

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**USO DE LA BIOPSIA HEPÁTICA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA HEPATOPATIA
CRÓNICA EN VACAS**

Por



María Alejandra ZABALLA LOTITO

TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias (orientación
Producción Animal)

MODALIDAD Caso Clínico

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2008**

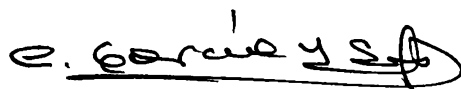
105 TG
Uso de la biops
Zaballa, María Alejandra



FV/28016


Tesis de grado aprobada por:

Presidente



Dr. Carmen García y Santos

Segundo miembro (Tutor)



Dr. Rafael Carriginy

Tercer miembro

Dr. Antonio Moraña

Fecha:

6 OCTUBRE, 2008.

Autor:



María Alejandra Zaballa Lotito

AGRADECIMIENTOS

A los Dres. Rafael Carriquiry y Jorge Moraes, tutor y co-tutor de este trabajo respectivamente, por todo el apoyo brindado durante la realización del mismo y por su contribución a mi formación profesional.

Al Dr. Rodolfo Rivero por su colaboración en el entrenamiento realizado en la regional noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino", así como al Br. Federico Bonino y a todos los funcionarios de dicha regional.

Al Dr. Daniel Briano y a todo el personal del Abasto Municipal de Rivera.

A los Dres. Danilo Alvez y Pablo Bremmerman y a los productores que aportaron animales para la toma de muestras.

A Gonzalo por impulsarme a escribir la tesis y a papá por facilitarme los medios para realizarla.

Y a todas las personas que de una u otra forma colaboraron para que este trabajo saliera adelante.

TABLA DE CONTENIDO

Página

| | |
|---|------------|
| PAGINA DE APROBACIÓN..... | II |
| AGRADECIMIENTOS..... | III |
| LISTA DE CUADROS Y FIGURAS | VI |
| | |
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 2. SUMMARY | 2 |
| 3. INTRODUCCIÓN | 3 |
| 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 6 |
| 4.1 PATOLOGÍA HEPÁTICA..... | 6 |
| 4.1.1 <i>Forma y función hepática</i> | 6 |
| 4.1.2 <i>Intoxicaciones hepáticas</i> | 8 |
| 4.1.3 <i>Hepatopatía por plantas tóxicas</i> | 8 |
| 4.2 INTRODUCCIÓN A LAS PLANTAS TÓXICAS..... | 9 |
| 4.2.1 <i>Importancia económica</i> | 9 |
| 4.2.2 <i>Diagnóstico de las Intoxicaciones por plantas.....</i> | 11 |
| 4.2.3 <i>Enfermedades por plantas tóxicas</i> | 11 |
| 4.3 INTOXICACIÓN POR SENECIO SPP..... | 12 |
| 4.3.1 <i>Principio Activo.....</i> | 17 |
| 4.3.2 <i>Signos clínicos.....</i> | 20 |
| 4.3.3 <i>Lesiones</i> | 23 |
| 4.3.4 <i>Métodos de diagnóstico para la Intoxicación por Senecio spp.....</i> | 25 |
| 4.4 BIOPSIA HEPÁTICA | 27 |
| 4.4.1 <i>Descripción de la técnica.....</i> | 28 |
| 4.4.2 <i>Instrumental, tiempo insumido y tamaño de fragmento</i> | 29 |
| 4.4.3 <i>Contraindicaciones y efectos adversos</i> | 31 |
| 5. OBJETIVO..... | 33 |

