o derivados androgénicos.*
- *Hipótesis nº 2: Los carcinomas lipídicos y las abundantes gotas lipídicas encontradas en numerosas células tumorales de los CI son esteroideas, por lo que los CI se pueden considerar como una fuente extra de hormonas esteroideas.*

Se midió la concentración de diversas hormonas tanto en plasma como en tejidos tumorales mamarios homogeneizados (mama normal, displasias, tumores benignos, tumores malignos no CI y CI). Los niveles hormonales dihidroepiandrosterona, androstenediona, testosterona, progesterona, sulfato de estrona y  $17\beta$ -estradiol en los tejidos fueron significativamente más altos en los CI comparados tanto con los tumores malignos no CI, los benignos, las displasias y la mama normal. Estos valores de los esteroideos analizados se elevaron dos y hasta tres veces por encima de los encontrados en tumores malignos y especialmente en lo que respecta a la dihidroepiandrosterona y al sulfato de estrona. Los niveles tisulares de IGF-1 se encontraron reducidos en los CI respecto a los tumores benignos y malignos, aunque los niveles plasmáticos de IGF-1 y de su proteína ligando BP3 se encontraron significativamente elevados. También existieron marcados incrementos plasmáticos de dihidroepiandrosterona, androstenediona, testosterona, progesterona, sulfato de estrona en los animales con CI respecto a los animales control y animales con tumores mamarios benignos y malignos no CI. Sin embargo, los niveles plasmáticos y tisulares de  $17\beta$ -estradiol en los CI no aumentaron de forma paralela, ya que a una gran cantidad tisular le correspondió un nivel bajo en plasma.

## 9. Discusión

De acuerdo con nuestros datos y considerando los publicados en 1983 (Susaneck et al., 1983), el CI canino es una rara enfermedad que parece haber incrementado drásticamente su prevalencia en los últimos tiempos, como ha sucedido en el CI de la mujer. El carcinoma inflamatorio de la mujer ha doblado su prevalencia desde la década de los 70 a la de los 90 (Chang et al., 1998). La posibilidad de que ambas especies estén bajo la influencia de los mismos carcinógenos ambientales y nutricionales puede justificar este hecho.

En nuestra opinión, el CI canino es un tipo de tumor mamario que es frecuentemente confundido por los clínicos con otras lesiones. El diagnóstico histológico de los carcinomas inflamatorios de mama en la mujer requiere la observación de émbolos tumorales en los vasos linfáticos de la dermis (Brooks et al., 1999; Tavassoli, 1999). Los resultados de este estudio así como del previo realizado por Susaneck y col. (1983) indican que este mismo criterio puede ser aplicado para el diagnóstico histopatológico del CI canino mediante el estudio de biopsias "tru-cut". Existen pocos artículos publicados referentes al aspecto histológico del carcinoma inflamatorio. Es bien conocido que el CI no es un subtipo histológico de tumor mamario, ya que se han encontrado diferentes tipos histológicos tumorales (carcinomas ductales infiltrantes, otros carcinomas y tumores sin especificar) que

presentan un cuadro clínico de carcinoma inflamatorio. Es digno de mención la elevada proporción de carcinomas ricos en lípidos en nuestro estudio. El carcinoma rico en lípidos es un tipo raro de tumor mamario que ha sido incluido recientemente por la OMS dentro de la clasificación de tumores mamaros de la perra (Misdorp et al., 1999). Es también un tumor poco frecuente en la especie humana (Tavassoli, 1999). No podemos explicar las causas de la elevada proporción de carcinomas ricos en lípidos encontrada en nuestro estudio, pero en el caso de la mujer, se ha descrito la existencia de una influencia de tipo hormonal en el desarrollo de estos tumores (Tsubura et al., 1991). Este fue uno de los hallazgos que también nos empujó a estudiar los aspectos hormonales de los CI caninos.

Como ya se ha indicado, el estudio histológico de la piel en los casos de CI ha puesto en evidencia la presencia de émbolos de células tumorales en los vasos linfáticos de la dermis en un 73,7% de las perras con CI. Además de esta característica, nuestro trabajo reveló la existencia de dos tipos diferentes de invasión tumoral en la dermis: uno de tipo tubular-papilar y otro de tipo "sarcomatoso", de mayor malignidad histológica. No existen referencias en Medicina Humana, ni Veterinaria, que establezcan qué tipo de características presentan los CI cuando infiltran la piel. Además de por la baja incidencia de la enfermedad, esto puede ser debido a que en el CI humano, las muestras con las que se trabaja son inadecuadas o muy pequeñas (no abarcan la dermis), pues proceden de citologías obtenidas por aspiración con aguja fina o biopsias realizadas mediante un trócar (Inflammatory Breast Cancer Research Foundation, 2002). En el tratamiento del carcinoma inflamatorio humano, a diferencia de otros tumores mamaros, no está indicada la cirugía mamaria como primera terapia, por lo que cuando se dispone de una biopsia de mayor tamaño es tras la quimioterapia, cuando los signos de inflamación han desaparecido y las lesiones cutáneas histológicas también. En este estudio, las primeras muestras recogidas de CI, procedían de necropsias realizadas en perras en las que no se habían aplicado tratamientos anti-tumorales, sino únicamente paliativos con antibióticos y anti-inflamatorios, por lo que hemos podido analizar las lesiones sin tratar. Otra ventaja del estudio del CI canino respecto a la especie humana es el poder trabajar en muchos casos con cadáveres y tomar muestras amplias de piel, linfonodos, órganos internos, etc. Recordemos que la práctica de necropsia en la especie humana no es tan habitual como en la especie canina por condicionamientos afectivos, sociales, etc.

El estudio estadístico confirma que los dos tipos clínicos de presentación del CI (primario y secundario) también presentan características histopatológicas e inmunohistoquímicas diferentes.

Los resultados de nuestro trabajo indican una alta concentración de todas las hormonas estudiadas en los tumores malignos y sobre todo en los CI. La expresión de la enzima esteroideogénica P450scc (enzima inicial de la cascada esteroideogénica, interviene en la transformación del colesterol a pregnenolona) permite asumir que, al menos, una parte del contenido hormonal encontrado en los tejidos es producido "in situ". Los niveles plasmáticos y tisulares de las hormonas analizadas, así como la expresión inmunohistoquímica de los receptores hormonales estudiados indican que en los CI existe un activo metabolismo endocrino que podríamos catalogar como autocrino y paracrino.

A pesar de que las investigaciones en carcinoma inflamatorio humano han sufrido un incremento en las últimas décadas, se trata de un proceso cuyo conocimiento es aún muy restringido. Se ha intentado utilizar ratones como modelo experimental para el CI humano (Alpaugh et al., 1999), pero sólo en la especie canina el CI es espontáneo. Además, se han encontrado similitudes en las características clínicas e histopatológicas entre el CI humano y canino. Las características clínicas en los dos tipos de presentación (primarios y secundarios) son comparables en ambas especies. Histológicamente, la invasión de los vasos linfáticos de la dermis es similar también en ambas especies. También la prevalencia es comparable, pues se trata de un proceso poco frecuente que ha aumentado tanto en perras (de 4,4% a 7,6%, Susaneck et al. 1983, Pérez-Alenza et al., 2001) como en mujeres (Chang et al., 1998), bajo la probable influencia de los mismos de carcinógenos ambientales

y nutricionales en ambas especies, ya que, en general, los propietarios y sus animales de compañía comparten el mismo hábitat. Por tanto, en nuestra opinión, el CI canino puede servir como modelo espontáneo del CI humano, especialmente en lo relacionado con el desarrollo de nuevas terapias.

### Bibliografía básica

- Alpaugh ML, Tomlinson JS, Shao ZM, et al. A novel human xenograft model of inflammatory breast cancer. *Cancer Res* 59: 079-5084, 1999.
- Brooks HL, Mandava N, Pizzi WF, et al. Inflammatory breast carcinoma: a community hospital experience. *J Am Coll Surg* 186: 622-629, 1999.
- Chang S, Parker SL, Pham T, et al. Inflammatory breast carcinoma incidence and survival: the surveillance, epidemiology, and end results program of the National Cancer Institute, 1975-1992. *Cancer* 82: 2366-2372, 1998.
- IBC Research Foundation (2002). Research of inflammatory breast cancer and related matters. Available from URL: <http://www.ibcresearch.org/research/>
- Misdorp W, Else RW, Helmén E, et al. Histological classification of mammary tumors of the dog and cat. Second series. Vol 7. Published by Armed Forces Institute of Pathology and World Health Organization. Washington, 1999.
- Peña L, Perez Alenza MD, Rodríguez Bertos A, et al. Canine inflammatory mammary carcinoma: Histopathology, immunohistochemistry and clinical implications of 21 cases. *Breast Cancer Res Treat* 78: 141-148, 2003.
- Peña L, Silvan G, Pérez-Alenza MD, et al. Steroid Hormone profile of canine inflammatory mammary carcinoma: a preliminary study. *J Steroid Biochem Mol Biol* 84: 211-216, 2003.
- Perez Alenza MD, Tabanera E, Peña L. Inflammatory mammary carcinoma in dogs: 33 cases (1995-1999). *J Am Vet Med Assoc* 219 (8): 1110-1114, 2001.
- Salztein SL. Clinically occult inflammatory carcinoma of the breast. *Cancer* 34: 382-388, 1974.
- Susaneck SJ, Allen TA, Hoopes J, et al. Inflammatory mammary carcinoma in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 9: 971- 976, 1983
- Tavassoli F. A. Infiltrating carcinoma: special types. Inflammatory carcinoma. In: Tavassoli FA. Ed. *Pathology of the breast*. Mc Graw Hill. 2<sup>nd</sup> ed.; 538-541, 1999.
- Tsubura A, Hatano T, Murata A, et al. Breast carcinoma in patients receiving neuroleptic therapy. Morphologic and clinico-pathologic features of thirteen cases. *Acta Pathol Jpn* 7: 494-499, 1991.



## 2ª Conferencia

### VARAMIENTO MASIVO DE ZIFIOS EN LAS ISLAS CANARIAS DURANTE LAS MANIOBRAS NAVALES “Neotapón 2002”

A. Fernández (\*)

(\*)Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria.  
Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria.  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. [afernandez@dmor.ulpgc.es](mailto:afernandez@dmor.ulpgc.es)

En la mañana del 24 de Septiembre de 2002 se produjo el varamiento masivo de 14 zifios de distintas especies en el sur de la isla de Fuerteventura. Seis animales (una hembra de *Mesoplodon densirostris*, una hembra de *Mesoplodon europaeus* y cuatro machos de *Ziphius cavirostris*) fueron encontrados muertos, mientras que el resto de animales, aún vivos, pero con evidentes signos de desorientación y aturdimiento fueron llevados mar adentro. De estos, tres machos y una hembra de *Ziphius cavirostris* fueron localizados posteriormente varados muertos (en Fuerteventura, dos, uno el día 25 y otro el 27, y en Lanzarote, dos, el día 24, uno y el 25, otro).

La necropsia se realizó a los 10 animales, los cuales mostraron distinto grado de autolisis, atendiendo al tiempo “postmortem” de realización de la misma. Si bien, la correspondiente necropsia se realizó “in situ”, las cabezas de los seis primeros zifios varados (el día 24) se trasladaron refrigeradas (4°C) desde Fuerteventura hasta la sala de necropsias de la Facultad de Veterinaria en la isla de Gran Canaria, donde se realizó la disección de las mismas el día 25.

Durante la necropsia se observó que todos los animales mostraban los estómagos llenos de crustáceos y calamares prácticamente sin digerir. Los zifios presentaron una buena o muy buena condición corporal, sin signos externos ni internos de enfermedades consuntivas de naturaleza infecciosa, ni tampoco lesiones externas que fueran compatibles con traumatismos, provocados por embarcaciones u otros objetos, ni tampoco lesiones externas compatibles con la interacción con artes de pesca.

El estudio lesional macroscópico en todos los zifios necropsiados mostró un cuadro congestivo-hemorrágico generalizado de intensidad moderada a severa, según el órgano y el animal analizado.

Atendiendo al estudio lesional (macro y microscópico) observado en estos animales, y descartando en los mismos, la presencia de las patologías más frecuentes descritas en cetáceos varados en las Islas Canarias, se concluyó que este cuadro lesional es muy similar (con significativamente más datos patológicos) al descrito en el informe “Joint Interim Report, Diciembre 2001” (US department of Commerce and Secretary of US Navy), correspondiente al varamiento masivo de zifios ocurrido en las Bahamas en marzo de 2000, el cual estableció como causa más probable un trauma acústico, si bien no clarificó lesiones específicas o mecanismos patogénicos.

En un intento de clarificar el varamiento masivo de zifios asociado a maniobras militares navales expondremos, en la presente ponencia, los últimos resultados obtenidos que intentan explicar el varamiento masivo y su relación con las señales acústicas producidas durante las maniobras militares navales “Neotapón 2003”.

### 3ª Conferencia

#### **ADENOCARCINOMA PULMONAR OVINO.**

Dr. Marcelo De las Heras Guillamón

Departamento de Patología Animal. Universidad de Zaragoza.

La adenomatosis pulmonar ovina es una enfermedad neoplásica contagiosa pulmonar que afecta de forma natural a la oveja y de forma ocasional también a cabras y muflones. Un retrovirus exógeno de los del tipo  $\lambda$ retrovirus es el causante de la neoplasia. Se suelen emplear también como sinónimos los nombres de jaagsiekte o carcinoma pulmonar ovino. Jaagsiekte es el nombre con el que se denominó la enfermedad en las primeras descripciones y da también da nombre al retrovirus la causa que es conocido como jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV). En una reunión de expertos reciente se convino usar de ahora en adelante el término de adenocarcinoma pulmonar ovino (APO) para referirse a esta enfermedad. Agrupamos a la APO junto con otra neoplasia transmisible de las glándulas de la mucosa nasal conocida como adenocarcinoma nasal enzoótico de la oveja y cabra en una denominación más amplia conocida como: neoplasias contagiosas del aparato respiratorio de los pequeños rumiantes asociadas con retrovirus.

La APO en su presentación natural puede afectar a ovejas de todas las edades pero en la mayoría de los casos se encuentran entre 1-4 años. Se ha descrito en muchas razas ovinas pero algunas familias o razas parecen más resistentes que otras y no hay predisposición racial o sexual. En los rebaños donde es endémica el porcentaje de animales enfermos se sitúa en torno a 1-5%. Los animales enfermos tosen, respiran acelerada y profundamente con evidencia clara de golpe abdominal y se pueden escuchar ruidos respiratorios. Si levantamos los cuartos traseros y bajamos la cabeza no tarda en brotar por los ollares un fluido blanquecino y espumoso en cantidad variable (50-300ml). A pesar de esos signos los animales no pierden su apetito y se mantienen alerta. Sin embargo en pocas semanas suele producirse una pérdida importante de peso y la muerte.

Las lesiones macroscópicas asociadas a la APO, presentan unas variaciones que se han agrupado en dos formas anatómicas: la forma clásica y la forma atípica. La forma clásica es la que se suele observar en animales con un clínica como la que hemos descrito en el párrafo anterior. Los pulmones se muestran muy incrementados de tamaño dependiendo de la extensión de las lesiones neoplásicas. El tumor afecta principalmente a áreas craneoventrales pulmonares, es de color grisáceo o blanquecino y se descubren nodulillos de las mismas características y diferentes tamaños distribuidos por otras zonas pulmonares. A la sección también suelen observarse áreas o nódulos mal delimitados también de color grisáceo, de aspecto húmedo y emergiendo por las vías respiratorias un abundante líquido espumoso y blanquecino. A veces pueden coexistir fibrosis, focos de necrosis caseosa o neumonía fibrinosa.

La forma atípica es más característica de animales que no han desarrollado signos clínicos y la encontramos sobre todo como hallazgo de matadero. En este caso las lesiones tienden a ser más nodulares y mejor delimitadas, de color blanco nacarado y de localización periférica. La sección de las mismas suele mantener los caracteres de superficie y es más seca. Podemos encontrar también formas mixtas. No se conoce el significado de estas variación anatomopatológicas y no se han encontrado diferencias en los retrovirus que se asocian a ellas, lo que probablemente indique que no se trate de dos formas separadas sino dos extremos del espectro lesional asociado con la APO.

La observación histológica de secciones de pulmón con APO muestra claramente una proliferación acinar o papilífera de tipo glandular en zonas alveolares y también en algunos bronquiolos. La estructura de las paredes alveolares generalmente se mantiene y células cúbicas o prismáticas van ocupando la superficie alveolar. Son células generalmente muy uniformes con un índice mitótico bajo y son pocas las células positivas a marcadores de proliferación como el PCNA. A pesar de esas características de tumor benigno, se pueden encontrar metástasis preferentemente en nódulos linfoides próximos al pulmón aunque

también en órganos alejados. Los focos de proliferación epitelial se ven rodeados de alvéolos repletos de macrófagos y de un infiltrado intersticial de tipo linfoplasmocitario muy importante en las formas atípicas.

En algunos casos se observan crecimientos de tipo mixoide acompañando a las lesiones epiteliales o en forma de nódulos solitarios. La APO ha sido clasificado de acuerdo con clasificaciones de cáncer de pulmón del hombre como un adenocarcinoma de pulmón con subtipos mixtos. Si seguimos las clasificaciones de neoplasias en los animales domésticos se correspondería como un carcinoma/adenocarcinoma bronquioloalveolar de pulmón. La microscopia electrónica identifica que las células que proliferan son celular alveolares tipo II alveolares y también las células Clara bronquiolares.

La APO esta causada por un retrovirus exógeno clasificado ahora dentro del grupo de los Betaretrovirus (JSRV). Su genoma proviral esta estructurado en el clásico orden de genes *gag*, *pol*, *env* y flanqueado por secuencias repetidas terminales LTR en cada lado. No tiene genes adicionales excepto una open reading frame conocida como *orfX* de función hasta el momento desconocida.

Este virus exógeno tiene unos virus endógenos de secuencia similar que están presentes en el genoma de las ovejas y cabras y a los que no se les atribuye un claro papel en la patogenia de la OPA. Se han identificado dos variantes del JSRV el tipo I de origen africano y el tipo II localizado en Reino Unido y USA. El JSRV no se ha podido obtener en cantidades importantes en el laboratorio hasta que no se han generado clones como el JSRV<sub>21</sub> de probada patogenicidad. Existe otro clon como el JSRV-JS<sub>7</sub> derivado de la línea celular tumoral JS<sub>7</sub> que también es capaz de inducir el tumor pulmonar. Los LTR del virus parecen ser los que interaccionan con factores de transcripción específicos para células epiteliales pulmonares.

Los mecanismos de transformación y oncogénesis del JSRV no están completamente aclarados. Sin embargo, se ha demostrado en líneas celulares de fibroblastos de ratón y rata que la actividad transformadora del JSRV radica en el gen *env*, particularmente en la cola de la proteína de transmembrana TM que tiene un lugar de activación para PI3 kinasa y fosforilización de la AKT y ello podría desencadenar una serie de reacciones de inhibición de la apoptosis y de estimulación proliferativa que explicarían en parte la proliferación celular. Asimismo, se ha identificado el receptor del virus que es el conocido como hialuronidasa-2 (Hyal-2).

Este receptor podría tener otras misiones además de actividad hialuronidasa, como uniones con glicosil fosfatidil inositol, muy usada por varias moléculas de activación de mecanismos celulares. Hyal-2 es también un factor de supresión tumoral lo que podría ser importante al interaccionar con los productos *env* del JSRV. De hecho, se ha visto recientemente que en cultivos de células epiteliales bronquiales *env* y Hyal-2 interaccionarían provocando la liberación del receptor RON que podría desencadenar reacciones de activación de las MAPK (mitogen activated protein kinase).

Estos mecanismos son propios de retrovirus portadores de oncogenes e inductores de neoplasias agudas y explicaría el rápido desarrollo de la APO en corderos que han sido inoculados experimentalmente con cantidades importantes de virus. Sin embargo, en condiciones naturales los animales tardan unos 6-8 meses en presentar la enfermedad después de un primer contacto con ella y en situaciones endémicas no todos los animales infectados desarrollan el tumor. Además, se ha evidenciado que a medida que se infectan animales de mas edad la enfermedad tarda más tiempo en desarrollarse. Estas diferencias podrían indicar el consurso de otros factores en la patogenia de la APO en su presentación natural.

Además de la infección de esas células epiteliales en las que induce tumores, el DNA proviral del JSRV también puede detectarse en células linfoides y macrófagos. Mediante procedimientos de PCR específicos podemos detectar un bajo número de copias del virus y aplicando estas técnicas en estudios de distribución tisular del virus se ha demostrado que el

JSRV establece una diseminación por todo el animal y que incluso es detectable en células de la serie blanca de la sangre.

Este hallazgo es de especial relevancia ya que en la APO no se han detectado anticuerpos en sangre frente al virus y no existe por lo tanto un método que permita identificar animales en contacto con el virus. Asimismo, hemos observado que es posible detectar el virus en sangre tanto en animales enfermos como en aquellos que han convivido con ovejas enfermas. En la actualidad se están desarrollando proyectos para evaluar estas técnicas en sangre en estudios epidemiológicos de la APO y así poder considerar su uso como procedimiento de diagnóstico en sangre de aplicación en programas de erradicación y control de esta importante y emergente enfermedad de la oveja.

#### **4ª Conferencia**

### **LA DOCENCIA DE LA HISTOLOGÍA EN LAS FACULTADES DE VETERINARIA ESPAÑOLAS.**

M. Pumarola

Departamento de Medicina y Cirugía Animales. Facultad de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona.

El objetivo de esta comunicación es el de dar a conocer el estado actual de la docencia de la asignatura de Histología en las diferentes Facultades de Veterinaria españolas.

A partir de los datos facilitados por los docentes de cada uno de los centros hemos detectado las características que la asignatura adopta en cada uno de ellos: profesorado implicado, contenidos y desarrollo del programa, actividades teóricas, prácticas, seminarios, métodos de evaluación, etc.

Destacamos aquellas actividades que consideramos particulares de algunos centros por si pudieran ser de interés para su aplicación en la docencia.

## RESÚMENES DE LAS COMUNICACIONES ORALES

### VIRICAS Y PRIONES

1

#### VALORACIÓN DE DIFERENTES NÓDULOS LINFÁTICOS, BAZO Y PLACA DE PEYER PARA EL DIAGNÓSTICO HISTOLÓGICO DE CIRCOVIROSIS PORCINA

M. Muñoz, M.J. García Iglesias, J.F. García Marín

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

E-mail: [dmammf@unileon.es](mailto:dmammf@unileon.es)

La Circovirus porcina afecta a muchos países de producción porcina, entre ellos España, provocando numerosas pérdidas económicas. El agente etiológico es el circovirus porcino tipo 2 (PCV-2), el cual se asocia al síndrome de adelgazamiento postdestete. Se ha comprobado que el tejido linfóide es el principalmente afectado mostrando habitualmente alteraciones histológicas características.

Con el fin de establecer un protocolo de diagnóstico orientativo de circovirus, hemos realizado un estudio histopatológico comparativo de diferentes nódulos linfáticos de la canal (parotídeo, mandibular, retrofaríngeo lateral, poplíteo superficial e inguinal superficial), del aparato digestivo (yeyunales proximales y caudal, ileocólicos y cólicos) y del respiratorio (traqueobronquial craneal y medio), así como del bazo y placa de Peyer ileocecal. Para ello se han examinado diecinueve cerdos de tres granjas diferentes de la comunidad de Castilla y León que se encontraban en el periodo postdestete y presentaban signos de desmedro y cinco animales sanos de una granja libre de esta enfermedad.

Tras la necropsia y el estudio lesional completo de los mismos, se apreció que doce de los diecinueve animales eran compatibles con un diagnóstico de circovirus porcina.

En el estudio histopatológico de los órganos linfoides se valoraron cuatro lesiones microscópicas que se consideran características de esta enfermedad: depleción linfocitaria, infiltración histiocitaria, presencia de sincitios y de cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos en macrófagos. Los resultados sugieren que la depleción linfocitaria y la infiltración histiocitaria no indicaban grandes diferencias entre los distintos órganos examinados presentándose de forma constante y, principalmente, con una intensidad moderada.

En los doce animales sospechosos de circovirus se observó la presencia de sincitios, siendo constante y muy numerosa en los nódulos linfáticos parotídeo, retrofaríngeo lateral, poplíteo superficial, inguinal superficial, ileocólicos, yeyunales proximales, cólicos y traqueobronquial craneal y medio. En el mandibular y yeyunal caudal se observaron en tan solo cuatro lechones. En el bazo los sincitios los presentaban tres animales y cuatro en las placas de Peyer. Cuerpos de inclusión se observaron en ocho de los doce animales, siendo numerosos en placa de Peyer y en los nódulos mesentéricos, principalmente en el yeyunal caudal y no observándose los mismos en el bazo.

Se concluye que los nódulos linfáticos mesentéricos junto con la placa de Peyer ileocecal serían las muestras de elección para valorar la presencia de circovirus porcina.

2

**MIELITIS COMO ÚNICA LESIÓN NERVIOSA ASOCIADA A MAEDI-VISNA EN TRES OVINOS CON SINTOMATOLOGÍA NERVIOSA.**

J. Benavides, M<sup>a</sup>.C. Ferreras, M. Fuertes, C. García-Pariente, R. A. García, J. F. García Marín, V. Pérez.

Dpt. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica) Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León. E-mail:dmajbs@unileon.es

La forma de presentación nerviosa del Maedi-Visna, frecuente durante la epizootia islandesa, ha sido descrita de forma muy ocasional en aquellos países donde está presente la enfermedad. Sin embargo, en el Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico de la Facultad de Veterinaria de León hemos venido observando un creciente número de casos de ovinos, remitidos con sintomatología nerviosa, que presentaban lesiones en el sistema nervioso central asociadas a la forma nerviosa del Maedi-Visna. Dichas lesiones se ajustan, en general, a los casos descritos por los autores islandeses, tanto en las características del infiltrado como en localización.

En la presente comunicación, se exponen tres casos de ovinos adultos, pertenecientes a diferentes rebaños de producción láctea, que se presentaron con signos clínicos de carácter nervioso. El estudio microscópico de las muestras tomadas en la necropsia mostró en los tres animales la presencia de mamiitis y neumonía intersticial en grado variable, visible macroscópicamente en uno de los casos.

En el estudio del sistema nervioso central, se observó exclusivamente una mielitis no purulenta grave, afectando a niveles diferentes en los tres animales: cervico-torácico en uno, toraco-lumbar en otro y lumbar en el último. En todos los casos, la lesión se localizaba en la sustancia blanca, y se extendía hacia las astas ventrales en forma de cuña, afectando a éstas ligeramente. El componente inflamatorio, compuesto principalmente por linfocitos, macrófagos y células de gitter, se dispone en manguitos perivasculares, infiltrando el neuropilo adyacente, en el cual se podían observar áreas de malacia y vacuolización. Uno de estos animales presentaba vacuolización del neuropilo en el tronco del encéfalo y en el resto de niveles estudiados del encéfalo, así como vacuolización neuronal en la médula oblongada, donde se evidenció la presencia de PRP<sup>sc</sup> mediante técnicas inmunohistoquímicas. No se observaron otras lesiones en el encéfalo de estos tres animales.

La presencia del virus en la lesión fue confirmada mediante el empleo, en los tres animales, de técnicas de inmunohistoquímica y de LTR-PCR en muestras de médula espinal. Asimismo, se realizaron estudios serológicos (ELISA e IDGA) frente al virus Maedi-Visna, siendo dos de los animales positivos.

El hallazgo de estos casos en un breve periodo de tiempo viene a confirmar la importancia de la forma nerviosa del Maedi-Visna en nuestra región, así como la necesidad de realizar una toma de muestras del sistema nervioso central lo más completa posible en aquellos animales que presenten sintomatología nerviosa.

3

**DIAGNOSTICO DE ENCEFALOPATIA ESPONGIFORME OVINA (SCRAPIE O TEMBLADERA) DESDE ENERO DE 1996 A MAYO DE 2003**

M. Fuertes; R.A. García-Fernández; M.C. Ferreras; C. García-Pariente; V. Pérez; J. Benavides; L.E. Reyes; J. González; J.F. García-Marín.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

E-mail: dmamfe@unileon.es

En la Unidad de Histología y Anatomía Patológica de la Universidad de León, desde enero de 1996 se realiza el análisis de muestras de tejido nervioso de ganado ovino para el diagnóstico del Scrapie. Las muestras provenían de los Laboratorios Regionales de Sanidad Animal de Castilla y León, de los Servicios Oficiales Veterinarios, del propio Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Veterinaria y de rebaños con al menos un caso positivo de Scrapie. En todos los casos el muestreo fue dirigido hacia el estudio de animales con sintomatología nerviosa, positivos o dudosos a las pruebas rápidas o bien relacionados con animales positivos (cohorte de edad y genética).

Durante los años 1997 y 2000 se desarrolló el Plan de Encefalopatías sobre muestras de animales sacrificados en mataderos de la Comunidad. En total fueron estudiados 802 animales de los que ninguno fue positivo a Scrapie. Posteriormente, se llevó a cabo un Plan Complementario destinado a analizar ovinos de desecho procedentes de explotaciones elegidas al azar en las nueve provincias de la Comunidad. Del total de animales examinados (592), únicamente en uno se detectó esta enfermedad. Desde los Laboratorios de Sanidad Animal se remitieron en este periodo 87 muestras de tronco encefálico de las que 62 resultaron ser casos positivos. Por su parte, los Servicios Veterinarios Oficiales enviaron 46 cabezas de ovino con síntomas nerviosos, siendo 9 los animales afectados por la enfermedad. Asimismo, se llevó a cabo un estudio en 60 ovinos procedentes de explotaciones en las que se diagnosticó previamente al menos un caso positivo de Scrapie, seleccionándose de forma dirigida (síntomas, cohorte de edad y genética). Hasta el momento actual, se ha efectuado la necropsia de 42 animales, observándose 8 casos positivos. En total el número de animales afectados por Scrapie fue de 86.

Todas las muestras fueron procesadas mediante técnicas histológicas convencionales y teñidas con Hematoxilina-Eosina. Para el estudio inmunohistoquímico se utilizaron diferentes anticuerpos monoclonales: 6H4 (Prionics AG, Suiza), P4 (R-Biopharm, Alemania) y L42 (R-Biopharm, Alemania). En el estudio histopatológico se comprobó de forma constante la vacuolización del neuropilo y gliosis, en distintos grados. No siempre se detectó vacuolización de los cuerpos neuronales, cuando apareció, es en forma de tanto vacuolas de pequeño tamaño como otras más prominentes (únicas o múltiples). La distribución de la PrPres fue constante en neuropilo, frecuentemente formando placas, y también a nivel intraneuronal, si bien de forma menos intensa. Asimismo, el patrón perineuronal fue inconstante. Finalmente, es destacable el hecho de observar un porcentaje notable de muestras con inmunotinción positiva y sin presencia de vacuolización.

4

## **DETECCIÓN DE PrPsc EN MUESTRAS DE TEJIDO NERVIOSO CENTRAL CON UN AVANZADO ESTADO DE AUTOLISIS (ESTADO LÍQUIDO)**

E. Monleón, M. Monzón, P. Hortells, A. Vargas, JJ. Badiola.

Centro Nacional de Referencia de EET. Dpto. Patología Animal.

Facultad de Veterinaria de Zaragoza

e-mail: [badiola@posta.unizar.es](mailto:badiola@posta.unizar.es)

El diagnóstico de confirmación de las EETs, debe ser realizado por histopatología según el *Manual de la Oficina Internacional de Epizootias*. Del mismo modo, se especifica que en caso de que el diagnóstico histopatológico sea dudoso o negativo, o bien en aquellos casos en los que el tejido se encuentre en un estado autolítico, se deberá aplicar otra técnica diagnóstica: Western-Blotting (WB), inmunohistoquímica (IHQ) o detección de las fibrillas asociadas a Scrapie (SAF).

Así, en este último caso (muestras que presenten un estado de autolisis, ya sea por un inadecuado proceso de fijación o por el retraso en la toma de muestras), dado que resulta imposible la detección de las lesiones características, hay que recurrir a otra técnica, en nuestro caso, a IHQ. Por otro lado, aunque la detección de PrPsc mediante estas técnicas ha sido previamente demostrada en tejido nervioso autolítico, la sensibilidad de esta técnica en muestras con un avanzado estado de autolisis (estado líquido) no ha sido valorada previamente.

En el presente trabajo se estudiaron 25 muestras de bovinos procedentes del programa de vigilancia activa, todas ellas en estado líquido como consecuencia de un avanzado estado de autolisis y diagnosticadas previamente mediante Prionics®-Check Western Blotting por los Laboratorios Autonómicos. Todas ellas fueron diagnosticadas mediante inmunocitoquímica aplicada sobre un frotis obtenido a partir de un hisopo de la muestra.

Adicionalmente, otras muestras de médula oblongada procedente de animales positivos y negativos de EEB y Scrapie, fueron sometidos a un proceso controlado de autolisis (56°C o temperatura ambiente durante al menos 80 días), y valorados posteriormente aplicando la misma metodología.

La presencia de PrPsc fue detectada en la fracción líquida de todas las muestras procedentes de animales positivos, no siendo detectada en ninguna de las muestras procedentes de animales negativos, observándose una excelente concordancia entre dicho método y el Western-Blotting de Prionics®.

Los resultados de este estudio muestran la fiabilidad de las técnicas inmunocitoquímicas aplicadas a la detección de PrPsc en muestras que presenten un avanzado estado de autolisis (estado líquido). Por lo tanto, esta técnica permite resolver uno de los problemas más importantes en el diagnóstico, tanto de la EEB como de Scrapie, e indirectamente, también en la epidemiología de este grupo de enfermedades.

5

**ESTUDIO GEOANATÓMICO DE LA PRESENCIA DE PROTEÍNA PRIÓN EN OVINOS POSITIVOS A SCRAPIE.**

Bolea, R; Monleón, E; Acín, C; Vargas, F; Hortells, P; Martín-Burriel, I y Badiola, J.J.  
Centro Nacional de Referencia de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles.  
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. rbolea@posta.unizar.es

El diagnóstico de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles se basa en la observación de las lesiones características en el Sistema Nervioso Central (cambio espongiiforme) y en la detección de la acumulación de la PrPres mediante técnicas inmunohistoquímicas o de Western Blot (recomendación de la Organización Internacional de Epizootías). Tras la detección de los primeros casos de Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) en España se instauró un Programa de Vigilancia Activa en el que la detección de la enfermedad se realiza mediante los tests rápidos de diagnóstico. Estos tests detectan la acumulación de PrPres mediante técnicas de WB o ELISA utilizando como muestra una sección de médula oblongada a nivel del obex. Los test rápidos de diagnóstico han sido validados por la UE para el diagnóstico de la EEB, y se han aplicado posteriormente para el diagnóstico del Scrapie.

Estudios realizados a lo largo de la epidemia de la EEB en Inglaterra así como en otros países indican que el fenotipo de la enfermedad es constante, acumulándose la PrPres en la médula oblongada. Sin embargo, en el caso del Scrapie, se han identificado diversos fenotipos de la enfermedad, determinados por diversas variables como la cepa del prión o el genotipo.

El objetivo de este trabajo es determinar la sensibilidad / especificidad de dos tests rápidos validados para el diagnóstico de la EEB utilizando como muestras diferentes áreas del SNC de animales afectados por la enfermedad de Scrapie.

Los animales estudiados fueron cinco ovejas que presentaron cuadros clínicos asociados a la enfermedad del Scrapie. El diagnóstico de estos animales se llevó a cabo por técnicas histopatológicas e inmunohistoquímicas en el Centro Nacional de Referencia de las EET's.

Las muestras estudiadas corresponden a las siguientes áreas del Sistema Nervioso de los animales estudiados:

médula espinal, médula oblongada, cerebelo, diencefalo, telencefalo, corteza frontal, corteza parietal y corteza occipital, ojo y nervio.

Las técnicas utilizadas para llevar a cabo el estudio fueron Prionics®-Check Western Blotting, Prionics®-Check LIA y las técnicas de histopatología e inmunohistoquímica.

Los resultados muestran que la concordancia de las técnicas es del 100% en médula espinal, médula oblongada, cerebelo, diencefalo, telencefalo, corteza frontal, ojo y nervio óptico. En uno de los animales la concordancia no fue total en corteza parietal y frontal. Estas localizaciones no fueron detectadas por técnicas rápidas debido presumiblemente a la toma de muestras, ya que la presencia de proteína priónica era muy escasa y se encontraba en zonas muy localizadas del tejido estudiado.

6

**SÍNDROME DE LA LIBRE PARDA EUROPEA (EBHS) EN UNA LIEBRE NORTEÑA  
(*Lepus europaeus*) DEL PIRINEO ARAGONÉS**

D. Fernández de Luco; M.C. Arnal; C. Gortázar<sup>1</sup>; y D. Gavier-Widen<sup>2</sup>

Dpto. de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. <sup>1</sup>Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos IREC. <sup>2</sup>National Veterinary Institute SVA. Uppsala (Suecia). c.e.: luco@unizar.es

El Síndrome de la Liebre Parda Europea (EBHS) es una enfermedad vírica ocasionada por un *Calicivirus* muy similar al virus de la Enfermedad Hemorrágica del Conejo. La enfermedad es frecuentemente diagnosticada en liebre norteñas del continente Europeo. Los animales afectados presentan grave degeneración vacuolar hepatocitaria y necrosis.

Una liebre norteña adulta macho fue encontrada viva y deambulando en un valle del Pirineo Aragonés (año 1998). El animal murió en el momento de ser recogido. A la necropsia se observó la presencia de sangre en el hocico y fosas nasales, edema sanguinolento en tráquea, congestión y edema pulmonar. El hígado estaba congestivo y aclarado.

Histológicamente, la lesión más notable fue una marcada cariorrexis y degeneración vacuolar de los hepatocitos. Aplicando el método inmunohistoquímico y empleando un anticuerpo monoclonal frente a la proteína de envoltura VP60 de los *Calicivirus*, se detectaron hepatocitos positivos a la presencia del virus.

Así mismo, una muestra de tejido hepático fue positiva a la presencia de este virus mediante la técnica de PCR.

Probablemente este sea el primer caso descrito de "Síndrome de la Liebre Parda Europea" con confirmación virológica en España.

*\*Trabajo financiado por el Dpto. de Medio Ambiente (Sección de Caza y Pesca) del Gobierno de Aragón*

7

**PESTIVIROSIS DEL SARRIO / ISARD (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*)**

**¿UNA ENFERMEDAD NUEVA O DESCONOCIDA?**

D. Fernández de Luco; M.C. Arnal; L. Riba<sup>1</sup>; M. Maley<sup>2</sup> y P. Nettleton<sup>2</sup>

Dpto. de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. <sup>1</sup>Dep. Medi Ambient. Govern d'Andorra (Principat d'Andorra). <sup>2</sup>Moredun Research Institute. Edinburgh (Scotland). c.e.: luco@unizar.es

En los últimos tres años se ha detectado una importante mortandad de sarríos/isards en el Pirineo de Lérida, Ariège y Alto Garona. Los animales presentaban un cuadro de adelgazamiento, alopecia y muerte. Los estudios laboratoriales revelaron la presencia de un virus perteneciente al género *Pestivirus* todavía sin caracterizar. Otros casos de *Pestivirus* en fauna silvestre se han descrito en corzo, ciervo y antílope americano.

Dada la proximidad a las zonas afectadas del territorio de Andorra y Aragón se ha realizado un estudio para el conocimiento de la posible presencia de *Pestivirus* en la población de sarrío/isard mediante el análisis de muestras biológicas obtenidas a partir de los animales abatidos en época de caza y animales hallados enfermos o muertos.

Las muestras se recogieron de 149 animales (128 de Aragón y 21 de Andorra) abatidos durante la temporada de caza de septiembre a diciembre de 2002. Los animales muertos o enfermos analizados fueron 18 y recogidos a partir del año 2002. Las muestras estudiadas fueron bazo y médula ósea mediante la técnica de inmunohistoquímica y utilizando un anticuerpo monoclonal frente a *pestivirus*.

Los 149 animales cazados han resultado negativos a la presencia de *Pestivirus*. Dos de los 18 animales muertos/enfermos resultaron positivos a inmunohistoquímica y a RT-PCR, uno procedente de Andorra y el otro de Aragón. Únicamente se consiguió el aislamiento vírico en el isard de Andorra. Un tercer animal también fue positivo a IHQ quedando pendiente la confirmación mediante RT-PCR.

Los tres animales positivos mostraban un cuadro lesional diferente. El isard de Andorra presentaba caquexia y un cuadro cutáneo de alopecia y persistencia del pelo de invierno en la parte distal de las extremidades y en la cara, el sarrío de Aragón padecía un proceso de neumonía fibrinosa grave y el tercer animal, del que únicamente se pudo recuperar cabeza y cuello, presentaba una meningo-encefalitis no purulenta de etiología desconocida hasta el momento.