| | |
|---|-----------|
| 6. MATERIALES Y MÉTODOS | 34 |
| 6.1 IDENTIFICACIÓN Y VISITA A PREDIOS..... | 34 |
| 6.2 ENTRENAMIENTO EN ANIMALES DE FAENA E HÍGADOS DE DECOMISO 34 | |
| 6.2.1 <i>Animales</i> | 35 |
| 6.3 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA..... | 35 |
| 6.3.1 <i>Instrumental</i> | 36 |
| 6.4 TOMA DE MUESTRAS DE ANIMALES SOSPECHOSOS..... | 37 |
| 6.5 COMPARACIÓN DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS CON LOS TRES TIPOS DE INSTRUMENTAL UTILIZADOS | 37 |
| 6.6 PROCESAMIENTO EN LABORATORIO DE PATOLOGÍA..... | 38 |
| 6.7 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS | 38 |
| 6.8 DETERMINACIONES..... | 38 |
| 7. RESULTADOS | 39 |
| 7.1 PRESENCIA DE TEJIDO HEPÁTICO Y EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS | 39 |
| 7.2 PRESENCIA DE CAMBIOS PATOLÓGICOS CARACTERÍSTICOS DE SENECIOSIS O DE HEPATOPATÍA CRÓNICA (MEGALOCITOSIS, FIBROSIS E HIPERPLASIA BILIAR). | 41 |
| 7.3 COMPARACIÓN DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS CON LOS TRES INSTRUMENTOS PARA BIOPSIA UTILIZADOS..... | 42 |
| 7.4 DIFICULTADES INHERENTES A LA APLICACIÓN EFECTIVA DE LA TÉCNICA..... | 44 |
| 7.4.1 TIEMPO INSUMIDO..... | 44 |
| 7.4.2 SUJECIÓN DE LOS ANIMALES | 44 |
| 8. DISCUSIÓN | 45 |
| 9. CONCLUSIONES | 51 |
| 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 52 |

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Cuadro I: Evaluación de las muestras obtenidas. Etapa de entrenamiento..... | 39 |
| Cuadro II: Evaluación de las muestras obtenidas. Animales sospechosos..... | 40 |
| Cuadro III: Comparación de las muestras obtenidas de un hígado post mortem, utilizando tres tipos de aguja para biopsia. | 43 |
| | |
| Figura 1: Punto para la introducción de la aguja de biopsia hepática. (Fuente: Barros y col., 2007). | 28 |
| Figura 2: Tres tipos de instrumentos utilizados para la realización de biopsia hepática. | 37 |
| Figura 3: (A) Aspectos histológicos de la biopsia hepática. Muestra tomada en hígado post-mortem. (B) A mayor aumento se pueden observar desorganización general de la estructura hepática y cambios característicos de Intoxicación por Senecio: áreas de fibrosis, megalocitosis y proliferación de canalículos biliares. (Foto de muestra tomada y procesada en el Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino", 2008). | 41 |
| Figura 4: La flecha indica un nódulo de regeneración hepática encontrado en otro caso de Intoxicación por Senecio diagnosticado en la Regional Noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino". (Rivero, R., Com. pers., 2008). | 42 |



1. RESUMEN

La hepatopatía crónica causada por la intoxicación por *Senecio* spp debido a los alcaloides pirrolicidínicos contenidos en las plantas de este género son una frecuente causa de consulta a los veterinarios del departamento de Rivera quienes desconocen el uso de la biopsia hepática y utilizan la necropsia como confirmación del diagnóstico. El objetivo de este trabajo fue comprobar que la biopsia hepática es una técnica sencilla, de fácil implementación a nivel de campo y de gran utilidad para el diagnóstico y pronóstico de la hepatopatía crónica en vacas causada por la intoxicación por *Senecio* spp. Se realizó en cuatro etapas: 1- identificación de predios con diagnóstico o sospecha de seneciosis basada en consulta a veterinarios en el departamento de Rivera, 2- entrenamiento de la técnica con animales previo a la faena realizado en el Abasto Municipal del mismo departamento y toma de muestras de hígados de decomiso en el matadero "Los Olivos" del departamento de Paysandú, 3- toma de muestras de animales sospechosos en los predios previamente identificados y 4- procesamiento de las muestras en Laboratorio de patología Centro Regional Noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino". Fueron evaluados tres tipos de agujas de 16 G, 3mm y 3.3 mm de calibre interno, obteniéndose los mejores resultados con la de mayor calibre. Con las tres agujas se pudo diagnosticar Seneciosis en un hígado post mortem tomado como patrón.

2. SUMMARY

Chronic liver disease caused by poisoning due to pirrolizidinic alkaloids present in *Senecio* spp plants are a frequent cause of practitioners in Rivera Department who are unaware of the use of liver biopsy and use necropsy for diagnosis confirmation. The aim of this study was to show that the liver biopsy is a simple technique, of easy deployment in practise and very useful for the diagnosis of chronic liver disease in cattle. The study was conducted in four stages: 1 - identification of farms suspected or diagnosed with seneciosis based on reports from Rivera Department practitioners, 2 - training technique on animals prior to slaughter carried out in the Municipal slaughterhouse of Rivera and taking samples from condemned livers in the slaughterhouse "Los Olivos" in Paysandu Department 3 - sampling of suspected animals in farms previously identified and 4 - processing of samples at pathological laboratory in the northwestern regional DILAVE "Miguel C. Rubino". Three types of liver biopsy needles with internal caliber 16G, 3mm and 3.3 mm respectively were evaluated. The best results were obtained with a caliber greater than 3mm. The three types of needles were able to diagnose Seneciosis in a post-mortem liver taken as a standard.

3. INTRODUCCIÓN

El hígado puede ser afectado por cuatro procesos patológicos básicos que son las anomalías del desarrollo, patologías degenerativas, inflamación y desórdenes proliferativos o neoplásicos. La degeneración es el proceso de mayor importancia para los rumiantes y dentro de este grupo se incluyen los desórdenes tóxicos y también los metabólicos (Kelly, 2002).

La enfermedad hepática se puede reconocer por las alteraciones que se producen en la forma del órgano así como por la alteración de sus funciones. La gran reserva funcional que presenta el hígado, hace que los casos de insuficiencia hepática sean observados solamente en lesiones difusas que hayan comprometido un 75% del parénquima hepático como ocurre en las intoxicaciones. Una vez que los síntomas clínicos se hacen visibles es porque gran parte del hígado fue destruido (Kelly, 2002).

Las intoxicaciones que causan daño al hígado se dividen en agudas y crónicas, y éstas últimas en fatales y no fatales. La intoxicación hepática crónica en los rumiantes puede ser causada por agentes químicos como los alcaloides pirrolicidínicos (APs), los cuales contenidos en plantas como el Senecio spp, son ingeridos por los animales y actúan para causar una intoxicación crónica fatal (Kelly, 2002).

Los efectos causados dependen en gran medida de la relación dosis a tiempo, del grado de lesión y de la persistencia o repetitividad con la que actúan. La lesión crónica o repetida del parénquima produce eventualmente un órgano distorsionado en forma y tamaño, compuesto por conductos biliares proliferados, fibrosis e hiperplasia regenerativa nodular (Kelly, 1990).

Si bien se desconoce la real incidencia de las muertes ocasionadas por plantas tóxicas en animales en pastoreo, en determinados periodos de crisis forrajeras, algunas de ellas pueden adquirir una prevalencia especial, como es el caso del *Senecio* spp, el cual en pocos años ha invadido vastas regiones llegando a ser una de las plantas tóxicas predominantes en el norte y litoral del país (Moraes y Rivero, 1991).

Podestá y col. (1976), describieron por primera vez en Uruguay, la intoxicación en bovinos causada por *Senecio brasiliensis* var. *Tripartitus*, comprobando la presencia de cinco alcaloides del grupo pirrolicidínico en hojas, flores, tallos y raíces.