*\*Trabajo financiado por el Dpto. de Medio Ambiente (Sección de Caza y Pesca) del Gobierno de Aragón.*

*\*\*El anticuerpo monoclonal ha sido gentilmente cedido por la Dra. S. Scholes, Veterinary laboratories Agency (VLA) Lasswade lab. (Edimburgo)*

8

## **EVALUACIÓN DE LA VACUNA INGELVAC® PRRS ATP FRENTE A LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA INDUCIDA POR TRES CEPAS HETERÓLOGAS DEL VIRUS DEL PRRS ALTAMENTE VIRULENTAS**

F.J. Pallarés, P.G. Halbur<sup>1</sup>, E. Thacker<sup>2</sup>, T. Opriessnig<sup>1</sup>, A. Vincent<sup>2</sup>, D. Nilubol<sup>2</sup>, A. Muñoz<sup>3</sup>

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Murcia. Spain. <sup>1</sup>Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine. <sup>2</sup>Department of Veterinary Microbiology and Preventive Medicine. College of Veterinary Medicine. Iowa State University. Ames. Iowa. USA. <sup>3</sup>Dpto. Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Murcia. Spain. E-mail: [pallares@um.es](mailto:pallares@um.es)

El objetivo de este experimento fue comprobar la eficacia de la vacuna Ingelvac® PRRS ATP frente a la enfermedad respiratoria inducida por tres cepas diferentes del virus del síndrome reproductivo y respiratorio porcino (PRRS) altamente virulentas (PRRSV 1-4-4, VR2385 y PRRSV 1-8-4), que varían considerablemente unas de otras y de la cepa de la vacuna, basándose en la secuenciación parcial del genoma.

Setenta y tres cerdos convencionales de 2 semanas de edad procedentes de una granja libre del virus del PRRS fueron divididos aleatoriamente en 7 grupos (grupos 1 a 7, 10 cerdos cada uno y el grupo 8, 3 cerdos). Los grupos 1, 2, 3 y 8 se vacunaron intramuscularmente con 2 ml de la vacuna Ingelvac® PRRS ATP 28 días antes de la infección experimental. Los cerdos de los grupos 4, 5 y 6 formaron los grupos control positivo, el grupo 7 fue el grupo control negativo y el grupo 8 fue el grupo control no infectado. En el día 0, los cerdos de los grupos 1 y 4 se inocularon intranasalmente con la cepa PRRSV 1-4-4.

Los cerdos de los grupos 2 y 5 se inocularon intranasalmente con la cepa VR2385. Los cerdos de los grupos 3 y 6 se inocularon intranasalmente con la cepa PRRSV 1-8-4. Las temperaturas rectales y las observaciones clínicas fueron anotadas desde el día 28 antes de la infección experimental hasta el día 14 post infección. Se extrajo sangre para detección vírica y serología antes de la vacunación, los días 21, 14 y 7 antes de la infección experimental, el día de la infección y los días 7 y 14 post infección. La necropsia de los animales se realizó a los 14 días post infección.

Las lesiones pulmonares se evaluaron según el porcentaje de pulmón afectado. Microscópicamente se valoró el grado de lesión de neumonía intersticial, hiperplasia linfoide, hepatitis, encefalitis y miocarditis.

Los cerdos vacunados presentaron una disminución estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ) de las lesiones pulmonares macroscópicas y microscópicas, estando éstas correlacionados estadísticamente ( $R = 0,601$ ;  $p < 0,001$ ). La ganancia media diaria fue significativamente más alta ( $p < 0,001$ ) en los animales vacunados a la terminación del experimento a los 14 días post infección.

## EXPRESIÓN DE IFN $\gamma$ POR LAS POBLACIONES DE LINFOCITOS DE BAZO Y TIMO DURANTE LA PESTE PORCINA CLÁSICA.

*P.J. Sánchez-Cordón<sup>1</sup>, M.J. Bautista<sup>1</sup>, A. Núñez<sup>1</sup>, F.J. Salguero<sup>2</sup>, M. Pedrera<sup>1</sup> y J.C. Gómez-Villamandos<sup>1</sup>.*

*1. Dpto de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria. Córdoba - Centro Experimental Andaluz de Sanidad Animal. 2. CISA-INIA, Valdeolmos (Madrid).*

Dada la importancia atribuida en otras enfermedades víricas al IFN $\gamma$ , el objetivo de nuestro trabajo fue determinar su presencia en el bazo y timo durante la PPC y sus implicaciones patogénicas. Para ello se tomaron muestra de ambos órganos procedentes de cerdos inoculados con la cepa virulenta "Alfort 187", sacrificados desde el 2º al 15º dpi. Las muestras, fijadas en la solución de Bouin e incluidas en parafina, se emplearon para el estudio IHQ mediante la técnica del ABC, utilizando un anticuerpo policlonal anti-IFN $\gamma$  porcino.

La cantidad de linfocitos marcados frente a IFN $\gamma$  mostró un incrementó con respecto a los animales no inoculados desde el 2 dpi en corteza y desde el 3 dpi en médula tímica, alcanzándose el máximo de células inmunoteñidas a los 7 dpi en corteza y a los 11 dpi en la médula. En los últimos días de la experiencia (14-15 dpi), el número de linfocitos positivos frente a IFN $\gamma$  sufrió un descenso significativo con respecto a los días de máxima expresión, aunque presentaron valores significativamente superiores a los animales utilizados como controles. La evolución de los linfocitos marcados frente a IFN $\gamma$  en los compartimentos esplénicos fue similar, produciéndose un incremento significativo de los mismos que alcanzó su máximo a los 9 dpi, decreciendo posteriormente de forma paulatina hasta el final de la experiencia, aunque presentando hasta el 14 dpi, con excepción de las vainas linfoides periarteriales, valores significativamente superiores a los animales no inoculados.

La presencia de antígeno vírico en nuestra experiencia desde el 2 dpi, coincide con la aparición, en esta fecha, de linfocitos reactivos frente a IFN $\gamma$ , citoquina con una importante actividad antivírica que podría desempeñar un papel protector en fases tempranas de la PPC, coincidiendo su máxima expresión con la mayor presencia de antígeno vírico en bazo y timo. La evolución de células expresando IFN $\gamma$ , principal activador de macrófagos, sería paralela a la previamente estudiada expresión de TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  e IL-6 por éstos, la cual se produjo desde el inicio de la enfermedad. Por lo tanto, en el transcurso de la PPC podría existir un potente sinergismo que potencia los efectos entre el IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1 e IL-6.

Además, el IFN $\gamma$  podría intervenir estimulando la inmunidad citotóxica específica de las células T e interviniendo en los fenómenos de apoptosis ya que, en algunas líneas celulares el IFN $\gamma$  comparte receptores con el TNF $\alpha$ , siendo capaz de inducir e incrementar la capacidad citotóxica de esta citoquina por lo que su presencia, podría jugar un papel fundamental en la inducción de los mecanismos de apoptosis linfocitaria en el transcurso de la PPC. Su aparición junto a la IL-2 en la fase inicial y media de la PPC, sugiere la existencia de una respuesta tipo 1, coincidiendo sus bajos niveles en la fase final de la PPC con el aumento de IL-4, citoquina antagonista del IFN $\gamma$ .

*Este trabajo ha sido financiado por el MCyT (Proyecto PB98-1033).*

10

## LOS MACRÓFAGOS PULMONARES EN LA PESTE PORCINA CLÁSICA EXPERIMENTAL.

A. Núñez, P.J. Sánchez-Cordón, F.J. Salguero, A. Jover, J.C. Gómez-Villamandos y L. Carrasco.

Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, UCO, Campus de Rabanales, 14014-Córdoba (España). E-mail: [an1caotl@uco.es](mailto:an1caotl@uco.es)

Con el objetivo de estudiar los cambios morfológicos y la expresión de citoquinas por los macrófagos pulmonares intravasculares (MIPs) y alveolares (MAPs) en el transcurso de la infección experimental con el virus de la Peste Porcina Clásica (PPC), se llevó a cabo la inoculación por vía intramuscular de 14 cerdos con una dosis de  $10^5$  TCID<sub>50</sub> de la cepa Alfort del virus de la PPC. Los animales infectados se sacrificaron por parejas a los 2, 4, 7, 9, 11, 14 y 17 días post inoculación (dpi). Dos cerdos adicionales se utilizaron como control. Las muestras de pulmón fueron fijadas en formol y solución de Bouin, para el estudio estructural e inmunohistoquímico, y en glutaraldehído al 2,5% para el estudio ultraestructural. El estudio inmunohistoquímico se llevó a cabo mediante la técnica del ABC utilizando anticuerpos frente al antígeno vírico (Gp55), un marcador mielóide (SWC-3) y diferentes citoquinas (IL-1 $\alpha$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ ).

En los animales infectados la detección del antígeno vírico en los MIPs se produjo desde los 2 dpi, mientras que en los MAPs solo se evidenció a partir de los 7 dpi. Sin embargo ambas poblaciones aumentaron en número desde los 2 dpi, y sufrieron fenómenos de activación fagocítica y secretora. La citoquina que experimentó un mayor incremento en su expresión fue el TNF- $\alpha$ , principalmente en los MIPs y desde lo 2 dpi, con una marcada sobreexpresión que se mantuvo constante a lo largo de la experiencia. La IL-1 $\alpha$  aumentó paulatinamente desde los 2 dpi hasta superar la expresión de TNF- $\alpha$  a los 11 dpi, única fecha en la que los MAPs mostraron un incremento en expresión de IL-1 $\alpha$ , coincidiendo con la máxima expresión de antígeno vírico en el pulmón. La IL-6 también mostró una sobreexpresión durante la infección, estando expresada principalmente en MIPs. La disregulación de las citoquinas estudiadas coincide con la aparición de los cambios vasculares en el transcurso de la enfermedad.

*Este trabajo ha sido financiado por la DGESIC (Proyecto PB98-1033)*

11

## **DIAGNÓSTICO PRECLÍNICO DE SCRAPIE EN OVEJAS Y CABRAS MEDIANTE BIOPSIA DE TERCER PÁRPADO**

F. Vargas(1,2); R. Bolea(1); C. Acín(1); E. Monleon(1); P. Hortells(1), Lujan L(1) J. Badiola(1)

(1) Centro Nacional de Referencia de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. Zaragoza.

(2) Departamento de Medicina y Cirugía. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Barquisimeto. Venezuela. [vargasfrancisco@hotmail.com](mailto:vargasfrancisco@hotmail.com)

Un total de 146 ovejas y 108 cabras provenientes de dos rebaño que habían sido identificados como positivos a scrapie en el programa de vigilancia de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET's) en España, fueron incluidas en este estudio. Se tomaron, a todos los animales, muestras de biopsias de tejido linfoide asociado al tercer párpado (membrana nictitante) para determinar, en vivo, la presencia de Proteína Prionica de Scrapie (PrPSc) por inmunohistoquímica y sangre completa para genotipado de las ovejas.

Como resultado se obtuvieron dieciocho (18) ovejas positivas (12.5%), con una media de edad entre 4 y 5 años, cuyos genotipos fueron ARQ/ARQ (15) y ARQ/ARH (3). Respecto a las cabras, diez (10) resultaron positivas (9.3%) con una media de edad de 3.5 años.

Tras un examen clínico completo a los animales que resultaron positivos a biopsia, se determinó que todos se encontraban en fase preclínica sin síntomas asociados a scrapie. Transcurridos 5 meses de observación clínica, 8 ovejas desarrollaron sintomatología clínica completa y fueron sacrificadas o murieron en fase terminal de la enfermedad resultando positivas a scrapie por inmunohistoquímica y Western blot. De los animales restantes, 7 ovejas y 2 cabras se mantienen en fase preclínicas sin desarrollar sintomatología, mientras 3 ovejas y 8 cabras se encuentran en fase clínica.

En conclusión, las biopsias de tejido linfoide asociado al tercer párpado permiten realizar un diagnóstico en vivo de scrapie en fase preclínica y de manera sencilla, siendo una herramienta valiosa para el estudio clínico y epidemiológico de la enfermedad.

## BACTERIANAS

12

### ESTUDIO LESIONAL E INMUNOHISTOQUÍMICO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL, GANGLIO TRIGÉMINO Y NERVIOS PERIFÉRICOS EN CASOS NATURALES DE LISTERIOSIS OVINA

S. Soto\*, M. C. Ferreras, V. Pérez, J. Benavides, J.F. García Marín

Dpt. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica) Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

La listeriosis ovina, en su forma nerviosa, es una de las enfermedades de mayor incidencia entre las que cursan con sintomatología nerviosa en el ganado ovino de Castilla y León. En este estudio, nos propusimos valorar la relación entre la encefalitis ovina producida por *L. monocytogenes* en casos naturales y las alteraciones de los nervios craneales, con el fin de contribuir al conocimiento de los mecanismos patogénicos de la listeriosis ovina.

Se han estudiado 18 ovinos con sintomatología nerviosa remitidos al Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico de la Facultad de Veterinaria de León, desde enero de 2000 hasta enero de 2001, utilizándose dos ovinos sanos como control. Las muestras estudiadas fueron: médula cervical anterior (ocasionalmente lumbar y torácica), médula oblongada, puente, pedúnculos cerebelosos, cerebelo, mesencéfalo, hipocampo, diencéfalo, cuerpo calloso, cuerpo estriado, bulbo olfatorio, corteza cerebral (temporal, parietal y frontal), ambos ganglios trigéminos, y los nervios craneales derecho e izquierdo óptico, oculomotor, trigémino (nervios maxilar, infraorbitario, mandibular, bucal, lingual, alveolar-mandibular y mentoniano), facial, glossofaríngeo, vago, accesorio e hipogloso. Las muestras se procesaron para su estudio histopatológico y se tiñeron con hematoxilina-eosina y mediante la técnica inmunohistoquímica ABC-Peroxidasa, frente al antígeno somático O de los serotipos 1 y 4 de *Listeria monocytogenes* (Difco®).

En el estudio histopatológico se diagnosticó listeriosis en 15 animales. Once ovinos mostraron una encefalitis purulenta de carácter agudo, afectándose siempre el puente de forma más intensa que otros niveles y con un patrón bilateral. Las cuatro restantes presentaban una lesión de carácter más crónico con polimorfonucleares neutrófilos en el tronco del encéfalo y microabscesos en niveles anteriores y posteriores. El mayor grado de lesión, de carácter bilateral se detectó en todos los casos, en puente y médula oblongada anterior (origen del nervio trigémino), sugiriendo que éste sería el punto inicial y preferente de la infección.

El ganglio y el nervio trigémino presentaron lesiones en los 15 ovinos, de carácter predominantemente crónico y coincidiendo con rombencefalitis aguda, lo que apoyaría que este quinto par craneal es la vía preferente de infección. La técnica inmunohistoquímica permitió la detección de antígeno bacteriano en la práctica totalidad de los niveles del encéfalo lesionados.

En las formas crónicas su presencia en la médula oblongada y puente fue menor que en niveles anteriores y posteriores, sugiriendo una diseminación craneo-caudal de la bacteria desde estas localizaciones. El sistema nervioso periférico presentó inmunotinción exclusivamente en el nervio trigémino, dispuesta en línea, y asociada a axones lesionados e intactos, apoyando la vía intraxonal como posible ruta de diseminación de la bacteria.

\*Dirección actual: Instituto Andaluz de Patología y Microbiología, Málaga.

13

**PSEUDOTUBERCULOSIS OVINA: LOCALIZACIONES ATÍPICAS, ASOCIADAS A LESIONES Y CLÍNICA GRAVES.**

O. Moreno; V. Pérez; C. García-Pariente; M. Fuertes; M. C. Ferreras; J. Benavides; L. E. Reyes, C. Pérez-Martínez; J. F. García-Marín.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Histología y Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

Campus de Vegazana, s/n. 24071. León.

E-mail: dmavpp@unileon.es

La pseudotuberculosis ovina o linfadenitis caseosa, es una enfermedad infecciosa causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis ovis*, muy extendida entre el ganado ovino de nuestro país. La bacteria penetra por heridas en la piel y provoca la aparición de focos de necrosis caseosa, en los que ocasionalmente se aprecia un laminado concéntrico, en los nódulos linfáticos superficiales. Frecuentemente se observa la diseminación del agente a nódulos linfáticos internos (mediastínicos y bronquiales) u órganos, entre los que el pulmón es el más frecuente.

En nuestro servicio de diagnóstico, donde se recibe un número apreciable de casos de la especie ovina, se han encontrado lesiones asociadas a esta enfermedad, como hallazgos de necropsia, en un porcentaje superior al 60 % de los animales adultos estudiados, presentando en la mayoría de las ocasiones las formas más comunes ya descritas.

En esta comunicación se recopilan varios casos en los que los focos caseosos de pseudotuberculosis se localizaban en lugares menos habituales, provocando lesiones y signos clínicos graves, e incluso la muerte del animal. De forma individual, los casos descritos son los siguientes: a) Presencia de formaciones caseosas en ambos riñones, destruyendo casi la totalidad del parénquima renal y provocando una insuficiencia renal crónica. b) En el pericardio de una oveja, de forma masiva y causando insuficiencia cardíaca. c) En nódulos linfáticos mesentéricos de la zona iliaca o mesentérica, provocando compresión sobre el intestino y la dilatación del recto. d) Trombosis de la arteria aorta torácica y vasos pulmonares, por extensión desde los nódulos linfáticos mediastínicos, provocando la muerte del animal, con un cuadro de epistaxis. e) En la pared de la aorta, causando aneurisma, rotura y hemorragia intra-abdominal. f) En el disco intervertebral (toraco-lumbar), produciendo alteraciones nerviosas, en un caso de pseudotuberculosis diseminada.

Asimismo se observaron varios animales con lesiones de pseudotuberculosis generalizada (afectando a varios órganos y tejidos) que presentaban amiloidosis renal asociada.

14

## **DETERMINACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE CITOQUINAS EN EL PULMÓN DE CERDOS INFECTADOS NATURALMENTE CON *Mycoplasma hyopneumoniae***

H. Lorenzo, A. Fernández, G.A. Ramírez, A. Castro, O. Quesada, F. Rodríguez

Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 35416 Arucas, Gran Canaria

*Mycoplasma hyopneumoniae* (M.h.) es el agente causal primario de la neumonía enzoótica porcina, ampliamente distribuida en todas las áreas de producción y caracterizada por desarrollar un proceso inflamatorio crónico de alta morbilidad y baja mortalidad con un retardo en el crecimiento y con un importante impacto económico en el sector.

Las lesiones pulmonares inducidas por M.h. están representadas por infiltración de células inflamatorias en alvéolos y bronquiolos, acumulación de linfocitos alrededor de vasos sanguíneos y vías aéreas e hiperplasia del tejido linfoide asociado a bronquios.

El presente estudio explora la presencia de diferentes citoquinas en el tejido pulmonar de cerdos infectados con M.h. y su relación con la respuesta inmune durante la infección. Para ello, se emplearon tejidos fijados mediante congelación e incubados con anticuerpos mono y policlonales comerciales, dirigidos frente a la citoquina IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8 y el TNF-alfa, involucradas en diferentes procesos neumónicos del hombre y animales domésticos.

En el estudio observamos un incremento de estas citoquinas en el exudado inflamatorio y en el tejido linfoide asociado a bronquios de los animales infectados con respecto a los controles.

Los mecanismos indirectos durante la infección de M.h. del epitelio bronquial y bronquiolar, incluyen la expresión de citoquinas por parte de macrófagos y linfocitos activados, responsables, en gran medida, de los cambios lesionales observados, que incluyen la infiltración de células inflamatorias en las áreas broncoalveolares y la hiperplasia linforreticular de tejido linfoide asociado a bronquios.

### *Referencias*

- Asai, T. et al., 1993. Vet Immuno. Immunopathol. 38: 253-260.  
Maes, D. et al., 1996: Vet. Quartely 18: 104-109.  
Okada, M. et al., 2000. Vaccine 18: 2825-2831.

15

**INFECCIÓN EXPERIMENTAL POR COXIELLA BURNETII EN CABRAS GESTANTES.**

A.J. Buendía, A. Souriau<sup>1</sup>, C.M. Martínez, , N. Arrican-Bouveray<sup>1</sup>, A. Rodolakis<sup>1</sup>, J.A. Navarro, J. Sánchez.

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.<sup>1</sup>INRA Tours-Nouzilly, Pathologie Infectieuse et Immunologie. E-mail: jnavarro@um.es.

*C. burnetii* es el agente causal de la fiebre Q, una zoonosis grave y endémica de del área mediterránea. Los ruminantes son el reservorio primario de la infección. En estas especies la infección es inaparente, manifestándose únicamente en animales gestantes en los que provoca aborto acompañado de mortalidad perinatal. El objetivo de este estudio es describir la cinética de la infección y determinar la posibilidad de desarrollo de infección crónica tras el aborto.

Las cabras fueron inoculadas el día 90 de gestación y sacrificadas a los 116 y 130 días de gestación y los 8 y 120 días después del aborto. Tras la necropsia se tomaron muestras de placentomas y áreas interplacentomales, así como del material abortado procedente de las cabras no sacrificadas durante la gestación. Se procedió al análisis histopatológico, inmunocitoquímico y detección de ADN de la bacteria mediante PCR.

En los diferentes órganos examinados de las cabras gestantes se observaron ligeros infiltrados de mononucleares, que no se correlacionaron con la presencia de antígeno en la muestra. Inicialmente el antígeno de *C. burnetii* se evidenció en el trofoblasto de la membrana corialantoica a los 116 días de gestación. En el día 130 de gestación la infección había progresado hacia las porciones centrales del placentoma, demostrándose elevadas cantidades de antígeno en las células del trofoblasto de la base de las vellosidades y en los neutrófilos del exudado inflamatorio.

En el material abortado se puso de manifiesto una disminución del antígeno, importante infiltrado inflamatorio linfocítico y arteritis. Todo el material abortado fue PCR positivo independientemente de la existencia o no de lesiones. A los 120 días postaborto no se detectó antígeno ni ADN de *C. burnetii* en las muestras examinadas.

En conclusión, el órgano diana de la infección es el útero grávido con predilección del patógeno por las células del trofoblasto. La infección queda controlada tras el aborto y la posibilidad de infección crónica es al menos infrecuente.

16

## DESARROLLO DE UN MODELO MURINO DE INFECCIÓN INTRANASAL PARA EL ESTUDIO DEL ABORTO ENZOÓTICO OVINO

C.M. Martínez, A. J. Buendía, J. Sánchez, N. Ortega<sup>1</sup>, J. Salinas<sup>1</sup>, J.A. Navarro

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. <sup>1</sup>Dpto. Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. E-mail: jnavarro@um.es.

*C. abortus* es el agente causal del aborto enzoótico ovino, que origina durante el último tercio de la gestación una placentitis necrótico purulenta con abortos y partos prematuros. En la enfermedad natural el contagio se produce a partir de fetos y envolturas fetales infectadas. Si ocurre en ovejas en el último periodo de gestación, éstas no abortan, debido a que como en ovejas vacías, el microorganismo queda latente hasta la siguiente gestación, en la que se activa produciéndose el aborto.

Mientras que la inoculación subcutánea de ovejas gestantes reproduce la enfermedad, esto no sucede si las ovejas están vacías, incluso tras una reinfección en la siguiente gestación, al contrario de lo que ocurre con la infección intravaginal. Puesto que la vía de inoculación puede influir en la patogenia de la enfermedad, se propone desarrollar un modelo murino de infección intranasal por *C. abortus* para el estudio del aborto enzoótico ovino, ya que el pulmón es un órgano diana en la infección natural y experimental.

Hemos utilizado ratonas no gestantes y gestantes, infectadas intranasalmente con diferentes dosis de clamidias. Utilizándose como control ratonas inoculadas intraperitonealmente. Las ratonas fueron observadas y pesadas diariamente, sacrificándose a los 3, 5 y 7 días. Tras la necropsia muestras de pulmón, ganglios mediastínicos y submandibulares, hígado, bazo, intestino, riñón y placenta en el caso de las ratonas gestantes, fueron fijadas en formol, incluidas en parafina y teñidas con H-E y con la técnica ABC utilizando una AcMo anti-LPS de *C. abortus*. Muestras de pulmón y ganglios linfáticos se fijaron en glutaraldehído para su estudio ultraestructural, y muestras de hígado fueron obtenidas para el aislamiento del germen.

La infección intranasal provocó en las ratonas una enfermedad respiratoria, caracterizada por un cuadro de neumonía fibrinosa, con afección de los ganglios mediastínicos y submandibulares, de mayor gravedad en las ratonas gestantes. A diferencia de lo que ocurre en los controles tanto las lesiones como la presencia de antígeno clamidial en hígado y bazo fueron mínimas. En las ratonas gestantes la enfermedad respiratoria estuvo acompañada de fallos reproductivos con reabsorciones y abortos. Estos resultados muestran que la infección intranasal produce una mayor estimulación de la inmunidad local frente a la sistémica, que es la que predomina en la infección intraperitoneal, así como la mayor susceptibilidad de las ratonas gestantes a la enfermedad.

17

### **BROTE DE SALMONELOSIS SEPTICÉMICA AGUDA EQUINA ASOCIADA A *SALMONELLA ENTERITIDIS* Y *MUCOR* SPP.**

J. Pérez, R. Zafra, A. Méndez, E. Mozos, C. Tarradas<sup>1</sup>, A. Arenas<sup>1</sup>, R. Astorga<sup>1</sup>,  
Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. <sup>1</sup>Dpto. Sanidad Animal. Edificio de Sanidad Animal.  
Campus de Rabanales. Facultad de Veterinaria de Córdoba.

La salmonelosis septicémica aguda suele afectar a potros jóvenes y tiene un curso fatal de 2 a 3 días. En este trabajo describimos los hallazgos clínicos, patológicos y microbiológicos de un brote atípico de salmonelosis aguda equina en la que se afectaban tanto potros como caballos adultos.

La granja, situada en el término municipal de Écija (Sevilla), constaba en el momento de la presentación de la enfermedad con 45 équidos de diferentes edades y sexos, siendo frecuente la entrada y salida de animales de la misma. Nueve animales de diferente edad y sexo presentaron fiebre (41°C), anorexia, diarrea, dolor abdominal y letargia.

El tratamiento con sulfamidas y trimetoprim (1ml/10 kg i.v./día) and cefalexina (1ml/30 kg i.v./día) no provocó mejoría de los mismos, y todos los animales afectados murieron entre 2 y 4 días después de la presentación de los signos clínicos. Un macho de 18 meses de edad fue remitido al Servicio de Diagnóstico de la Facultad de Veterinaria de Córdoba.

En la necropsia los hallazgos más relevantes fueron una linfadenitis severa y generalizada, severa congestión y edema de pulmón, hemorragias petequiales en serosas. En colon y ciego existía una severa tiflocolitis ulcerativa con numerosas úlceras con centro blanco-amarillento y periferia hiperémica.

El estudio histopatológico demostró una tiflocolitis ulcerativa profunda, en algunas de estas úlceras se observaron colonias bacterianas Gram negativas, así como numerosas hifas ramificadas y septadas. A partir de muestras de ciego y colon se cultivó y aisló *Salmonella enteritidis*, que fue serotipada como tipo 9, 12; i; -, fagotipo 4.

Tras el estudio macroscópico, se recomendó al propietario que limpiara y desinfectara los bebederos, ya que éstos consistían en pilones en los que el agua permanecía varios días, estaban al sol y muy sucios. Después de esta medida no se volvieron a presentar nuevos casos en la explotación, realizándose una recogida de heces para tratar de identificar portadores que resultó negativa.

El estrés de los animales, las elevadas temperaturas y la contaminación de los bebederos son los factores que han dado lugar a la forma de presentación tan severa del proceso de salmonelosis tanto en animales jóvenes como adultos.

*Agradecimiento: trabajo financiado por Junta de Andalucía (grupo AGR 137).*

18

### **EVALUACIÓN EN CERDOS DE UNA VACUNA EXPERIMENTAL FRENTE A *Streptococcus suis* INACTIVADA CON CEFTIOFUR**

F.J. Pallares, P.G. Halbur<sup>1</sup>, C.S. Schmitt<sup>1</sup>, J.A. Roth<sup>1</sup>, R.B. Evans<sup>1</sup>, J.M. Kinyon<sup>1</sup>

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Murcia. Spain. <sup>1</sup>Department of Veterinary Diagnostic and Production Animal Medicine. College of Veterinary Medicine. Iowa State University. Ames. Iowa. USA.

E-mail: [pallares@um.es](mailto:pallares@um.es)

Los resultados derivados de la utilización de bacterinas frente a *Streptococcus suis* disponibles comercialmente son muy variables e inconsistentes. Para estudiar la eficacia de una vacuna experimental frente a *S. suis* inactivada con ceftiofur utilizando tres adyuvantes diferentes, en una infección experimental con una cepa homóloga, se utilizaron 66 cerdos SPF de 2 semanas de edad procedentes de una granja libre de *S. suis* tipo 2.

Los animales se dividieron aleatoriamente en 5 grupos. Los grupos 2, 3 y 4 se vacunaron intramuscularmente 28 y 14 días antes de la infección experimental con dos dosis de la vacuna inactivada con ceftiofur utilizando los adyuvantes Montanide ISA 25, Montanide ISA 50 y saponina, respectivamente. Los grupos 1, 2, 3 y 4 se inocularon intranasalmente con la cepa de *S. suis* ISU-VDL 40634/94 y el grupo 5 quedó como el grupo control no infectado. Los cerdos se monitorizaron dos veces al día, anotándose las temperaturas rectales y síntomas nerviosos una vez al día. Los cerdos que mostraron síntomas nerviosos graves (ataxia u opistótonos) o inflamaciones articulares severas y cojeras que impedían su movimiento fueron sacrificados inmediatamente y se les practicó la necropsia. Las necropsias del resto de animales se realizaron a los 14 días post infección.

La mortalidad fue del 80%, 53.8%, 31.2%, 42.8% y 0% en los grupos control positivo, vacuna Montanide ISA 25, vacuna Montanide ISA 50, vacuna saponina y grupo control negativo, respectivamente. La vacuna Montanide ISA 50 redujo significativamente ( $p < 0,05$ ) la mortalidad asociada a la infección experimental con *S. suis*. Las vacunas Montanide ISA 50 y saponina redujeron significativamente ( $p < 0,05$ ) el número de animales con lesiones macroscópicas y microscópicas de meningitis.

## 19

### FASCIOSIS EXPERIMENTAL OVINA: EFECTO DE REINFECCIONES Y TRATAMIENTO EN LA RESPUESTA INMUNE LOCAL

Ortega J<sup>1</sup>, Corpa JM<sup>1</sup>, Peris B<sup>1</sup>, Martaínez-Moreno A<sup>2</sup>, López, C<sup>3</sup>, Morrondo, P<sup>3</sup>, Pérez J<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Dep. de Atención Sanitaria, Salud Pública y Sanidad Animal, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Valencia. <sup>2</sup>Cátedra de Parasitología, Facultad de Veterinaria de Córdoba. <sup>3</sup>Cátedra de Parasitología, Facultad de Veterinaria de Lugo. <sup>4</sup> Dep. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria de Córdoba.

El objetivo del presente estudio ha sido profundizar en el conocimiento de los mecanismos patológicos e inmunológicos de la fasciolosis crónica ovina. Se han realizado infecciones repetitivas, con y sin tratamiento con triclabendazol (TCBZ), y se ha comprobado cómo afectan a la adquisición de resistencia frente a futuras infecciones. Para ello, se ha estudiado la distribución de distintas poblaciones de leucocitos y subpoblaciones linfocitarias en hígado y ganglios linfáticos hepáticos. Se emplearon 32 ovejas de raza merina divididas en 6 grupos, uno de los cuales se utilizó como control.

Las ovejas de los 5 grupos restantes fueron infectadas oralmente con distintas dosis de metacercarias de *F. hepatica* de origen ovino del siguiente modo: el grupo 1 fue primoinfectado, el grupo 2 reinfectado, los grupos 3 y 5 fueron reinfectados y tratados con TCBZ a las 4 y 12 semanas postinfección, respectivamente. Finalmente, el grupo 4 fue primoinfectado y tratado con TCBZ.

El estudio inmunohistoquímico demostró una intensa respuesta inmune celular, representada por un severo infiltrado de linfocitos T (CD3+) en espacios porta y parénquima hepático. Los linfocitos Th (CD4+) fueron más numerosos que los linfocitos Tc (CD8+) en todos los grupos, aumentando la ratio CD4/CD8 en los grupos reinfectados y en el grupo tratado con TCBZ, respecto al grupo infectado primariamente. En los ganglios linfáticos hepáticos también se produjo un aumento considerable de las células T, principalmente en las áreas paracorticales. Por otra parte, los linfocitos TCR- $\gamma\delta$  siempre fueron ocasionales, tanto en hígado como en ganglios linfáticos.

La respuesta inmune humoral, representada por un abundante infiltrado de linfocitos B (CD79a+) y células plasmáticas (IgG+) en espacios porta y parénquima hepático,

especialmente en los grupos re infectados; los linfocitos B (b-B4+) se presentaron sobre todo en folículos linfáticos que se formaban en espacios porta. Los ganglios linfáticos hepáticos mostraron un marcado incremento de células CD79a+, B-B4+, así como de células plasmáticas IgG+ en los grupos infectados y, particularmente en los re infectados, respecto al grupo control.

Las respuestas inmunes locales, tanto de tipo celular como humoral, no mostraron carácter protector, ya que a pesar de ser intensas como demostró el abundante infiltrado celular en hígado y ganglios linfáticos hepáticos, no proporcionaron protección frente a las reinfecciones, tanto en el grupo tratado (grupo 3) como no tratado (grupo 2).

Agradecimiento: trabajo financiado por proyecto Xuga 26104-B98 y Junta de Andalucía (AGR 137).

## 20

### **PNEUMATOSIS CYSTOIDES INTESTINALIS EN UNA EXPLOTACIÓN CUNÍCOLA ECOLÓGICA.**

<sup>1</sup>Corpa, J.M.; <sup>1</sup>Segura, P.; <sup>2</sup>García, V.; <sup>1</sup>Martínez, J.; <sup>1</sup>Ortega, J.; <sup>1</sup>Peris, B.

<sup>1</sup>Dpto. Atención Sanitaria, Salud Pública y Sanidad Animal (Histología y Anatomía Patológica). Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud. Universidad Cardenal Herrera C.E.U. Edificio Seminario, s/n. 46113 Moncada (Valencia).

<sup>2</sup>Ingeniero Agrónomo de la Consellería de Agricultura Pesca y Alimentación. Generalitat Valenciana.

La *pneumatosis cystoides intestinalis* es un proceso poco frecuente caracterizado por la presencia de quistes repletos de gas, localizados en la submucosa y subserosa de la pared del tracto gastrointestinal, principalmente del intestino delgado y grueso. Se han descrito dos formas patológicas: fulminante y benigna. La primera de ellas se ha asociado con procesos bacterianos agudos, sepsis y necrosis intestinales; mientras que la segunda puede ser totalmente asintomática y se suele observar como un hallazgo de necropsia.

Entre las diversas causas que podrían desencadenar esta enfermedad se han propuesto factores mecánicos; nutricionales (contenido excesivo de carbohidratos en la dieta); y bacterianos, destacando, entre estos últimos a *Clostridium perfringens*, *Clostridium tertium* y *Escherichia coli*.

En esta comunicación se presenta un caso de *pneumatosis cystoides intestinalis* en una coneja reproductora de 2 años de edad criada en una explotación cunícola ecológica. El animal fue remitido al servicio de diagnóstico anatomopatológico de la Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud de Valencia para su estudio. Tras realizar la necropsia sistemática completa y ordenada del animal, la única lesión destacable fue la presencia de numerosos quistes de gas en la pared del intestino delgado y asociados principalmente a las placas de Peyer y a los vasos linfáticos. Se discute la posible etiología de la *pneumatosis cystoides intestinalis* en este tipo de explotaciones, de carácter ecológico; tanto en lo que se refiere a la utilización de alimentos sin ningún tipo de aditivo medicamentoso, como al consumo selectivo de determinados componentes de la dieta por parte de las hembras reproductoras.

21

## **LOCALIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL ANTÍGENO DE *Leishmania donovani* EN RIÑONES DE PERROS AFECTADOS POR LEISHMANIOSIS VISCERAL Y SU RELACIÓN CON EL CUADRO LESIONAL.**

Andrade-Marina, M., Pérez-Martínez, C., García-Marín, J.F.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Histología y Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana s/n. 24071 León.

e-mail:mayraandrademarina@hotmail.com

En este trabajo nos planteamos estudiar la distribución del antígeno de *Leishmania donovani* en riñones procedentes de perros afectados por leishmaniosis visceral en su forma natural, así como relacionar la localización de este antígeno con la gravedad y tipos lesionales observados en los riñones de estos animales.

El estudio se realizó con material recogido de 14 perros que habían sido diagnosticados previamente como positivos a la infección por este protozoo. Muestras de ambos riñones fueron fijadas en formol tamponado al 10% e incluidas en parafina, realizamos secciones y tinciones con H-E, tricrómico de Masson, PAS, plata metenamina y rojo congo. Para llevar a cabo el estudio inmunohistoquímico se empleó un anticuerpo monoclonal frente a *Leishmania donovani infantum* comercializado por el laboratorio "Biogénesis Ltd."

La presencia del antígeno de *Leishmania donovani* se observó en diferentes estructuras renales de todos los animales estudiados. Se detectó positividad en los 14 animales estudiados en las células epiteliales de los túbulos contorneados proximales y en la luz de los mismos en 7 casos. También se observó inmunopositividad en las células epiteliales de los túbulos contorneados distales (7/14) y, ocasionalmente, en la luz de los mismos (2/14).

Otras estructuras tisulares donde se obtuvo inmunoreacción positiva fueron los macrófagos del tejido intersticial (7/14) y el corpúsculo renal (7/14). En esta última estructura renal se encontró el Ag predominantemente en el glomérulo (7/14) y, en menor proporción, en cápsula de Bowmann (2/14).

En general se ha comprobado que existía una relación directa entre la intensidad de la inmunopositividad detectada en glomérulos y macrófagos intersticiales. Sin embargo, esta relación era inversa entre positividad glomerular y de los túbulos contorneados. No pudimos encontrar ninguna relación que evidenciase una asociación entre el tipo y gravedad de la lesión presente en el órgano y la señal inmunohistoquímica obtenida frente al antígeno de *Leishmania donovani*.

## TUMORES

22

### TENASCIN-C EXPRESSION IN NORMAL, ATROPHIC, HYPERPLASTIC AND NEOPLASTIC CANINE PROSTATE GLAND.

C.T. Frias , H. Nederbragt<sup>1</sup>

ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, University of Porto, Portugal. <sup>1</sup>Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, The Netherlands.

Tenascin-C (TN) is an extracellular matrix glycoprotein suggested to be a potential mediator between cell-matrix interactions.

In domestic animals TN expression has been studied in tumours of the intestines and the mammary gland but not of the prostate.

Our study evaluated the TN-C expression in the canine prostate gland by performing immunohistochemistry techniques. We used 32 tissues, including normal, atrophic and hyperplastic prostates, as well as transitional cell carcinomas, adenocarcinomas and metastasis.

In the canine prostate gland, the pattern of TN-C distribution was heterogeneous, reason why this molecule can not be considered a prognosis marker. TN expression was positive in all tissues observed, despite its intensity labeling having increased from normal to hyperplastic prostate. The most intense expression was observed in tumoral lesions and atrophic prostates.

The distribution of tenascin was peripheral in the normal and hyperplastic prostate. In the tumoral lesions tenascin pattern of distribution within the prostate gland was more widespread.

In our study the stroma was the only prostate compartment stained and there was a strong correlation between TN-C expression and smooth muscle cells. Besides that in the prostate gland tenascin expression is present in places where the cells are able to communicate with the extracellular matrix of the stroma.

23

### CARACTERIZACION DE LAS NEOPLASIAS PRESENTADAS POR RATONES NULOS PARA LOS GENES P16,P19ARFY P21.

J. Martín-Caballero<sup>1</sup>, P. García, M. Serrano<sup>2</sup>. JM. Flores

Dpto Patología Animal II. Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria de Madrid. Ciudad Universitaria s/n. 28040 Madrid. <sup>1</sup> Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas. Instituto Carlos III. Madrid. <sup>2</sup>Departamento de Inmunología y Oncología. Centro Nacional de Biotecnología. CSIC. Cantoblanco. Madrid. E-mail: jflores@vet.ucm.es

El objetivo del presente trabajo es estudiar la posible cooperación entre reguladores de de CDKs (ciclinas dependientes de quinasas) correspondientes a dos familias distintas Cip/kip e INK4a, en la génesis y desarrollo de neoplasias en ratones.

El estudio se ha llevado a cabo en una colonia de 181 ratones triplemente nulos para los genes p16, p19ARF y , p21 de los cuales 96 eran machos y 86 eran hembras.

A los diez meses todos los ratones habían fallecido, presentando una incidencia tumoral del 94%. El período de latencia media de presentación de los tumores fue de seis meses.

Los tumores mas frecuentemente observados fueron Sarcomas Histiocíticos que representaron el 51.6% de las neoplasias estudiadas , que afectaban con mayor frecuencia al bazo, hígado, ganglios mesentéricos, páncreas y útero.

El segundo tipo tumoral mas frecuente fue el de tumores mesodérmicos malignos de tejidos blandos y tejido esquelético, que representaron el 33.8% del total (Fibrosarcomas y

Rabdomiosarcomas). Su principal localización fue el tejido conjuntivo subcutáneo de las extremidades ó del tronco.

Los linfomas representaron un 11,3 % del total, y fueron en su mayoría generalizados inmunoblasticos de células B en un 85% de los casos, mostrando positividad ante al receptos CD45R (B220). Los hemangiosarcomas y los tumores metastáticos completaron el espectro tumoral observado..

Estos resultados son sugerentes de un sinergismo entre p16p19 ARF y p21 ya que aumenta significativamente el numero de neoplasias observadas con respecto a los ratones deficientes solo para cada uno de los genes estudiados.

Además aparecieron casos de rabdomiosarcomas que sólo se observaron en esta línea de ratones triplemente nulos. Así mismo el grado de metastasis observado fue mayor en los nulos para los genes p16, p19ARF y , p21.

## 24

### **MASTOCITOMA VISCERAL EN UN PERRO**

D. Rigaut, A. Nieto, E. Martínez, M. Castaño, M. Rodríguez

Dpto. de Patología Animal II (Hospital Clínico Veterinario). Facultad de Veterinaria de Madrid. Ciudad Universitaria. C<sup>ra</sup> Coruña km 5,6. 28040 MADRID. E-mail: pastapepino@hotmail.com

El mastocitoma representa entre el 7 y el 21% de los tumores del perro, pero en la mayoría de los casos, se trata de la forma cutánea. Su tendencia a la metástasis depende del grado histológico, aunque se considera cómo un tumor maligno por su comportamiento imprevisible. En la bibliografía consultada, existen pocos casos descritos cómo mastocitomas sistémicos que no presentan historia previa de masa cutánea.

A las consultas del Hospital Clínico de la Facultad de Veterinaria de Madrid, se remitió un perro macho de raza Afgano de 12 años con un cuadro de depresión, debilidad y pérdida de peso, agravado, en la última semana, con vómitos sanguinolentos y diarrea con melena. Clínicamente, aparecía muy débil, caquético y con mucosas explorables pálidas.

Los exámenes complementarios revelaron anemia, eosinofilia y mastocitos en el frotis sanguíneo. Por ecografía se observaron anomalías prostáticas, esplenomegalia y hepatomegalia con nódulos bien definidos. Se tomaron muestras ecoguiadas para examen citológico, comprobándose un mastocitoma en bazo e hígado. La punción de médula ósea confirmó la presencia de mastocitos.

En la necropsia, macroscópicamente, se observó una hepatomegalia muy marcada con numerosos nódulos blancos de consistencia firme, que también se comprobaron en serosa de cavidad pelviana rodeando próstata y vejiga así cómo en diafragma y miocardio y cuyo tamaño oscilaba entre 0,2 y 1 cm de diámetro. En bazo se apreció una esplenomegalia pero sin cambios aparentes del parénquima. El resto de los órganos no mostraron alteraciones de interés.

Histológicamente, con H-E, se evidenció en numerosos órganos (hígado, bazo, próstata, vejiga, peritoneo, adrenales, ganglios mediastínicos, diafragma, miocardio y pulmón) un infiltrado de células redondas con citoplasma granular compatible con mastocitos, que se confirmó con Azul de Toluidina, y éstas células presentaban marcadas características de malignidad. Se valoró el índice de proliferación celular mediante la inmunotinción con el anticuerpo monoclonal MIB1 anti-Ki-67 obteniéndose positividades entre el 24,7 y el 68 %. Se realizaron tinciones con otros métodos, cómo Gallego , PAS, Methenamina y M/E para comprobar el estroma tumoral y una posible lesión glomerular renal.

Los hallazgos macroscópicos, histológicos, inmunohistoquímicos y ultraestructurales condujeron a un diagnostico de MASTOCITOMA VISCERAL MULTISISTÉMICO.

25

**DIVERSIDAD Y HETEROGENEIDAD CELULAR EN TUMORES DE VAINA NERVIOSA: CARACTERIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA.**

C. Costa<sup>3,2</sup>, E. Vidal<sup>1,3</sup>, R. Tortosa<sup>2,3</sup>, M. Pumarola<sup>1,2,3</sup> y J.M. Vela<sup>2,3</sup>

1-Laboratorio PRIOCAT, Fundación CReSA, Facultad de Veterinaria de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Barcelona

2-Departamento de Medicina y Cirugía Animales, Facultad de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona

3-Instituto de Neurociencias, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Barcelona

Se presentan tres casos de perros clínicamente diagnosticados de un tumor localizado en raíces nerviosas de la médula espinal. La sintomatología y pronóstico desfavorable conllevó su eutanasia. Durante la necropsia se confirmó la presencia de masas tumorales siguiendo las raíces nerviosas, alcanzando los ganglios raquídeos en dos de los casos, y comprimiendo la médula espinal.

Microscópicamente se observó que dos de las masas estaban bien delimitadas, incluidas bajo las cubiertas neurales, mientras que sólo la tercera, la que presentaba el índice mitótico más elevado, infiltraba el parénquima nervioso de la médula espinal. En los tres casos, el tejido tumoral presentaba un patrón mixto formando por: a) haces de células fusiformes entrelazados, y b) agrupaciones esferoidales concéntricas. En dos de los casos también se apreciaban zonas de baja densidad celular. En todos ellos se observaron infiltrados linfocitarios localizados preferentemente en las zonas más periféricas.

La caracterización histopatológica se realizó mediante los siguientes marcadores: proteína S-100, enolasa, proteína ácida fibrilar glial, citokeratina, actina, desmina y vimentina. Los resultados obtenidos revelan una gran variabilidad y heterogeneidad celular en estos tumores, lo que es compatible con la proliferación de diferentes poblaciones celulares. Se evidencia, por tanto, que los tumores de vaina nerviosa son de compleja clasificación mediante técnicas inmunohistoquímicas.

Las técnicas empleadas en el diagnóstico histopatológico permiten descartar determinados tipos de tumores y apuntar un diagnóstico diferencial. Sin embargo, no es posible determinar cual es la población celular específica y primariamente afectada en este tipo de tumores debido a la naturaleza heterogénea, elevada variabilidad y alto grado de desdiferenciación celular.

26.-

### **NEUROLINFOMATOSIS EN UNA GATA**

R. Tortosa<sup>2,3</sup>, C. Aparici<sup>2</sup>, C Costa<sup>2,3</sup>, J. M. Vela<sup>2,3</sup>, E. Vidal<sup>1,3</sup> y M.Pumarola<sup>1,2,3</sup>.

1-Laboratorio PRIOCAT, Fundación CReSA, Facultad de Veterinaria de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Barcelona

2-Departamento de Medicina y Cirugía Animales, Facultad de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona

3-Instituto de Neurociencias, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Barcelona

La Neurolinfomatosis es un proceso linfoproliferativo descrito en la especie humana que afecta, de forma exclusiva, a los nervios periféricos provocando un cuadro de neuropatía periférica sensitiva.

Presentamos un caso de Neurolinfomatosis observado en una gata cruzada de 14 años de edad. El animal mostró un cuadro neurológico repentino de evolución progresiva. Clínicamente, el diagnóstico diferencial incluía un síndrome de neurona motora inferior atribuible a un problema infeccioso, paraneoplásico o metabólico. Se decidió la eutanasia del animal al no responder al tratamiento antibiótico y antiinflamatorio.

En la necropsia destacó una atrofia muscular generalizada, más evidente en la extremidad posterior derecha.

El estudio microscópico reveló la presencia de una proliferación neoplásica de células linfoides afectando a las raíces nerviosas y nervios periféricos de las cuatro extremidades, así como a los ganglios espinales. Las células neoplásicas eran de gran tamaño, mostraban núcleos grandes con la cromatina laxa y nucleolos evidentes, y escaso citoplasma eosinófilo. La población neoplásica infiltraba el tejido nervioso periférico destruyendo axones en los nervios y cuerpos neuronales en los ganglios. El sistema nervioso central no resultaba directamente afectado. Tampoco se observaron metástasis en otros órganos.

Se han realizado estudios inmunohistoquímicos para caracterizar la lesión nerviosa (NSE, NF 200) así como la población neoplásica (CD3, BLA36, MAC 387) clasificando el proceso como un linfoma primario de células T en tejido nervioso periférico. Se le aplica el término Neurolinfomatosis siguiendo la nomenclatura usada en patología humana.

27

## ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO Y VALORACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DEL TUMOR INTRANASAL ENZOÓTICO EN OVINOS DE LA REGIÓN CASTELLANO-LEONESA

M. P. Rúa, V. Pérez, M. C. Ferreras, J. F. García Marín.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

E-mail: pilirua@mixmail.com

El Tumor Intranasal Enzoótico (T.I.E.) afecta a ovinos y caprinos de numerosos países, entre ellos España, y está causado por un retrovirus (tipo B/D) de la familia Oncornaviridae. La enfermedad se caracteriza por su curso crónico y síntomas respiratorios que pueden ser confundidos con otras patologías, como miasis nasal, rinitis crónicas inespecíficas, otros tumores, etc. La confirmación del T.I.E. se realiza habitualmente mediante estudios histológicos, caracterizándose por presentar un patrón de crecimiento similar a los adenomas de las glándulas de la mucosa nasal. Desde hace varios años, en el Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico de la Facultad de Veterinaria de León se ha observado una frecuencia elevada de casos de T.I.E. en ovinos de alta producción lechera de la región de Castilla y León. Este hecho nos motivó a realizar un estudio sobre su incidencia y formas de presentación en la cabaña ovina de esta región.

Se realizaron tres muestreos diferentes: **a)** Casos de ovino (n=1867) remitidos al Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico entre 1995 y 2001. De ellos, 553 se corresponden con ovejas adultas, de Castilla y León, con sintomatología crónica, de las cuales en 22 (3,98%) se diagnosticó T.I.E. Todos eran ovinos de alta producción lechera y raza Assaf o sus cruces. Otras patologías crónicas de vías respiratorias altas observadas fueron dos casos de rinitis crónicas hipertróficas con formación de pólipos, una sinusitis crónica y dos asociados a tumores (mixoma, fibroma). **b)** Durante el año 2000, se muestrearon 619 ovejas adultas sacrificadas en siete mataderos diferentes distribuidos en las provincias de Castilla y León, de los cuales en dos animales se observó T.I.E. (0,32%). **c)** Entre octubre de 2000 y junio de 2001 se muestrearon al azar 592 ovejas adultas de desecho, procedentes de rebaños distribuidos aleatoriamente en la comunidad de Castilla y León, detectándose tres casos de T.I.E. (0,51%) en tres rebaños diferentes.

En ninguno de los animales de los grupos b) y c) se observaron lesiones nasales crónicas proliferativas. La presencia de sinusitis catarral por *Oestrus ovis* fue generalizada y de carácter moderado a leve, en los tres grupos muestreados, no asociándose a pólipos en ningún caso. Los patrones lesionales del T.I.E. fueron, en general, los descritos habitualmente por otros autores.

Este estudio confirma la implantación que tiene el TIE en el ganado ovino de Castilla y León, debiendo considerarse seriamente esta patología en los protocolos de diagnóstico de enfermedades crónicas con sintomatología respiratoria en el ganado ovino adulto.

28

**CANINE MAMMARY COMPLEX TUMOURS: A TRIPLE IMMUNOSTAINING ASSESSMENT WITH CYTOKERATIN, Ki-67 AND MUSCLE-SPECIFIC ACTIN.**

Dias I.<sup>1</sup>, Gärtner F.<sup>2</sup>

1- ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, University of Porto, Portugal.

2- Institute of Molecular Pathology and Immunology, University of Porto (IPATIMUP), Portugal.

Canine mammary tumours are known for their biological and histomorphological heterogeneity. Most benign neoplasms of the dog are complex or mixed tumours, characterised by the presence of spindle-shaped, myoepithelial cells, as well as cartilage, bone, or fat in addition to proliferated epithelial cells. Although there seems to be a common stem cell for the two epithelial cell types, the vast majority of canine and human mammary malignant tumours exhibit a luminal phenotype. Carcinomas with a pure myoepithelial phenotype are rare, what suggests that myoepithelial cells in the mammary gland may be resistant to malignant transformation.

However, myoepithelial cell has been largely neglected in what concerns their role in the mammary carcinogenesis. A triple immunostaining study using monoclonal antibodies directed against human cytokeratin, muscle-specific actin and nuclear antigen Ki-67 (MIB-1) were carried out on normal canine mammary tissue (n=3), benign canine mammary complex tumours (n=19) and malignant canine mammary complex tumours (n=9). To assess a reliable triple immunostaining protocol for archived, paraffin embedded tissues, different protocols based on the use of same primary antibodies (CAM 5.2, MIB-1 and HHF35) were evaluated in terms of sensitivity, specific and non-specific background staining. Basal/myoepithelial cells were clearly differentiated from ductal or alveolar epithelial cells, since the latter only expressed cytokeratins, whereas the former expressed muscle-specific actin. The prevalence of immunoreactivity in the epithelial components of complex benign and malignant tumours was higher than in myoepithelial cells. The triple immunostaining might be of assistance for simultaneous detection of different antigens in canine mammary tumours.

## VIDA LIBRE

29

### LESIONES MACROSCÓPICAS OBSERVADAS EN AVES MARINAS RECOGIDAS EN LAS COSTAS GALLEGAS TRAS EL VERTIDO DE PETRÓLEO DEL BUQUE "PRESTIGE"

Virginia Santamaría<sup>1</sup>, José L.Cascallana<sup>1</sup>, Ceferino López<sup>2</sup>, Lucas Moya<sup>3</sup>, Javier Balado<sup>4</sup> y Ana Bravo<sup>1</sup>.

1.Anatomía Patológica Veterinaria. 2.Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Departamento de Patología Animal. 3. Citología e Histología Veterinaria. Departamento de Anatomía y Producción Animal. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela. 4. Veterinario del Centro de Recuperación de Fauna Salvaxe de Santa Cruz de Liáns (Oleiros, La Coruña). E-mail: anabravo@lugo.usc.es

El naufragio del petrolero "Prestige", en noviembre de 2002, ha supuesto la segunda peor marea negra en el Atlántico Europeo para las aves marinas, después de la catástrofe del "Erika", habiendo sido recogidas en las costas gallegas, hasta el 16 de febrero de 2003, un total de 10.984 aves (2.287 vivas y 8.697 muertas).

En este estudio presentamos los hallazgos macroscópicos observados durante la realización de la necropsia en un total de 429 aves, remitidas desde el 10 de Diciembre de 2002 hasta el 25 de Febrero del 2003, que habían sido recogidas por voluntarios y remitidas, diariamente, desde el Centro de Recuperación de Fauna Salvaje en Santa Cruz de Liáns (Oleiros, A Coruña). Los cadáveres objeto de este estudio pertenecían a especies de aves sedentarias como el Cormorán Moñudo (1 ejemplar), Cormorán Grande (3 ejemplares) y Gaviota Patiamarilla (43 ejemplares), y a especies de aves migratorias de alto valor ecológico: Alca común (220 ejemplares), Arao Común (103 ejemplares), Frailecillo Atlántico (51 ejemplares) y Alcatraz Atlántico (6 ejemplares).

Durante la necropsia se anotó el sexo, el grado de impregnación externa de fuel, el nivel de ingestión del mismo y su presencia en pulmón y sacos aéreos. Las aves recogidas procedían de los Concellos más afectados por la marea negra: Ortigueira, Cariño, Cedeira, Valdoviño, Ferrol, Ares, Cabanas, Pontedeume, Oleiros, A Coruña, Laracha, Carballo, Malpica, Ponteceso, Laxe, Camariñas, Muxía, Cee, Corcubión, Carnota, Muros, Ribeira, Pobra do Caramiñal y Boiro.

La mayoría de los cadáveres pertenecían a hembras inmaduras en todas las especies estudiadas. Las especies con mayor incidencia de impregnación externa por fuel oil fueron las Alcas y Frailecillos. El grupo de los álcidos (Alca, Arao, Frailecillo) presentaron mayoritariamente grandes cantidades de petróleo a lo largo del tubo digestivo, en ocasiones asociado a gastroenteritis hemorrágica. Muy pocos animales presentaban restos de fuel en los sacos aéreos indicativo de su inhalación.

30

**CUADRO LESIONAL OBSERVADO EN LAS AVES MARINAS HALLADAS EN LAS COSTAS ASTURIANAS COMO CONSECUENCIA DEL VERTIDO DEL PRESTIGE.**Balseiro A.<sup>1</sup>, Espí A.<sup>1</sup>, Márquez I.<sup>1</sup>, Ferreras M.C.<sup>2</sup>, Pérez V.<sup>2</sup>, García Marín F.<sup>2</sup>, Prieto J.M.<sup>1</sup><sup>1</sup> SERIDA- Sanidad Animal- Gijón<sup>2</sup> Departamento de Patología Animal: Medicina Animal. Facultad de Veterinaria de León.

Como consecuencia del hundimiento del Prestige frente a las costas de Finisterre, se produce la segunda peor mortandad de aves marinas en el Atlántico Europeo desde el hundimiento del Erika en 1999. En la costa asturiana se recogieron un total de 2609 aves (1128 vivas y 1481 muertas).

Al Área de Sanidad Animal del SERIDA de Gijón llegaron 2465 aves de diferentes especies, mayoritariamente álcidos (araos y en menor cuantía alcas y frailecillos). Con las aves que presentaron unas condiciones adecuadas para la valoración de lesiones, se establecieron tres grupos: aves muertas recogidas en las playas e impregnadas de fuel (29%), aves muertas recogidas en las playas y no impregnadas de fuel (7%) y aves vivas remitidas al "Centro de Recuperación de Aves de Avilés" (64%), donde fueron sometidas a un proceso de lavado y secado externo, a una alimentación por sonda, a un tratamiento médico, así como a una readaptación en piscinas. En nuestro centro se realizó la necropsia reglada, valorándose las lesiones macroscópicas y tomando muestras de diversos órganos para su posterior procesado.

En las necropsias practicadas a las aves del primer grupo (muertas impregnadas con fuel), se observó un cuadro general de deshidratación, caquexia, diarrea, congestión y hemorragia en diferentes órganos, palidez del riñón y presencia de petróleo en proventrículo, molleja e intestino. En algunos ejemplares, se observaron formas parasitarias compatibles con nematodos en molleja. Microscópicamente, en casi la totalidad de las aves se observó en hígado una degeneración hidrópica, necrosis focales de hepatocitos y presencia de pigmento pardo-verdoso en hepatocitos y macrófagos. El riñón mostró tubulonefrosis leve y en un caso nefritis parasitaria asociada a infección por el trematodo *Renicola sp.* En el intestino delgado de un número importante de aves, se comprobó necrosis focal de las células epiteliales de las vellosidades intestinales, junto con fenómenos de hiperplasia. Asimismo, se observó coagulación intravascular diseminada (C.I.D.) en diferentes órganos.

Las aves encontradas en las playas y no impregnadas con fuel, presentaron un cuadro idéntico al anteriormente descrito en un 60% de las mismas. En el 40% restante no se observaron restos de fuel en el tracto digestivo, aunque sí aparecían caquéticos y con congestión y hemorragias en órganos. Microscópicamente, no se observó C.I.D. ni pigmento pardo-verdoso en hígado.

Finalmente, se realizó la necropsia de las aves muertas en el Centro de Recuperación, observándose un cuadro similar al descrito en los otros dos grupos de aves, si bien, el 28% de estas aves necropsiadas presentaron además lesiones graves producidas por *Aspergillus spp.*. El 65% de las aves con aspergilosis habían permanecido en el centro más de 10 días. Finalmente, se comprobó una asociación entre el tiempo de estancia en el Centro y el grado de generalización de esta infección, debido probablemente al estrés y otras condiciones de cautividad. Por especies, indicar que los frailecillos fueron las aves más sensibles a la aspergilosis. La presencia de formas parasitarias compatibles con *Eimeria spp.* también se comprobó en algún caso.

31

## ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO EN RAPACES

Martín, M.P<sup>1</sup>; Aguilar, J.M<sup>2</sup>; Quevedo, M.A.<sup>2</sup>; Zafra, R.<sup>1</sup>; Méndez A.<sup>1</sup>, Mozos, E.<sup>1</sup>

(1) Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas de la Facultad de Veterinaria de Córdoba.

(2) Dpto. Técnico Veterinario del Zoológico de Jerez.

Dirección postal: Dpto. A y A. Patológica Comparadas. Campus de Rabanales. Ctra. Madrid-Cádiz. 14014 Córdoba. E-mail contacto: [mpzmartin72@latinmail.com](mailto:mpzmartin72@latinmail.com)

Dentro de la avifauna silvestre existente en España, las rapaces agrupan al mayor número de especies amenazadas. Además, son las especies que con más frecuencia ingresan en los Centros de Recuperación, y en las que más esfuerzos se están invirtiendo para su reproducción en cautividad. Estas circunstancias hacen necesario un mayor y mejor conocimiento de las enfermedades que les afectan en el medio y de su estado sanitario general, con el fin de tomar las medidas de prevención adecuadas durante su manejo y atención médica.

Esta comunicación muestra los resultados anatomopatológicos obtenidos en un estudio retrospectivo que hemos llevado a cabo en 172 rapaces analizadas en el Servicio de Diagnóstico de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de Córdoba, de las cuales, 119 pertenecían al Orden Falconiformes, y 53 al Orden Strigiformes. La mayoría (148 aves) procedía de diferentes Centros de Recuperación y el resto (24) pertenecían a núcleos zoológicos y habían vivido siempre en cautividad. La principal causa de ingreso en los Centros de Recuperación fueron los traumatismos de naturaleza diversa y animales hallados fuera de su hábitat.

Muchos de los animales necropsiados (61'72%) presentaron lesiones vasculares inespecíficas multiorgánicas compatibles con shock postraumático, no asociadas a ninguna enfermedad infecciosa, parasitaria o tóxica. El 22% de las aves presentaron lesiones asociadas a infecciones de carácter bacteriano y micótico, bien en formas septicémicas, respiratorias o entéricas, que en la mayoría de los casos se interpretaron como la evolución complicada de otra patología primaria.

Por su especial interés zoonótico, destacamos que en 6 animales se diagnosticaron micobacteriosis como causa principal de muerte. Otras patologías de interés fueron: lesiones producidas por sobreinfestación parasitaria (5'23%), en el aparato digestivo y en la piel; alteraciones metabólicas (4'65%), en especial debido al depósito de ácido úrico; lesiones asociadas a electrocuciones (3'5%); patologías víricas (1'75%), en su mayoría hepatitis por herpesvirus; y neoplasias (1'16%).

32

## UVEITIS GRANULOMATOSA TUBERCULOSA EN UN LINCE IBÉRICO (*Lynx pardinus*).

B. Sánchez<sup>1</sup>, M. Galka<sup>2</sup>, A. Benito, A. Rodríguez, E.V. Martín<sup>3</sup>, F. Sanz<sup>4</sup>, P. García, P. Fernández<sup>2</sup>, C. Sánchez<sup>2</sup>, L. Peña

<sup>1</sup>Dpto. de Patología Animal II, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. <sup>2</sup>Centro de Recuperación "El Acebuche". Parque Nacional de Doñana, Ministerio de Medio Ambiente, Matalascañas, Huelva. <sup>3</sup>Dpto. de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria de Córdoba. Especialista en Oftalmología. <sup>4</sup>Veterinario especialista en Oftalmología  
E-mail: laurape@vet.ucm.es.

El Lince ibérico (*Lynx pardinus*) es el felino más amenazado del mundo; recientemente ha sido calificado por la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) como en "peligro crítico". Se estima que la población total es inferior a 200 ejemplares, que se distribuyen en dos núcleos aislados entre si, ambos en Andalucía (Sierra Morena y Parque Nacional de Doñana).

En este trabajo describimos las lesiones observadas en un Lince ibérico ("Fermín") macho, de edad estimada dos años, procedente del núcleo de Sierra Morena. El animal ingresó en el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre "El Acebuche" del Parque Nacional de Doñana, mostrando una ceguera bilateral desde varios meses atrás.

En la exploración clínica bajo anestesia inhalatoria, que se realizó a su llegada, se sospechó de un proceso tuberculoso crónico muy avanzado. Se realizó una exploración oftalmológica, comprobándose en el ojo derecho una atrofia generalizada de la retina y en el izquierdo una uveítis anterior de carácter crónico, ambas lesiones incompatibles con la visión, interpretándose como posible agente causal de las lesiones oculares el mismo proceso tuberculoso. Se administró terapia de soporte mientras se trataba de confirmar el diagnóstico presuntivo, pero el animal murió pocos días después.

En la necropsia se comprobó la existencia de lesiones compatibles con tuberculosis. El estudio histopatológico evidenció la presencia de lesiones granulomatosas multifocales, con extensas áreas de necrosis central, en los pulmones, en los ganglios linfáticos mediastínicos, en las glándulas adrenales y en la úvea de ambos ojos. En el hígado se observaron lesiones granulomatosas multifocales de menor tamaño y sin zonas de necrosis central. La técnica de Ziehl-Neelsen puso en evidencia la presencia de numerosos bacilos ácido-alcohol resistentes en los pulmones, ganglios linfáticos, glándulas adrenales y en los ojos. El estudio inmunohistoquímico con un anticuerpo monoclonal específico frente a la familia *Mycobacterium tuberculosis*, reveló la positividad de los bacilos.

Este es el cuarto caso conocido de tuberculosis generalizada en el Lince Ibérico (dos inéditos) y el primero descrito de tuberculosis con afectación ocular.

*Este trabajo se ha financiado parcialmente mediante el acuerdo de colaboración (Art. 83 LOU): "Detección histológica e inmunohistoquímica de lesiones tuberculosas en muestras procedentes del Parque Nacional de Doñana."*

33

## **PATOLOGÍA FORENSE APLICADA AL ESTUDIO DE CABEZAS DE CIERVOS CAZADOS EN EPOCA DE VEDA Y SU REPERCUSIÓN SOBRE EL FURTIVO.**

A. Méndez, V. Sánchez-Llanzón, J.L. Méndez, L. Matres, E. Mozos, J. Pérez.

Dpto.. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad Veterinaria Córdoba.

Edificio Sanidad Animal. Campus Universitario de Rabanales. Ctra. Madrid km 396. 14071 Córdoba. an1mesaa@uco.es.

Con fecha 28 de Agosto de 1997 se reciben en este Dpto. 3 cabezas de ciervos, que han sido enviadas por la 222ª Comandancia de la Guardia Civil de Córdoba (SEPRONA) para determinación del tiempo transcurrido desde la muerte de los animales. Las muestras se encontraban a temperatura ambiente y en el interior de un vehículo. Se nos solicita que se compruebe si los tejidos han sido congelados o no. Para hacer ese estudio tendremos en cuenta los siguientes factores:

1.-Estudio macroscópico de los tejidos. 2.-Estudio microscópico de los tejidos. 3.-Presencia de larvas de mosca. 4.-Presencia de espigas estivales. 5.-Estado del correal de la cuerna.

Macroscópicamente los cuernos no están limpios de piel (pelo y correaje), indicativo del descorreaje de estas fechas. En uno de los extremos de la cuerna se observa, barro pegado o incrustado entre las líneas que forma la cuerna de estos animales. El aspecto externo de los tejidos es fresco (6-12 horas) y al corte se observan músculos frescos, así como ligamentos, glándulas, encías, paladar, carrillos, lengua y cóndilos del hueso occipital. Los ojos presentan un estado fresco, con sus componentes líquidos de aspecto normal. Debajo de los párpados, hay larvas de mosca pequeñas. Hay una sanguijuela adosada al paladar superior, espigas secas de gramíneas además de hojas de quercíneas. Cerebro de color brillante, aspecto fresco; al tacto su consistencia es normal y después se toman muestras para fijarlas en formol al 10 % y al mismo tiempo se toman muestras para congelarlas y posteriormente hacer comprobaciones entre las muestras tomadas en primer lugar y las muestras que hemos sometido a congelación. Al mismo tiempo hemos tomado muestras de sangre.

Las muestras sometidas a congelación, sobre todo el cerebro y cerebelo, se dejaron descongelar 12 horas, y al descongelarse, sufrieron un deterioro tal, que perdieron el aspecto y la textura que presentaban en el momento de recibirlas, aspecto autolítico y flácido. Microscópicamente el tejido nervioso está muy dislacerado, con separación entre unas estructuras, hoquedades, grietas y rotura de elementos nerviosos. La musculatura presenta fibras normales junto a otras degeneradas y aparecen hoquedades entre ellas así como rotura de fascículos musculares y pérdida de la estructura tisular. Microscópicamente, el cerebro, cerebelo, musculatura, glándulas, lengua que no habían sido congelados presentaban una estructura normal.

En conclusión, macroscópicamente, la presencia de larvas de mosca vivas en el pabellón ocular indica que las cabezas no han sido congeladas. La presencia de espigas en los tejidos, nos indica que dichos animales han sido manipulados en época de verano. Igualmente la aparición de una sanguijuela en una de las cabezas, nos indica que este animal la ha cogido en época de verano. Las imágenes microscópicas observadas, y sobre todo el estudio comparativo entre las muestras tomadas en fresco y las muestras sometidas a congelación, nos demuestra que las cabezas de estos ciervos, nunca fueron sometidas a congelación. Por todo ello se deduce que han muerto en unas 6-12 horas, por lo que al ser periodo de veda, estos animales habían sido cazados de forma furtiva.

## MISCELANEA

34

### ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO Y CLÍNICO DE UN CASO DE DEFICIENCIA DE COBALTO Y VITAMINA B12 EN OVEJAS.

B. Moreno, G. Aduriz, J. Barandika, A. L. García-Pérez

Neiker (Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario). Berreaga 1, 48160-Derio. Bizkaia. Bmoreno@neiker.net

La deficiencia de cobalto se asocia a una enfermedad conocida como “hígado blanco” (white liver disease) por la degeneración hepática que produce. Su carencia provoca una deficiencia de vitamina B12 ya que el cobalto es necesario para su síntesis a nivel ruminal. Clínicamente, afecta principalmente a animales jóvenes, y se caracteriza por anorexia, adelgazamiento, alopecia y lacrimo, y en casos severos, por anemia. En animales adultos puede provocar infertilidad o nacimiento de animales débiles.

Este trabajo describe un caso de deficiencia de cobalto y vitamina B12 en un rebaño de 27 ovejas de raza Latxa con una historia de anorexia y adelgazamiento progresivo en animales a partir de los 5-6 meses de edad, después del destete, y que morían de caquexia al cabo de varios meses. La alimentación era a base de pasto, hierba seca y pienso (maíz, cebada y salvado). Se llevó a cabo el estudio anatomopatológico en 2 animales de 10 y 14 meses de edad con sintomatología, y en dos adultos sin sintomatología. Se tomaron también muestras de sangre y suero, además de a otras 5 ovejas sin síntomas, para la realización de análisis hematológicos y bioquímicos (determinación de minerales, vitamina B12 y enzimas hepáticas).

Macroscópicamente, los principales hallazgos fueron caquexia y degeneración grasa del hígado en los animales con sintomatología. En los que no presentaban síntomas, uno de ellos mostró atrofia hepática. Histológicamente, las lesiones más significativas se observaron en el hígado, el cual presentaba una intensa degeneración grasa, principalmente periacinar, con ligera hiperplasia de conductos biliares y la presencia de pigmento marrónáceo en algunos macrófagos sinusoidales, próximos a las venas centrolobulillares. Otras lesiones fueron espongiosis en encéfalo y presencia de abundante pigmento ambarino en el bazo.

En los animales con sintomatología se encontró una intensa anemia (15% y 18% de hematocrito), ligero incremento de enzimas hepáticas, especialmente de la  $\gamma$ GT, y deficiencia de vitamina B12. Los valores del resto de minerales analizados (Ca, Cu, Mg, Zinc) se hallaban dentro de la normalidad. En 6 de los 7 animales sin síntomas se encontraron niveles bajos de vitamina B12 (93-158 pmol/l), valores ligeramente elevados de  $\gamma$ GT en la totalidad de animales y anemia pronunciada (18% de hematocrito) en uno de ellos.

Actualmente existe solamente una cita en España sobre deficiencia de cobalto en ganado ovino, la cual, sin embargo, hace referencia exclusivamente a una sospecha clínica y al tratamiento. Este trabajo es el primero que realiza una descripción detallada de un caso de carencia de cobalto y vitamina B12 en ovejas.

35

**DESCRIPCIÓN DE LA LESIÓN NASAL ASOCIADA AL “ESTERTOR NASAL CRÓNICO OVINO” DE OVEJAS LATXAS DEL PAIS VASCO.**

J. García-Sanmartín\*, N. Gómez, R.A. Juste, E. Berriatua, B. Moreno

Neiker (Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario). Berreaga 1, 48160-Derio. Bizkaia. Jgarcia@neiker.net

Este estudio describe las características lesionales asociadas a un síndrome recientemente denominado “Estertor Nasal Crónico Ovino (ENCO)” de etiología desconocida y que afecta a ovejas adultas de rebaños con Eczema Facial Ovino (EFO). Las ovejas afectadas sufren dificultad respiratoria por obstrucción nasal causada por hipertrofia de la mucosa de la parte anterior de las fosas nasales.

En este trabajo se estudiaron 28 ovejas de rebaños con y sin casos de ENCO y se realizó un examen histopatológico de secciones transversales de las fosas nasales previa tinción con hematoxilina-eosina, PAS, azul de toluidina y van Gieson. En el examen ante-mortem, 18 presentaron signos de ENCO incluyendo cuatro con obstrucción nasal leve (grado 1), 13 con obstrucción moderada (grado 2) y 11 con obstrucción grave (grado 3). Histológicamente, en el grado 1, se observó un predominio de fenómenos vasculares con presencia de edema, perivascularitis e infiltrado pleomórfico superficial con neutrófilos y, en menor grado, linfocitos y células plasmáticas. En los grados 2 y 3, por otra parte, predominaba la fibrosis, apreciándose un descenso de neutrófilos y un aumento de linfocitos. En algunas zonas se observaba hiperplasia de células caliciformes. Con la tinción de azul de toluidina no se observó un incremento apreciable de mastocitos.

Aunque de momento no es posible precisar la etiología del ENCO, las características histopatológicas y su elevada prevalencia en rebaños con EFO podrían indicar que se trata de un proceso de hipersensibilidad frente a *P. chartarum*, agente causal del EFO.

*\*Financiado por el Gobierno Vasco, en el Programa Realización de Tesis Doctorales en las empresas de la convocatoria conjunta de los Departamentos de Industria, Comercio y Turismo y del Departamento de Educación, Universidades e Investigación*

36

**UN CASO DE ENFERMEDAD DE NEURONA MOTORA EQUINA (ENME)**

E. Vidal<sup>1,3</sup>, C. Costa<sup>2,3</sup>, R. Tortosa<sup>2,3</sup>, J. M. Vela<sup>2,3</sup>, D. Segura<sup>2</sup>, L. Monreal<sup>2</sup>, D. Shelton<sup>4</sup>, M. Pumarola<sup>1,2,3</sup>

1-Laboratorio PRIOCAT, Fundación CReSA, Facultad de Veterinaria de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Barcelona

2-Departamento de Medicina y Cirugía Animales, Facultad de Veterinaria, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona

3-Instituto de Neurociencias, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona

4-Comparative Neuromuscular Laboratory, Department of Pathology, University of California San Diego-La Jolla, La Jolla, CA 92093-0612, USA

La ENME es un proceso neurodegenerativo adquirido, muy probablemente debido a una deficiencia de Vitamina E. Ha sido descrita en en équidos en diferentes países. No existe, hasta la fecha, ninguna descripción de esta enfermedad en el estado español.

Se describe el cuadro lesional observado en un caballo hembra cruzada de 42 meses de edad. En los últimos 18 meses el animal presentó un cuadro de atrofia muscular generalizada acompañada por una evidente debilidad que afecta especialmente al tercio posterior del animal. El cuadro era progresivo y se decidió la eutanasia del animal.

Las lesiones más evidentes se observaron en la médula espinal y consistieron en una degeneración de neuronas motoras muy marcada. Éstas aparecían hinchadas y pálidas, junto con la presencia de esferoides y axones distróficos. Los nervios periféricos presentaban una marcada pérdida de fibras nerviosas; no se observó ningún tipo de infiltrado histiocítico ni imágenes de regeneración axonal. A nivel del encéfalo se apreciaron imágenes discretas de degeneración neuronal únicamente en el tronco encefálico caudal. El músculo esquelético presentó una marcada atrofia muscular neurógena.

Con el objetivo de caracterizar la lesión observada se han realizado tinciones de rutina y especiales (Kluber-Barrera, impregnación argéntica de Bielschowsky y PAS) así como varias técnicas de inmunohistoquímica para el estudio de neuronas (Neurofilamentos de 200KD, SYN, SNAP-25) y de glía (GFAP, S100, lectina). La lesión de los nervios periféricos ha sido caracterizada mediante cortes semifinos y microscopía electrónica.

### 37

#### **MALFORMACIÓN OCCIPITOATLANTOAXIAL EN UNA YEGUA DE PURA RAZA ESPAÑOLA**

S. Gómez, M.A. Gómez, A. Buendía.

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria.

Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. E-mail: [serafing@um.es](mailto:serafing@um.es)

Yegua de pura raza española, de cuatro años y ocho meses de edad, de capa castaña y en periodo de cría, que fue sacrificada tras presentar trastornos locomotores y postración, sin respuesta al tratamiento.

Remitida al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Veterinario para su necropsia, se apreció fusión parcial de la articulación occipitoatlantoidea, con asimetría y atrofia de los cóndilos del occipital. El atlas presenta cranealmente fusión de la porción derecha del arco dorsal con el occipital; el arco dorsal es incompleto por falta de fusión medial y existe imperforación del agujero transversal derecho. El diente del axis está desgastado.

Se trata de una patología inusual, destacable en este caso por su presentación en un animal adulto que había mantenido una gestación normal.

38

## **ANÁLISIS MORFOLÓGICO DE LA MUCOSA DEL CANAL ALIMENTARIO DEL RODABALLO (*SCOPHTHALMUS MAXIMUS*).**

L. Quintáns, M. I. Quiroga, S. Vázquez, N. Alemán<sup>1</sup>, J. M. Nieto

Departamentos de Ciencias Clínicas Veterinarias y <sup>1</sup>Anatomía y Producción Animal. Facultad de Veterinaria. 27002 Lugo. e-mail: [quiroga@lugo.usc.es](mailto:quiroga@lugo.usc.es)

En este estudio se examina la histología del canal alimentario del rodaballo, *Scophthalmus maximus*, mediante microscopía óptica y electrónica.

La estructura del aparato gastrointestinal del rodaballo sigue una organización claramente visible desde el esófago hasta el ano. Al igual que en los mamíferos, este aparato es un tubo muscular revestido por una membrana mucosa. La disposición de sus componentes se mantiene constante, mientras que la mucosa muestra importantes variaciones según las distintas regiones.

La mucosa del esófago presenta pliegues longitudinales primarios y secundarios. El epitelio es estratificado escamoso en los primeros tramos y posteriormente es sustituido por columnar simple con células goblet.

En el estómago se describen tres partes: cardias, fundus y píloro. Presenta pliegues primarios y secundarios cuya profundidad depende del grado de distensión del órgano. El epitelio está formado por células epiteliales columnares y en la región del fundus presenta glándulas tubulares.

Después del esfínter pilórico se describen dos ciegos pilóricos que se continúan con el intestino. Estos tramos siguen prácticamente el mismo patrón de plegamiento. El tipo celular predominante es el enterocito, caracterizado por tener la superficie completamente cubierta por microvellosidades; entre los enterocitos se describen células rodlet y células goblet.

Las células goblet están presentes a lo largo de toda la longitud del canal excepto en el estómago. Las mucosustancias que contienen varían entre las diferentes regiones, así, en el esófago, se encuentran carbohidratos ácidos y neutros, y en todo el resto del canal sólo neutros. La presencia de mucosustancias ácidas podría revelar funciones secretoras, en cambio las mucinas neutras tendrían funciones absortivas. Esta combinación de mucosustancias probablemente permite al canal alimentario responder a cambios medioambientales.