Las plantas del género *Senecio* provocan una lesión hepática progresiva. Se trata de una intoxicación crónica en la cual las lesiones se desarrollan gradualmente y los primeros signos clínicos se manifiestan solo varias semanas o varios meses después de la primera ingestión (Barros y col., 1987; Méndez y col., 1987; Molyneux y col., 1988)

Los cambios patológicos del hígado son mucho más comunes que la evidencia de fallo hepático (Kelly, 1990), por lo que los tests de laboratorio acerca de la funcionalidad hepática no siempre son indicadores confiables de animales subclínicamente afectados.

La biopsia hepática puede ser indicada para identificar bovinos con lesiones hepáticas pero sin signos clínicos y puede tener también valor pronóstico, una vez que se cree que las lesiones hepáticas evolucionen para causar insuficiencia hepática y muerte. Tales bovinos podrían ser identificados por esta técnica y enviados a faena antes que desarrollen signos clínicos, minimizando así las pérdidas (Barros y col., 2007).

La biopsia hepática es una técnica segura y eficaz que no provoca daño hepático significativo y permite obtener rápidamente fragmentos adecuados para análisis histopatológico (Amorim y col., 2003).

La consulta por muertes y animales enfermos se repite todos los años. El diagnóstico clínico suele ser difícil, en particular porque las técnicas de apoyo diagnóstico de laboratorio son ineficaces, siendo la necropsia la confirmación del diagnóstico más común (Carriquiry, R., Com. Pers., 2007).

En base a este planteamiento el objetivo de este trabajo es mostrar que la biopsia hepática es una técnica diagnóstica útil en el diagnóstico de la hepatopatía crónica y de fácil implementación en el campo.



4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 PATOLOGÍA HEPÁTICA

El hígado como cualquier otro tejido, puede ser afectado por cuatro procesos patológicos fundamentales que incluyen anormalidades del desarrollo, patologías degenerativas, inflamación y desordenes proliferativos o neoplásicos (Kelly, 2002).

Las causas de lesión hepática son diversas. Los efectos causados dependen en gran medida de la relación dosis a tiempo, del grado de lesión y de la persistencia o repetitividad con la que actúan. La lesión crónica o repetida del parénquima produce eventualmente un órgano distorsionado en forma y tamaño, compuesto por conductos biliares proliferados, fibrosis e hiperplasia regenerativa nodular (Kelly, 1990).

La degeneración hepática es el proceso de mayor importancia para los rumiantes incluyendo desordenes tóxicos y también metabólicos de gran significancia clínica (Kelly, 2002).

4.1.1 Forma y función hepática

La enfermedad hepática a nivel de campo se puede reconocer por las alteraciones que se producen en la forma del órgano así como por la alteración de sus funciones (Kelly, 2002).

La forma del hígado (tamaño, contorno y color) es relativamente constante para cada especie en particular. El tamaño está influenciado por factores como el estado nutricional del animal, factores hepatotróficos endógenos provenientes del intestino y del páncreas, factores humorales como la insulina y sustancias que cuidan los procesos mitóticos de los hepatocitos (chalonas), resultando de un balance producido entre estos agentes (Kelly, 2002).

El color rojo amarronado profundo del parénquima hepático, presente en la mayoría de las especies, está dado por la presencia en el hepatocito de grandes concentraciones de enzimas oxidativas como la citocromo oxidasa, las cuales son también responsables de la coloración de la corteza renal. La concentración normal de citocromo oxidasa se mantiene solamente si los hepatocitos son saludables y reciben un aporte sanguíneo normal por lo tanto la palidez del hígado hace referencia un órgano dañado (Kelly, 2002).

En cuanto al contorno la causa más común de distorsión del hígado es la deposición de tejido cicatrizal o fibrosis. Esto puede deberse a una amplia gama de insultos infecciosos, parasitarios y tóxicos que cuando son severos pueden resultar en la compresión de los hepatocitos y detenimiento del flujo sanguíneo hacia ellos lo cual resultaría en la atrofia de la zona afectada (Kelly, 2002).

La constricción provocada por el tejido cicatrizal y la desigual circulación de la sangre hacen que la proliferación uniforme de los hepatocitos se haga imposible y de esta manera se hacen evidentes las regeneraciones nodulares y las hipertrofias nodulares (Kelly, 2002).