39

### **ESTUDIO MORFOLÓGICO DE CÉLULAS RODLET EN BRANQUIAS DE JUVENILES DE PEJERREY, *Odontesthes bonariensis* (Pisces, Atherinidae)**

F.A. Vigliano<sup>1</sup>, M. I. Quiroga<sup>2</sup>, S. Vázquez<sup>2</sup>, N. Alemañ<sup>2</sup>, J. M. Nieto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Histología, Facultad de Veterinaria, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

<sup>2</sup> Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias y <sup>3</sup> Anatomía y Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela. E-mail: [fviglian@fveter.unr.edu.ar](mailto:fviglian@fveter.unr.edu.ar)

Las células rodlet han sido descritas especialmente asociadas a los epitelios de distintos órganos de peces teleósteos tanto de agua dulce como marinos y en algunos anfibios. Algunos investigadores postulan que son parásitos protozoos, mientras que otros consideran que tienen un origen endógeno y podrían cumplir una función secretora en los epitelios o participar en la defensa inespecífica del organismo.

El objetivo del presente trabajo es caracterizar histoquímica y ultraestructuralmente las células rodlet observadas en branquias de juveniles de pejerrey bonaerense (*Odontesthes bonariensis*) con el fin de esclarecer la función que desempeñan en el epitelio branquial.

Se muestrearon 15 ejemplares juveniles de pejerrey. Las branquias fueron extraídas y procesadas mediante técnicas convencionales para microscopía óptica y electrónica de transmisión. En los cortes en parafina se emplearon, además de tinciones de rutina, las siguientes técnicas histoquímicas: PAS + Alcian Blue (pH 2,5), Fucsina Aldehído + Alcian Blue (pH 2,5), Metenamina de Jones y la reacción nuclear de Feulgen.

Las células rodlet presentaron forma oval, núcleo periférico de cromatina laxa y se ubicaron en los estratos más superficiales disponiendo su membrana apical hacia la superficie epitelial.

El estudio al MET reveló inmediatamente por debajo de la membrana celular una cápsula fibrosa gruesa y continua con condensaciones periféricas características y microfilamentos dispuestos perpendicularmente al eje mayor de la célula. En el citoplasma de estas células se observó la presencia de grandes gránulos intensamente eosinofílicos, PAS positivos y que presentaron negatividad a la reacción de Feulgen. Ultraestructuralmente estuvieron envueltos por una delgada membrana y contenían un material electrodensito central rodeado por una sustancia amorfa homogénea más clara. Entre las organelas más desarrolladas encontramos el RER con sáculos frecuentemente dilatados por la presencia de un componente amorfo similar al observado en el interior de los gránulos. No se observaron uniones con las células adyacentes.

La ausencia de ADN en sus gránulos descarta la teoría de que estas células tengan un origen parasitario mientras que la similitud existente entre los gránulos de las células rodlet y los presentes en los eosinófilos de los mamíferos y peces sustenta la teoría de que las células rodlet representarían algún papel dentro del sistema inmune. Sin embargo la existencia de una cápsula con posibles funciones contráctiles apoyaría la hipótesis de que tienen capacidad secretora. Por lo tanto es precisa la caracterización molecular del contenido de los gránulos para determinar con certeza la función de las células rodlet.

40

### **LESIONES VERTEBRALES EN TERNEROS DE LIDIA POSIBLEMENTE POR DESPARASITACION DE SUS PROGENITORES CON LEVAMISOL**

A. Méndez, A. Núñez, J. Alvarez, P. Sánchez, M. Novales y L. Carrasco.

Dpto.. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad Veterinaria Córdoba. Edificio Sanidad Animal. Campus Universitario de Rabanales. Ctra. Madrid km 396. 14071 Córdoba.

Se presenta un caso clínico de terneros que habían sufrido caída por parálisis o rotura de la columna vertebral tras el manejo previo al herradero. En años anteriores ya se habían presentado

problemas de este tipo pero sin importancia aparente para el ganadero y achacables a otros procesos como debilidad, estrés o manejo. De esta manera, seis becerros con edad comprendida entre los 12 – 14 meses se quedan tirados en el suelo de los corrales, patios, cajones o mangas, con el tercio posterior totalmente paralizados, presentando dolor al mínimo movimiento y falta de sensibilidad y por consiguiente se suspendió el herradero.

Se eutanasiaron los animales y se hace la necropsia. Macroscópicamente en el exterior se observan pequeñas lesiones en la piel debidas al decúbito desde que sufrieron la caída; interiormente no se observan lesiones orgánicas significativas, pero sí encontramos fracturas de vértebras en la sección T13 – L6, y hemorragias en la musculatura regional y en la sustancia gris de la médula espinal. Microscópicamente todos los órganos se encuentran dentro de la normalidad.

Se realizan estudios radiográficos de dos terneros, una hembra y un macho. De cada animal se estudian las vértebras torácicas y lumbares, mediante radiografías (en proyecciones dorsoventral y lateral derecha) y tomografía computerizada de la vértebra afectada 5º lumbar, en la hembra y 1º lumbar en el macho. En la HEMBRA el estudio radiográfico muestra, en la 5ª vértebra lumbar una hipoplasia vertebral (por menor desarrollo longitudinal de la vértebra) y fractura del tercio caudal de la misma y una impactación del fragmento de fractura sobre el canal medular así como, en los cortes más caudales, una espondilosis en la porción ventral de las vértebras. En el MACHO el estudio radiográfico muestra, en la 1º vértebra lumbar, una hipoplasia vertebral con fractura del tercio caudal de la vertebral y una gran zona de lisis en el interior del foco de fractura. La tomografía computerizada se realiza, entre las vértebras T18 y L2, mostrando grandes fragmentos impactados sobre el canal medular con zonas de ausencia de tejido óseo en el interior de la vértebra (en el foco de fractura), espondilosis vertebral y fractura de la base de la apófisis espinosas.

En conclusión, teniendo en cuenta otras posibles causas como oteomielitis, traumatismos en la columna vertebral, linfosarcomas o fracturas de pelvis o sacro, y dado que las lesiones macroscópicas y radiográficas encontradas parecían de origen congénito, teniendo en cuenta la aparición de casos similares en pequeños rumiantes anteriormente, en los que las madres habían sido desparasitados con albendazol, se le atribuyó a que los progenitores habían sido desparasitados con levamisol, compuesto no indicado en sementales y madres en periodos de gestación. De esta manera en el feto se provoca una osificación precaria de los cuerpos vertebrales de dicha zona (T10 y L2) con hipoplasia incluso de vértebras, que explica fácilmente que a puntuales aumentos de presión, a causa del estrés provocado en el manejo del herradero, estos cuerpos estallan y seccionan la médula espinal y las arterias y venas vertebrales, explicando de esta manera la parálisis en el tercio posterior y la hemorragia en dicho lugar observadas.

## 41

### CREACIÓN DEL BANCO DE TEJIDOS ANIMALES DE CATALUNYA

J.M. Vela y M. Pumarola

Departamento de Medicina y Cirugía Animales. Facultad de Veterinaria.

Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona.

El Banco de Tejidos Animales de Catalunya (BTAC) es una institución sin ánimo de lucro que depende de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) y está vinculado con otros centros o servicios dentro (Priocat, Servicio de Patología Animal) o fuera (Parque Zoológico de Barcelona) del campus de la UAB. Ha sido creado a raíz de una acción especial del MCYT dentro del programa especial para el estudio de enfermedades priónicas.

La *actividad* realizada por el BTAC consiste en recolectar, procesar, conservar y distribuir tejido nervioso de origen animal. Su *finalidad* es poner este material a disposición de la comunidad científica y promover así la investigación de enfermedades del sistema nervioso y los estudios de neurociencia básica y comparada.

El BTAC ofrece a los científicos la oportunidad de poder investigar enfermedades en su estado y evolución naturales (obviando el uso de modelos experimentales), así como la posibilidad de realizar estudios en patologías que son difícilmente reproducibles en animales de

experimentación. Asimismo, el banco facilita la realización de estudios en especies que sólo están al alcance de una minoría de investigadores.

El aprovechamiento de las muestras remitidas y procesadas por el BTAC, almacenadas convenientemente en un banco de tejidos y puestas al alcance de los investigadores interesados, deberá tener como consecuencia la reducción en el uso de animales para experimentación.

El banco dispone de tejido nervioso, tanto normal como patológico, procedente de distintas especies animales, fundamentalmente mamíferos (rumiantes domésticos y salvajes, equinos domésticos y salvajes, felinos domésticos y salvajes, perros, cerdos, delfines y primates), anfibios, reptiles, peces y aves.

Las muestras de tejido son procesadas y conservadas según tres especificaciones diferentes que permiten la realización de estudios bioquímicos (tejido fresco congelado) e histológicos (tejido fijado e incluido en parafina o bien fijado en 4% paraformaldehído, crioprotegido y congelado a -80°C).

Su función incluye, además de la obtención, procesamiento y conservación de tejido, el diagnóstico especializado en el caso de muestras con enfermedades neurológicas.

Todas las muestras incluidas en el banco están acompañadas de una ficha individual con un completo registro de datos. El material, previa solicitud de tejido, está a disposición de los investigadores interesados. El Comité Científico realiza la evaluación de las solicitudes recibidas y, en caso positivo, se procede a la tramitación del material solicitado.

Un aspecto fundamental en su funcionamiento es la coordinación con otros Bancos de tejido animales y humanos, formando una Red funcional de Bancos de Tejido.

## RESÚMENES DE LOS POSTERS

### POSTERS DE VIRUS Y PRIONES

1

#### DESARROLLO Y APLICACIÓN DE UNA TÉCNICA DE HIBRIDACIÓN IN SITU EN CUATRO CASOS CLÍNICOS DE VISNA OVINO.

E. Biescas<sup>1</sup>, G. Patterson<sup>2</sup>, J. DeMartini<sup>2</sup>, L. Luján<sup>1</sup>, J. Badiola<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

<sup>2</sup>Department of Microbiology, Immunology and Pathology, Veterinary Faculty, Colorado State University. E-mail: [ebiescas@unizar.es](mailto:ebiescas@unizar.es)

La técnica de Hibridación in situ (ISH) permite la localización en el tejido de los ácidos nucleicos víricos mediante la unión específica de una sonda de ácidos nucleicos previamente marcada a sus secuencias complementarias en un tejido fijado, seguido de la visualización de la localización de la sonda.

Para este estudio se optó por la fabricación de una sonda de RNA de un tamaño de 430 pares de bases. Para la fabricación de la sonda se utilizó un plásmido derivado de la cepa 85/34 del virus Maedi Visna (VMV), el cual estaba compuesto de un inserto de 435 pares de bases (correspondiente al gen gag del VMV) en un vector comercial de doble promotor (sp6-T7). Se procedió a la multiplicación, aislamiento y digestión del plásmido con enzimas de restricción BamHI y EcoRV para su linearización. Las sondas de RNA se sintetizaron a partir de los plásmidos linearizados mediante transcripción in vitro y fueron marcadas con digoxigenina.

Las muestras utilizadas correspondían a cinco animales naturalmente infectados, uno presentaba lesiones pulmonares compatibles con el MVV y los otros cuatro habían desarrollado síntomas y lesiones compatibles con la forma nerviosa de la enfermedad (Visna). Todos habían sido positivos a serología y técnicas inmunohistoquímicas. Como controles negativos se utilizaron corderos sanos, sin lesiones y con serología e inmunohistoquímica negativa.

Tanto las muestras de pulmón como las de médula espinal mostraron lesiones microscópicas asociadas a la presencia del MVV y células con RNA vírico. En los pulmones se observaron cuatro tipos de patrones de distribución de las células, células mononucleares en el intersticio pulmonar compatibles con macrófagos, células alargadas en la pared alveolar compatibles con neumocitos, células multinucleares compatibles con sincitios y células mononucleares en la luz alveolar compatibles con macrófagos alveolares, todas ellas asociadas a áreas lesionadas de pulmón, zonas de neumonía intersticial con hiperplasia de folículos linfoides.

En la médula espinal de los casos de Visna las células positivas también se encontraron asociadas a la presencia de lesiones, en este caso de una mielitis con degeneración de la sustancia blanca, y eran compatibles con células de la glia o macrófagos espumosos. No se observó ninguna célula positiva en las muestras de encéfalo ni en controles negativos.

2

**ESTUDIO COMPARADO DE CERDOS INOCULADOS CON EL AISLADO E-70 DEL VIRUS DE LA PESTE PORCINA AFRICANA Y EL MUTANTE E-70<sup>-A238L</sup>**

Salguero F.J.<sup>1</sup>, Carrascosa A.L.<sup>2</sup>, Díaz-San Segundo F.<sup>1</sup>, Revilla Y.<sup>2</sup>, De Ávila A.<sup>1</sup>, Salas M.L.<sup>2</sup>, Romero L.J.<sup>1</sup>, Arias M.L.<sup>1</sup>, Sánchez-Vizcaíno J.M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>C.I.S.A.-I.N.I.A. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Valdeolmos, Madrid.

<sup>2</sup> Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", CSIC-UAM, Cantoblanco, Madrid,

<sup>3</sup> Departamento de Patología Animal I, Universidad Complutense de Madrid.

E-mail: salguero@inia.es

La principal célula diana del virus de la Peste Porcina Africana (VPPA) es el monocito-macrófago, siendo las hemorragias y un estado de inmunodeficiencia, las principales características de esta enfermedad. Tanto las hemorragias como la severa linfopenia que ocurre en las fases iniciales de la PPA, no pueden ser achacadas a la acción directa del virus sobre las células endoteliales (la infección se produce en fases más tardías) ni sobre los linfocitos (no sufren la infección por el VPPA).

La masiva apoptosis de linfocitos que se observa en los órganos linfoides está producida por mecanismos indirectos, jugando un papel importante el incremento en la producción de monoquinas proinflamatorias por los macrófagos infectados. El VPPA se replica en los monocito-macrófagos, habiéndose descrito dentro de su genoma, genes en que inhiben la apoptosis, con lo que la supervivencia de las células infectadas puede permitir la difusión del virus y la evasión de la respuesta inmune.

En este trabajo comparamos la interacción virus-macrófago y apoptosis de linfocitos en cerdos inoculados experimentalmente con el aislado altamente virulento E-70 con cerdos inoculados con un virus mutante al que se le ha delecionado el gen A238L, que inhibe al factor de transcripción NFκB. Los cerdos (en grupos de 2 para cada aislado y dosis) fueron inoculados intramuscularmente y sacrificados a los 3-7dpi. Se realizaron estudios clínico-patológicos, de viremia, inmudetección del antígeno vírico vp73 y TUNEL (detección de apoptosis).

En los cerdos inoculados con el aislado E-70, al igual que en los inoculados con el E-70<sup>-A238L</sup>, se observaron signos clínicos y lesiones características de PPA aguda como hipertemia, esplenomegalia hemorrágica y linfadenitis hemorrágica en nódulos linfáticos renales y gastrohepáticos. Las lesiones histopatológicas fueron similares en ambos grupos observándose hemorragias masivas y depleción linfoide severa. Además, se encontraron infiltrados de células mononucleares perisinusoidales en el hígado. El antígeno vp73 fue detectado en ambos grupos en macrófagos de muy diversas localizaciones orgánicas, acompañado de muerte celular de linfocitos identificada como apoptosis por la técnica de TUNEL.

Estos resultados indican que en la PPA aguda, la delección del gen A238L no produce cambios significativos en cuanto a la clínica y la patología de la enfermedad, siendo muy interesantes estudios ultraestructurales y de caracterización de macrófagos y la utilización de otros aislados menos virulentos para obtener más conclusiones sobre el papel de este gen en la patogenia de la PPA.

*Este trabajo ha sido financiado por el programa QLRT de la UE (QLK2-CT2001-2216).*

3

**DETECCIÓN DE ANTÍGENO Y ESTUDIO DE LOS FENÓMENOS DE APOPTOSIS EN GANGLIOS MESENTÉRICOS DE CERDOS INFECTADOS CON EL VIRUS DE LA PESTE PORCINA CLÁSICA.**

*P.J. Sánchez-Cordón, A. Núñez, A.I. Raya, M<sup>a</sup>.M. Fernández de Marco, J.C. Gómez-Villamandos y L. Carrasco.*

*Dpto de Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba.*

El conocimiento de los cambios que aparecen en los ganglios mesentéricos durante la PPC permitirá completar el estudio de las alteraciones que presentan los órganos linfoides durante la enfermedad y conocer su posible relación con las lesiones intestinales. Para ello se tomaron muestra de ganglios mesentéricos localizados en la porción ileocecal de 32 cerdos Largewhite x Landrace, de 3 meses de edad, inoculados con la cepa virulenta "Alfort 187" del virus de la PPC, que fueron sacrificados en lotes de 4 animales desde el día 2 al 15 post-inoculación (dpi). 4 cerdos de similares características fueron utilizados como controles. Las muestras se fijaron en formol tamponado y solución de Bouin, siendo procesadas de forma rutinaria e incluidas en parafina. El estudio histopatológico se llevó a cabo sobre cortes de 4  $\mu$ m de grosor teñidos con H-E. Mediante la técnica del complejo ABC se detectó el antígeno vírico (gp55), empleando el anticuerpo SWC3 para el marcaje de monocitos-macrófagos (m-M $\emptyset$ ). La técnica de TUNEL se utilizó para el estudio de los fenómenos de apoptosis.

Desde el 2 dpi, los ganglios presentaron una depleción linfoide que fue muy intensa a partir de los 7 dpi, con abundantes imágenes de picnosis y cariorrexis características de muerte celular por apoptosis, junto a la presencia de gran cantidad de macrófagos que presentaron un aumento de tamaño y aspecto espumoso, así como macrófagos de cuerpo tingible. Los fenómenos de apoptosis se confirmaron con la técnica de TUNEL, observándose un incremento desde los 2 dpi de células positivas en el interior de los folículos linfoides y áreas interfoliculares de la corteza, así como en médula.

El antígeno vírico se detectó desde el 2 dpi, principalmente en macrófagos, así como en células de morfología estrellada localizadas en el interior de los folículos y zonas perifoliculares, posiblemente células reticulares y dendríticas respectivamente, no observándose linfocitos inmunomarcados en el interior de los folículos hasta los 7 dpi, fecha en la que también se produjo un importante incremento de las células previamente descritas reactivas frente a gp55. El estudio semicuantitativo de los m-M $\emptyset$  marcados frente a SWC3 reveló la existencia de un incremento de éstos tanto alrededor como dentro de las estructuras foliculares del ganglio desde los 2 dpi, la cual coincidió con la llegada del virus.

La tardía y escasa presencia de linfocitos con signos de infección vírica descarta que el virus fuera la causa de la apoptosis de estas células, fenómeno que podría relacionarse con el incremento y los cambios observados en la población de m-M $\emptyset$ , principales células blanco del virus.

*Este trabajo ha sido financiado por la DGESIC (Proyecto PB98-1033)*

4

**ESTUDIO DE LAS POBLACIONES DE LINFOCITOS T EN EL BAZO DE CERDOS DURANTE LA PESTE PORCINA CLÁSICA EXPERIMENTAL**

P.J. Sánchez-Cordón<sup>1</sup>, A. Núñez<sup>1</sup>, E. Ruiz-Villamor<sup>2</sup>, M<sup>a</sup>.M. Fernández de Marco<sup>1</sup>, L. Carrasco<sup>1</sup> y J.C. Gómez-Villamandos<sup>1</sup>.

1. Dpto de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria. Córdoba - Centro Experimental Andaluz de Sanidad Animal

2. Laboratorio Central de Veterinaria, Santa Fe, (Granada).

El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar la evolución de las poblaciones de linfocitos T del bazo y su implicación en la respuesta inmune en la Peste Porcina Clásica (PPC). Para ello se tomaron muestra de bazo de 32 cerdos Largewhite x Landrace, de 3 meses de edad, inoculados con la cepa virulenta "Alfort 187" del virus de la PPC, siendo sacrificados en lotes de 4 animales desde el día 2 al 15 post-inoculación (dpi). 4 cerdos de similares características fueron utilizados como controles. Las muestras se fijaron en formol tamponado y solución de Bouin, siendo procesadas de forma rutinaria e incluidas en parafina. El estudio IHQ se realizó utilizando una batería de anticuerpos (anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, IL-2 e IL-4) mediante la técnica de la avidina-biotina-peroxidasa (ABC).

Los linfocitos marcados frente a CD3 mostraron desde el inicio de la enfermedad, con excepción de la zona marginal que se mantuvo sin cambios y de las áreas periféricas foliculares donde se produjo un incremento, una disminución con respecto a los controles que fue aún más marcada a partir de los 9 dpi en todos los compartimentos esplénicos. La depleción de linfocitos T esplénicos podría atribuirse no sólo a los de fenómenos de apoptosis no relacionada con la infección vírica, sino también de la depleción observada en estudios previos en el timo, que participaría de forma directa al impedir la recuperación de estos linfocitos.

Pese a la depleción linfoide existente, desde el inicio de la enfermedad se observó, con excepción de la zona marginal, un incremento de linfocitos T CD4+ y CD8+ que podría explicarse como resultado de los fenómenos de activación y diferenciación de los linfocitos que aún permanecieron en el bazo, cambios que podrían relacionarse con el incremento de macrófagos y la secreción de determinadas citoquinas por éstos, fenómenos que previamente fueron estudiados. Además, se produjo un incremento significativo en el número de linfocitos reactivos frente a IL-2 e IL-4 en cordones y estructuras foliculares desde los 2 dpi, siendo hasta el 9 dpi, y con excepción del 4 dpi, mayor el número de linfocitos positivos frente a IL-2, citoquina relacionada con una respuesta inmune tipo 1; a partir de esta fecha e predominio de linfocitos reactivos frente a IL-4, apuntaría hacia la existencia de una respuesta inmune tipo 2 en la fase final de la PPC.

*Este trabajo ha sido financiado por el MCyT (Proyecto PB98-1033)*

5

## **EXPRESION DE CITOQUINAS RELACIONADAS CON LA RESPUESTA INMUNE CELULAR EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE CERDOS CON PESTE PORCINA CLASICA EXPERIMENTAL**

Gómez-Villamandos J.C., García de Leaniz I., Sánchez-Cordón P., Gutierrez J., Fernández de Marco M<sup>a</sup>M. y Sierra M.A.

Dpto de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria. Córdoba - Centro Experimental Andaluz de Sanidad Animal

El objetivo de nuestro trabajo fue determinar la presencia de IL-2, IL-4 e IFN $\gamma$ , y su participación en el cuadro lesional del SNC durante la PPC. Para ello se tomaron muestras de cerebro, cerebelo y médula oblongada de 32 cerdos Largewhite x Landrace, de 4 meses de edad, inoculados con la cepa virulenta "Alfort 187" del virus de la PPC, siendo sacrificados en lotes de 4 animales desde el día 3 al 15 post-inoculación (dpi). 4 cerdos de similares características fueron utilizados como controles. Las muestras se fijaron en solución de Bouin, siendo procesadas de forma rutinaria e incluidas en parafina. El estudio IHQ se realizó utilizando una batería de anticuerpos policlonales (anti-IFN $\gamma$ , anti-IL2 y anti-IL4).

El estudio reveló presencia de linfocitos inmunorreactivos frente a IFN $\gamma$  a partir del 4 dpi en forma de un infiltrado difuso en la porción craneal y caudal del cerebro. En días sucesivos va incrementándose la cantidad de células inmunoteñidas en todas las porciones del SNC, detectándose inmunotinción en el infiltrado perivascular. El 11 y 15 dpi la proporción de células inmunoteñidas alcanza el máximo en todas las estructuras histológicas, excepto en el infiltrado perivascular en el cerebelo.

La presencia de células inmunorreactivas frente a IL2 se detectó a partir del 4 dpi en las células neuronales y células de la glía, siendo más evidente en la porción craneal y caudal del cerebro. La proporción de inmunotinción se mantiene en los días sucesivos, apareciendo células positivas en el infiltrado perivascular. El 11 y 15 dpi se incrementa de manera importante la positividad en todas las porciones del SNC. Por otro lado, la cantidad de células inmunoteñidas frente a IL4 fue ocasional y tardía, observándose inmunorreacción en células gliales e infiltrado perivascular en la porción craneal y caudal del cerebro. La presencia de antígeno vírico en nuestra experiencia a partir del 4 dpi, coincide con la aparición en este día de células inmunorreactivas frente a IFN $\gamma$  y IL2, lo cual podría sugerir que el virus provoca una liberación de mediadores químicos que produciría la llegada de células inflamatorias, principalmente linfocitos T, que a su vez incrementarían la secreción de estos mediadores químicos en días sucesivos. La liberación de estas citoquinas apuntaría hacia la existencia de una respuesta de tipo 1 en el SNC durante el transcurso de la PPC.

*Este trabajo ha sido financiado por el MCyT (Proyecto PB98-1033)*

6

**NEUROPATOLOGÍA ULTRASTRUCTURAL DE RATONES TRANSGÉNICOS (bo-PrP) INFECTADOS CON LA EEB.**

Gutiérrez, J<sup>1</sup>; Bautista, MJ<sup>1</sup>; Salguero, FJ<sup>2</sup>; Fernández de Marco, M<sup>a</sup>M<sup>1</sup>; Díaz-San Segundo, F<sup>2</sup>; Sánchez-Vizcaíno, JM<sup>3</sup>; Gómez-Villamandos, JC<sup>1</sup>.

1. Dpto de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Córdoba. Centro Experimental de sanidad Animal.
2. CISA-INIA. Valdeolmos, Madrid.
3. Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid.

La encefalopatía espongiforme bovina (EEB) es una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza histopatológicamente por la aparición de una intensa vacuolización neuronal, gliosis y muerte neuronal, no estando aún completamente demostrada la relación entre la presencia de la proteína prión y las lesiones observadas.

El objetivo de nuestro trabajo fue la realización de un estudio ultraestructural que pusiera de manifiesto los cambios subcelulares en el sistema nervioso central de ratones transgénicos, intentando correlacionar las lesiones encontradas con la presencia de la proteína prión detectada en estudios inmunohistoquímicos previos. Para ello, se utilizaron 210 ratones transgénicos (bo-PrP): 200 de ellos se inocularon intracranealmente con un macerado de cerebros de bovinos infectados con la EEB y los 10 ratones restantes se utilizaron como control.

Los ratones se eutanasiaron secuencialmente entre el día 0 y los 400 dpi. Se tomaron muestras del encéfalo que fueron fijadas en glutaraldehído, inactivadas en ácido fórmico e incluidas en araldita de forma rutinaria. Una vez incluidas se realizaron cortes semifinos (1 µm) que fueron teñidos con azul de toluidina y finos (50 nm) que fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo.

Entre los cambios neuropatológicos más llamativos, la vacuolización fue el fenómeno preponderante, observándose a partir de los 180 dpi aumentando su intensidad en fechas posteriores. Este fenómeno se caracterizó por la presencia de vesículas de diferente tamaño en pericarion, dendritas y axones de neuronas, y citoplasma de células de glía y oligodendrocitos. La muerte neuronal y de la neuroglía también fue un hallazgo muy frecuente presentándose a partir de los 182 dpi. Este fenómeno se caracterizó por la condensación y fragmentación de la cromatina nuclear, vacuolización citoplasmática y disminución del volumen celular. Además, se observaron imágenes incipientes de degeneración neuronal en fechas anteriores a la aparición de la muerte, apreciándose grandes acúmulos de lipofucsina y/o lípidos en el pericarion.

Asimismo, la activación de la neuroglía se presentó durante los primeros 150 dpi con una proliferación celular y aumento de la actividad fagocítica. Otro hallazgo relevante observado con escasa frecuencia a partir de los 395 dpi, fue la presencia de filamentos proteicos electrodensos, de 10 nm Ø, dispuestos radialmente y localizados tanto en el neuropilo como en el citoplasma neuronal. Entre otros cambios subcelulares apreciados con menor frecuencia se encuentran la presencia de cuerpos apoptóticos en circulación, la activación de astrocitos fibrosos de la barrera hematoencefálica y de las células endoteliales y el engrosamiento de la membrana basal.

*Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación de la Junta de Andalucía (C01-205).*

7

## **ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE LA TONSILA EN LA PESTE PORCINA AFRICANA AGUDA**

M. Fernández de Marco, F.J. Salguero\*, P.J. Sánchez-Cordón, A. Núñez, L. Carrasco y J.C. Gómez-Villamandos.

Dpto de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria. Córdoba - Centro Experimental Andaluz de Sanidad Animal.

\*CISA-INIA, Valdeolmos, Madrid.

Con el objetivo de estudiar los cambios morfológicos de la tonsila así como la expresión de citoquinas por los macrófagos en el transcurso de la Peste Porcina Africana (PPA) aguda, se inocularon 21 cerdos por vía intramuscular con el virus de la PPA (aislado España 70). Los animales inoculados fueron sacrificados en grupos de tres entre el primer y séptimo día post inoculación, utilizándose dos animales adicionales como control. Las muestras de tonsila fueron fijadas en formol y solución de Bouin, procesándose de forma rutinaria para el estudio inmunohistoquímico. Dicho estudio se llevó a cabo mediante la técnica del ABC para la detección de antígenos mieloides- histiocitario (SWC-3), VPPA (vp73) y diferentes citoquinas proinflamatorias (IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ). Asimismo, se utilizó la técnica de TÚNEL para el estudio de la apoptosis de linfocitos.

Mediante la inmunodetección de monocito-macrófagos (SWC3), se evidenció un incremento gradual en su número, con la presencia de numerosos macrófagos de cuerpo tingible en los folículos linfoides. Además, numerosos macrófagos invadieron diferentes capas del epitelio tonsilar y el tejido linfoide difuso. A su vez, se incrementó el número de células que expresaban IL-1 $\alpha$  y TNF- $\alpha$  en las mismas zonas en las que se detectó el antígeno vírico y en las que se observaron numerosos restos celulares picnóticos, los cuales fueron identificados como apoptóticos mediante la técnica de TUNEL.

Las citoquinas sintetizadas y liberadas por monocitos-macrófagos activados, y/o macrófagos infectados con el virus de la PPA, podrían provocar la apoptosis de los linfocitos. El hecho de que dicha apoptosis se observe en mayor medida en el tejido linfoide difuso, donde los macrófagos activados y/o infectados son más numerosos, tendería a respaldar esta hipótesis.

*Este trabajo ha sido financiado por el Plan Andaluz de Investigación (AGR-0137)*

8

## **UN ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LA PRESENCIA DE ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES TRANSMISIBLES EN CIERVOS (*Cervus elaphus*) EN LA RIOJA Y CASTILLA – LA MANCHA**

L. Luján, A. Camiña, E. Monleón, M. Monzón, P. Hortells, J. Vicente<sup>1</sup>, C. Gortázar<sup>1</sup>, J.J. Badiola

Centro Nacional de Referencia para las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (Dpto. de Patología Animal) Univ. Zaragoza. [Luis.Lujan@unizar.es](mailto:Luis.Lujan@unizar.es)

<sup>1</sup> IREC, Ciudad Real, CSIC - Univ. Castilla-La Mancha.

Las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EET) constituyen un grupo de enfermedades neurodegenerativas que, aunque son conocidas desde hace tiempo, han cobrado una especial relevancia en las últimas décadas debido a la aparición de la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) y a la demostración del vínculo entre ésta y casos de la variante de la Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD) humana. Cuadros similares a la EEB han sido descritos también en diferentes tipos de rumiantes mantenidos en

cautividad, tales como el Órice del Cabo (*Oryx gazella*), el Gran Kudu (*Tragelaphus strepsicero*), el Bisonte (*Bison bison*) y el Órice de Cuernos de Cimitarra (*Oryx dammah*).

En Europa, en animales de vida libre, la EEB o enfermedades análogas no han sido observadas hasta el momento pero cabe destacar que sí existe una EET, la Enfermedad Caquetizante Crónica (*Chronic Wasting Disease, CWD*), que afecta a cérvidos de vida libre de los Estados del centro de los USA y de Canadá tales como el Ciervo Mulo (*Odocoileus hemionus*), el Ciervo de Cola Blanca (*Odocoileus virginianus*) y el Ciervo de las Montañas Rocosas (*Cervus elaphus nelsoni*). Dada la importancia de este tipo de enfermedades, es necesario hacer estudios al respecto de la existencia de EETs en rumiantes de vida libre en Europa.

Para llevar a cabo el presente estudio se ha trabajado con una muestra total de 60 ciervos (*Cervus elaphus*) provenientes de las CC.AA. de La Rioja (n=45) y Castilla La Mancha (n=15). Los animales fueron abatidos en el transcurso de cacerías y las muestras fueron obtenidas *in situ* en un tiempo variable. Las muestras de médula oblonga y médula espinal se obtuvieron *via foramen magnum* usando una cucharilla de bóvido adaptada para cérvidos. Al mismo tiempo, se realizaba una inspección macroscópica del animal abatido.

Las muestras de sistema nervioso fueron procesadas para histopatología rutinaria y analizadas con -al menos- dos monoclonales diferentes frente a la presencia de proteínas priónicas (L42, F99 -CWD- y 6H4). Los resultados no revelaron ningún caso positivo entre la muestra estudiada. Se concluye que, para detectar la posible aparición de EETs en rumiantes silvestres, sería más conveniente realizar un muestreo más selectivo basándose exclusivamente en animales adultos muertos por cualquier causa o animales de avanzada edad con o sin síntomas neurológicos previos.

*Subvencionado parcialmente por el Instituto de Estudios Riojanos*

## 9

### **EVALUACIÓN DE LOS TEST RÁPIDOS PRIONICS<sup>®</sup>-CHECK LIA Y PRIONICS<sup>®</sup>-CHECK WESTERN PARA EL DIAGNÓSTICO DE SCRAPIE EN OVEJAS Y CABRAS ESPAÑOLAS Y EVALUACIÓN DEL TEST PRIONICS<sup>®</sup>-CHECK LIA PARA EL DIAGNÓSTICO DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA.**

Bolea, R; Monleón, E; Acín, C; Vargas A; Monzón M and Badiola, JJ.

Centro Nacional de Referencia de Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. rbolea@posta.unizar.es

El objetivo principal de este trabajo es la evaluación de dos tests rápidos de diagnóstico de enfermedades priónicas, Prionics<sup>®</sup>-Check LIA y Prionics<sup>®</sup>-Check WESTERN, para detectar scrapie en muestras procedentes del ganado ovino y caprino autóctono, así como evaluar el test Prionics<sup>®</sup>-Check LIA en muestras de ganado bovino autóctono.

Las muestras utilizadas para el estudio de evaluación en ganado ovino fueron médula oblongada de 16 ovejas positivas, una cabra positiva, 99 ovejas negativas y una cabra negativa. El diagnóstico de los animales positivos se confirmó en el Centro Nacional de Referencia de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (CNREET), así como el genotipo de las ovejas positivas fue llevado a cabo en dicho centro.

Las muestras utilizadas para el estudio de evaluación en ganado bovino fueron médula oblongada de 11 vacas positivas y de 389 vacas negativas a Encefalopatía Espongiforme Bovina. Las muestras fueron diagnosticadas por la técnica de Prionics<sup>®</sup>-Check WESTERN, y los casos positivos fueron confirmados en el CNREET's.

Los estudios de confirmación llevados a cabo en el CNREET's fueron técnicas histopatológicas e inmunohistoquímicas de detección de PrPres, utilizando el anticuerpo

monoclonal 6H4 (técnicas recomendadas para el diagnóstico de estas enfermedades por la Organización Internacional de Epizootias).

Los dos tests rápidos estudiados son capaces de detectar el fragmento resistente de la proteína prión (PrP 27-30). El WESTERN está basado en la técnica de western blot, y sus resultados permiten observar la inmunoreactividad del fragmento proteico, el tamaño del fragmento PrP 27-30, así como el patrón de glicosilación de las bandas proteicas. El LIA (Luminescence Immunoassay) es un inmunoensayo (ELISA sandwich) llevado a cabo en una microplaca y basado en la detección por luminescencia. El uso de luminescencia como sistema de marcaje de la proteína le confiere al ensayo un amplio y dinámico rango ( $\sim 10^4$ ).

La correlación de los resultados fue del 100%, tanto en el estudio de evaluación del ganado ovino, comparando los dos tests rápidos con las técnicas de confirmación, como en el estudio de evaluación de muestras procedentes del ganado bovino, donde la correlación fue la citada con la técnica de WESTERN, así como con las técnicas de confirmación en el caso de las muestras positivas.

## 10

### **SEROPREVALENCIA FRENTE AL VIRUS DEL MAEDI VISNA EN LA CABAÑA OVINA ARAGONESA: DATOS ACTUALIZADOS MEDIANTE ELISA RECOMBINANTE.**

M. Pérez, E. Biescas, R. Bolea, J.J. Badiola, L. Luján.

Dpto. de Patología Animal, Miguel Servet 177, Universidad de Zaragoza. mmperez@unizar.es

La enfermedad de Maedi Visna es una infección retroviral que está muy extendida entre la cabaña ovina de nuestro país causando un notable impacto económico.

El virus causa una enfermedad de curso prolongado en el tiempo caracterizada por la caquexia generalizada del animal y la inflamación crónica del pulmón, la glándula mamaria, el sistema nervioso central (SNC), las articulaciones y los linfonodos regionales.

Aunque la enfermedad afecta a animales adultos, ya que el período de incubación va de unos meses a varios años en los que no aparecen síntomas, éstos pueden estar infectados ya desde poco después del nacimiento (vía calostrala) y ser portadores de la enfermedad. Por eso es necesario un diagnóstico indirecto relativamente temprano para evitar que los animales seropositivos permanezcan en la explotación y que sean dedicados a la reposición.

El virus MV induce una respuesta humoral que puede aparecer tempranamente tras la infección y mantenerse a lo largo de la vida del animal. Los anticuerpos séricos frente a la cápsula proteica y al núcleo viral son detectados específica y sensiblemente mediante tecnología ELISA a base de péptidos y proteínas recombinantes.

Una aproximación a la seroprevalencia frente al virus del MV en Aragón se llevó a cabo a finales de los años 80 mediante la técnica de difusión en gel. Los resultados mostraron seroprevalencias del 95-98% en rebaños y de 38-40 % en animales adultos.

Durante el año 2002 se realizó una primera campaña serológica usando un test ELISA sobre 141 rebaños seleccionados en base a raza y otros criterios en las tres provincias de la CC.AA. (48 en Zaragoza, 79 en Teruel y 14 en Huesca). El total de sueros analizados fue de 63.370 (29.778 en Zaragoza, 27.096 en Teruel y 6.496 en Huesca).

Los resultados demuestran que la seroprevalencia por rebaños fue del 100% y entre animales osciló de un 52% en Zaragoza y Teruel a un 55% en Huesca. De los 141 rebaños analizados, 48 (34%), superaban el 60% de seroprevalencia, de los cuales un 56,3% superó el 80%.

Estos resultados demuestran que la seroprevalencia frente al virus del MV sigue estando muy extendida en los rebaños de la CC.AA. y que ha avanzado sensiblemente con respecto a lo estudiado hace 15 años. Se hacen necesarias medidas de control urgentes.

*Subvencionado por el Departamento de Agricultura del Gobierno de Aragón.*

11

**DISTRIBUCIÓN DEL ANTÍGENO VIRAL EN CERDOS INOCULADOS CON EL VIRUS PRRS**

Manuel Quezada<sup>1</sup>, Fernando Varas<sup>1</sup>, Alvaro Ruiz<sup>1</sup>, Armando Islas<sup>1</sup>, Claudio Lecocq<sup>2</sup> y Librado Carrasco<sup>3</sup>

1-Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Concepción. Avda. Vicente Méndez 595. Chillán (Chile)

2-Subdepartamento Laboratorio Pecuario. Servicio Agrícola y Ganadero. Avda. Bulnes 140 (Chile).

3-Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba (España).

El Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS), es una enfermedad de origen viral en el cerdo que se conoce desde la década de los '80, cuando se empezó a reconocer en el Estado de Carolina del Norte de Estados Unidos como la "Enfermedad Misteriosa".

La enfermedad se caracterizó por difundirse rápidamente en los plantales y en áreas geográficas extensas, difundiéndose casi a todos Estados Unidos y luego a Canadá y países Europeos.

En Chile se diagnóstico esta condición fines del año 1999 y en la actualidad está sometida a un programa de erradicación. El propósito de la presente memoria, es contribuir al diagnóstico de la enfermedad en nuestro medio y caracterizar la distribución del antígeno vírico en los tejidos utilizando una técnica inmunohistoquímica (IHQ).