Las funciones hepáticas comprenden la síntesis y secreción, de glucosa, ácidos biliares, albúmina y otras macromoléculas solubles; la transformación de compuestos dañinos endógenos y exógenos a través de oxidación, hidrólisis y conjugación; y la excreción, de bilis y pigmentos entre otras sustancias (Kelly, 2002).

El hígado presenta una gran reserva funcional (Kelly, 2002). Casos de insuficiencia hepática son observados solamente en lesiones difusas que hayan comprometido un 75% del parénquima hepático como ocurre en las intoxicaciones (Santos y col, 2008). Una vez que los síntomas clínicos se hacen visibles es porque gran parte del hígado fue destruido (Kelly, 2002).

La falla hepática se puede manifestar de forma variada incluyendo sintomatología nerviosa debido a los efectos tóxicos del amoníaco en el cerebro al no poder convertirse a urea y ser eliminada por el riñón; colestasis acompañada de ictericia por falla en la excreción de los pigmentos biliares; fotosensibilización secundaria al no eliminarse la filioeritrina; hemorragia si el daño hepático es repentino y severo por depleción de los factores de la coagulación que son sintetizados en el hígado y edemas hipoproteinémicos por alteración en la síntesis de albúmina y otras proteínas plasmáticas (Kelly, 2002).

4.1.2 Intoxicaciones hepáticas

Según Kelly (2002) las intoxicaciones que causan daño hepático se dividen en dos grandes grupos que son las intoxicaciones hepáticas agudas y las crónicas. Así mismo, estas últimas se pueden dividir en crónicas fatales y no fatales.

La intoxicación hepática crónica en rumiantes puede ser causada por una amplia gama de agentes químicos entre los cuales los alcaloides pirrolicidínicos actuarían para causar una intoxicación crónica fatal (Kelly, 2002).

4.1.3 Hepatopatía por plantas tóxicas

Según Méndez y Riet-Correa (2000), las plantas que causan lesión hepática pueden ser divididas en tres grandes grupos:

- plantas que causan necrosis hepática aguda
- plantas que causan fibrosis hepática
- plantas que causan fotosensibilización

Los alcaloides pirrolicidínicos están presentes en el grupo de plantas que causan fibrosis hepática comprendido por *Senecio* spp, *Echium plantagineum*, *Heliotropum* spp y *Crotalaria* spp (Santos y col., 2008).

4.2 INTRODUCCIÓN A LAS PLANTAS TÓXICAS

Se definen como plantas tóxicas de importancia en la pecuaria a aquellas que ingeridas espontáneamente por los animales domésticos, en condiciones naturales, causan daños a la salud de éstos y hasta mismo la muerte debiéndose comprobar experimentalmente su toxicidad (Tokarnia y col., 2000).

Las intoxicaciones por plantas deben tratarse como un problema regional, ya que la ocurrencia de las mismas depende de factores epidemiológicos de importancia variable para cada región como ser difusión de la planta, grado de desarrollo de la agricultura y la pecuaria, condiciones climáticas, del suelo y de manejo de pasturas, técnicas de preparación del suelo, siembra y fertilización (Riet-Correa y col., 1993).

En la región sur de Brasil y en Uruguay hasta la segunda mitad de la década de 1970 no se conocían más de 8 intoxicaciones por plantas en rumiantes y equinos. Esta situación fue revertida luego del desarrollo de laboratorios de diagnóstico con grupos de trabajo sobre plantas tóxicas en Uruguay, Rio Grande do Sul y Santa Catarina (Riet-Correa y col., 1993). Actualmente se conocen 31 especies de plantas tóxicas en Uruguay (Rivero y col., 2000) y 111 en Brasil (Rivero, R. Com. Pers., 2007).

La ocurrencia, frecuencia y distribución geográfica de las intoxicaciones por plantas puede ser determinada por diversos factores como ser: palatabilidad, hambre, sed, desconocimiento, transporte, acceso a las plantas, dosis tóxica, periodo de ingestión y variaciones de toxicidad (Riet-Correa y col., 1993)

4.2.1 Importancia económica

La importancia económica de las plantas tóxicas se debe principalmente a 3 factores: pérdidas por muerte de animales, pérdidas por disminución de la producción y pérdidas por los costos de las medidas de control y profilaxis (Riet-Correa y col., 1993).

Dentro de las pérdidas directas se encuentran las pérdidas reproductivas por abortos, infertilidad y malformaciones, la producción subóptima y performance disminuida de los animales, los casos de enfermedad subclínica y la disminución en la respuesta inmunológica (Riet-Correa y col., 1993).

Las pérdidas indirectas incluyen: costos de reposición del stock animal, reducción del valor de la tierra, pérdida de forraje por reducción de áreas de pastoreo y costos referentes al control de las plantas tóxicas y al diagnóstico y tratamiento de las intoxicaciones (Riet Correa y Medeiros, 2001).

Las plantas tóxicas consideradas de importancia en la región del sur de Brasil y Uruguay son aquellas que causan grandes perjuicios económicos para la producción pecuaria de esta región. Dentro de ellas el *Senecio* spp es la planta tóxica más importante de Rio Grande do Sul, ocurriendo también en Santa Catarina, Paraná y Uruguay (Riet-Correa y col., 1993).

En nuestro país las mayores pérdidas económicas son debido a leguminosas causantes de meteorismo (Rivero y col., 2000). *Senecio* spp causa importantes pérdidas en Uruguay, tal vez sea la causa que le sigue en importancia, aunque su conocimiento es menos difundido tal vez por la mortalidad menos espectacular que meteorismo y por la cantidad de pérdidas subclínicas que no son vistas o consideradas por el productor.

Las plantas de importancia relativa son aquellas que pueden ser importantes pero solo en pequeñas áreas como lo es *Solanum malacoxylon* en algunas áreas de Uruguay; aquellas que a pesar de causar mortalidades altas sólo lo hacen esporádicamente ej. *Bacharis coridifolia*, *Amaranthus* spp y *Cestrum* spp; y por último, aquellas que a pesar de causar brotes frecuentemente, ocasionan pocas pérdidas en la producción como el caso de la intoxicación por *Claviceps paspali*. Las plantas tóxicas de poca importancia son aquellas que causan intoxicaciones en forma esporádica y producen pocas pérdidas, como es el caso de *Solanum fastigiatum*, *Ammi majus* y *Echium plantagineum* (Riet-Correa y col., 1993).

En Uruguay, con una población de 11.700.000 de bovinos (DIEA, 2006), se estima que existe una mortalidad del 5% lo que equivale a 585.000 cabezas por año, de los cuales un 10 a 14% mueren debido a intoxicación por plantas (Rivero y col., 2000). Esto equivale a un número entre 58.500 y 81.900 cabezas. Estimando un precio promedio de 200 US\$ por animal, apenas las pérdidas directas por mortalidad de animales alcanzarían un valor aproximado entre US\$ 11 a 16 millones.

4.2.2 Diagnóstico de las Intoxicaciones por plantas

Para el diagnóstico de las intoxicaciones por plantas es necesario conocer las plantas tóxicas existentes en la región y las enfermedades que éstas causan. Importan los datos epidemiológicos: presencia de la planta, toxicidad, frecuencia de la enfermedad, época de ocurrencia, condiciones en que ocurre la ingestión; así como los síntomas clínicos y la evolución. Otros casos requieren estudios de bioquímica sanguínea, necropsias y remisión de material al laboratorio para estudios histopatológicos y toxicológicos (Riet-Correa y col., 1993).