Con este fin se realizó una experiencia utilizando 12 cerdos híbridos provenientes de plantales con pirámide genética. De ellos, 9 fueron inoculados con el aislado nacional del virus PRRS y 3 cerdos se usaron como controles. Los cerdos inoculados recibieron una dosis por vía intranasal de 7,0 ml de suero proveniente de cerdos inoculados con un cultivo celular en dosis de  $10^{5.4}$  TCID<sub>50</sub> y en fase virémica, además, se inocularon con 0,7 ml del mismo suero por vía intramuscular. Adicionalmente, se inoculó por vía intramuscular 2,0 ml de un cerdo con infección natural. Los cerdos fueron sacrificados a los 7, 14, 21 dpi. Los controles fueron sacrificados a los 0 dpi.

Se recolectó muestras de mucosa nasal, nódulo retrofaringeo, tonsila, nódulo linfático mediastínico, pulmón, hígado, bazo, corazón, timo, médula ósea y un frotis de macrófagos alveolares obtenido por lavado bronquial. Las muestras fueron incluidas en parafina, e inmunoteñidas con un anticuerpo monoclonal SDOW-17, utilizando el método del Complejo ABC.

Se detectó antígeno viral en macrófagos de todos los tejidos, con la excepción del corazón. El antígeno viral estuvo presente en los tejidos desde los 7 a los 21 dpi. Los órganos que presentaron mayor intensidad de reacción fueron el pulmón y el bazo. Debido a que el virus se encontró constantemente en estos dos órganos, ellos constituirían muestras adecuadas para el diagnóstico de la enfermedad ya sea por IHQ u otros métodos que detecten el antígeno viral.

12

## **BROTE DE ENFERMEDAD DE AUJESZKY EN UNA GRANJA DE VISONES**

N. Alemañ<sup>1</sup>; M. López Peña; R. Fernández Antonio<sup>2</sup>; M.I. Quiroga; S. Vázquez; J.M<sup>a</sup>. Nieto.  
Hospital Clínico Veterinario Rof Codina. Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias. <sup>1</sup>Departamento de Anatomía y Producción Animal. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela.  
<sup>2</sup>NUPE, S.L.

En este trabajo describimos un brote natural de enfermedad de Aujeszky en una granja de visones de la provincia de A Coruña. Para reducir costes, en la ración de los animales se añadían gargantas de cerdos trituradas procedentes de un matadero cercano, y que posiblemente fueron el origen del virus. Para el diagnóstico, dispusimos de vísceras de 12 animales, pero únicamente del encéfalo y el ganglio trigémico de uno de ellos.

Fuera del sistema nervioso central, las lesiones consistían básicamente en fuerte congestión y hemorragias pulmonares, congestión hepática y renal. Las lesiones microscópicas en el encéfalo fueron principalmente la presencia de “torpedos” en la sustancia blanca de los tractos piramidales, infiltrados inflamatorios discretos en médula oblongada y hemorragias en médula espinal, cerebro y cerebelo.

En el ganglio del nervio trigémico observamos infiltrados inflamatorios de células mononucleares, numerosas imágenes de neuronofagia y cuerpos de inclusión intranucleares en células satélite.

El diagnóstico se confirmó mediante inmunohistoquímica, empleando un anticuerpo policlonal frente al virus de la enfermedad de Aujeszky.

**POSTERS DE BACTERIANAS Y PARASITARIAS**

**13**

**ENTERITIS FIBRINONECRÓTICA ASOCIADA AL AISLAMIENTO DE *ESCHERICHIA FERGUSONII* EN UN AVESTRUZ.**

A. Castro; Acosta, B.; A. Espinosa de los Monteros; F. Rodríguez, J.R. Jaber; P. Herráez, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña s/n, 35416 Arucas, Gran Canaria. E-mail: pherraez@dmor.ulpgc.es

Remiten para la realización de necropsia un avestruz, hembra, adulta con un historial de anorexia, postración y muerte. Los principales hallazgos macroscópicos se localizaron a nivel del sistema digestivo, observándose una intensa congestión del intestino posterior. La mucosa mostró áreas localmente extensas de hemorragias y enteritis fibrinonecrótica. Asociado al cuadro entérico se observaron hemorragias en la serosa de órganos abdominales y torácicos así como el desarrollo de una peritonitis fibrinosa.

Histológicamente, las lesiones observadas se correspondieron con áreas de intensa infiltración inflamatoria mononuclear en la lámina propia del intestino posterior, con la presencia de macrófagos cargados de un pigmento marronáceo (hemosiderina), intensos procesos de trombosis y extensa necrosis superficial asociada al depósito de fibrina. En la serosa de órganos peritoneales se observó infiltrado inflamatorio agudo con exudación de abundante fibrina y heterófilos.

Los hallazgos tanto macroscópicos como histológicos, demostraron el desarrollo de un cuadro entérico, localizado a nivel del intestino posterior, caracterizado por una enteritis fibrinonecrótica multifocal y peritonitis fibrinosa. Las lesiones observadas hacen el cuadro compatible con un diagnóstico de enteritis de origen bacteriano de etiologías más probables *Salmonella* spp. y/o *Clostridium* spp.

Durante la realización de la necropsia, se tomaron muestras de intestino posterior, hígado y bazo, que fueron remitidas al servicio de microbiología, con el resultado del aislamiento puro de *Escherichia fergusonii*.

*E. fergusonii*, es una bacteria perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, íntimamente relacionada con *Escherichia coli*, con la diferencia, de que no es capaz de fermentar la lactosa. En 1999, Bain y Green establecen la primera referencia del aislamiento de este agente causal asociado a cuadros clínicos sugestivos de Salmonella en distintos mamíferos domésticos. Desde entonces la literatura veterinaria no recoge nuevas descripciones de este agente causal.

En nuestro conocimiento, este representa la primera descripción del aislamiento de *E. fergusonii* como causante de enteritis fibrinonecrótica en avestruces, debiéndose incluir en el diagnóstico diferencial de otras enteritis agudas con cuadros lesionales semejante.

14

## **EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LA VACUNACIÓN FRENTE A PARATUBERCULOSIS EN OVINOS ADULTOS MEDIANTE EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO DE ANIMALES DESECHADOS**

C. García-Pariente; J. González; M. C. Ferreras; M. Fuertes; J. Benavides; L. E. Reyes; O. Moreno; J. F. García-Marín; V. Pérez.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Histología y Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071. León. dmavpp@unileon.es

La vacunación ha sido considerado uno de los métodos más eficaces para el control de la paratuberculosis, consiguiendo disminuir la incidencia clínica de la enfermedad. En este trabajo se desarrolla una metodología de evaluación de la eficacia de la vacunación en ganado ovino adulto, mediante la valoración histopatológica de las lesiones asociadas a paratuberculosis en animales desechados.

El estudio se ha llevado a cabo en un rebaño ovino lechero de aproximadamente 400 animales adultos de raza Assaf, en el que el 70 % de las ovejas fue vacunado, cubriendo todos los rangos de edad, manteniendo el 30 % restante de animales como controles no vacunados. A lo largo de 2,5 años tras la vacunación se ha recogido información acerca de todos los ovinos desechados (221) en este rebaño por cualquier causa. En la mayor parte de ellos se pudo realizar la necropsia completa, clasificándose las lesiones paratuberculosas en el intestino en difusas (asociadas a fases clínicas graves), multifocales o focales (formas latentes o iniciales).

Del total de ovinos desechados, 138 eran vacunados (50% del total vacunado) y 83 controles (69%). En los 12 primeros meses post-vacunación, se desechó un 15 % de ovejas vacunadas y un 33 % de los controles, mostrando lesiones graves el 24 y 25 % de los ovinos respectivamente. Entre los 12–24 y 24–30 meses post-vacunación el porcentaje de ovinos con lesiones graves entre los vacunados se redujo al 16 y 3 % respectivamente, mientras que en los controles fue del 30 y 10 %. Sin embargo, el porcentaje de ovinos lesionados osciló siempre entre el 55 – 65 % en todos los grupos y periodos, incrementándose el porcentaje de animales con lesiones focales entre los vacunados.

Como conclusión, se ha puesto en evidencia que la vacunación frente a paratuberculosis, a pesar de no disminuir el porcentaje de animales con lesión entre los ovinos desechados, si que provocaría que éstas permanecieran como formas focales o latentes, sin asociarse a signos clínicos.

15

## **DESCRIPCIÓN DE UN CASO DE SHOCK SÉPTICO POLICLOSTRIDIAL EN OVINO.**

Méndez A., Gómez-Villamandos J.C., Sánchez-Cordón E., Ruiz-Villamor E.

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Córdoba. Centro Experimental Andaluz de Sanidad Animal

Las infecciones causadas por gérmenes del género *Clostridium* son bien conocidas estando perfectamente definidos los cuadros patológicos en función a la especie implicada y consecuentemente a sus toxinas específicas. Sin embargo, son infrecuentes las infecciones en las que está implicado el *Clostridium sordelli*, germen normalmente considerado de contaminación, pero que produce una toxina de gran actividad (Lethal toxin).

En el presente estudio se describe el cuadro lesional de un cordero con lesión traumática en la región de la espalda, que presentó un proceso septicémico-hemorrágico causado por infección mixta de *Clostridium chauvoei* y *Clostridium sordelli*.

En el examen externo del animal se apreció un intenso edema subcutáneo no crepitante afectando el flanco izquierdo del animal, extendiéndose ventrocaudalmente desde

la región escapular (zona de lesión subcutánea) hacia las zonas declives, interesando el miembro torácico izquierdo y zona ventral de las regiones torácica y abdominal.

Tras la necropsia, se observó un intenso edema serofibrinoso en el tejido subcutáneo de las regiones anteriormente tratadas, apreciándose burbujas de gas en el exudado de la región escapular. Circundando esta zona se encontró hemorragia subcutánea y un proceso necrótico-hemorrágico en el músculo adyacente. En cavidad torácica se observó exudado fibrino-hemorrágico con gran acumulo de líquido serohemorrágico en cavidad pericárdica. Los pulmones y las pleuras visceral y parietal presentaron hemorragias petequiales, observándose hemorragia medular en los ganglios mediastínicos. El miocardio y endocardio presentaron hemorragias petequiales que llegaban a ser en sábana en las aurículas. Por último, en cavidad abdominal se observó la presencia de hemorragias puntiformes subcapsulares que afectaban al parénquima de hígado, bazo y riñón; estos órganos se encontraban friables. Se constató la existencia de hemorragia medular en ganglios mesentéricos, y de forma focal en la serosa de intestino delgado.

Para el estudio microscópico de las muestras tomadas en la necropsia, se utilizaron las técnicas de hematoxilina-eosina, verde malaquita y plata-metenamina modificada, observándose la existencia de múltiples formas bacterianas bacilares, simples o dispuestas en cadenas, así como gran cantidad de esporos bacterianos. Los bacilos presentaron en las tinciones de verde malaquita un halo negativo central, mientras que con las técnicas de impregnación argéntica se apreciaron formas esporuladas. La distribución de las bacterias en forma vegetativa y esporulada ha sido ubicua, habiéndose detectado en el interior de vasos sanguíneos así como en el intersticio y estroma de los órganos parenquimatosos.

Finalmente, se empleó una batería de anticuerpos conjugados para IFD (VMRD, Inc.) frente a distintas especies de *Clostridium* pudiéndose constatar que en el cuadro patológico estaban implicados el *C. chauvoei* y *C. sordelli*.

## 16

### **PAPEL DE LOS LINFOCITOS T EN LA INFECCION POR *CHLAMYDOPHILA ABORTUS* EN UN MODELO MURINO**

C.M. Martínez, A. J. Buendía, J. Sánchez, N. Ortega<sup>1</sup>, M. C. Gallego<sup>1</sup>, M. R. Caro<sup>1</sup>, J. Salinas<sup>1</sup>, J.A. Navarro

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. <sup>1</sup>Dpto. Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. E-mail: jnavarro@um.es.

*C. abortus* es una bacteria intracelular obligada, agente causal del aborto enzoótico ovino. La enfermedad causa aborto principalmente en animales expuestos por primera vez al germen, ya que la infección confiere una eficiente y duradera respuesta inmune que protege de la reinfección. Esta respuesta inmune es mediada por linfocitos T. Es interesante investigar el papel de las subpoblaciones de estos linfocitos T en la resolución de la infección por *C. abortus* de cara al diseño de vacunas más eficaces, utilizando adyuvantes que activen una u otra subpoblación.

Hemos utilizado ratonas C57BL/6 infectadas intraperitonealmente con la cepa AB7 de *C. abortus*, estableciéndose tres grupos: control de infección, deplecionado de linfocitos T cooperadores, y deplecionando de T citotóxicos, utilizando anticuerpos anti-CD4 y anti-CD8 respectivamente. La eficacia de la depleción fue comprobada mediante citometría de flujo. Las ratonas fueron observadas y pesadas diariamente. Cinco ratonas de cada grupo fueron sacrificadas a los 4 y 8 días postinfección. Tras la necropsia muestras de hígado y bazo fueron fijadas en formol, incluidas en parafina y teñidas con H-E y con la técnica ABC utilizando una AcMo anti-LPS de *C. abortus*. Del bazo se obtuvieron cultivos de esplenocitos para el estudio de la producción específica de IFN- $\gamma$ , y del hígado se realizó el aislamiento del germen.

La depleción de ninguna de las dos subpoblaciones de linfocitos T indujo cambios significativos, con respecto al desarrollo de la infección en el grupo control de infección, durante los primeros cuatro días de infección. Sin embargo a partir de este momento las ratonas deplecionadas de linfocitos T CD8<sup>+</sup> mostraron un incremento de la morbilidad (medida como pérdida de peso) que se tradujo en elevada mortalidad (75% al día 8 p.i.). En cambio las ratonas deplecionadas de linfocitos T CD4<sup>+</sup> presentaron menor morbilidad que las controles y al igual que éstas nula mortalidad.

Los datos de aislamiento confirmaron estas observaciones. Las lesiones en el hígado mostraron en las ratonas deplecionadas de linfocitos T CD8<sup>+</sup> un claro incremento en la cantidad de antígeno clamidial respecto de las controles, así como focos inflamatorios de mayor tamaño y con material necrótico. Por el contrario las ratonas deplecionadas de linfocitos T CD4<sup>+</sup> mostraron focos inflamatorios más pequeños sin necrosis, y un nivel de antígeno similar a las controles. Estos hallazgos permiten concluir que los linfocitos T CD8<sup>+</sup> tienen un papel más importante en la resolución de la infección por *C. abortus* que los linfocitos T CD4<sup>+</sup>.

## 17

### **SALMONELOSIS EN PERDICES ROJAS CON AMILOIDOSIS SECUNDARIA**

Pizarro, M.; Arias, J.R.<sup>1</sup>; Simarro, I.<sup>2</sup>; González, M.; Flores, J.M.; Castaño, M.

Dpto. Patología Animal-II, Fac. Veterinaria, UCM.

<sup>1</sup> Perdices Altube, S.A., Burgos.

<sup>2</sup> Dpto. Sanidad Animal, Fac. Veterinaria, UCM

Se describe un brote de salmonelosis en perdices de granja, que afectaba a varios lotes de animales; estudiándose un total de 10 aves. Se remitieron dos lotes de animales de 3 a 4 meses de edad que se encontraban en voladeros, los cuales presentaron adelgazamiento y diarrea con mortalidad en goteo, síntomas nerviosos, opacidad de córneas y tiflitis; estos casos fueron tratados con diferentes antibióticos observándose mejorías y recaídas a la semana siguiente al tratamiento.

En estos casos se estudiaron 6 animales de pesos comprendidos entre 180 y 220 gramos. En las necropsias se observó fundamentalmente una dilatación de ciegos con abundante contenido caseoso, así como esplenomegalias variables.

Un tercer envío correspondió a animales adultos reproductores en jaulas, de este caso nos remitieron 4 aves, apreciándose así mismo tiflitis caseosa, esplenomegalia y hepatomegalia.

En la granja se comenzaban a ver problemas en la primera semana de vida, que se iban complicando a medida que crecían las aves. En algunos parques se llegaron a tener mortalidades totales del 8%, e incluso en los picos del proceso la mortalidad llegó al 0,05% diario.

Microbiológicamente se confirmó la presencia de *Salmonella*, habiéndose tipificado como *Salmonella* entérica, Subespecie entérica, serotipo Tiphimurium 4,12:C:1,2.

Histológicamente se confirmó una tiflitis necrótica, necrosis fibrinoide multifocal en hígados, así como amiloidosis en diversos órganos. En los animales jóvenes sobre todo se localizó en bazo, mientras que en los adultos además se localizó en otros órganos, como hígado, intestino y proventrículo.

Los animales reproductores fueron chequeados serológicamente, se eliminaron portadores, se trató con diversos antibióticos y se administró una autovacuna. Además se incrementaron normas de bioseguridad, con lo que finalmente se consiguió eliminar la infección.

18

**TUBERCULOSIS AVIAR EN CORMORÁN GRANDE**

X. Gerrikagoitia, M. Barral, I. Sevilla, J. Garrido, G. Aduriz, I. Intxausti, B. Moreno. Neiker (Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario). Berreaga 1, 48160-Derio. Bizkaia. <sup>1</sup> Centro de Recuperación de Fauna Silvestre. Gorliz. Bizkaia. Xgerrikagoitia@neiker.net

El cormorán grande (*Phalacrocorax carbo*) es un ave marina ampliamente extendida que inverna principalmente en las zonas templadas. Vive en las costas marinas y en casi todos los pantanos, lagos y rías. La tuberculosis es un proceso relativamente frecuente en aves salvajes, habiendo sido descrita principalmente en rapaces. En este trabajo se describen las lesiones asociadas a *Mycobacterium* sp en un cormorán grande.

El ave fue encontrada moribunda en una playa de la costa vizcaína. Tras su muerte, a las pocas horas de ingresar en el Centro de Recuperación de Gorliz, el cadáver fue remitido a los laboratorios de NEIKER para determinar la causa. Tras la necropsia, se recogieron muestras para análisis histopatológicos, microbiológicos, parasitológicos y de biología molecular.

Macroscópicamente, el pulmón izquierdo aparecía completamente invadido por una masa necrótica, encontrándose también varios nodulillos de unos 2 cm en la pared costal. Asimismo, se observaron 6 nódulos de diferentes tamaños en la serosa intestinal y uno en la molleja de unos 7x3 cm. Todos los nódulos presentaban una consistencia dura, color amarillento externo y centro necrótico marronáceo a la sección, y se desprendían fácilmente de la serosa.

Otros hallazgos fueron la presencia de abundantes parásitos en la molleja. Microscópicamente, se observó una inflamación granulomatosa compuesta por una capa de células gigantes, macrófagos, linfocitos y fibrosis rodeando a una extensa zona de necrosis central. Mediante Ziehl-Neelsen, se observó un número moderado de bacilos ácido-alcohol resistentes en el interior de células gigantes y macrófagos. Tras 4 semanas de incubación en medios de cultivo especiales (Coletsos; bio-Mérieux, FR.) se logró el aislamiento de colonias compatibles con micobacterias. La cepa aislada se encuentra pendiente de identificación definitiva.

Este trabajo es, hasta donde conocemos, la primera descripción de un caso de tuberculosis en un cormorán. La patología de los cormoranes ha sido escasamente estudiada, sin embargo, la aparición de este caso de tuberculosis, unido a su potencial zoonótico, debe estimular la realización de más estudios en este tipo de aves tan ampliamente distribuidas.

*Proyecto financiado por el Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco*

19

**LESIONES MULTISISTÉMICAS ASOCIADAS A LA INFECCIÓN POR *Staphylococcus xylosus* EN UNA TORTUGA BOBA (*Caretta caretta*)**

S. Déniz<sup>1</sup>, H. Lorenzo, A. Torrent, A. B. Casal, P. Monagas, J. Orós  
Unidad de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria ULPGC. Trasmontaña s/n. 35416 Arucas (Las Palmas). <sup>1</sup>Unidad de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Veterinaria ULPGC.  
E-mail: [joros@dmor.ulpgc.es](mailto:joros@dmor.ulpgc.es)

Recibimos en nuestra Unidad un ejemplar juvenil, hembra, de tortuga boba (*Caretta caretta*) varada muerta. Practicada la necropsia se observó una ligera depresión dorsal en el caparazón afectando al 4º escudo vertebral, así como una marcada desviación lateral de la columna vertebral en la región lumbar. El pericardio se encontró engrosado con lesiones blanquecinas coalescentes, profundizando hasta miocardio. Los riñones mostraron un

marcado incremento de tamaño, particularmente el derecho, con presencia de múltiples granulomas de tamaño variable y centro caseoso. Se observaron granulomas de 2 mm de diámetro en el parénquima hepático y granulomas de tamaño variable en el pulmón izquierdo.

Histológicamente se observaron las siguientes lesiones: severa nefritis granulomatosa multifocal bilateral, hepatitis granulomatosa multifocal, severa esplenitis granulomatosa multifocal, pericarditis y miocarditis purulenta difusa, neumonía granulomatosa multifocal, y arteritis afectando a la arteria aorta.

El estudio microbiológico a partir de muestras de ambos riñones, bazo, hígado y corazón demostró el aislamiento en cultivo puro a partir de todos los órganos de *Staphylococcus xylosus*. No existen descripciones de infecciones por este microorganismo en tortugas marinas. *S. xylosus* se ha asociado a lesiones cutáneas en varias especies animales, como broilers, cabra, oveja, gato y ratón. También se ha descrito asociado a mamitis en rumiantes, así como en el aspirado traqueobronquial de équidos. Recientemente también se ha asociado a infecciones hepáticas y renales en bovinegro.

## 20

### DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE MICROFILARIAS EN UN CANARIO ALARIO (*Serinus alario*)

H. Lorenzo, S. Soto, R. Riera, P. Castro, J. M. Molina<sup>1</sup> y J. Orós

Unidad de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria ULPGC. Trasmontaña s/n. 35416 Arucas (Las Palmas). <sup>1</sup>Unidad de Parasitología y Enfermedades Parasitarias ULPGC. E-mail: [joros@dmor.ulpgc.es](mailto:joros@dmor.ulpgc.es)

Recibimos en nuestra Unidad las muestras de un ejemplar macho, adulto, de canario alario (*Serinus alario*) para su estudio histopatológico. El ave había sido capturado en África e importado por un mayorista a Las Palmas de G. C. Durante los 10 meses de cautividad en Las Palmas mostró moderada anorexia y debilidad.

En la necropsia se había observado una severa congestión pulmonar, junto con discretas áreas de hemorragia pulmonar, así como una moderada enteritis. No se observaron parásitos adultos a nivel subcutáneo. Histológicamente, además de confirmarse las lesiones observadas macroscópicamente, se detectaron numerosas microfilarias en pulmón, miocardio, sinusoides hepáticos y encéfalo.

Empleando un suero policlonal anti-ES (productos de excreción-secreción de vermes adultos de *Dirofilaria immitis*) y la técnica del LSAB (complejo estreptavidina-biotina-peroxidasa) con el 3-amino-9-etilcarbazol como revelador se observó inmunorreacción sobre las microfilarias circulantes en pulmón, hígado y encéfalo, en las que fue posible observar un patrón común, caracterizado por una mayor inmunorreacción en los extremos anterior y posterior de las microfilarias. Sin embargo, los controles de filariosis humana (*Loa-Loa* y *Dipetalonema streptocerca*) resultaron negativos.

En aves paseriformes se encuentran descritos distintos filáridos encuadrados dentro de la Subfamilia Splendidofilariinae y pertenecientes a los géneros *Aproctella*, *Cardiofilaria*, y *Chandlerella*. Los resultados inmunohistoquímicos podrían explicarse porque los estadios evolutivos correspondientes a larva 1 (L1) de los filáridos observados en este ave y los vermes adultos de *Dirofilaria immitis* compartieran determinantes antigénicos, a diferencia de lo sucedido con los casos de filariosis humana. Esta circunstancia permitiría la utilización de dicho suero policlonal en la detección de estas microfilarias, aún cuando la carga parasitaria fuera baja, dado el poder amplificador de esta técnica inmunohistoquímica.

## 21

### **DIFERENCIA ENTRE LAS LESIONES CUTÁNEAS INICIALES EN BOVINOS TRAS LA PRIMOINFECCIÓN Y REINFECCIÓN EXPERIMENTAL CON *Hypoderma lineatum*.**

Ceferino M. López<sup>1</sup>, Virginia Santamaría<sup>2</sup>, José L. Cascallana<sup>2</sup>, Rosario Panadero<sup>1</sup>, Adolfo Paz<sup>1</sup>, Pablo Díez<sup>1</sup> y Ana Bravo<sup>2</sup>.

1. Parasitología y Enfermedades Parasitarias. 2. Anatomía Patológica Veterinaria. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela. E-mail: anabravo@lugo.usc.es

La piel es considerada como una importante barrera mecánica frente a la infestación por *Hypoderma* spp. Las larvas penetran a través de la piel, donde muchas son destruidas por la respuesta inmune del hospedador.

El objetivo del presente trabajo es conocer las posibles diferencias en el desarrollo de lesiones cutáneas iniciales en bovinos infectados experimentalmente por *Hypoderma lineatum* en dos situaciones diferentes: aquellos que sufren una primoinfección parasitaria, y aquellos otros en los que se desarrolla una reinfección.

Para la realización de este estudio se emplearon 3 grupos experimentales con 4 bovinos en cada grupo: un primer grupo control, un segundo grupo de animales en los que se realizó experimentalmente la primoinfección con 50 larvas recién eclosionadas de *Hypoderma lineatum*, distribuidas en 5 áreas cutáneas de 1 cm de diámetro cada una de ellas, localizadas en la región dorsal, y un tercer grupo de animales re infectados en los cuales se conocía la infección previa, el año anterior, por *Hypoderma lineatum*, a los cuales se les produjo una reinfección experimental con 50 larvas recién eclosionadas del parásito, también distribuidas en 5 áreas cutáneas dorsales de 1 cm de diámetro. En todos los grupos se tomaron muestras en 5 períodos de tiempo: 0, 6, 12, 48 y 96 horas tras la reinfección.

En el grupo de animales con primoinfección, observamos una respuesta cutánea leve o moderada tras la penetración de las larvas, caracterizada por la presencia de edema en las regiones de destrucción tisular y un discreto infiltrado inflamatorio perivascular en la dermis superficial.

En el grupo de animales re infectados, la respuesta cutánea era muy extensa, con el desarrollo de una dermatitis pustulosa tras la penetración del parásito y la presencia de un infiltrado inflamatorio extenso localizado en la dermis superficial y profunda y en la hipodermis, con desarrollo de necrosis fibrinoide de la pared vascular y arteritis con un infiltrado inflamatorio de células mononucleares, principalmente linfocitos y células plasmáticas, y polimorfonucleares eosinófilos.

Concluimos que la primoinfección cutánea con *Hypoderma lineatum* en bovinos se caracteriza por una respuesta tisular e inflamatoria leve, mientras que en la reinfección, la respuesta cutánea es extensa, con la presencia de lesiones sugestivas de un proceso alérgico o reumatoide, probablemente como consecuencia del desarrollo de una reacción de hipersensibilidad tipo III frente a la segunda o sucesivas infecciones parasitarias.

*El presente trabajo ha sido financiado con el proyecto de investigación PGIDT00PXI26102PR.*

## 22

### **ESTUDIO DE UN CASO DE GRANULOMA SUBLINGUAL ASOCIADO A LEISHMANIOSIS CANINA.**

L. Gómez<sup>1</sup>, M. E. Durán<sup>1</sup>, C. Mirón<sup>2</sup>, J. Peña<sup>2</sup>, V. Iniesta<sup>3</sup>, I. Molano<sup>3</sup>, J. Carcelén<sup>3</sup>, L. C. Gómez Nieto<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Uex. <sup>2</sup>Clínica Veterinaria S. Francisco de Asís. Cáceres. <sup>3</sup>Unidad de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. Facultad de Veterinaria. Uex.

E-mail: [luih@unex.es](mailto:luih@unex.es)

El caso que se describe corresponde a un perro Boxer macho de cinco años de edad con antecedentes de problemas cutáneos que no remiten a tratamientos acaricidas y antibióticos. En la clínica es diagnosticado de leishmaniosis y analizado de nuevo el caso.

Presentaba un cuadro típico de leishmaniosis canina sintomática con un síndrome general de pérdida de peso, anorexia y debilidad. La linfadenitis era generalizada, al igual que la dermatitis descamativa e hiperqueratosis con alopecia en los relieves óseos. Onicogriposis y ligero dolor renal, junto con la observación de una tumoración sublingual de tres centímetros de diámetro, maloliente, bien irrigado, color blanquecino rojizo, aspecto multinodular y consistencia compacta, completaron la clínica.

Los análisis practicados mostraron la existencia de un cuadro anémico con disminución de los glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito. Neutrofilia, valores límite de urea y creatinina, junto con una marcada proteinuria, completaron los datos hematológicos y bioquímicos. El diagnóstico de la infección por *Leishmania infantum* se realizó mediante biopsia ganglionar y frotis de órganos, ya que el perro fue eutanasiado y practicada la necropsia completa.

Los análisis inmunológicos mostraron una seropositividad de título mayor de 1/640 por IFI, respuesta dicotómica con valores de 0.73 unidades de densidad óptica de IgG2a frente a proteínas totales y mediante análisis por ELISA frente a diversos antígenos recombinantes citoplasmáticos y de membrana.

El análisis histopatológico de la tumoración sublingual mostró un doble cuadro lesional. Por una parte se apreciaron numerosas formaciones vasculares en el interior del tejido tumoral compuestas por células endoteliales inmaduras, que alternaban con estructuras granulomatosas en la que destacaban células mononucleares. Según la profundidad de la lesión se apreciaron dos zonas netamente diferenciadas; en niveles más superficiales destacaron los macrófagos mientras que en profundidad eran típicos los histiocitos y linfocitos. Los macrófagos existentes mostraron en su interior amastigotes de *Leishmania*, evidenciados con la tinción de Giemsa.

## 23

### **FIRST CASE REPORT OF CRYPTOSPORIDIOSIS IN AN ARABIAN FOAL WITH COMBINED IMMUNODEFICIENCY SYNDROME IN MOROCCO**

N. Tligui, F. Crespeau<sup>1</sup>, F. Kichou, M. El Hamidi

Department of Pathology, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P. 6202, Rabat-Instituts, Rabat, Morocco. <sup>1</sup>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort, France. E-mail : [n.tligui@iav.ac.ma](mailto:n.tligui@iav.ac.ma)

Severe combined immunodeficiency (SCID) is a fatal autosomal disease of Arabia horses characterized by a marked deficiency in functional T and B lymphocytes clinically resulting in various opportunist infectious diseases. This report describes a case of intestinal cryptosporidiosis observed in an immunodeficient Arabian foal during a survey of SCID in Morocco.

An 8 days old Arabian foal was examined because of severe diarrhea. The foal became lethargic, ataxic showed a progressive respiratory distress and died three days later in spite of intensive treatment.

At necropsy, the lymph nodes and thymus were markedly reduced in size and the spleen was thin, dry and smaller than normal. Patchy consolidated areas were observed in the apical lobes of the lungs. The small intestine appeared slightly congested; non significant isolation of *E. coli* was obtained from the intestinal content.

The histopathological findings consisted in a severe lymphoid depletion of lymph nodes, spleen and thymus, highly suggestive of SCID syndrome. Focal lung lesion was characterized by a severe suppurative bronchopneumonia. Sections from the small intestine showed atrophic enteritis with villus shortening, blunting and occasional fusion; numerous *cryptosporidia* were observed, fixed at the brush border of intestinal epithelial cells.

*Cryptosporidia is known in various species as an opportunist pathogen associated to immunodeficiency. In this case of congenital foal immunodeficiency syndrome, it was characterized as determinant of a severe atrophic enteritis resulting in fatal dysenteric disease.*

24

### **CIRROSIS BILIAR EN UN DELFÍN LISTADO (*STENELLA COERULEOALBA*)**

J.R. Jaber, J. Pérez\*, A. Espinosa de los Monteros, M. Arbelo, P. Herráez, T. Fernández, F. Rodríguez, G. Ramírez, A. Fernández.

Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria de Las Palmas de Gran Canaria. \*Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria de Córdoba.

En este trabajo se describen los hallazgos histopatológicos e inmunohistoquímicos de una cirrosis biliar en un delfín listado varado vivo en las costas de Fuerteventura.

Macroscópicamente el hígado tenía tamaño normal, consistencia firme y numerosos nódulos blanco-amarillentos en la superficie visceral. Al abrir conducto biliar común se observaron numerosos trematodos que lo obstruían.

Microscópicamente el hígado presentó amplias áreas con severa infiltración de linfocitos, células plasmáticas y algunos eosinófilos en espacios porta, en los que además existía proliferación biliar y una severa fibrosis que se extendía entre espacios porta contiguos, provocando desorganización de la arquitectura lobulillar hepática.

La presencia de numerosos huevos de parásitos del género *Campula* spp. en el interior de los conductos biliares, así como la fibrosis e infiltrado inflamatorio pericolangiar provocó una colestasis generalizada.

La salida de huevos al espacio porta provocaba severos granulomas con células gigantes multinucleadas y abundante infiltrado linfoplasmocitario, en ocasiones formando folículos linfoides con centro germinal.

El estudio inmunohistoquímico reveló la expresión del anticuerpo monoclonal anti-MHC clase II en el epitelio biliar y en células con morfología estrellada dispuestas en los folículos linfoides y áreas interfoliculares de estos agregados linfoides. En cerebro se observó vacuolización, principalmente en sustancia blanca, que podría ser secundaria al fallo hepático.

*Campula* spp. es un trematodo habitual en cetáceos y en general provoca escasas lesiones hepáticas. Sin embargo, como ocurrió en el presente caso, las infecciones severas pueden inducir colangitis crónica y cirrosis biliar, lo que podría provocar un síndrome hepatoencefálico en fases avanzadas que llevan al varamiento y muerte.

*Agradecimientos: trabajo financiado por la Comunidad Europea (DG XIV) y Junta de Andalucía (AGR 137).*

25

## **HIPERPLASIA DE COLANGIOLOS EN UN CANARIO ASOCIADO A PARASITACIÓN POR *ATOXOPLASMA SPP.***

Gutiérrez, J; Bautista, MJ; Gomez-Villamandos, JC; Sierra, MA.

Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba.

La atoxoplasmosis es una enfermedad parasitaria esporádica producida por el protozoo *Atoxoplasma spp.*, relacionado con el genero *Isospora*, el cual afecta al epitelio intestinal y al sistema reticuloendotelial de las aves paseriformes especialmente a los canarios, siendo más afectados los jóvenes entre 2 y 9 meses de edad. Esta parasitosis provoca una elevada mortalidad, hasta el 80% de los pájaros afectados, siendo los adultos generalmente portadores asintomáticos durante un largo período. La enfermedad se caracteriza histopatológicamente por presentar hepatomegalia y enteritis.

En nuestro estudio describimos las lesiones histopatológicas y ultraestructurales asociadas a esta parasitosis en un canario que presentó anorexia y muerte repentina, mostrando una marcada hiperplasia de colangioloos no descrita previamente.

En el examen macroscópico, se observaron focos blanquecinos y hepatomegalia. El examen histopatológico con hematoxilina-eosina reveló alteraciones en el hígado donde se apreció una pronunciada hiperplasia de colangioloos. Además, se observó un intenso infiltrado en los espacios porta y alrededor de los colangioloos constituido fundamentalmente por macrófagos y leucocitos, los cuales contenían organismos intracitoplasmáticos basófilos. Asimismo se observó una intensa leucocitosis en sinusoides y algunos pequeños granulomas.

En intestino se apreció una gran cantidad de macro y microgametos, y ooquistes no esporulados en el interior de las células epiteliales intestinales. Algunas de estas estructuras parasitarias teñidas con la técnica de PAS fueron positivas.

El estudio ultraestructural confirmó la presencia del *Atoxoplasma* en macrófagos, monocitos y linfocitos.

26

## **CAMBIOS DE LAS SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS DURANTE LAS FASES TEMPRANAS DE LA HEMONCHOSIS CAPRINA**

J. Pérez, S. Cámara (1), P.M. García, R. Zafra, E. Mozos, S. Martínez-Cruz(1), A. Martínez-Moreno (1)

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. (1) Cátedra de Parasitología. Facultad de Veterinaria de Córdoba. Campus de Rabanales, Edificio de Sanidad Animal. E-mail: [an1pearj@uco.es](mailto:an1pearj@uco.es)

Los mecanismos de la respuesta inmune capaces de generar protección frente a nematodiasis gastrointestinales son de gran interés para el desarrollo de vacunas que ayuden a su control. En este trabajo hemos analizado las subpoblaciones de células T (CD2, CD4, CD8,  $\gamma\delta$ ) células B (CD79 $\alpha$ , IgM) y células plasmáticas productoras de IgG en la mucosa y ganglios linfáticos abomasales de cabras infectadas primariamente con *Haemonchus contortus* y sacrificadas a los 3, 6, 10 y 13 días postinfección (dpi).

En la mucosa abomasal existía un ligero (3 dpi), moderado (6 dpi) o marcado (10 y 13 dpi) incremento de los linfocitos T, particularmente CD2, CD4 y  $\gamma\delta$ , siendo más discreto el aumento de linfocitos CD8. Los linfocitos B y las células plasmáticas IgG<sup>+</sup> mostraron un marcado incremento a en la mucosa abomasal a los 10 y 13 dpi.

Los ganglios linfáticos abomasales (GLA) mostraron aumento de tamaño marcado a los 10 y 13 dpi, mostrando una progresiva disminución del porcentaje de células T, particularmente CD8, debido al incremento proporcional de los linfocitos B y de las células plasmáticas IgG<sup>+</sup>. La proporción de linfocitos CD4 y  $\gamma\delta$  no cambió significativamente en los

ganglios a lo largo de la infección, aunque debido al aumento de tamaño de los GLA, su número absoluto aumentó de forma significativa.

Por tanto, desde etapas tempranas de la infección primaria en cabras se produce una intensa respuesta celular y humoral frente a *H. contortus*, sin embargo, esta respuesta no tuvo carácter protector como demostró el recuento parasitológico.

Estos resultados sugieren que otros mecanismos que se generan en etapas más tardías, como los dependientes de leucocitos globulares, juegan un importante papel en la expulsión temprana de *H. contortus* en cabras.

*Agradecimiento: estudio financiado mediante proyecto (CICYT AGF96-1132) y Junta de Andalucía (AGR 137).*

27

### **MUCORMICOSIS SISTÉMICA NEONATAL EN TERNERO: CASO CLÍNICO**

Fariñas, F.<sup>3</sup>, González J.V.<sup>1,2</sup>, Zorrilla, I.<sup>3</sup>, Astíz, S.,<sup>1</sup> Partida, E.,<sup>1</sup> y Monge, A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Alfonso Monge y Asociados Veterinarios [amavet@terra.es](mailto:amavet@terra.es)

<sup>2</sup> Clínica Ambulante de Bóvidos. Fac. de Veterinaria de Madrid

<sup>3</sup> Instituto Andaluz de Patología y Microbiología (IAMA) [iamalab@hotmail.com](mailto:iamalab@hotmail.com)

Las infecciones por hongos mucorales están citadas con frecuencia en la patología veterinaria y humana, pero el presente caso tienen particularidades poco comunes. La vía de entrada es principalmente la digestiva, y en menor grado la respiratoria intramamaria y la quirúrgica.

En el presente caso, ternero de madre berrenda y padre limousine de 4 días de edad, no existía en principio ninguna lesión característica del aborto micótico. Las principales lesiones consistieron en la presencia de una hepatitis purulenta diseminada con múltiples abscesos sin afectación macroscópica de la vena umbilical, caudal abdominal, cavidad torácica ni en articulaciones.

El examen macroscópico de la cabeza destacó por la existencia en el ojo derecho de un hipopión, y al abrir el cráneo el cerebelo se encontraba sustituido por un flemón apreciándose estas mismas lesiones de forma multifocal en ambos hemisferios cerebrales.

El estudio histopatológico de las lesiones evidenció la presencia de una grave infección fúngica por hongos que morfológicamente se asocian al grupo de los mucorales.

En base a los hallazgos clínicos y anatomopatológicos nuestra hipótesis es que el ternero adquirió la infección vía onfalógena en el propio canal del parto, o en los instantes siguientes a su nacimiento, de manera que el hongo colonizó primeramente el hígado para después, vía hematógena, infectar el cerebro, los ojos, y el resto del organismo.

## 28

### MUCORMICOSIS EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE UN CABALLO.

L. Carrasco, A. Núñez, P.J. Sánchez-Cordón, J. Hervás<sup>1</sup>, F. Chacón M. de Lara<sup>1</sup>, M. Fernández de Marco y H.E. Jensen<sup>2</sup>.

Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, UCO, Campus de Rabanales, 14014-Córdoba (España). <sup>1</sup>Histolab Veterinaria, Fuengirola, Córdoba, España, <sup>2</sup>Dept. of Pharmacology and Pathobiology, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Dinamarca.