4.2.3 Enfermedades por plantas tóxicas

Estas enfermedades están adquiriendo día a día una mayor relevancia por las prácticas de manejo intensivo que en muchos casos constituye el amontonamiento de animales en una superficie determinada, sin tomar en consideración ni fisiología animal, ni estrés, ni prevención de algunas enfermedades ni condiciones ecológicas o climáticas. Dentro de todo este esquema no debemos olvidar tal vez el aspecto más importante que es el productivo (Rivero y César, 1993).

Si bien se desconoce la real incidencia de las muertes ocasionadas por plantas tóxicas en animales en pastoreo, en determinados periodos de crisis forrajeras, algunas de ellas pueden adquirir una prevalencia especial, como es el caso del *Senecio* spp, el cual en pocos años ha invadido vastas regiones llegando a ser una de las plantas tóxicas predominantes en el norte y litoral del país (Moraes y Rivero, 1991).

La existencia de una gran variedad de plantas de toxicidad variable, así como el desconocimiento de su ciclo y morfología, explican en parte por qué las intoxicaciones por vegetales ocupan un lugar secundario en la mente del clínico (Podestá y col., 1976).

4.3 INTOXICACIÓN POR SENECIO SPP

El género *Senecio* (Compositae), de distribución cosmopolita, está compuesto por cerca de 1500 especies de las cuales están descritas 25 especies en el Uruguay, siendo *Senecio madagascariensis*, *S. selloi*, *S. grisebachii* y *S. brasiliensis* las especies más difundidas (Marzocca y col, 1976; Gallo, 1987).

El nombre genérico de los senecios viene del latín *senex*, *senis*: viejo, establece un paralelismo entre la cabellera blanca de los ancianos y las finas sedas del vilano de las flores. Es un género muy numeroso que cuenta con unas 1500 especies (Bruneton, 2001).

S. brasiliensis, conocida principalmente por el nombre de maria-mol, es la especie más frecuente en la región centro-sur de Brasil, Uruguay y Argentina (Riet-Correa y col., 1993).

En esta región las especies tóxicas de *Senecio* son plantas anuales, florecen a partir del mes de octubre, presentando inflorescencias amarillas, a excepción de *S. tweediei* cuyas inflorescencias son blancas. Se comportan como invasoras de cultivos y pasturas nativas (Riet-Correa y col., 1993).

Las especies del género *Senecio* son poco palatables y son consumidas por los bovinos solamente bajo determinadas condiciones. La ingestión probablemente ocurre durante los meses de mayo a agosto, periodo en el cual las diferentes especies están en brotación y con mayor concentración de alcaloides y la disponibilidad de forraje disminuye considerablemente (Riet-Correa y col., 1993).

Las plantas del género *Senecio* provocan una lesión hepática progresiva, pudiendo observarse los síntomas clínicos de la enfermedad varios meses después de la ingestión de la planta (Barros y col., 1987; Méndez y col., 1987; Molyneux y col., 1988) y la muerte sigue poco después (Molyneux y col., 1988).

La seneciosis se trata de una intoxicación crónica cuyos primeros signos clínicos se manifiestan sólo varias semanas o varios meses después de la primera ingestión (Bruneton, 2001).

Las muertes de los bovinos ocurren de forma esporádica durante un período prolongado de tiempo, siendo que en la mayoría de los brotes la mayor frecuencia de muertes se verifica de agosto a febrero (Riet-Correa y col., 1993).

La enfermedad afecta a la mayoría de los animales domésticos, siendo los suinos la especie más susceptible. Le siguen en orden decreciente pollos, bovinos, equinos y ratones, siendo ovinos y caprinos los más resistentes (Hooper, 1978 citado por Méndez y col, 1987).

En condiciones naturales bovinos y equinos son los animales más sensibles a la intoxicación, siendo la dosis letal para las vacas del 3,6% de la masa corporal, y en los caballos del 7%. Para las cabras y las ovejas es del 200-300% (Cheeke, 1989 citado por Bruneton, 2001).