E-mail: [an1caotl@uco.es](mailto:an1caotl@uco.es)

Las mucormicosis son infecciones oportunistas causadas por hongos del orden Mucorales que suelen producirse en animales debilitados o inmunosuprimidos. En el caballo son extremadamente raras, siendo frecuente que los animales mueran a los pocos días del comienzo de la sintomatología y que el diagnóstico no pueda ser establecido hasta que se realiza el estudio histopatológico, lo que dificulta la identificación del hongo involucrado.

En una explotación de caballos de pura raza española, uno de los sementales, de 8 años de edad, fue sacrificado a la semana de mostrar signos de tambaleo, marcha inestable y envaramiento, así como caídas ocasionales, y no remitir frente a un tratamiento antibiótico y antiinflamatorio.

La necropsia reveló la presencia de 2 focos de necrosis de color marrón oscuro y morfología irregular en el encéfalo, uno de 3-4 cm de Ø afectando el Asta de Amón del hemisferio derecho y otro de unos 2 cm de Ø en la zona del puente del hemisferio izquierdo.

El estudio estructural reveló la existencia de amplias áreas de necrosis donde existían abundantes hifas septadas irregularmente y ramificadas, rodeadas por un infiltrado inflamatorio. No se observaron lesiones ni presencia de hifas en el resto de los órganos del animal.

El hongo se identificó como perteneciente al orden Mucorales tras llevar a cabo un estudio inmunohistoquímico mediante técnica de la fosfatasa alcalina-antifosfatasa alcalina con antisueros frente a *Candida spp*, *Aspergillus spp* y *Absidia corymbifera*, observándose reacción positiva tan solo frente a este último agente.

*Este trabajo ha sido financiado por el P.A.I.-Junta de Andalucía (AGR-137)*

## 29

### ÚLCERA MICOTICA EN ESTÓMAGO DE CERDO

L. Carrasco, A. Núñez, P.J. Sánchez-Cordón, F. Bello, M. Pedrera, A. Méndez y H.E. Jensen<sup>1</sup>.

Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, UCO, Campus de Rabanales, 14014-Córdoba (España). <sup>1</sup>Dept. of Pharmacology and Pathobiology, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Dinamarca. E-mail: [an1caotl@uco.es](mailto:an1caotl@uco.es)

La úlcera gastroesofágica porcina es un proceso cuya prevalencia parece haber aumentado en países productores debido, probablemente, a las prácticas intensivas de los sistemas productivos, siendo considerado como un proceso de etiología multifactorial que afecta principalmente a animales en cebo y localizada en la mucosa tegumentaria.

En un lote de 90 animales de 3 semanas de vida cuatro presentaron ictericia, palidez y pérdida de peso, revelando la necropsia la existencia de sangre coagulada y una lesión ulcerativa de unos 3 cm de Ø localizada en la región del fundus de la porción glandular del estómago. Muestras de diferentes órganos fueron fijadas en formol al 10% y procesadas e forma rutinaria para su estudio histopatológico e inmunohistoquímico.

En la mucosa glandular se observó la existencia de una amplia área de necrosis y hemorragia, con un fuerte infiltrado neutrofílico y la presencia de hifas PAS positivas, ramificadas, pobremente septadas y de morfología irregular que en ocasiones presentaban

invasión de las estructuras vasculares de la mucosa. Hifas que también fueron observadas en el ganglio gastrohepático.

Para determinar el agente causal se llevó a cabo un estudio IHQ mediante la técnica de la fosfatasa alcalina-antifosfatasa alcalina con antisueros frente a *Candida spp*, *Aspergillus spp* y *Absidia corymbifera*, siendo reactivo a los anticuerpos frente a este último hongo perteneciente al orden Mucorales.

La existencia de úlceras micóticas en el estómago de cerdos es considerada como un proceso infrecuente, siendo atribuida a una colonización de ulceraciones previas, como en el caso de *Candida spp*, o a la colonización por *Mucor spp* en estados de inmunosupresión, así como tras prolongados tratamientos con clortetraciclinas en las madres.

*Este trabajo ha sido financiado por el P.A.I.-Junta de Andalucía (AGR-137)*

### 30

#### **BROTE DE ASPERGILOSIS EN UNA GRANJA DE AVESTRUCCES (*STRUTHIO CAMELUS*)**

J. Pérez<sup>1</sup>, P.M. García<sup>1</sup>, R. Zafra<sup>1</sup>, A. Méndez<sup>1</sup>, I. Luque<sup>2</sup>, R. Astorga<sup>2</sup>, y C. Tarradas<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. <sup>2</sup> Dpto. Sanidad Animal. Edificio de Sanidad Animal. Campus de Rabanales. Facultad de Veterinaria de Córdoba.

En este póster se describen los hallazgos clínico-patológicos de un brote de aspergilosis en una granja de avestruces localizada en el término municipal de Baena (Córdoba). Durante los últimos años el número de granjas de esta especie ha aumentado en nuestro entorno geográfico, por lo que también ha aumentado la casuística que observamos, tanto debida a problemas de manejo como de naturaleza infecciosa.

El lote de animales afectado estaba compuesto por 26 avestruces de entre 10 y 14 meses de edad. Ocho de ellas mostraron pérdida de peso progresiva, debilidad, dificultad respiratoria con disnea, picos abiertos y tos. En la exploración clínica el veterinario no llegó a un diagnóstico etiológico, por lo que instauró un tratamiento sintomático con Ivermectina y Tetraciclinas, que no produjo mejoría en los animales. Debido al estado de caquexia de una de las avestruces, ésta fue sacrificada y enviada a nuestro departamento para ser necropsiada.

Los hallazgos macroscópicos más destacados consistieron en una severa aerosaculitis y neumonía granulomatosas, con abundante material blanco-amarillento de consistencia cremosa o dura en sacos aéreos torácicos, que también mostraban una pared engrosada y muy congestiva. Las áreas de pulmón adyacentes a los sacos aéreos mostraban severa congestión y múltiples nodulaciones de tamaño variable y color blanco-amarillento rodeadas por un halo hiperémico.

El estudio histopatológico reveló una aerosaculitis y pleuritis piogranulomatosas con extensas áreas de necrosis en las que se observaron numerosas hifas ramificadas y septadas. En pulmón existían granulomas con o sin centro necrótico rodeado por abundantes células gigantes multinucleadas y un escaso número de hifas.

El estudio microbiológico permitió cultivar y aislar *Aspergillus niger* de las muestras de sacos aéreos y pulmón. El tratamiento de los animales del lote con griseofulvina provocó una progresiva y completa mejoría de los mismos.

El presente caso es atípico por la edad de presentación del proceso, ya que la aspergilosis suele afectar a pollos de avestruz, pero muy raras provoca síntomas y lesiones tan severos en animales de más de 6 meses de edad. La especie de hongo implicada también es poco común, ya que *A. fumigatus* es el más frecuente en la aspergilosis de los avestruces.

*Agradecimiento: estudio financiado por Junta de Andalucía (AGR 137).*

### 31

#### **INTOXICACIÓN POR PLOMO EN CERDO IBÉRICO.**

A. Núñez, P.J. Sánchez-Cordón, A. Perea\*, B. Huerta\*, M Pedrera, L. Carrasco y M.A. Sierra.

Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, UCO, Campus de Rabanales, 14014-Córdoba (España). \*Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, UCO. E-mail: [an1caotl@uco.es](mailto:an1caotl@uco.es)

El plomo está considerado como una causa relativamente frecuente de intoxicación en el ganado bovino, estando asociado con el pastoreo en áreas donde existan residuos de aceite de motor, baterías o contenedores de pintura. Sin embargo, la intoxicación por plomo en cerdos es una patología altamente infrecuente debido a la alta resistencia de estos animales a este metal pesado.

En una explotación semiextensiva de cerdo ibérico se observó como los reproductores presentaban una parálisis progresiva de los cuartos traseros acompañada de poliuria. La duración del proceso fue de unos 2 meses, llegando a afectarse el 100% de los reproductores. En la necropsia de 3 animales sacrificados (1 macho y dos hembras) no se observaron lesiones macroscópicas significativas.

El estudio histopatológico reveló una intensa tubulonefrosis, con presencia ocasional de cuerpos de inclusión acidófilos intranucleares e intracitoplasmáticos en las células del epitelio tubular. Cuerpos de inclusión similares se hallaron en un alto número en hepatocitos. En cerebro se apreció edema perivascular y perineuronal, así como espongirosis en tronco del encéfalo, desmielinización en sustancia blanca medular e hinchazón de los axones de las raíces nerviosas. En el nervio ciático se observó degeneración Walleriana de las fibras nerviosas. Las lesiones renales y nerviosas y los cuerpos de inclusión en el epitelio tubular son consideradas lesiones compatibles con una intoxicación por plomo.

El estudio ultraestructural confirmó el diagnóstico al revelar la existencia de cuerpos de inclusión intranucleares y citoplasmáticos de apariencia vellosa correspondientes a complejos plomo-proteína en las células tubulares y hepatocitos.

El análisis toxicológico mediante espectrometría de absorción atómica de muestras renales y hepáticas de los animales demostró la presencia de niveles de plomo superiores a los normales.

*Este trabajo ha sido financiado por el P.A.I.-Junta de Andalucía (AGR-137)*

### 32

#### **DIAGNÓSTICO DE MICOTOXICOSIS EN PERDICES ROJAS**

Pizarro, M.; Arias, J.R.<sup>1</sup>; González, M.; Flores, J.M.; Castaño, M.

Dpto. Patología Animal-II, Fac. veterinaria, UCM

<sup>1</sup> Perdices Altube, S.A., Burgos.

En un lote de 30.000 perdices de 5 meses de edad, se observó un incremento de mortalidad en los meses de septiembre-octubre. Las aves eran alimentadas con pienso granulado y trigo en grano. Los animales que morían presentaban un buen estado de carnes y sin síntomas previos. Se sospechó en un cuadro tóxico por lo que se decidió analizar el alimento, y enviar 4 animales al Servicio de Anatomía Patológica del HCV de la UCM.

En la necropsia no se observaron lesiones específicas, detectándose únicamente un discreto aumento de tamaño del hígado y consistencia friable; así mismo se apreció una ligera congestión intestinal en todos los casos y un aumento de tamaño del ciego en un animal; por lo que se procedió a una toma de muestras de diversos órganos para su estudio histopatológico.

A nivel microscópico se constató una nefrosis tubular aguda en 4/4 y una intensa hemorragia renal en 3/4. En el hígado se observó una marcada hiperplasia de conductos biliares en 3/4, que en algunas zonas invadía el parénquima con aspecto adenomatoso y formación de estructuras tubulares.

Así mismo se observó en todos los casos una variable degeneración y necrosis de hepatocitos con figuras apoptóticas, siendo muy escasos los núcleos megalocíticos y los focos de mielopoyesis. Las bolsas de Fabricio mostraron una discreta atrofia de folículos linfoides. A nivel de intestino se constató la presencia de algunos focos hemorrágicos y discretas lesiones de enteritis catarral. No se observaron alteraciones significativas en proventrículo, pulmón, tráquea y corazón.

El diagnóstico anatomopatológico fue el de nefrosis aguda con necrosis y hemorragia generalizada en riñones, así como hiperplasia adenomatosa de conductos biliares en hígado. Considerando que ambas lesiones podrían ser típicas de micotoxinas, se aconsejó la investigación en pienso, concretamente nuestras sospechas se centraron en las ocratoxinas (T-2) como agente nefrotóxico y aflatoxina B-1 como agente hepatotóxico y se indicó el cambio de alimentación.

En los análisis realizados se detectaron niveles de 70-90 ppm de aflatoxina B1 y 14-28 ppb de T-2 en pienso; y así mismo se detectaron entre 28-60 ppb de T-2 en trigo. Por supuesto, se realizó un cambio de alimentación, con el empleo de absorbentes de micotoxina en pienso y protectores hepáticos en agua, consiguiéndose que remitiera el cuadro a los 30-40 días del inicio. En total se había producido una mortalidad de unos 10.000 animales, de los que 6000 correspondieron a los primeros días del proceso.

### 33

#### **AMILOIDOSIS SECUNDARIA A RODOCOCOSIS EN UN POTRO**

Calvo, A., Sardón, D., Rodríguez, A., Prudencio\*, E., Castaño, M.

*Servicio de Anatomía Patológica. Facultad Veterinaria. UCM. Madrid- 28040*

*\* Clínico Especialista en Équidos. [andres\\_calvo@hotmail.com](mailto:andres_calvo@hotmail.com)*

Se remite al servicio de necropsias del Hospital Clínico Veterinario, un potro de 4 meses de edad, PRE, hembra. Durante su primer mes de vida desarrolla una diarrea aguda, tratada con sulfamidas orales 8cc/12h durante 1 semana. Tras este episodio de diarrea, el animal debuta con un proceso respiratorio con tos y mocos, por lo que se le aplica un tratamiento con eritromicina, 25 mg/kg cada 8-12 horas por vía oral, y con rifampicina, a dosis de 5mg/kg cada 12 horas vía oral, durante unos diez días. Un mes después el proceso respiratorio recidiva, repitiendo el protocolo antibiótico. Finalmente muere 2 meses después del último tratamiento.

Al realizar la necropsia observamos una moderada cantidad de líquido en cavidad abdominal y torácica, apreciándose abundante cantidad de fibrina en cavidad peritoneal (peritonitis fibrinosa). Sobre todo destaca la presencia de dos grandes abscesos: uno mediastínico, que afecta al pulmón, principalmente al lóbulo caudal derecho, con contenido mucopurulento y otro a nivel mesentérico, de tipo granulomatoso que afecta a asas intestinales.

El estudio histológico reveló la presencia de una sustancia proteica, amorfa y extracelular, que se deposita en el centro germinal de los órganos hematopoyéticos, principalmente bazo, ganglios mediastínicos y mesentéricos. Con la técnica del Rojo Congo ponemos de manifiesto que dicha sustancia corresponde con amiloide. El estudio histopatológico del resto de los órganos coinciden con las características microscópicas de un shock séptico, si bien destacamos las lesiones granulomatosas correspondientes a las dos formaciones nodulares (pulmón y zona mesentérica).

La clínica y los hallazgos anatomopatológicos sugieren un cuadro de Rodococosis equina (*Rhodococcus equi*). El agente causal de estas lesiones fue aislado mediante cultivo

bacteriológico y se identificaron microorganismos positivos a nivel del anillo faríngeo mediante el empleo de la técnica inmunohistoquímica del complejo de estreptoavidina biotina (anticuerpo monoclonal Mab 10G5, cedido por el Dr. Takai).

La presencia de amiloide responde a un desorden inmunológico severo que se encuadra dentro de las amiloidosis sistémicas reactivas. No obstante, en los animales domésticos la amiloidosis secundaria se produce como respuesta a enfermedades insidiosas (tuberculosis, papera equina, etc) entre las cuales no figuraba la Rodococosis equina. Quizás la presencia de esta amiloidosis sistémica secundaria estaría relacionado con varios factores que han favorecido la cronicidad del proceso: la corta edad del animal, la baja virulencia de la cepa de *Rhodococcus equi* y la administración indiscriminada de antibióticos.

### 34

#### **PRIMERA CITA DE UN SÍNDROME DE DISTENSIÓN ABDOMINAL CONGÉNITA EN EL VACUNO (“PRUNE BELLY-LIKE SYNDROME”).**

J.V. González <sup>1,2</sup>, S. Astiz <sup>2</sup>, L. Elvira <sup>2</sup>, A. Rodríguez <sup>3</sup>, J. Camón <sup>4</sup>

1: Dpto. Clínica Ambulante de Bovino, Patología Animal II, Facultad de Veterinaria (U. C. M). Avda de Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid

2: Clínica Alfonso Monge, Asociados Veterinarios S. L. C/ Virgen del Espinar 19. Guadalix de la Sierra. 28794 Madrid.

3: Dpto. Anatomía Patológica, Patología Animal II, Facultad de Veterinaria ( U. C. M.), Avda de Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid

4: Dpto. Anatomía y Embriología, Patología Animal I, Facultad de Veterinaria (U. C. M.), Avda de Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid

Se trataba de una ternera holstein de quince días. En la exploración clínica sólo se observó un abdomen descolgado y de pared delgada. La última costilla tocaba la del lado opuesto por la unión costocondral, adoptando forma de ocho. Las vísceras abdominales aparecían desplazadas caudal y ventralmente, no palpándose ningún órgano en la parte superior, salvo el riñón izquierdo, cuya protrusión podía verse a través de la pared abdominal. El animal fue sacrificado para su estudio. En decúbito supino, el abdomen se desplazaba hacia los lados, formando las costillas una elipse con el diámetro mayor paralelo al suelo. Los músculos abdominales se reducían a fascias, encontrándose el resto de la musculatura normal. Además se encontraron múltiples quistes hepáticos serosos, de gran tamaño, ya vacíos, que no estaban adheridos, ni interferían con ningún órgano y sin presencia de ascitis.

El estudio anatomopatológico del cuádriceps femoral, diafragma, corazón y de los músculos abdominales resultó ser normal, excepto en el transverso abdominal, oblicuos externo e interno y recto abdominal que presentaban unas fibras musculares esqueléticas de pequeño tamaño, probablemente debido a una falta de desarrollo o a una atrofia muscular.

En humana está descrito un síndrome de distensión abdominal congénito denominado “síndrome de vientre en ciruela pasa” o “prune belly syndrome”, definido por ausencia total o parcial de musculatura abdominal, malformación de vías urinarias y criptorquidia bilateral.

El proceso se intenta explicar bien por un trastorno genético, embriológico (defecto primario del desarrollo de la placa mesodérmica), teratógeno o por una cromosomopatía, produciéndose una atresia uretral con uropatía obstructiva prenatal. Esto produciría una distensión enorme de la vejiga urinaria y lesión del aparato urinario, imposibilitando el descenso testicular. Las lesiones musculares se deberían, bien directamente a la distensión y compromiso vascular, bien al defecto de desarrollo embriológico de la placa mesodérmica.

En veterinaria existe un caso parecido descrito en perro y otro en lechones, publicados en la bibliografía.

Existen casos de distensión abdominal congénita en bóvidos causada por ascitis, obedeciendo ésta, a su vez, a distintas etiologías (malformaciones, tumores, infecciones...), tratándose de mortinatos o abortos. Los quistes hepáticos serosos suelen ser pequeños, observándose raramente repletos de líquido en la vida extrauterina. Nosotros suponemos la distensión abdominal ocasionada por los quistes hepáticos, como la causante de las lesiones musculares. Previamente al parto, los quistes, que eran de un tamaño exagerado, ocupando toda la cavidad abdominal, se reabsorbieron, dejando como única secuela, la lesión muscular.

**Citas bibliográficas:** Cruz, M. y Bosch, J. *Atlas de síndromes pediátricos*. 1ª ed. Barcelona : Espaxs S.A., 1998. pp.242-243; Kelly, W, R, The Liver and Biliary System. En Jubb, K. V. F., Kennedy, P. C. y Palmer, N. *Pathology of domestic animals*. 4a ed. San Diego, California : Academic Press Inc, 1993. pp. 322-3; Lindemeier, B., Kohl, K. y Kirchof, N. Prune-belly-syndrome-ähnliche Prostatamissbildung beim Hund. *Tierärztliche Praxis* 2000, Vol. 28, pp.111-115; Reese, S. y Lahrmann, K. H. Pseudohernia ventralis in pig. *XIV Congress of the International Pig Veterinary Society*, 07-07-1996, Bolonia (Italia).

## 35

### INTUSUSCEPCIÓN PRENATAL EN TERNERO

Fariñas, F.<sup>2</sup>, González, J. V.<sup>1,2</sup>, Zorrilla, I.<sup>3</sup>, Astíz, S.<sup>2</sup>, Revilla E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Alfonso Monge y Asociados Veterinarios [amavet@terra.es](mailto:amavet@terra.es)

<sup>2</sup> Clínica Ambulante de Bóvidos. Fac. de Veterinaria de Madrid

<sup>3</sup> Instituto Andaluz de Patología y Microbiología (IAMA) [iamalab@hotmail.com](mailto:iamalab@hotmail.com)

Ternero macho proveniente de cruce de madre Holsterin y padre Limusín, nacido de parto natural con muerte natal tardía. Presenta una serie de alteraciones anatómicas evidentes al nacimiento como son la existencia de artrogriposis por posible oligoamnios, distensión abdominal y escrotal severa, con fallo del cierre umbilical y salida al exterior de un líquido ambarino abundante, así como masas de hasta 3cm de diámetro de un material sólido amarillo-verdoso.

El examen macroscópico interno mostró un tejido subcutáneo abdominal y del tercio posterior con gran edema de color amarillo. A nivel más interno, la apertura de la cavidad abdominal demostró la existencia de peritonitis parietal y visceral con presencia de masas nodulosas amarillo verdosas encima y debajo de rumen, siendo el hallazgo más destacado la presencia de una intususcepción comprendiendo el tramo final del intestino delgado y la parte proximal del colon ascendente. El estudio histológico de este tramo mostró las lesiones típicas con presencia de infarto venoso extenso y necrosis isquémica secundaria. Igualmente a nivel del peritoneo parietal y visceral de la cavidad abdominal se apreció la existencia de peritonitis granulomatosa con reacción a cuerpo extraño, asociándose éste a la presencia de meconio en dichas láminas peritoneales.

Una ingestión de líquido amniótico provocaría la intususcepción que, por la necrosis isquémica secundaria, terminaría perforando el intestino y saliendo por ahí el sucesivo líquido amniótico ingerido, con meconio, bilis, etc, pero estéril a la cavidad abdominal. Esto provocaría distensión abdominal y oligoamnios con retraso del crecimiento y leve artrogriposis.

## 36

### “LECHE DE BRUJA” EN TERNERO RECIÉN NACIDO

González, J.V.<sup>1,2</sup>, Fariñas F.<sup>3</sup>, Criado F.<sup>1</sup>, Astíz S.<sup>2</sup>, Partida, L.E.<sup>2</sup>, Zorrilla I.<sup>3</sup>, Monge A<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Alfonso Monge y Asociados Veterinarios [amavet@terra.es](mailto:amavet@terra.es)

<sup>2</sup> Clínica Ambulante de Bóvidos. Fac. de Veterinaria de Madrid

<sup>3</sup> Instituto Andaluz de Patología y Microbiología (IAMA) [iamalab@hotmail.com](mailto:iamalab@hotmail.com)

La “leche de bruja” es un fenómeno de frecuente aparición en la especie humana que también se conoce como “hinchazón de la mama en el recién nacido” o “pseudomenstruación”. Estos términos hacen referencia a algunas condiciones temporales que aparecen en el recién nacido, como consecuencia de la influencia ejercida por las hormonas maternas durante la gestación (sobre todo estrógenos que atraviesan la placenta). Sin embargo no es un problema de hipertrogenismo materno o fetal.

Puesto que no existen datos bibliográficos de este fenómeno en ganado bovino, los datos reportados en esta comunicación constituyen la primera referencia de este fenómeno.

Este caso ocurrió en una novilla de primer parto de raza holstein x holstein que pesó 35kg al nacer. El parto fue distócico presentándose el ternero con posición dorso-sacra con una mano vuelta hacia atrás. El edema en cabeza y lengua y tinción por meconio del tercio posterior fueron indicativos de muerte natal tardía con sufrimiento fetal. El tejido mamario apareció muy desarrollado saliendo leche al ordeñar los pezones y al corte de la ubre. En cuanto a los órganos reproductores se observaron útero y vagina edematizados y con moco de celo. El clítoris se mostró más desarrollado de lo normal. Por último destacar que el hipotálamo, hipófisis, glándulas adrenales y ovarios se observaron normales. Los hallazgos histológicos más sobresalientes consistieron en la presencia de un tejido mamario maduro con presencia de abundante secreción láctea, y la existencia hiperplasia glandular endometrial.

En función de los caracteres morfológicos observados, se cuantificaron los niveles de estrógenos maternos. Estos alcanzaron un valor de 182 pg/ml, valores normales para una hembra recién parida.

### 37

#### **DESCRIPCIÓN CLÍNICO-LESIONAL DE UN CASO DE RIÑÓN LACADO ASOCIADO A BABESIOSIS EN MUFLON (*Ovis orientalis musimon*).**

José Hervás Rodríguez(1), Fernando Chacón-M. de Lara G.-Ripoll (1),  
Pedro J. Sánchez Cordón (2), Concha Azorit Casas (3)

1: HISTOLAB VETERINARIA. Avda. Matías Sáenz de Tejada,1. 29640. Fuengirola. Málaga.  
e-mail: [histolab@histolabveterinaria.com](mailto:histolab@histolabveterinaria.com)

2: Dpto. Anatomía Patológica. Edif. Sanidad Animal. Campus Universitario de Rabanales. Universidad de Córdoba.

3: Dpto. Biología Animal, Vegetal y Ecología. Facultad de Ciencias Experimentales. Universidad de Jaén.

En este estudio se describe el hallazgo de un caso de riñón lacado asociado a infección por *B. ovis* en un muflón (*O. musimon*), encontrado muerto, perteneciente a una población silvestre de Sierra Morena Oriental (Andalucía, España).

Las lesiones macroscópicas más relevantes fueron la existencia de un marcado tinte ictérico en la conjuntiva ocular y oral del animal junto a la observación de una coloración marrón oscura y metálica de la superficie externa de los riñones.

Al corte, se apreció un intenso color oscuro alternando con bandas grisáceas de especial intensidad a nivel de la corteza renal. Se tomaron muestras de sangre para estudios hematológicos/parasitológicos así como de diferentes vísceras para estudio histopatológico. Se comprobó mediante la técnica de Protein Chain Reaction (PCR) una infección por *Babesia ovis*.

El estudio histopatológico reveló una severa tubulonefrosis asociada a un marcado engrosamiento de las membranas basales del sistema contorneado de los túbulos renales (tanto proximales como distales) que se tiñeron intensamente de color marrónáceo.

Estas lesiones definen la patología descrita a nivel renal como de riñón "cloisonné" o riñón lacado. El riñón lacado, se corresponde con una condición pigmentaria del sistema tubular renal de presentación poco frecuente y que está asociada al depósito de ferritina y hemosiderina en estas estructuras debido a un proceso continuado de hemólisis intravascular (hemoparásitos, tóxicos, etc).

En este caso los fenómenos de hemólisis estarían asociados a una infección por *B. ovis*. La infección por este hemoparásito en muflón en otras regiones de España (Cataluña) se acerca al 15% de la población silvestre, por lo que resulta una patología relativamente frecuente.

38

**GESTACIONES EXTRAUTERINAS EN UNA EXPLOTACIÓN CUNÍCOLA INTENSIVA**

<sup>1</sup>Segura, P.; <sup>1</sup>Peris, B.; <sup>2</sup>Penadés, J.R.; <sup>1</sup>Martínez, J.; <sup>1</sup>Ortega, J.; <sup>1</sup>Corpa, J.M.

<sup>1</sup>Dpto. Atención Sanitaria, Salud Pública y Sanidad Animal (Histología y Anatomía Patológica). <sup>2</sup>Dpto. Química, Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud. Universidad Cardenal Herrera C.E.U. Edificio Seminario, s/n. 46113 Moncada. Valencia.

La gestación extrauterina se caracteriza por la presencia de fetos (uno o dos y, ocasionalmente, hasta 10 ó 12) en distintas fases de desarrollo y momificación, que se localizan en el abdomen, fuera del útero. La bibliografía refleja entre las posibles causas, los traumatismos y soluciones de continuidad en la pared uterina, que permiten la salida de fetos a la cavidad abdominal y, con menor frecuencia, la implantación y desarrollo atópicos de embriones en el peritoneo.

Se ha indicado que es un proceso de baja incidencia clínica, aunque en realidad no es posible conocerla con precisión ya que constituye un hallazgo de necropsia, siendo muy complicado el diagnóstico *in vivo*. Se suele observar en conejas eliminadas por esterilidad o también por sospecha de momificación o presencia de abscesos intra abdominales.

En este estudio se llevó a cabo un seguimiento de una explotación cunícola durante un año, realizándose la necropsia de 308 conejas eliminadas por el ganadero por cualquier causa. Veinticuatro (7,79%) de estos animales mostraban gestaciones extrauterinas, observándose múltiples fetos, con diferente grado de desarrollo y localizados en la cavidad abdominal.

Diez conejas presentaban rotura de alguno de los cuernos uterinos y en las catorce restantes, no se observó alteración macroscópica evidente del aparato reproductor. En ambas grupos se presentaron casos con y sin reacción inflamatoria del peritoneo.

39

**CETÁCEOS VARADOS EN LAS ISLAS CANARIAS 1999-2002. INTERACCIÓN CON ACTIVIDADES PESQUERAS.**

M. Arbelo, E. Degollada, E. Sierra, R. Jaber, P. Herráez, F. Rodríguez, A. Espinosa, A. Fernández.

Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Instituto de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de G. C..

E-mail: marbelo@becarios.ulpgc.es

El trabajo de la red de varamientos en Canarias y del grupo de patología de cetáceos de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC, ha permitido obtener valiosos datos sobre las causas de la muerte de los animales varados en los últimos 4 años.

En el periodo comprendido entre Febrero de 1999 y Octubre de 2002, vararon en las Islas Canarias un total 138 cetáceos según nuestros datos. De éstos, se realizaron necropsias regladas, según las condiciones de tiempo e instalaciones, a 104 animales.

De todos los animales varados, en 86 casos se pudo establecer al menos un posible diagnóstico, y de estos, 16 fueron establecidos como posibles, probables o evidentes casos de interacción con pesca, afectando a 8 especies distintas (4 *Delphinus delphis*, 4 *Tursiops truncatus*, 3 *Stenella frontalis*, 1 *Balaenoptera edeni*, 1 *Balaenoptera physalus*, 1 *Kogia breviceps*, 1 *Kogia simus* y 1 *Steno bredanensis*), y repartidos los varamientos en 4 islas (9 en Tenerife, 4 en Gran Canaria, 2 en Fuerteventura y 1 en La Gomera).

Estos datos vienen a representar en porcentajes un 11.6% de casos diagnosticados como interacción con pesca sobre el total de varamientos, y un 18.6% sobre el total de animales con una posible causa de la muerte determinada.

El porcentaje total de animales afectados y el número de animales afectados por especie comparándolos con los datos de otras regiones de España y Europa, indica que los datos de cetáceos muertos por interacción con pesca en las Islas Canarias son similares o ligeramente superiores a datos publicados de algunas regiones del norte de Europa (costas de Gales e Inglaterra), y claramente inferiores a datos conocidos de las costas gallegas; por otro lado, los datos de interacción con pesca a partir de animales varados tienden a subestimar la realidad, con lo que se hace necesaria la realización de otros estudios (observadores en las embarcaciones pesqueras) para estimar la situación real de la interacción entre las artes de pesca y los cetáceos en las aguas del Archipiélago Canario.

40

### **BRUCELOSIS HEPÁTICA EN RATONES Balb-c INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE CON LA CEPA H38 DE *Brucella melitensis***

E. Ruiz-Villamor, B. Gómez, M. Durán-Ferrer, A. Perales, J.C. Gómez-Villamandos<sup>1</sup>, F. Abellán

Laboratorio Central de Veterinaria de Santa Fe. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Santa Fe, Granada. <sup>1</sup>Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Córdoba-Centro Experimental Andaluz de Sanidad Animal

La brucelosis es una antropozoonosis causada por cocobacilos Gram negativos, aerobios e intracelulares, pertenecientes al género *Brucella*. De entre ellas destaca *B. melitensis*, cuyos hospedadores naturales son los pequeños rumiantes, porque debido a su amplio espectro supone aproximadamente el 80-90% de los casos de brucelosis humana, con una elevada virulencia constatada por la presentación de granulomas hepáticos en el 50% de los casos. La hepatitis granulomatosa brucelar es un importante indicador para evaluar la regresión espontánea de la enfermedad y/o la viabilidad de los tratamientos. Con tal fin, en el presente estudio se ha reproducido experimentalmente un cuadro de brucelosis hepática en ratones, que se utilizará en futuros estudios para la valoración de las pruebas de potencia realizadas a vacunas.

Para ello, se han inoculado 8 ratones hembra balb-c por vía intraperitoneal, con una dosis de  $4 \times 10^5$  UFC de la cepa H38 de *B. melitensis* (cepa salvaje biotipo I). Los ratones inoculados fueron sacrificados en lotes de dos, a las 1, 2, 3 y 4 semanas post-inoculación (spi) utilizándose otros dos animales como control. Las muestras de hígado fueron fijadas en formol y se tiñeron con las técnicas de hematoxilina-eosina para el estudio histopatológico, y Stamp para la detección de brucellas.

Desde el comienzo de la experiencia, los animales mostraron macroscópicamente una hepato-esplenomegalia con respecto a los animales control. Así, desde la primera semana post-inoculación se observaron gran cantidad de células mononucleares en circulación en los sinusoides hepáticos, junto con la aparición de infiltrados perivasculares con escasos neutrófilos. En estas fechas ya aparecen los primeros acúmulos de células mononucleares (monocito-macrófago, linfocitos) dispersos por el parénquima hepático, así como fenómenos de congestión vascular. A partir de las 2 spi, los infiltrados celulares presentes en el parénquima hepático empiezan a adoptar la forma típica de granuloma, con macrófagos de gran tamaño (células epitelioides) en su interior, pudiendo estos presentar signos de degeneración celular. Además, se empieza a observar la reacción del tejido conectivo con la aparición de una capa de fibroblastos delimitando externamente el granuloma, acentuándose estos cambios en fechas posteriores. Desde las primeras semanas, con la tinción de Stamp, fue posible demostrar la presencia de brucellas en el interior de algunos macrófagos infiltrados en el parénquima hepático. Sin embargo, no fue posible localizarlas en las células que constituían los granulomas. En este sentido, el aislamiento microbiológico reveló que la

mayor concentración de brucellas/gr de tejido se alcanzaba a las 3 spi a partir de las muestras de bazo.

## POSTERS DE TUMORES

41

### A CASE OF FELINE MAMMARY CARCINOSARCOMA

P. Dias Pereira, A.L. Luís and F. Gärtner<sup>1</sup>

ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, University of Porto, Portugal. <sup>1</sup>Institute of Pathology and Molecular Immunology of the University of Porto (IPATIMUP), Porto, Portugal. E-mail: fgartner@ipatimup.pt

Feline mammary tumours have many histological features in common with the human disease. The majority of these neoplasms are of epithelial origin, while complex and mesenchymal tumours are rare. Biphasic (or mixed) neoplasms constitute another important group of mammary tumours. Benign biphasic tumours are common, but malignant ones are extremely rare, both in cat and woman.

A mammary tumour measuring 10,0x4,0x4,0 cm, composed of firm whitish tissues, was surgically resected from an 11-year-old female domestic cat, submitted to long-term progestagen treatment. The material was processed routinely and stained with haematoxylin and eosin. An immunohistochemical study was also performed employing the following monoclonal antisera: pan-cytokeratin (AE1/AE3), cytokeratin 14 (LL002), vimentin (V9) and muscle specific actin (HHF35).

Histological examination revealed a mammary tumour consisting of a mixture of two different types of cells, arranged in a tubulopapillary pattern; and mesenchymal cells, organised in irregular bands, exhibiting moderate nuclear pleomorphism. Mitotic activity was present in both epithelial and mesenchymal populations.

The coexistence of both epithelial and mesenchymal cellular neoplastic components in equal amounts and arranged in an organized pattern, strongly suggested a malignant mammary biphasic tumour (carcinosarcoma), which was supported by the results of immunohistochemical techniques. Epithelial tumoral cells displayed strong uniform immunoreactivity with antibodies to cytokeratins. The mesenchymal component revealed diffuse positivity for vimentin and was uniformly negative for muscle specific actin.

A review of the literature concerning feline mammary neoplasms revealed that malignant biphasic tumours are very rare, with only a few cases described (Weijer et al, 1972, Hayes et al, 1981) but not confirmed immunohistochemically.

42

### EXPRESIÓN DE HER-2 / NEU EN CARCINOMAS DE MAMA CANINOS Y FELINOS MEDIANTE TÉCNICAS INMUNOHISTOQUÍMICAS Y DE HIBRIDACIÓN IN SITU.

Javier Ordás, Yolanda Millán, Carlos Reymundo\*, Juana Martín de las Mulas.

Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

\*Departamento de Especialidades Médico-Quirúrgicas. Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba

OBJETIVOS: 1º Analizar la expresión de la proteína HER-2/neu en carcinomas de mama caninos y felinos. 2º Analizar la correlación entre la expresión anómala de la proteína y el estado del oncogén HER-2/neu.

MATERIALES Y MÉTODOS: La serie objeto de estudio incluía 42 carcinomas de mama (17 caninos y 25 felinos) cuyas muestras de tejido habían sido fijadas en formol e incluidas en parafina. La expresión de la proteína HER-2/neu fue analizada utilizando la técnica inmunohistoquímica del LSAB+ y un anticuerpo policlonal desarrollado frente a la proteína HER/neu humana (Dakocytomation). La estandarización de la técnica se llevó a cabo en

muestras de carcinoma de mama humano que habían mostrado expresión anómala ("sobreexpresión") de la proteína HER-2 neu con el HERCEP TEST (Dakocytomation). Los controles negativos de referencia fueron muestras de tejido glandular mamario canino y felino no alterado. La reacción inmunohistoquímica fue evaluada del siguiente modo: 0 = sin tinción; 1+ = patrón de membrana de intensidad débil e incompleto; 2+ = patrón de membrana de intensidad media y completo; 3+ = patrón de membrana de intensidad alta y completo. El estado del oncogén HER-2/neu fue analizado mediante hibridación in situ cromogénica (CISH) utilizando una sonda de ADN comercial y un kit comercial de detección (Zymed). La detección del gen se consideró positiva cuando más del 80% de los núcleos contenían 4 o más puntos.

**RESULTADOS:** El anticuerpo policlonal anti - proteína HER-2 humana reaccionó de forma cruzada con los tejidos caninos y felinos y se observó sobreexpresión de dicha proteína (2+ y 3+) en 3 de los 17 carcinomas caninos (17'6%) y en 7 de los 25 carcinomas felinos (28%). La sonda de HER-2 hibridó con el ADN canino pero no se observaron diferencias en el número de copias del gen entre los casos con y sin sobreexpresión de la proteína.

**CONCLUSION:** La expresión aumentada de la proteína HER-2 es más frecuente en el carcinoma de mama felino que en el carcinoma de mama canino y, en ambos casos, similar a la descrita en distintas series de carcinoma de mama humano, en el que se asocia a características de mayor agresividad biológica. En el perro, sin embargo, dicha expresión no se asocia a amplificación del gen HER-2/neu.

#### 43

#### **PREVALENCIA DE TUMORES MAMARIOS DE PERRA EXAMINADOS EN CLUJ-NAPOCA.**

A.I. Baba, C. Catoi, A. Gal, Sorina Iacob, Florina Bolos, Dombay E.  
Facultad de Medicina Veterinaria Cluj-Napoca, Rumania

En este estudio se presentan los resultados de las formaciones neoplásicas procedentes del tejido mamario de las perras analizadas en el periodo comprendido entre Enero de 1998 a Diciembre de 2002. Las raza de las perras incluían Pastor alemán, Cocker spaniel, Boxer, Caniche, Dálmata, Pequines y cruzados.

Las muestras de tejido fueron fijadas en solución de formol 10% y procesadas con la técnica clásica de inclusión en parafina. Los técnicas de coloración fueron las usuales: hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson.

La incidencia de los tumores según la edad fue la siguiente: 2-6 años 12%, 6-9 años 32%, más de 9 años 56%. El diagnostico de los mismos incluía: carcinomas en el 82,4% (carcinoma sólido 39,2%, carcinoma papilar 17,4%, carcinoma escirro 13%, carcinoma túbulo-papilar quístico 8,7%, carcinoma de tipo complejo 2,77%).

Los carcinosarcomas fueron diagnosticada en el 10,6% de los casos. También fueron diagnosticadas: sarcomas en el 3,5% de los animales y hemangiosarcomas en el 3,5%.

En los casos de carcinomas mamarios se presentaron metaplasias de tipo mucoidal, cartilaginosa y/o ósea.

#### 44

### **DISTRIBUCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE CÉLULAS DE RESPUESTA INMUNE EN TUMORES MAMARIOS CANINOS**

N. Del Castillo, A. Nieto, M.D. Pérez-Alenza, A.R. Sánchez-Archidona, L. Peña.  
Dpto. de Patología Animal II, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.  
E-mail: laurape@vet.ucm.es.

El papel de la respuesta inmune en diversos tipos tumorales está siendo estudiada en profundidad en los últimos años ya que podría asociarse al pronóstico y originar nuevas formas de tratamiento antitumoral. No existe información sobre el tipo de respuesta inmune en los tumores mamarios caninos (TMC).

En este estudio se han incluido 3 muestras de glándula mamaria normal canina y 79 TMC de perras que llegaron al Hospital Clínico Veterinario con patología tumoral mamaria (10 displasias, 26 tumores benignos y 43 malignos). En cada caso se tomaron dos muestras adyacentes: un fragmento se congeló en nitrógeno líquido y el otro se fijó en formol tamponado para su inclusión en parafina y posterior diagnóstico.

La detección inmunohistoquímica de poblaciones celulares se realizó en cortes de criostato mediante los siguientes anticuerpos primarios anti-CDs caninos cedidos por el Prof. Peter Moore (UCDavis, California): CD45, CD45RA, CD49, CD18, CD11a, CD11b, CD11c, alfaD, CMH tipo II, CD1a, CD1c, CD3, CD4, CD8alfa, CD8beta, TCRalfa-beta, TCRgamma delta, Thy-1 y CD21). Los anticuerpos usados se redujeron a 9 (CD45, CD45RA, CD11b, alfaD, CMH tipo II, CD3, CD4, CD8 y CD21) en función de los resultados iniciales obtenidos en una selección de 20 TMC. Se asignó un grado histológico de malignidad (GHM) de I a III a todas la neoplasias malignas.

La valoración de la inmunotinción obtenida se realizó midiendo con un analizador de imágenes el porcentaje de área teñida con cada anticuerpo. El análisis estadístico de los datos se ha realizado en el Centro de Proceso de Datos de la UCM, estableciéndose la significación estadística en  $p < 0.05$ . La distribución del infiltrado leucocitario tumoral (ILT) fue preferentemente difusa en lesiones benignas y focal en las malignas, llegando a formarse pseudofolículos linfoides. Sin embargo, las neoplasias de elevada malignidad presentaron un patrón difuso y los tumores mixtos benignos mostraron, generalmente, una distribución focal del ILT.

Las poblaciones celulares más frecuentes fueron linfocitos T (vírgenes CD45RA+ y maduros CD3+, con predominio de la subpoblación CD4+) y macrófagos CD11b+. Las células epiteliales y mioepiteliales expresaron en ocasiones el CMH II. Se detectaron células B (CD21+) en el 35.4% de los TMC en general y en el 65.1% de los TMC malignos, siempre con distribución focal o pseudofolicular. La infiltración linfocitaria se incrementó significativamente en los TMC malignos, aunque se redujo de forma drástica en los tumores de elevada malignidad histológica (GHM III), donde se apreció una mayor cantidad de macrófagos (CD11b+ y alfaD+).

*Trabajo financiado parcialmente por el Proyecto UCM PR 269/98-8178/98*

#### 45

### **LA MASPINA ES UN MARCADOR DE DIFERENCIACIÓN MIOEPITELIAL EN LOS TUMORES DE MAMA CANINOS.**

A. Espinosa de los Monteros, J. Ordás<sup>1</sup>, G.A. Ramírez, Y. Millán<sup>1</sup>, A. Sosa, C. Reymundo<sup>2</sup> y J. Martín de las Mulas<sup>1</sup>

Departamento de Morfología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

<sup>1</sup> Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria y <sup>2</sup> Departamento de Especialidades Médico-Quirúrgicas. Facultad de Medicina. Universidad de Córdoba.

e-mail: [aespinosa@dmor.ulpgc.es](mailto:aespinosa@dmor.ulpgc.es)

La maspina es una proteína de 42 kDa con actividad inhibitoria de las proteasas séricas y que ha demostrado tener actividad de gen supresor en el carcinoma de mama. Su expresión por parte de las células mioepiteliales de la glándula mamaria normal, de lesiones proliferativas benignas y de carcinomas in situ ha sido ampliamente descrita en la especie humana. El propósito de este trabajo fue estudiar la expresión de maspina en tumores de la glándula mamaria en la especie canina.

Sobre muestras fijadas en formol tamponado al 10% e incluidas en parafina de 45 tumores (tanto benignos como malignos y en los que se incluían tumores simples, complejos y mixtos) se realizó la inmunolocalización de la maspina mediante el método inmunohistoquímico del ABC utilizando un anticuerpo monoclonal comercial. En la periferia de la mayoría de estos tumores se halló tejido mamario normal que fue utilizado como control interno.

La inmunorreacción se observó en cinco tipos diferentes de células mioepiteliales, que fueron identificados como células mioepiteliales hipertróficas, células mioepiteliales estrelladas, células fusiformes, células (mioepiteliales) redondeadas y condroblastos. La intensidad de reacción fue distinta entre estos cinco tipos celulares. Adicionalmente se observó inmunorreacción en células epiteliales glandulares presentes tanto libres como en crecimientos papilares en las luces de acinos neoformados. Estas células tenían un citoplasma amplio indicativo de una posible diferenciación escamosa. Los miofibroblastos del estroma de las neoplasias no mostraron positividad con el anticuerpo anti-maspina.

Los resultados obtenidos muestran que la maspina es un marcador de células mioepiteliales normales y neoplásicas de la glándula mamaria del perro muy sensible y muy específico, ya que no reacciona con los miofibroblastos del estroma tumoral, al contrario que los marcadores mioepiteliales de músculo liso. Además, estos resultados confirman el papel primordial que juegan estas células en el desarrollo de los tumores complejos y mixtos.

*Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CVI-287, Consejería de Educación y Ciencia, Junta de Andalucía.*

46

## **ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO DE LINFOSARCOMAS EN TRES OVEJAS.**

**B. Moreno, J. Barandika, N. Gómez, A.L. García-Pérez**

Neiker (Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario). Berreaga 1, 48160-Derio. Bizkaia. [Bmoreno@neiker.net](mailto:Bmoreno@neiker.net)

Los linfomas son uno de los principales tipos tumorales descritos en el ganado ovino. Aún así, las referencias bibliográficas sobre los mismos resultan escasas y, especialmente, los estudios inmunológicos que se realizan para determinar su origen celular. En este trabajo describimos las características anatomopatológicas e inmunohistoquímicas de tres casos de linfoma en ovejas de raza Latxa procedentes de tres rebaños diferentes de la CAPV.

Las ovejas, dos de 7 años y una de 10 años, fueron eliminadas por sintomatología respiratoria, infertilidad y debilidad respectivamente. Tras la necropsia se recogieron muestras para estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos, utilizándose los siguientes anticuerpos (cedidos por la Unidad de Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de León) en muestras incluidas en parafina: CD3 (1/1500), CD45R (1/100) y anti IgG (1/500).

Macroscópicamente, se observó en dos de las ovejas (una de 10 y otra de 7 años) un linfoma multicéntrico y uno de tipo digestivo en la tercera. Las formas multicéntricas se caracterizaron ambas por hipertrofia ganglionar generalizada, con marcada esplenomegalia

en una de las ovejas y nodulaciones tumorales multifocales en la otra. El caso digestivo presentaba un gran nódulo en el mesenterio que afectaba a la pared intestinal y provocaba la unión del estómago con el intestino, y otro en la zona caudal del riñón, a nivel capsular. Microscópicamente, en uno de los linfosarcomas multicéntricos se observó un infiltrado multifocal de células de mediano tamaño, con escaso citoplasma y núcleo generalmente redondeado, con cromatina laxa y escasas mitosis. En el otro caso, el infiltrado se correspondía con células grandes, con moderado citoplasma, núcleo redondeado y numerosas mitosis. El linfosarcoma digestivo presentaba un infiltrado focal, localizado en toda la pared intestinal y en la superficie renal, formado por células grandes, con moderado citoplasma y núcleo generalmente redondeado, con cromatina laxa, nucleolos evidentes, y bastantes mitosis. Entre el infiltrado se observaron zonas de necrosis.

El estudio inmunohistoquímico demostró que la mayoría de las células de los dos linfosarcomas multicéntricos eran positivas con el anticuerpo CD45R mientras que tan sólo un pequeño porcentaje lo fueron con el anticuerpo CD3, resultando negativas con el anticuerpo anti IgG. El linfosarcoma digestivo mostró positividad esporádica al CD45R y nula a los otros dos anticuerpos.

Teniendo en cuenta estos resultados los dos linfosarcomas multicéntricos podrían considerarse como tumores derivados de células B, mientras que el digestivo no pudo ser clasificado con ninguno de los anticuerpos empleados.

## 47

### LINFOMA EN UNA GARDUÑA

X. Gerrikagoitia, M. Barral, B. Moreno

Neiker (Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario). Berreaga 1, 48160-Derio. Bizkaia. Xgerrikagoitia@neiker.net

La garduña (*Martes foina*) es un mustélido que se encuentra en todo el territorio peninsular, donde está desigualmente repartida. Suele frecuentar hábitats como bosques, zonas rocosas y manchas de matorral aunque también puede aparecer en zonas habitadas por el hombre. Existen pocos datos sobre su patología y menos aún sobre la incidencia de tumores. Los linfomas se han descrito con relativa frecuencia en otros mustélidos como los hurones, debido, sobre todo, a su creciente inclusión como animales de laboratorio o de compañía. Este trabajo describe las características anatomopatológicas de un linfoma en una garduña.

La garduña fue encontrada viva en los alrededores de Amurrio (Álava) y fue remitida al Centro de Recuperación de dicha provincia, donde murió a las pocas horas. Se trataba de un ejemplar hembra y joven que mostraba un estado de caquexia avanzada y de debilidad generalizada. Tras la necropsia, se recogieron muestras para estudios histopatológicos, microbiológicos y parasitológicos.

En la necropsia se observó una marcada hipertrofia tímica y ganglionar generalizada y una intensa esplenomegalia. Otros hallazgos fueron la presencia de un moteado blanquecino en riñón, pequeñas lesiones neumónicas así como la presencia de tenias en el intestino y abundantes garrapatas en la piel. Microscópicamente, se observó un infiltrado de células de tipo linfoide con variable intensidad, en todos los órganos, siendo especialmente manifiesto en ganglios, timo y bazo. Las células tumorales aparecían densamente agrupadas, separadas por escaso estroma conjuntivo y se caracterizaban, en su mayoría, por tener un núcleo redondeado, con cromatina intensamente teñida, escaso citoplasma eosinófilo y escasas mitosis. Entre ellas, se encontraban algunas células de tamaño más grande, de aspecto linfoblástico, con cromatina laxa y mayor cantidad de citoplasma eosinófilo. En algunas zonas, se observaba necrosis de las células tumorales. Otros

resultados incluyeron la identificación de las garrapatas como *Ixodes hexagonus* y el resultado negativo del análisis coprológico.

Esta es la primera descripción de un linfoma en una garduña. Las características histológicas son semejantes al tipo linfocítico, difuso y de bajo grado, descrito en hurones jóvenes. Aunque no se pudo realizar un análisis hematológico, el infiltrado tumoral de la médula ósea indica que existe un proceso leucémico.

*Proyecto financiado por el Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco*

## 48

### **DESCRIPCIÓN DE UN LINFOMA INMUNOBLÁSTICO EN UN DELFÍN MULAR (*TURSIOPS TRUNCATUS*).**

J. R. Jaber, J. Pérez\*, A. Espinosa de los Monteros, M. Arbelo, P. Herráez, T. Fernández, F. Rodríguez, A. Fernández.

**Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria de Las Palmas de Gran Canaria. \*Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria de Córdoba.**

Este caso describe los hallazgos histopatológicos, inmunohistoquímicos y ultraestructurales de un linfoma inmunoblástico en un delfín mular varado vivo en las costas de la isla de Gran Canaria. El delfín mostraba emaciación severa y murió a las pocas horas de ser encontrado.

El examen macroscópico mostró una hepato y esplenomegalia difusa moderada. Los ganglios linfáticos no presentaron aumento de tamaño. Microscópicamente, se observó proliferación de células linfoides inmaduras en cordones y senos esplénicos y en sinusoides hepáticos, pero no fueron detectadas en otros órganos linfoides y no linfoides. Estas células eran grandes, de núcleo redondeado u ovalado e hiper cromático, con uno o varios nucleolos evidentes.

En ocasiones existían células con dos o tres núcleos. El citoplasma era escaso y anfófilo. Las figuras de mitosis eran frecuentes entre estas células, así como la presencia de restos nucleares. El inmunofenotipo de las células tumorales fue IgG<sup>+</sup> y CD3<sup>-</sup>. El estudio ultraestructural reveló que dichas células contenían un núcleo hiper cromático y abundante retículo endoplásmico rugoso, con cisternas concéntricas, algunas de las cuales estaban dilatadas, conteniendo un material homogéneo moderadamente electrodenso.

De acuerdo con estos hallazgos, el tumor fue clasificado como un linfoma inmunoblástico.

Los linfomas hepatoesplénicos no son comunes en las especies domésticas, aunque están descritos en la especie humana, en la que son principalmente de tipo B. Sin embargo, en los 5 casos de linfomas inmunoblásticos descritos en delfines todos ellos afectaban al hígado y bazo (Bossart et al., 1997).

#### Referencia:

Bossart, et al. (1997). Immunoblastic malignant lymphoma in dolphins: Histologic, ultrastructural, and immunohistochemical features. *J Vet Diag Invest*, **9**, 454-458.

*Agradecimientos: trabajo financiado por la Comunidad Europea (DG XIV) y Junta de Andalucía (AGR 137).*

49

### **LEIOMIOMA INTESTINAL EN UN DELFÍN COMÚN (*Delphinus delphis*)**

Javier Ordás; Jesús De la Fuente\*; Alejandro Nuñez; Pedro Sánchez-Cordón; Yolanda Millán; Librado Carrasco; Juana Martín de las Mulas.

Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. \*Asociación Oceánides, Cádiz.

Los mamíferos marinos tienen, probablemente, el mismo amplio espectro de enfermedades que los mamíferos terrestres, como demuestran las descripciones que se iniciaron hace 40 años y que se han incrementado últimamente debido al interés de diversos colectivos e instituciones, como zoos marinos, militares y ecologistas, en las enfermedades de estos animales.

Aunque se han descrito varios tipos de neoplasias en distintas localizaciones, en el tracto gastrointestinal se limitan al adenocarcinoma (1 caso) y el leiomioma (5 casos). En esta comunicación se describen las características de un nuevo caso de leiomioma intestinal hallado incidentalmente en la necropsia de un delfín varado vivo en la playa de Valdeconejos (Cádiz).

La lesión estaba localizada en yeyuno, medía 1x0,5 cm y era intramural, de consistencia firme y superficie de corte blanquecina. Los ganglios linfáticos mesentéricos no estaban afectados. Microscópicamente, estaba constituida por células fusiformes, de citoplasma abundante y acidófilo, sin atipias ni mitosis, y agrupadas en fascículos con escasas fibras de colágeno en el estroma. Las células neoplásicas presentaron características de fibra muscular lisa tanto con técnicas histoquímicas (van Gieson y Tricrómico de Massons) como inmunohistoquímicas (vimentina-, desmina-, actina muscular- y calponina- positivas).

50

### **CARCINOMA TIROIDEO EN UNA HEMBRA DE CABRA MONTESA (*Capra pyrenaica*)**

M.C. Arnal y D. Fernández de Luco

Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

c.e.: maricruz@unizar.es

Las neoplasias tiroideas se presentan con mayor frecuencia en perros y gatos, de forma más esporádica en équidos y con menor frecuencia en rumiantes y porcino. Los carcinomas son más frecuentes en perros y los adenomas en gatos.

En animales silvestres han sido descritas en zorro rojo (*Vulpes vulpes schrenckii*), lobo rojo (*Canis rufus*), hurón (*Mustela putorius*), lori perezoso (*Nycticebus coucang*), iguana común (*Iguana iguana*) y tortuga almizclera (*Sternotherus odoratus*).

Desde el año 2000 se viene realizando el seguimiento sanitario de la cabra montesa localizada en los Puertos de Tortosa y Beceite y en el Maestrazgo Turolense. Se ha realizado la necropsia de 64 animales cazados y de 35 enfermos o muertos.

Uno de los animales, una hembra de siete años abatida en caza y necropsiada en campo presentaba la glándula tiroidea del lado izquierdo muy aumentada de tamaño (7,5 x 5,1cm y 90,43 g). La superficie era blanquecina y de aspecto fibrosado. A la sección se observaron áreas de necrosis, hemorragias, focos blanquecinos y focos de aspecto gelatinoso. Otro hallazgo macroscópico fue piel engrosada, alopecica y de color oscuro en la región del carpo, metacarpo, tarso, metatarso y falanges.

Histopatológicamente, las lesiones observadas son compatibles con un carcinoma sólido diferenciado derivado de células foliculares con invasión en el tejido conjuntivo de la cápsula y tabiques. Presencia de infiltrado linfoplasmocitario, sangre en las luces

glandulares, calcificación de acinos, áreas de necrosis masiva, hemorragias y edema, trombosis y presencia de células neoplásicas en vasos linfáticos y venas de gran calibre.

Se inspeccionaron otros órganos tanto macro como microscópicamente no observándose metástasis en ninguno de ellos. La piel presentaba hiperqueratosis, escasa presencia de folículos pilosos, dermatitis perivascular linfoplasmocitaria, áreas de acantosis, zonas con leve hiperplasia de células sebáceas y ectasia de glándulas apocrinas. Las lesiones observadas en la piel se citan en casos de hipotiroidismo asociado a neoplasias de la glándula tiroides.

*\*Trabajo financiado por el Dpto. de Medio Ambiente (Sección de Caza y Pesca) del Gobierno de Aragón*

## 51

### **FEOCROMOCITOMA EN UNA HEMBRA DE SARRIO (*Rupicapra pyrenaica pyrenaica*)**

D. Fernández de Luco y M.C. Arnal

Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

c.e.: luco@unizar.es

La descripción de feocromocitomas en animales domésticos como en fauna silvestre es escasa, teniendo en cuenta que un número importante de casos corresponden a animales en cautividad y longevos.

Los casos descritos son hallazgos de necropsia ya que el cuadro clínico suele ser inaparente e inespecífico. Se han descrito feocromocitomas en zorro gris (*Urocyon cinereoargenteus*), lobo rojo (*Canis rufus*), hurón (*Mustela putorius*), nutria marina (*Enhydra lutris*), lémur de cola anillada (*Lemur catta*), delfín manchado (*Stenella frontalis*), beluga (*Delphinapterus leucas*), primates, ...

La patología del feocromocitoma está asociada principalmente al sistema cardiovascular por la liberación de catecolaminas (epinefrina, norepinefrina y dopamina), sustancias reguladoras del ritmo cardiaco y presión arterial.

Una hembra de sarrío fue encontrada muerta y sin cabeza en la orilla de la carretera del Pirineo Aragonés. El animal presentaba caquexia y politraumatismo. A la necropsia se observó el hígado con hiperemia pasiva crónica, la glándula adrenal izquierda estaba aumentada de tamaño (6,5 x 4,3 cm y 14,33 g) y se introducía cranealmente en la vena cava caudal con distensión de la misma y de la vena renal izquierda, observándose también dilataciones varicosas de las venas capsulares del riñón.

Histológicamente, la masa se correspondía con células neoplásicas de la medular adrenal. El tejido afectado presentaba amplias áreas de necrosis, trombosis y hemorragias. Las células neoplásicas adquieren forma fusiforme y poligonal, las mitosis son escasas, el citoplasma es granular y basófilo. Las células están agrupadas en hileras junto a tejido de sostén fibro-vascular. No se ha observado metástasis en el resto de órganos inspeccionados.

*\*Trabajo financiado por el Dpto. de Medio Ambiente (Sección de Caza y Pesca) del Gobierno de Aragón*

## 52

### **HISTIOCITOMA FIBROSO PRIMARIO PULMONAR EN GACELA DAMA**

Fariñas, F.<sup>2</sup>, Quevedo, M.A.<sup>1</sup>, Zorrilla, I.<sup>2</sup>, Aguilar, J.M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio Veterinario Zoo de Jerez

<sup>2</sup> Instituto Andaluz de Patología y Microbiología (IAMA) [iamalab@hotmail.com](mailto:iamalab@hotmail.com)

Los histiocitomas fibrosos son tumores descritos en multitud de especies animales cuya ubicación primaria se localiza principalmente en la dermis, y más raramente en músculo, huesos, globo ocular o vísceras. En este ocasión presentamos un caso de una hembra adulta de Gacela dama, nacida en Mayo de 1995 y muerta en 2002 con un cuadro clínico previo poco aparente de debilidad constitucional que empeora a lo largo del tiempo. A la necropsia el animal se encontraba caquéctico (29,5 Kg), careciendo de grasa subcutánea o cardíaca.

En la mucosa de los carrillos se encontró una lesión ulcerativa de unos 4 cm. También se observaron úlceras, entre 0,5-3 cm, en el rumen, con aspecto caseoso al corte, acompañadas de petequias. El hígado y el riñón aparecieron congestivos. El bazo mostró adherencias con el rumen, además de aspecto friable y fibrinoso. El peritoneo presentó a su vez numerosas adherencias. En el caso del pulmón se detectó una lesión de unos 3 cm en el lóbulo caudal izquierdo, de color rojo-negruzco y consistencia dura, que al corte rezumaba sangre.

En el estudio histopatológico se observó una masa tumoral en la muestra de pulmón remitida, que no aparece delimitada, infiltrando tejido sano. Las células neoplásicas, en su inmensa mayoría de estirpe fibroblástica y macrofágica con citoplasmas espumosos, muestran pleomorfismo, mitosis anormales y células multinucleadas, disponiéndose la mayoría en el llamado patrón estoriforme. Presenta también congestión marcada y hemorragias, además de infiltrados linfocitarios focales. La cápsula del bazo aparece muy engrosada, debido a infiltración del mismo tumor. En el rumen se observa una intensa ruminitis necrótica, apareciendo hifas asociadas a la reacción inflamatoria, probable consecuencia de la inmunodepresión acompañante al proceso primario.

## 53

### **CARCINOMA ESCAMOSO EN LA LENGUA DE UN CABALLO.**

Pizarro, M.; Rodríguez, J.<sup>1</sup>; Sanmartín, H.<sup>1</sup>; Rodríguez, A.; Tabanera, E.; Castaño, M.

Dpto. Patología Animal-II, Fac. Veterinaria, Univ. Complutense, 28040-Madrid

<sup>1</sup> Veterinarios especialistas en Clínica Equina, Madrid

Los carcinomas de lengua son muy raros en el caballo. En este trabajo se describe un caso diagnosticado en el HCV de la UCM.

El caballo estaba ubicado en una explotación que contaba con un efectivo de 60 animales, no teniendo ningún tipo de antecedente similar. Se trataba de un caballo entero de 17 años, PRE y capa castaña oscura; el cual era alimentado con pienso, avena y heno.

Clínicamente la primera manifestación fue que comenzó a dejarse parte de la ración diaria de alimento; a la semana siguiente ya presentaba dificultades de masticación y sialorrea, dejando de comer grano y admitiendo solo pasto; así mismo se comprobó que defecaba parte del pasto sin digerir. A la exploración se observó "como un corte transversal" o surco en la zona posterodorsal de la lengua; siendo tratado durante tres semanas con diversos antiinflamatorios. Tras este tiempo, y debido a que el estado del animal se deterioró notablemente se decidió la eutanasia y se remitió la cabeza para su estudio anatomopatológico.

El estudio macroscópico de la lengua mostró un engrosamiento marcado con una gran úlcera de unos 9 cm en la zona dorsoposterior, apareciendo los bordes elevados y aspecto granuloso en su interior.

Microscópicamente en todas las muestras se observó un crecimiento neoplásico del tejido epitelial que invadía el conjuntivo subyacente. En las zonas ulceradas se apreció una evidente inflamación con abundante tejido de granulación rico en células y vasos. La invasión epitelial del conjuntivo apareció estructurada en isletas de células bien delimitadas, las cuales se observaron muy activas con amplios núcleos eucromáticos y nucleolos hipertróficos en las áreas basales, apreciándose un índice mitótico moderado. Las células muestran una clara diferenciación epidermoide con formación de abundante queratina, que se estructura en perlas centrales. El diagnóstico fue el de un carcinoma epidermoide bien diferenciado.

La inmunorreacción detectada a Ki67 confirmó una gran actividad proliferativa en las zonas basales de los grupos epiteliales, siendo muy positivos la mayoría de los núcleos grandes y eucromáticos de esa zona; sin embargo, no se observó inmunorreacción en los núcleos más alejados de las membranas basales y en las células con queratina en maduración.

Tras este estudio, podemos concluir que el carcinoma escamoso es un proceso raro a tener en cuenta en la lengua de los caballos, y que aunque se trata un tumor bien diferenciado, presenta un índice de proliferación celular alto en las células basales.

## 54

### TERATOMA EN UN BUITRE LEONADO (*GYPVS FULVUS*)

U. Hoefle<sup>1</sup>, J.M. Blanco<sup>1</sup>, M. Pizarro, L. Peña, A. Rodríguez

Dpto. Patología Animal-II, Fac. Veterinaria, UCM. <sup>1</sup> CERI, Sevilleja de la Jara, Toledo.

Teratomas son tumores que contienen múltiples tipos celulares que proceden de diversas hojas embrionarias; los cuales han sido descritos en diferentes especies incluyendo aves. Se trata de tumores generalmente benignos, redondeados, blanco-amarillentos, que suelen presentar cavidades quísticas.

Los más frecuentes son los teratomas ováricos de las gallinas, aunque también se han descrito en riñón, glándula adrenal, médula espinal, cuerpo pineal y ojo. Histológicamente suelen contener hueso, cartílago, músculo liso, nervios, grasa y melanocitos.

Las formaciones quísticas suelen estar tapizadas por epitelio ciliado, no siendo infrecuente la aparición de epitelio queratinizado con formación de perlas de queratina, e incluso formando folículos de plumas.

En septiembre de 2002 un individuo joven de buitre leonado (*Gyps fulvus*) fue hallado muerto y remitido para su necropsia bajo la sospecha de tratarse de una intoxicación intencionada. El ave se encontraba en un muy buen estado de nutrición y no presentaba lesiones traumáticas apreciables.

Durante el examen interno se detectó un masa redondeada de superficie arrugada y de color crema con un diámetro de aproximadamente 15 cm adherida a la pared del proventrículo del ave. Al corte se observó la presencia de varias cavernas conteniendo coágulos así como estructuras más sólidas con apariencia de tejido fibroso y estriación de color oscuro.

Histológicamente la masa contenía estructuras vasculares, tejido conjuntivo fibroso y muscular, epitelio ciliado, cartílago y epitelio escamoso queratinizado. Lo cual se confirmó con técnicas inmunohistoquímicas. La presencia de estas estructuras diferenciadas permite el diagnóstico de un teratoma maduro. Sin embargo no pudo ser asociado a ninguna de las localizaciones típicas anteriormente citadas.

Estos tumores aparecen esporádicamente en casi todas las especies aviares, e incluso se reproducen experimentalmente en pollos o gallos jóvenes mediante inyección de iones metálicos en los testículos; por lo que deben ser tenidos en cuenta en el diagnóstico anatomopatológico aviar.

55

### **DECIDUOMA EM CADELA CONSECUTIVO A ADMINISTRAÇÃO DE UM ABORTIVO PRECOCE.**

Payan Carreira, R; Pires, M.A.

ICETA – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Apart.1013, 5001-911 Vila Real codex, Portugal (ritapay@utad.pt)

Deciduomas são proliferações não-neoplásicas que mimetizam os locais típicos de implantação em placentas decíduas ou parcialmente decíduas. Podem ser focais ou múltiplos, uni ou bilaterais. Esta reacção proliferativa tem um curso limitado, terminando com a degenerescência das células deciduais.

A formação de deciduomas está dependente da existência de um estímulo inespecífico durante a exposição uterina à progesterona. De entre os estímulos que, na cadela, se sabe induzirem reacções de tipo deciduoma inclui-se o trauma do endométrio (consecutivo a biópsias uterinas, a erosão endométrica ou a inserção de suturas com seda) lesões químicas do endométrio (por injeção intraluminal de óleos ou de sulfato de bário) ou a injeção intra-uterina de soluções de sais ou ar.

Na cadela, os deciduomas induzidos experimentalmente mostram uma marcada proliferação e dilatação das glândulas uterinas, que revelam padrões irregulares com arranjos reticulares ou quísticos. Estas glândulas uterinas proliferativas mostram elevada actividade secretora, podendo por vezes observar-se a formação de vesículas.

Os casos aqui apresentados reportam-se a cadela, com idades compreendidas entre os 2 e os 5 anos de idade, submetidas a um tratamento de interrupção precoce de gestação indesejável recorrendo ao Privaprol®. Por motivos diversos, a administração do produto foi efectuado muito no limiar das indicações do fármaco. Nestas situações já tinha havido registo de casos em que se observou um aumento das dimensões abdominais e uterinas, e com a eliminação de “secundinas” ou loquias no período equivalente ao parto. Por vezes, observou-se manifestações clínicas compatíveis com inflamação do trato genital, que foram corrigidas com tratamento médico. Estas fêmeas não mostram alteração da fertilidade em ciclos posteriores.

Em úteros obtidos através de ovariohisterectomias, observou-se que o útero apresenta uma conformação em rosário; no seu interior observam-se zonas de implantação nítidas, constituídas por um esboço de decídua à qual se encontravam aderentes estruturas compatíveis com membranas embrionárias; não se observaram sinais aparentes de inflamação.

Histologicamente, o endométrio apresenta uma hiperplasia exuberante das glândulas uterinas, no seio das quais se encontra grande quantidade de material PAS e Azul Alcian positivo. Observa-se ainda a existência de zonas de necose que poderão corresponder a material embrionário necrosado. O Privaprol® é uma substância indutora de aborto por necrose do embrião.

56

## EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA Y DETECCIÓN DE MUTACIONES DEL ONCOGEN *H-RAS* EN LESIONES VESICALES DE GANADO BOVINO EN EXPLOTACIÓN EXTENSIVA.

D. Sardón<sup>1</sup>, A. Rodríguez<sup>1</sup>, M.E. Miranda<sup>2</sup>, I. De la Fuente<sup>3</sup>, M. Castaño, S. Dunner<sup>2</sup>, L. Peña<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Patología Animal II, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.

<sup>2</sup>Laboratorio de Genética. Dpto. de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. <sup>3</sup>Matadero Municipal de Bilbao (Zorroza). E-mail: laurape@vet.ucm.es.

La Hematuria Enzoótica Bovina (HEB) es un síndrome ocasionado por la ingestión crónica de helechos en el que se desarrollan lesiones hemangiomatosas y tumores de la vejiga de la orina. El helechó contiene varias sustancias tóxicas y carcinógenos; de estos últimos, el más importante es el conocido como ptaquilósido (PT) cuyo efecto mutagénico se ha demostrado en el oncogen *h-ras* y que tiene como consecuencia la pérdida de la actividad GTPasa por parte de la proteína P21 reguladora del ciclo celular.

En estudios experimentales realizados mediante la administración de helechos a ganado vacuno y ratas, se han encontrado puentes ADN-PT y mutaciones en el gen *h-ras* en células epiteliales no vesicales (codones 12 y 61). Se desconoce la existencia de mutaciones en este gen y su expresión inmunohistoquímica (IHQ) en la vejiga de la orina de vacas sometidas al ptaquilósido de forma natural o artificial.

En este estudio se incluyen muestras de vejiga de la orina de vacas adultas en explotación extensiva (procedentes de zonas de posible ingesta de helechos) obtenidas en el matadero de Bilbao, donde se ha realizado la apertura sistemática de la misma, y que presentaban lesiones macroscópicas (cistitis o tumores). También se han incluido muestras de vejiga de la orina (cistitis o tumores) de una explotación con HEB. El análisis IHQ de la expresión de *H-ras* se ha llevado a cabo en muestras de 4 vejigas normales de bovino adulto, 30 cistitis crónicas y 8 tumores vesicales. Se ha valorado la expresión IHQ de *H-ras* con un analizador de imágenes, obteniéndose el porcentaje medio de núcleos teñidos en cada caso.

Para el estudio molecular, se ha secuenciado en 17 muestras (2 vejigas normales, 9 con cistitis crónica y 6 neoplasias vesicales), un fragmento del gen *h-ras* que incluye los codones 12 y 61.

Los resultados IHQ indican que la media del porcentaje de núcleos teñidos en los tumores (63.60%) es mayor que en las inflamaciones (53.23%), siendo en ambos casos mucho más elevada la expresión de *H-ras* que en la vejiga normal (4,32%) ( $p < 0.0001$ ). Estos resultados apoyan la teoría de que en estos animales las cistitis crónicas pueden considerarse estados iniciales precursores de la enfermedad tumoral. Sin embargo, la expresión inmunohistoquímica de *H-ras* no está ligada a la existencia de mutaciones en los codones señalados ya que no se han detectado mutaciones y sólo aparece un polimorfismo con cambio de sentido (K58M) en el codón 58 en un tumor vesical.

*Este trabajo ha sido financiado por el proyecto del MCYT nº AGL-2000-0709*

57

## HEMATURIA ENZOOTICA BOVINA: ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO Y ULTRAESTRUCTURAL.

A.I. Baba\* , J. L. Riond\*\* , M. Gaboreanu\* , C. Catoi\*

\* Facultad de Medicina Veterinaria Cluj-Napoca, Rumania

\*\*Instituto de Nutrición Animal, Zürich, Suiza

Muestras de la mucosa de la vejiga urinaria y de los riñones procedentes de 13 bóvidos que presentaban hematuria crónica, del norte de Rumania, y sacrificados por el mal estado corporal, fueron procesadas de forma rutinaria para microscopia óptica y electrónica.

La mayoría de las lesiones encontradas correspondían a hemorragias en la vejiga urinaria. Los orígenes de la hematuria fueron las petequias, equimosis o sufusiones en la mucosa de la vejiga, con o sin transformaciones neoplásicas, siendo más infrecuentes las hemorragias en los cálices renales. Las hemorragias estaban asociadas a alteraciones de la pared de los capilares subepiteliales o profundos, siendo infrecuentes las hemorragias localizados en los procesos neoplásicos. En las zonas de hemorragia existía un infiltrado celular (linfocitos, plasmocitos e histiocitos). Las lesiones más tempranas observadas en el epitelio vesical consistieron en degeneración vacuolar, apareciendo posteriormente modificaciones hiperplásicas y metaplásicas, las cuales se acompañaban de las alteraciones vasculares.

Estas lesiones epiteliales, consideradas como preneoplásicas, presentaron ultraestructuralmente modificaciones en la forma de las vesículas discoidales, dilatación de las regiones de conexión y la disminución del número de las conexiones, engrosamiento y/o fragmentación de la membrana basal.

El hemangioma cavernoso fue el único tipo de neoplasia mesenquimal bien desarrollado observado (2 animales), existiendo en un caso una transformación sarcomatosa de la pared vesical. Los tumores epiteliales fueron más frecuentes, bien en formas puras o en combinaciones: papilomas o fibropapilomas (6 casos), carcinomas pseudoacinosos (5 casos) o carcinoma escamoso (un caso).

La papilomatosis mamaria estuvo presente en un caso que al mismo tiempo presentaba un carcinoma y hemangioma vesical. A nivel renal fueron encontradas degeneraciones granulares e hialinosis en el epitelio de los túbulos, mineralización de los túbulos e hiperplasia del epitelio de los túbulos colectores.

## 58

### URINARY BLADDER LESIONS IN BOVINE ENZOOTIC HAEMATURIA IN S. MIGUEL ISLAND, AZORES.

T. Carvalho(1), C. Pinto(2), C. Peleteiro(1)

1 – Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal. Faculdade de Medicina Veterinária, Rua Prof. Cid dos Santos, 1300-477 Lisboa, Portugal.

2 – Serviço de Desenvolvimento Agrário de S.Miguel. Direcção Regional do Desenvolvimento Agrário. Angra do Heroísmo, Açores.

1999 studies indicated that 21% of the dairy farms in S. Miguel Island (SMI), Azores, presented, at least, one animal with clinical signs and/or tumoral lesions associated with BEH. Additionally, approximately 10% of the adult cows slaughtered in SMI are rejected due to the presence of tumours of the urinary bladder. These are the most frequent cause of rejection for neoplasia in the S. Miguel slaughterhouse, standing for 87,6% of all the tumours in the year 2000. BEH has been a rising problem in the past five years. An epidemiological study carried out between 1997 and 1999, indicated an association between BEH and the degree of infestation of the pastures with *Pteridium aquilinum* (PA).

Bladder tumours represent the more serious manifestation of Bovine Enzootic Haematuria(BEH). An accurate and generally accepted classification for the various tumour and tumour like situations is therefore crucial. One of the most interesting characteristics of BEH is the presence of multiple different lesions in the same bladder. From 2000 up to the end of the first trimestre of 2003, more than 1000 specimens of urinary bladder lesions were collected from 420 bovine. Material was fixed in 10% buffered formalin, embedded in paraffin and stained for routine histopathological diagnosis for tumour classification.

Neoplastic lesions and epithelial abnormalities were diagnosed in most of the samples. In the epithelial abnormalities group the most common were Von Brunn nests, cystitis cystica and glandular metaplasia. In the benign group the following types were diagnosed: papilloma and hemangioma, adenomas being extremely rare. In malignant tumours all the variants of the transitional cell carcinoma (papillary, infiltrating and in situ), squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, anaplastic carcinoma and haemangiosarcoma were identified. New classification categories are also proposed, such papillary transitional cell neoplasm of low malignant potential, as an intermediate category between papillomas and transitional cell carcinomas, and hemangioendotheliomas as intermediate between hemangiomas and hemangiosarcomas.

59

### **CARCINOGENESIS INDUCIDA POR AZOXIMETANO EN RATONES HEMBRA ICR-CD1: PAPEL DE LOS FOCOS DE CRIPTAS ABERRANTES.**

Durán Navarrete, A.; Pérez Martínez, C.; García Fernández, R.; Espinosa Alvarez, J.; Escudero Díez, A. y García Iglesias, M<sup>a</sup>.J.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Histología y Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071. León.

Email:dmamgi@unileon.es

Los estudios de carcinogénesis colorrectal inducida experimentalmente se caracterizan por precisar periodos de tiempo muy largos para conseguir el desarrollo de tumores. Sin embargo, a partir de la década de los 80, se considera que la presencia de focos de criptas aberrantes (FCA) en la mucosa colorrectal se puede utilizar como un biomarcador inicial de los fenómenos neoplásicos, lo que permitiría reducir el tiempo de este tipo de estudios.

Además, estos FCAs se pueden identificar con el microscopio óptico en la mucosa colorrectal, fijada pero no embebida en parafina, realizando una tinción con azul de metileno al 2% (método de Bird), lo que conlleva un ahorro de tiempo y trabajo. Sin embargo, la valoración histopatológica de los FCAs, tanto en la especie humana como en modelos animales, parece indicar que no siempre estas lesiones son preneoplásicas.

Teniendo en cuenta que en los estudios de carcinogénesis, el desarrollo de tumores varía en función del protocolo utilizado, el objetivo de este estudio fue valorar el papel de los FCAs como biomarcadores del cáncer colorrectal en hembras ratón ICR:CD1 a las que se les administró una dosis semanal de 10 mg/Kg de AOM por vía subcutánea durante 6 semanas (grupo AOM), estudio que, según la bibliografía consultada, no se había realizado hasta el momento.

Se cuantificaron los FCAs/cm, su multiplicidad (número de criptas aberrantes por foco) y los tumores/cm que se identificaron en la mucosa del ciego, colon proximal y distal y recto, siguiendo el método de Bird, durante un periodo de 31 semanas postratamiento.

Los resultados corroboran la asociación de los FCAs con la administración de AOM. Sin embargo, el ciego presentaba durante todo el periodo examinado un número medio mayor de FCAs/cm que las otras tres porciones intestinales, y una mayor multiplicidad en los focos, hechos que, junto a un desarrollo de tumores que no difería significativamente del grupo control, sugiere que los FCAs no siempre son lesiones preneoplásicas y, por lo tanto, biomarcadores de carcinogénesis colorrectal, por lo menos, en el ciego, aunque estos resultados preliminares tienen que ser corroborados con estudios histopatológicos.

60

## EXPRESIÓN DE PROFILAGRINA E INVOLUCRINA EN TUMORES CUTÁNEOS CON DIFERENCIACIÓN ESCAMOSA

E. Mozos, R. Zafra, J. Pérez, MP. Martín, H. Vala\*, D. Fondevilla\*\*

Dpto. A y A. Patológica Comparadas. Fac. Veterinaria, UCO.

\* Escuela Superior Agraria de Viseu. Instituto Politécnico de Viseu. Portugal.

\*\*Dpto. de Medicina y Cirugía Animal. Fac. Veterinaria, UAB.

Dirección postal: Dpto. A y A. Patológica Comparadas. Campus de Rabanales. Ctra. Madrid-Cádiz. 14014 Córdoba. E-mail contacto: [an1momoe@uco.es](mailto:an1momoe@uco.es)

El objetivo de este trabajo ha sido analizar los patrones de inmunorreacción de profilagrina y de involucrina (dos proteínas sintetizadas por los queratinocitos diferenciados para formar parte de la envoltura cornificada de los corneocitos) y del anticuerpo AE1/AE3 (marcador de las citoqueratinas 1/10 en la epidermis). La profilagrina e involucrina son excelentes marcadores de la diferenciación terminal de los epitelios escamosos y han sido utilizadas, con resultados diversos, en el diagnóstico diferencial de lesiones benignas y malignas de los epitelios escamosos de la piel humana.

Como material se han utilizado 15 carcinomas de células escamosas (CCE) (5 ovinos, 5 caninos y 5 felinos), y 70 (tumores foliculares caninos (25 tricoepiteliomas, 20 tricoblastomas y 25 pilomatricomas) diagnosticados en los Servicios de Diagnósticos de Histología y Anatomía Patológica de la UCO y la UAB. Las muestras, fijadas en formol al 10%, se procesaron de la forma habitual para su diagnóstico histopatológico y se utilizó la técnica de la avidina-biotina-peroxidasa para el estudio inmunohistoquímico.

Resultados y discusión: los CCE ovinos, caninos y felinos no expresaron profilagrina, con independencia del grado de diferenciación, lo que coincide con algunos de los resultados obtenidos en tumores humanos; los resultados para la involucrina no fueron concluyentes, sin embargo, en todos los CCE se observó reacción de los queratinocitos más diferenciados, y a veces células basales, con el anticuerpo AE1/AE3 (inmunorreacción moderada a intensa, y con patrón difuso o en tablero de ajedrez). Los tricoepiteliomas expresaron involucrina y profilagrina en muchas de las células morfológicamente más diferenciadas y situadas en el centro de los nidos. Los tricoblastomas y pilomatricomas no expresaron involucrina ni profilagrina, sin embargo, con el anticuerpo AE1/AE3 se observó inmunotinción en grupos de células con morfología basaliode de ambos tipos de neoplasias, así como en grupos de células en sombra situadas en el interior de los quistes de los pilomatricomas.

Nuestros resultados muestran que la expresión de profilagrina se interrumpe en los queratinocitos neoplásicos de los CCE y pilomatricomas analizados, mientras que los tricoepiteliomas expresan ambas en gran parte de sus células diferenciadas. La expresión de citoqueratinas 1/10 (anticuerpo AE1/AE3) se mantiene aunque de forma variable en todos los tumores analizados, lo que sugiere patrones de maduración anormales.

61

## PARTÍCULAS RETROVIRALES EN UN ADENOCARCINOMA INTESTINAL METASTÁSICO EN UNA BOA ARBORÍCOLA (*Corallus caninus*)

J. Orós, H. Lorenzo, J. Recuero<sup>1</sup>

Unidad de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria ULPGC. Trasmontaña s/n. 35416 Arucas (Las Palmas). <sup>1</sup>Zoo Aquarium, Madrid. E-mail: [joros@dmor.ulpgc.es](mailto:joros@dmor.ulpgc.es)

Recibimos en nuestra Unidad las muestras de un ejemplar hembra, adulta, de boa arborícola (*Corallus caninus*) para su estudio histopatológico. La serpiente había sido

exhibida en el Zoo Aquarium de Madrid. Tras una historia clínica de anorexia, la serpiente presentó un prolapso a nivel cloacal. Mediante palpación se detectó una masa firme 7-10 cm cranealmente a la cloaca, pero el reptil murió antes de realizarse una laparotomía exploratoria.

En la necropsia se observó una severa intususcepción intestinal y una masa firme adherida a la pared celómica e intestino. También se observaron múltiples nódulos de 1 a 4 mm de diámetro en hígado y ambos riñones. Histológicamente se diagnosticó un adenocarcinoma intestinal papilar con metástasis en ambos riñones, hígado, pulmón y pared celómica.

El estudio ultraestructural de las muestras del adenocarcinoma intestinal y de las metástasis hepáticas demostró la presencia de partículas retrovirales tipo C. Los tumores del tracto gastrointestinal en serpientes son mucho menos frecuentes que en especies domésticas, describiéndose en las siguientes especies de serpientes: *Crotalus horridus atricaudatus*, *Crotalus horridus horridus*, *Thamnophis sirtalis sirtalis*, *Elaphe obsoleta*, *Elaphe guttata guttata*, *Pituophis melanoleucus catenifer*, *Python reticulatus* y *Python molurus bivittatus*. En ninguno de estos casos se habían descrito la presencia de metástasis.

Además del CSRV (corn snake retrovirus) y del VRV (Russell's viper retrovirus) presentes en algunas líneas celulares, se han identificado partículas retrovirales en una *Boa constrictor* con eritroleucosis, en varias *Bothrops moojeni* con tumores renales, en una *Elaphe obsoleta quadrivittata* con leucemia linfoide, y más recientemente en cuatro ejemplares de *Python molurus bivittatus* pertenecientes a una misma colección en los que se habían diagnosticado varios procesos tumorales que incluyeron un linfoma maligno, un adenocarcinoma de colon, un carcinoma renal de células de transición, y un fibrosarcoma intermandibular.

## POSTERS DE MISCELANEA

62

### CAMBIOS ULTRAESTRUCTURALES EN LA CAPA BASAL DE LA EPIDERMIS EN RATONES TRANSGÉNICOS POR EXPRESIÓN DE CRE.

Ángel Ramírez<sup>1</sup>, Angustias Page<sup>1</sup>, José L. Cascallana<sup>2</sup>, Hugo Leis<sup>2</sup>, Laura Tusell<sup>3</sup>, Anna Genescà<sup>3</sup>, José L. Jorcano<sup>1</sup> y Ana Bravo<sup>2</sup>.

1. Departamento de Daño, Reparación e Ingeniería Tisular de Epitelios. Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT). Madrid.
2. Anatomía Patológica Veterinaria. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela.
3. Unidad de Biología Celular. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona.  
E-mail: anabravo@lugo.usc.es

El empleo de recombinasas específicas de secuencia, en especial el sistema Cre/loxP, permite la modificación de forma controlada del genoma del ratón. El presente trabajo presenta las lesiones ultraestructurales observadas en dos líneas de ratones transgénicos como consecuencia de elevados niveles de expresión de la recombinasa Cre en las células basales de la epidermis y otros epitelios estratificados y en la vaina radicular externa de los folículos pilosos.

Las líneas de ratones transgénicos con mayor expresión de Cre en las células basales, presentan diversos grados de alopecia focal, severa e irreversible, con tendencia a su generalización con el envejecimiento de los animales. Ultraestructuralmente, en las áreas de alopecia observamos la presencia de escasos folículos pilosos displásicos, más débiles, con orientación anormal y disposición aberrante de las escamas de queratina.

Con el Microscopio Electrónico de Transmisión observamos tumefacción grave de las mitocondrias y edema intracelular con aumento moderado de los espacios intercelulares. Estas alteraciones pueden ser debidas a efecto tóxico de la recombinasa Cre en las células

de la capa basal de la epidermis y de la vaina radicular externa de los folículos pilosos. Estos resultados sugieren que la presencia de niveles lo suficientemente elevados de recombinasa Cre es dañina, impidiendo el desarrollo adecuado del ciclo del pelo y causando, finalmente, alopecia.

*El presente trabajo ha sido subvencionado con el Proyecto de Investigación de la DGICYT PM98-0039.*

63

### **DISPLASIA DE LA EPIDERMIS Y FOLÍCULOS PILOSOS EN RATONES TRANSGÉNICOS, POR EXPRESIÓN ECTÓPICA DE QUERATINA 8 EN PIEL**

Llanos Casanova<sup>1</sup>, José L. Cascallana<sup>2</sup>, Ceferino López<sup>2</sup>, José L. Jorcano<sup>1</sup> y Ana Bravo<sup>2</sup>.

1. Departamento de Daño, Reparación e Ingeniería Tisular de Epitelios. Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT). Madrid.
2. Anatomía Patológica Veterinaria. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela.  
E-mail: anabravo@lugo.usc.es

En el presente trabajo presentamos las lesiones histopatológicas, inmunohistoquímicas y ultraestructurales, observadas en 2 líneas de ratones transgénicos con expresión ectópica de 12 Kb del locus de la queratina 8 humana en la capa basal de la epidermis y vaina radicular externa de los folículos pilosos.

Los animales presentaban abundantes pelos zig-zag y awl aberrantes que provocaban en el pelaje un aspecto rizado y desaliñado. Con el Microscopio Electrónico de Barrido observamos un ondulamiento aberrante de los pelos y vibrisas.

Histológicamente, las primeras lesiones fueron observadas a los 7-10 días de edad, con la presencia de focos aislados de hiperplasia epidérmica asociados a la salida de los folículos pilosos displásicos. Las áreas de hiperplasia epidérmica y folículos pilosos displásicos iban haciéndose más extensas y frecuentes a partir de los 22 días de edad, hasta observar lesiones premalignas en la epidermis de animales con 1 año, caracterizadas por hiperplasia epidérmica asociada a intensa atipia celular del epitelio.

Con el Microscopio Electrónico de Transmisión observamos un aumento en el número de capas suprabasales y aumentos focales de la envoltura corneal indicativos de áreas focales de paraqueratosis.

Las dos líneas de ratones transgénicos con expresión ectópica basal de queratina 8 también presentaban graves alteraciones en la diferenciación terminal de la epidermis, puesta en evidencia mediante estudios inmunohistoquímicos. En las áreas de hiperplasia epidérmica observamos un aumento en la expresión de queratina 10, presencia anormal de queratina 6 y aumento de la expresión de loricrina y filagrina. En los folículos pilosos displásicos observamos la pérdida de expresión de queratina 5 y un aumento en la expresión de queratina 6, junto con expresión alterada de involucrina, loricrina y filagrina alrededor de los mismos.

Concluimos que la expresión ectópica de queratina 8 en la capa basal de la epidermis y folículos pilosos altera gravemente su morfología y diferenciación, favoreciendo el desarrollo de lesiones premalignas.

El presente trabajo ha sido subvencionado con el Proyecto de Investigación de la DGICYT PM98-0039.

## 64

### **LESIONES CUTÁNEAS OBSERVADAS EN EL MATADERO EN BROILERS DE CRECIMIENTO RÁPIDO TRAS EL DESPLUMADO.**

Virginia Santamaría<sup>1</sup>, Flora Guerrero<sup>2</sup>, José L. Cascallana<sup>1</sup>, Jesús A. Méndez<sup>3</sup>,<sup>1</sup>, Juan C. Fernández<sup>3</sup>, Inés Fernández<sup>3</sup> y Ana Bravo<sup>1</sup>.

1. Anatomía Patológica Veterinaria. Departamento de Patología Animal.
2. Citología e Histología Veterinaria. Departamento de Anatomía y Producción Animal. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago de Compostela.
3. Cooperativas Orensanas, S. Coop. Ltda. (COREN). E-mail: anabravo@lugo.usc.es

En ocasiones, durante el faenado de los pollos en matadero, se presentan problemas en la apariencia externa de las canales, ya que tras su sacrificio y durante el proceso de desplumado, la piel, excesivamente frágil, sufre traumatismos con pérdida parcial de la epidermis, hecho que favorece su posterior oxidación, o en casos extremos, el desgarrado de la región cutánea dorsal de la canal, con la consiguiente depreciación de la misma.

El objetivo del presente trabajo es conocer las lesiones histológicas asociadas a la erosión y rotura espontánea de la piel en pollos de crecimiento rápido tras el desplumado. Para este estudio, se tomaron muestras de piel de la región dorsal caudal en dos grupos de pollos control: 3 pollos control antes del desplumado y 4 pollos control después del desplumado, con la calidad de piel óptima. Asimismo, se recogieron muestras de 7 pollos con la denominada piel "rozada" tras el desplumado, en la cual hay erosiones superficiales y de 5 pollos con la denominada piel "correosa" tras el desplumado, en la cual hay desgarrados cutáneos. Las muestras se fijaron inmediatamente en solución de Bouin para su procesamiento de rutina en parafina.

En la piel de los grupos control, no observamos diferencias histológicas entre las muestras de piel recogidas antes y después del escaldado y desplumado. En los pollos con piel "rozada" observamos la pérdida total de la epidermis y el desarrollo de una dermatitis superficial costrosa, asociada a vasculitis en la dermis superficial y profunda. En los pollos con piel "correosa" observamos una dermatitis bullosa, con la formación de vesículas y bullas de acantolisis basal, también asociada a vasculitis de la dermis superficial y profunda.

Concluimos que las lesiones denominadas piel "rozada" en broilers son una consecuencia de las lesiones denominadas piel "correosa", que se inicia como una dermatitis vesicular en la cual, tras la rotura de las vesículas o bullas subepidérmicas, se desarrolla una dermatitis pustulosa por su contaminación posterior.

El presente trabajo ha sido financiado con el proyecto de investigación de la Xunta de Galicia PGIDIT02TAL09E

## 65

### **PERI-IMPLANTACION EMBRIONARIA EN LA ESPECIE OVINA: DETECCIÓN INMUNOCITOQUÍMICA DE RECEPTORES DE ESTRÓGENOS Y PROGESTERONA EN EL TRACTO GENITAL.**

A. Nieto, P. García, MA. Sánchez, A. González de Bulnes<sup>1</sup>, R. García<sup>1</sup>, J.M. Flores.

Dpto. Patología Animal II. Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria de Madrid. Ciudad Universitaria s/n. 28040 Madrid. <sup>1</sup>Departamento de Producción Animal y CRZ. SGIT-INIA. Av. Puerta Hierro s/n. 28040 Madrid. E-mail: jflores@vet.ucm.es

La implantación embrionaria es un complejo fenómeno en el cual se produce la interacción entre el embrión en desarrollo, el tracto reproductor de la hembra y las hormonas esteroideas secretadas por el ovario. En las fases previas a la implantación, la producción de factores de crecimiento, citoquinas y hormonas esteroideas por el embrión y los tejidos maternos modulan la receptividad del útero. La acción de estas sustancias está determinada por la expresión de sus receptores. (Carson et al., 2000)

Nos planteamos como objetivo en el presente trabajo, establecer el patrón de expresión de receptores hormonales (estrógenos y progesterona) en el oviducto y útero ovino en la peri-implantación embrionaria, con el fin de establecer su participación en dicho proceso.

Para ello hemos empleado 20 ovejas Manchegas, con celo sincronizado y monta dirigida, que fueron sacrificadas en los días 4 y 7 post-coito. Se obtuvieron muestras de las diferentes porciones del aparato genital, que fueron procesadas de forma rutinaria. Se ha realizado la detección inmunocitoquímica de receptores de estrógenos (RE) y progesterona (RP) en las distintas estructuras del oviducto y útero.

Los resultados obtenidos indican que existe una intensa expresión de RE en las diferentes porciones del aparato genital, con escasas diferencias entre los dos días estudiados. La inmunoreacción fue mas marcada en el epitelio luminal y glándulas, siendo menor en el estroma. En cuanto a los receptores de progesterona, su expresión es moderada o nula, con mayores diferencias entre las distintas porciones.

Estos resultados coinciden en parte con lo observado en diferentes especies, incluida la especie ovina (Spencer and Bazer, 2002; Kimmins and Mc Laren, 2001) e indican que en la peri-implantación embrionaria, los estrógenos juegan un papel relevante preparando al útero para recibir al embrión.

#### Bibliografía:

- Carson et al. (2000). *Dev. Biology* **223**: 217-237.  
Kimmins and Mc Laren (2001). *Placenta* **22**: 742-748  
Spencer and Bazer (2001). *Front Biosci* **7**: 1879-1898.

66

### “EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE PROGESTERONA Y ESTRÓGENO EN EMBRIONES OVINOS TEMPRANOS”

García, P.; Nieto, A.; González, M.; Veiga, A.<sup>1</sup>; Cocero, M.J.<sup>1</sup>; Pizarro, M.

Dpto. Patología Animal-II, Fac. Veterinaria, Univ. Complutense, 28040-Madrid.

<sup>1</sup> Dpto. de Reproducción Animal, INIA, Avda. Puerta de Hierro, 28040-Madrid.

Este trabajo forma parte de un amplio proyecto de investigación sobre preimplantación embrionaria en la especie ovina, en el cual se estudian diversos factores locales en el tracto genital, así como la viabilidad embrionaria.

En el ámbito de las tecnologías de la reproducción asistida en la especie ovina, la viabilidad embrionaria es el mayor factor limitante de la eficacia reproductiva; por lo que es importante conocer los mecanismos que la regulan, así como el entorno del tracto genital de la hembra durante los primeros días de desarrollo.

Se han obtenido embriones de tres grupos de ovejas manchegas gestantes: un grupo de animales con celo natural y monta controlada, un segundo grupo con celos sincronizados con progestágenos y otro tercero de ovejas con celos inducidos y sometidas a superovulación con FSH. En los embriones obtenidos por técnicas quirúrgicas a los 4 y 7 días post-coito, se han realizado técnicas de IFI frente a receptores de estrógenos y progesterona.

Nuestros resultados han sido similares en los tres grupos experimentales; así, la expresión de receptores de progesterona ha sido negativa en todos los embriones analizados, corroborando los anteriores trabajos realizados en embriones de ratón por Hou y Gorski en 1993.

En cuanto a los receptores de estrógenos, aunque la expresión de los mismos se ha demostrado ampliamente en numerosos tejidos del aparato reproductor de diversas hembras de mamíferos; en los embriones se observó una positividad variable en los diferentes

momentos analizados; así en embriones de dos células se observó inmunorreacción, la cual decreció en embriones de cuatro células y fue negativa en embriones a partir de 6-8 células hasta el estado de blastocisto, en el cual comenzó a observarse una débil positividad.

Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en embriones de ratón por Hou y Gorski en 1993 y Hou et al en 1996; así como en la especie porcina por Ying et al en 2000 y por Kowalski et al en 2002.

La inmunoexpresión de ER en el embrión temprano ovino corrobora el destacado papel que juega la secreción de estrógenos embrionarios en la peri-implantación ovina.

#### Bibliografía:

- 1- Hou, Q.; Gorski, J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 9460-9464, 1993.
- 2- Hou, Q., et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 2376-2381, 1996.
- 3- Kowalski, A.A. et al. Biology of Reproduction, 66: 769-769, 2002.
- 4- Ying C. et al. Mol. Reprod. Dev. 55(1): 83-88, 2000.

## 67

### MODIFICACIONES ULTRAESTRUCTURALES DE LA PARED ARTERIAL DEL CONEJO EN CORRELACIÓN CON LAS FORMAS HEMODINÁMICAS

C. Catoi, A.I. Baba, Dombay E.

Facultad de Medicina Veterinaria Cluj-Napoca, Rumania.

Las lesiones arterioscleróticas están localizadas en las regiones que están sometidos a estrés de flujo disminuido: fundamentalmente en la bifurcación de la arteria carótida, las arterias coronarias, renales y femorales.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto del tipo de flujo sanguíneo sobre la pared arterial. En el experimento se han utilizado seis conejos de raza común de seis meses de edad. En cuatro conejos se han aplicado unos manguitos rígidos alrededor de la aorta abdominal, caudalmente a la salida de las arterias renales. Los dos conejos restantes fueron utilizados como controles. De cada animal se han obtenido tres segmentos de aorta con un flujo hemodinámico diferente: zona pre-estenótica, zona estenótica y post-estenótica. El estrechamiento produjo un aumento de la presión hidrostática craneal a la estenosis y la disminución de la presión, en paralelo con aumento de la velocidad de la sangre, en el segmento estenótico. En el segmento post-estenótico apareció un régimen de flujo turbulento, debido a la disminución de la presión sanguínea. A los 25 días los conejos fueron sacrificados y las muestras fueron procesadas para microscopia electrónica de transmisión.

En la zona **pre-estenótica** las células endoteliales eran más aplanadas y presentaban vacuolizaciones, debido a la dilatación del RER y a vacuolas lipídicas. El espacio subendotelial se encontraba edematoso, con células musculares lisas de fenotipo predominante secretor, y la membrana basal no fue evidente. En la túnica media, las células musculares lisas mantenían el fenotipo contráctil, pero el contacto con las láminas elásticas fue más reducido debido a un incremento de las fibras de colágeno alrededor de estas células.

En el segmento **estenótico** las células endoteliales presentaron una morfología alta y cúbica, con contactos intercelulares simples y sin interdigitaciones. El retículo endoplásmico y las mitocondrias presentaban vacuolizaciones intensas y numerosas. La lámina elástica interna faltaba en zonas extensas. Adicionalmente se observó una involución y desaparición de las células musculares lisas, y una reducción hasta a la desaparición de las fibras elásticas acompañada de un incremento en la proporción del colágeno.

En el segmento **post-estenótico** el endotelio presentaba contactos intercelulares simples con interdigitaciones escasas o ausentes, y con relajación de los modos de unión. También se evidenció la pérdida de los modos de unión de las células endoteliales a la membrana basal. Al nivel de la túnica media las células musculares presentaban un aspecto

hipertrófico, con citoplasma abundante, desorganización de los miofilamentos, y vacuolización del retículo endoplásmico rugoso. Las fibras elásticas presentaban fragmentaciones y los contactos de los miocitos de la túnica media con la lámina elástica fueron escasos.

En conclusión las formas hemodinámicas modulan el fenotipo y la viabilidad de las células de la pared arterial.

68

### **CAMBIOS VASCULARES EN COARTACIÓN AÓRTICA EXPERIMENTAL EN CERDOS MINIATURA: DEMOSTRACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL FACTOR ENDOTELIAL DE CRECIMIENTO VASCULAR (VEGF).**

Herráez, P; Jaber, J.R; Melián, T; Castro, P; Sosa, A.y Aguirre-Sanceledonio, M.\*

Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Trasmontaña s/n, 35416 Arucas, Gran Canaria. E-mail: pherraez@dmor.ulpgc.es.

\*Departamento de Patología Animal. Unidad de Cirugía. ULPGC.

La coartación aórtica es una malformación cardiovascular caracterizada por una constricción localizada entre la bifurcación de los grandes vasos y los riñones. Como consecuencia, la presión arterial de la porción superior del cuerpo excede entre un 20-50% la presión arterial caudal a la estenosis. En estos pacientes, gran parte del flujo sanguíneo es transportado a través de vasos sanguíneos colaterales. La neoformación de estos vasos compensa el déficit de flujo en las porciones distales del organismo. En la última década, una serie de factores de crecimiento han sido responsabilizados tanto de la angiogénesis embrionaria como patológica. De todos estos factores, el Factor Endotelial de Crecimiento Vascular (VEGF), es considerado el principal factor involucrado en la formación de nuevos vasos, al actuar como mitógeno específico de las células endoteliales.

En este estudio se indujo quirúrgicamente coartación aórtica en 13 cerdos adultos mediante la colocación de un anillo constrictor alrededor de la aorta torácica. Los animales fueron sacrificados tras 8 semanas de hipertensión. Tras la realización de la necropsia, muestras de tejido aórtico craneal y caudal a la oclusión fueron fijadas en formol y procesadas rutinariamente para microscopía óptica. Muestras de tres animales fueron incluidas como tejido control. En los animales con estenosis aórtica severa, dos fueron las principales poblaciones celulares que expresaron inmunohistoquímicamente el VEGF; las células endoteliales y las fibras musculares lisas de la túnica media tanto de la aorta, como del vasa vasorum. Los animales control no mostraron inmunorreacción.

La intensidad y número de células que expresaron el VEGF se correlacionó positivamente con el número de vasos recién formados. Estos vasos tendrían una doble función: por una parte contribuir al mantenimiento de la estructura de una aorta remodelada fruto de la hipertensión crónica, y por otra parte, participar en los procesos de colateralización superando la estenosis arterial. Además, se observaron diferencias significativas tanto en el desarrollo de nuevos vasos como en la expresión del VEGF. En un extremo, se encontrarían los animales en los que la extensa neoformación de vasa vasorum se relacionó con una intensa expresión tisular del VEGF. En el otro extremo, se encontrarían animales, que pese a sus altísimos niveles de hipertensión arterial, desarrollaron escasa neovascularización, mostrando mínima expresión del VEGF. Estos animales desarrollaron patologías secundarias a la hipertensión como cardiomiopatía hipertrófica y edema periférico.

Estos resultados indican una relación entre la expresión del VEGF y la formación de nuevos vasos. Además, establece la importancia de la variabilidad individual en respuesta a situaciones similares así como, el efecto protector de la expresión del VEGF frente al desarrollo de accidentes cardiovasculares.

69

**DESCRIPCIÓN DE DOS CASOS DE HIPEROSTOSIS CONGENITA PORCINA**Manuel Quezada<sup>1</sup>, Alvaro Ruiz<sup>1</sup>, Librado Carrasco<sup>2</sup> y Miguel Ángel Sierra<sup>2</sup>

1.-Depto de Patología y Medicina Preventiva. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Concepción. Avda. Vicente Méndez 595. Chillán (Chile).

2.-Depto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba (España).

La hiperostosis conocida también como engrosamiento de las extremidades o displasia diafisial de los cerditos, ocurre en muy baja frecuencia en plantales porcinos y el origen genético que se postuló inicialmente, en el cual un gen autosomal recesivo, era el responsable del cuadro letal para animales homocigotos (Wenzler, 1936), no ha sido completamente aclarado (Gibson y Rogers, 1980).

El presente trabajo, corresponde a la observación de dos casos de hiperostosis enviados al Servicio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Concepción en los años 1999 y 2002. Estos animales provenían de plantales industriales, en los que se habían presentado otros casos anteriormente.

En estos animales, se realizó necropsia, radiografías e histopatología. A la necropsia se observó un notable engrosamiento de los segmentos húmero y radio-ulna de forma bilateral. Al corte transversal, se observó alrededor del pericondrio un tejido blanco de consistencia fibrosa, con escaso tejido muscular. A la radiografía, tanto el segmento humeral como el radio-ulnar presentaron un aspecto de densidad intermedia en una amplia zona periférica al hueso. Histológicamente, la zona periférica al hueso mostró laminillas óseas neoformadas y tejido fibroso activo con células de aspecto estrellado.

Este cuadro se encuentra escasamente descrito en la literatura y su etiología no ha sido aclarada. En Inglaterra esta condición sólo ha sido reconocida en cerdos landrace (Dalton, 1992); sin embargo, en los dos plantales en los que describimos los casos, tienen animales híbridos provenientes de pirámides genéticas por lo que habría que considerar otros factores, sin descartar una influencia genética.

70

**RECUPERACIÓN DE LA MUCOSA COLÓNICA TRAS LA ADMINISTRACIÓN DE PAEPALANTINA EN UN MODELO DE COLITIS INDUCIDA POR TNBS EN RATAS.**A. Nieto<sup>1</sup>, L.C. Di Stasi<sup>2</sup>, D. Camuesco<sup>3</sup>, N. Vilegas<sup>4</sup>, J. Gálvez<sup>3</sup>, A. Zarzuelo<sup>3</sup>.<sup>1</sup>Dpto Patología Animal II. F. Veterinaria, Madrid. <sup>2</sup>Dpto Farmacología, IB-UNESP, Botucatu, Brasil.<sup>3</sup>Dpto Farmacología. F. Farmacia, Granada. <sup>4</sup>Dpto Química Orgánica IQ-UNESP, Araraquara, Brasil. e-mail: ananieto@vet.ucm.es

La paepalantina es un principio activo presente en los capítulos florales de la *Paepalanthus bromelioides*, una planta endémica brasileña. Como consecuencia de la similitud de su estructura química con conocidos flavonoides con actividad antioxidante en modelos experimentales de inflamación intestinal, la paepalantina fue elegida para reproducir un modelo de colitis experimental mediante ácido trinitrobenzeno sulfónico (TNBS) en ratas.

La colitis fue inducida por instilación intracolónica de 10 mg de TNBS en etanol 50% y la recidiva del proceso inflamatorio producida por una segunda administración de TNBS en el 14º día. Los animales fueron tratados mediante sonda intragástrica con dosis de 5 y 10 mg/kg de paepalantina durante 21 días y los estudios histológicos realizados a los 14 y 21 días. Además se incluyeron: un grupo tratado con sulfasalazina (25 mg/kg día), fármaco de probada eficacia en el tratamiento de la colitis; dos grupos control, con recidiva y sin recidiva y un grupo blanco al que no se le administró TNBS.

Las muestras de colon se procesaron de forma rutinaria y se tiñeron con hematoxilina-eosina. En los animales sacrificados en el día 14 se observó una clara recuperación de la colitis en los grupos tratados con paepalantina, especialmente en el grupo de 5 mg/kg, con una ausencia de ulceración de epitelio de la mucosa, una menor presencia de infiltrado inflamatorio en la lámina propia y submucosa y una restauración de las criptas comparados con el grupo que recibió únicamente TNBS.

En el caso de los animales sometidos a la recidiva, los pertenecientes al grupo control mantuvieron la presencia de neutrófilos asociados a ulceración y de células redondas en la lámina propia y submucosa de grado moderado, mientras que se redujo en los tratados con 5 y 10 mg/kg. El tratamiento con sulfasalazina mejoró los resultados obtenidos con la paepalantina en las dos primeras semanas de tratamiento, pero no así en la recidiva, en donde la recuperación del proceso inflamatorio fue inferior.

En conclusión, la paepalantina podría ser un futuro candidato en el tratamiento de la inflamación intestinal.

71

## **DESARROLLO HISTÓRICO DE LA AMILOIDOSIS Y SU RELACION CON LAS ENFERMEDADES ACTUALES.**

A.Méndez, M.Rodríguez Barbudo, J.C.Gómez Villamandos, A.Blanco y A. Jover

Dpto.. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad Veterinaria Córdoba.

Edificio Sanidad Animal. Campus Universitario de Rabanales. Ctra. Madrid km 396. 14071 Córdoba. an1mesaa@uco.es.

Desde el siglo XVII cuando Bonnet observó a un paciente en cuyo bazo había múltiples focos blanquecinos que Rokitsansky en 1842, describió como una infiltración y a la que Virchow en 1854 denominó "sustancia amiloide", es cuando empieza a describirse y ser objeto de estudio por los distintos investigadores esta sustancia. Posteriormente, Fredeich y Kebuté en 1859 demostraron su origen proteico y Krakow (1895) reprodujo artificialmente los depósitos amiláceos en distintos órganos de conejos y aves. Más tarde, en 1904 Ramón y Cajal utiliza el término de "amilosis", siendo en 1906 cuando el neurólogo Alois Alzheimer descubrió las "placas amiloides" con las características de la enfermedad que lleva su nombre.

En 1931, Magnus-Levy sentó las bases inmunológicas del origen de la enfermedad; Cohem y Calking en 1959, aplicaron el microscopio electrónico al problema de la amiloidosis y Shirahama y Cohem (1967) aislaron las fibrillas y dieron a conocer la ultraestructura del material fibrilar de la amiloide.

Conforme avanzaban los estudios algunos autores sugirieron la posibilidad de una organización interna dentro de los depósitos de amiloide, así con el microscopio electrónico y físicamente se pueden distinguir tres partes bien diferenciadas: Las fibrillas de amiloide, que han sido observadas por numerosos autores como Cohen y Calkings 1959; Calleja en 1975; Glenner y cols 1978 y De la Sierra en 1985. Es el componente principal y ampliamente descrito, formado por varias fibrillas no ramificadas de longitud indefinida para autores como Glenner y cols 1978 y de 7 a 10 nm de diámetro. Cada fibrilla por 2 filamentos que se enrollan uno en otro formando una doble hélice, Cooper 1974. Esta ultraestructura física es descrita en todos los tipos de amiloide, tanto humana como animal, Cohen y cols 1982. El segundo componente es una unidad pentagonal o componente P (representa el 10-15 % del peso de la amiloide), cuya función es desconocida, pero puede tener un papel protector (proteasa inhibidor) de la fibrilla amiloide. Finalmente, el componente C, llamada matriz amiloidea, es un grupo de sustancias muy heterogéneas, formadas principalmente por glicosaminoglicanos sulfatados (heparán-sulfato), fibrinógeno, complemento e inmunoglobulinas.

La bioquímica del componente fibrilar define los distintos cuadros patológicos, objeto de diversas clasificaciones a lo largo del tiempo. Así en la actualidad existen 15 formas bioquímicas diferentes, entre las que podemos citar las aportadas por Saeger y Röcken en 1998 que las designa como APrP (Scrapie, Creutzfeldt-Jakob, Kuru), la Apo-A-II (amiloidosis senil del ratón) y la AApo-A-I (amiloidosis canina), entre otros cuadros clínicos de gran preocupación para el hombre del siglo XXI.

Como resumen final, podemos decir que esta sustancia, sigue siendo uno de los grandes problemas científicos, al estar implicada en los procesos neurodegenerativos y en patologías sin aparente relación entre ellas como la enfermedad de Alzheimer, la Fibrosis Quística, la Enfermedad de Parkinson y la Encefalopatía Espongiforme Bovina (Round y cols 2001, Soltysiak y Barcikowska 2002.) entre otras.

72

## ARCHIVOS DE MICROSCOPIA

A. Méndez<sup>1</sup>, A.J. Carmona<sup>1</sup>, T. Moyano<sup>2</sup>, M<sup>a</sup>.J. Bautista<sup>1</sup> y M.A. Sierra<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria de Córdoba. <sup>2</sup> Servicio de Microscopía Electrónica. Universidad de Córdoba. an1mesaa@uco.es

Desde la antigüedad el hombre ha buscado la forma de poder aumentar su poder de resolución y de hacer visible lo invisible. Con este propósito se descubren las lentes y con una adecuada combinación de ellas se obtienen imágenes de mayor resolución. A partir de aquí nace el microscopio óptico, siendo los hermanos Jansen quienes inventaron en 1590 el llamado microscopio compuesto.

Se conocen diversas especies de microscopios, sin embargo, los que principalmente nos interesan son: el microscopio simple o de disección, el microscopio compuesto y el microscopio electrónico.

**Siglo XVI.-** En este siglo, año 1580, fue inventado por ZACHARIAS JANSEN el microscopio compuesto.

**Siglo XVII.-** GALILEO GALILEI en 1610 reafirma el valor científico del este invento. Posteriormente, MARCELO MALPIGHI funda la anatomía microscópica. En 1665, ROBERT HOOKE, fue quien perfeccionó el microscopio y utilizó por primera vez el término de **célula**, detalles que publicó en su obra Micrografía. De esta forma, las primeras células animales fueron descritas en 1665 por estos dos últimos investigadores.

**Siglo XVIII.-** ANTHONY VAN LEEUWENHOEK (1719) es quien consigue hacer del microscopio una herramienta útil, descubriendo organismos a los que llama animáculos, y es quien tiñe por primera vez fibras musculares con azafrán, inventando la primera tinción histológica. La invención del microtomo en 1770 por JOHN HOLL revoluciona el estudio de las células.

**Siglo XIX.-** Se caracteriza este siglo por la aparición de objetivos acromáticos y su perfeccionamiento, sin embargo F.J. BICHAT, anatomista y fisiólogo, es quien define los tejidos a pesar de no utilizar el microscopio. Sobre el nacimiento de la Histología, podemos decir que en 1801 aparece la Anatomía General, y el término "**protoplasma**" es introducido en Citología por PURKINJE (1840) para teñir el cuerpo celular y aplica el Bálsamo del Canadá al montaje de los cortes. Las primeras impregnaciones argentícas las introduce FLINZER en 1854 en sus estudios sobre la córnea. La tinción con hematoxilina férrica (BÖHMER, 1865) y la tinción con eosina (FISCHER 1876) son puestas a punto por dichos autores. La parafina y la celoidina son utilizadas como medio de inclusión para realizar los cortes en 1880. E. ABBE (1840-1905), introduce el objetivo apocromático en 1886. El formol es utilizado por primera vez como fijador por F.J. COHN en 1890.

**Siglo XX.-** El siglo XX verá nacer: La neurohistología, cuyo pionero fue SANTIAGO RAMÓN Y CAJAL pues utilizó las técnicas de impregnación puestas a punto por CAMILO GOLGI en 1870. La microscopía de contraste de fase fue descubierta por ZERNICKE en 1932. El microscopio electrónico electromagnético fue introducido por M. KNOTT y E.RUSKA en 1931. El poder de resolución de este instrumento puede ser teóricamente unas cien mil veces superior al del microscopio óptico. Así en España el microscopio electrónico fue introducido en la década de los 50, y ya desde la antigua Escuela Superior de Veterinaria de Córdoba, el Prof.Dr.D. Diego Jordano Barea, en 1956 tras varias peticiones al C.S.I.C., consiguió que le concedieran un Microscopio Electrónico de Transmisión, que terminó de instalarse en el año 1971, siendo ubicado en la Cátedra de Histología y Anatomía Patológica de la Facultad de Veterinaria de Córdoba.

## RESÚMENES DE LOS CASOS DE DISCUSIÓN

1

### NECROSIS DE LA CABEZA DEL FEMUR EN OVINOS ADULTOS

C. García Pariente, J. Benavides, J. Otaola<sup>1</sup>, P. Rúa, M. C. Ferreras, C. Pérez-Martínez, O. Moreno, M. Fuertes, J. F. García Marín, V. Pérez.

Dpt. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León. <sup>1</sup>Cooperativa San Antonio. Benavente. Zamora.

E-mail: dmavpp@unileon.es

En el mes de marzo de 2003 se recibieron en el Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico de nuestra facultad tres casos de ovinos de 1,5-2 años (corderas de primer parto), de raza Assaf, procedentes de un mismo rebaño formado aproximadamente por 350 cabezas. La duración del cuadro clínico oscilaba entre los 7 y 30 días. Los animales comenzaban por mostrar la retracción de la extremidad posterior, que continuaba con una pérdida de su orientación normal. Ello provocaba cojera, la claudicación del tercio posterior, llegando en ocasiones a la postración. Los animales no mostraban pérdida de la sensibilidad de las extremidades y, cuando se les ayudaba, eran capaces de mantenerse en pie, e incluso andar, aunque mostrando signos de dolor.

A la necropsia, se apreció el desprendimiento de la cabeza del fémur, de forma bilateral en uno de los casos y unilateral en el resto. El desprendimiento se producía a nivel del cuello, zona que se mostraba necrosada, con una coloración más aclarada y consistencia disminuida. En el tejido muscular circundante se observaba una miositis.

En esta presentación se da cuenta de los hallazgos clínicos y lesionales más significativos y se discuten las posibles causas de esta alteración, muy infrecuente en la especie ovina.

## 2

### **HIDROCEFALIA EN CORDEROS.**

V. Pérez, J. Benavides, J. Otaola<sup>1</sup>, O. Moreno, M. J. García-Iglesias, A. Durán, C. Pérez-Martínez, C. García-Pariente, M. Fuertes, M. C. Ferreras, J. F. García Marín.

Dpt. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León. <sup>1</sup>Cooperativa San Antonio. Benavente. Zamora. E-mail: dmavpp@unileon.es

En dos explotaciones de ganado ovino lechero, de raza Assaf, situadas aproximadamente a unos 60 km de distancia, aparecieron, durante la última parición, corderos que desde el mismo momento del nacimiento presentaban signos nerviosos, caracterizados por ataxia, incoordinación, temblores y en algunos casos claudicación y pedaleo.

Los síntomas duraban entre 8 y 20 días, a lo largo de los cuales los animales podían empeorar hasta llegar a morir o ser sacrificados al ver que los síntomas no remitían, sin que se agravara el cuadro.

En una de las explotaciones, el número de animales con esta sintomatología, citado por los veterinarios, fue de un 30% de los nacidos, de los que únicamente pudimos examinar 2 corderos. En la segunda granja afectaba aproximadamente a un 15% de los corderos. De ellos, pudimos estudiar 4 animales.

El principal hallazgo en la necropsia fue la existencia de hidrocefalia. En dos de los casos, caracterizada por la dilatación de los ventrículos laterales y atrofia de la corteza cerebral en diferente grado, mientras que el tronco del encéfalo y el cerebelo eran macroscópicamente normales, aunque histológicamente se observaba una displasia del último órgano.

En los otros cuatro corderos estudiados, el espacio subaracnoideo estaba muy dilatado y ocupado por gran cantidad de líquido transparente. El encéfalo estaba notablemente atrófico, de forma que el cerebro había desaparecido casi por completo, aunque el tronco del encéfalo y el cerebelo -excepto en un cordero en que presentaba hipoplasia- tenían un aspecto macroscópico normal. No se observaron alteraciones en los huesos del cráneo o en articulaciones.

En la segunda explotación citada, refirieron el nacimiento, en esta misma época, de un cordero cíclope.

En este caso de discusión se presentan los principales hallazgos clínicos y lesionales, los estudios complementarios realizados y se discuten las posibles causas de estas alteraciones.