Son afectados bovinos de diversas categorías, pero debido a la evolución crónica de la enfermedad, enferman preferentemente vacas, por ser las que permanecen más tiempo en el establecimiento (Riet-Correa y col., 1993).

La intoxicación ocurre en pasturas donde no existen ovinos, ya que en las condiciones de esta región, esta especie consume y controla la planta sin enfermar (Riet-Correa y col., 1993) aunque han sido descritos casos de intoxicación espontánea por *Senecio brasiliensis* en ovinos, en Rio Grande do Sul (Ilha y col., 2001).

La intoxicación no es común en la especie ovina por ser relativamente más resistente a la toxicidad de los alcaloides (Radostits y col., 1999) aunque algunos ovinos pueden enfermar espontáneamente (Ilha y col., 2001).

En los ovinos la enfermedad siempre es prolongada como consecuencia de su resistencia relativa, pudiendo que los signos clínicos no se vean hasta después de una segunda exposición estacional (Kelly, 1990).

La intoxicación fue descrita también en equinos (Araya, 1990). Su ocurrencia es rara, probablemente porque esta especie animal acostumbra recibir suplementación con granos o concentrados en la época de carencia de pasto verde, justamente la de mayor riesgo para la ingestión de *Senecio* spp., esto sumado al hábito de pastoreo más selectivo de estos animales (Gava y Barros, 1997).

En algunos años el número de brotes es mayor, probablemente debido a variaciones en la cantidad de *Senecio* spp., a la época de inicio de la brotación y /o debido a una carencia invernal de forraje más severa, la cual llevaría al consumo excesivo de la planta (Rivero y col., 1989; Riet-Correa y col., 1993).

En Uruguay la enfermedad ha sido observada en bovinos debido a la ingestión de *S. brasiliensis* y otras especies (Podestá y col., 1976).

Podestá y col. (1976), describen por primera vez en Uruguay, la intoxicación en bovinos causada por *Senecio brasiliensis* var. *Tripartitus*, comprobándose la presencia de cinco alcaloides del grupo pirrolicidínico en hojas, flores, tallos y raíces. Durante los años 1975 y 1976 estudiaron el cuadro clínico de la forma crónica, comprobándose que la determinación de transaminasas séricas (transaminasa glutámico oxalacética, GOT) y bilirrubina, no tienen clara importancia diagnóstica.

S. brasiliensis debe considerarse más palatable que otras especies, dado que no existe correlación positiva con la dotación y ha sido ingerido en periodos de abundancia de pasturas, siendo evidencia cierta de que lo comen, la presencia de muchas plantas despuntadas. Las plantas son más palatables cuanto mayor es en ellas la concentración de N-óxidos (Podestá y col., 1976).

La intoxicación puede ocurrir también por la ingestión accidental de la planta con heno y silo contaminados. En el silo el contenido de alcaloides se reduce un 20-30% (Riet-Correa y col., 1993).

El desarrollo de las lesiones ocurre gradualmente y los signos clínicos no aparecen hasta que haya suficiente lesión hepática como para alterar la función, haciéndolo casi siempre de forma súbita y con frecuencia, después de algún tiempo que los animales pararon de ingerir el material tóxico (Radostits y col., 1999).

En algunos casos la aparición de los síntomas clínicos parecería estar asociada a factores estresantes (Riet-Correa y col., 1993).

La demanda fisiológica provocada por situaciones estresantes es agravada en aquellos animales que ingirieron APs en una estación anterior, los cuales terminan manifestando una intoxicación latente (Karam y col., 2004).

Algunas condiciones estresantes que ocurren en nuestra región en el momento de la primavera podrían estar asociadas a la mayor ocurrencia de brotes que se manifiesta en esta época. Estas condiciones incluyen los cambios de manejo que se realizan en los establecimientos con vista a la reproducción, tales como transporte y ventas, además de ser la época tradicional de las pariciones (Karam y col., 2004).

La aparición de los signos clínicos podría estar asociada a estas situaciones y de no existir una mayor exigencia del organismo, el daño hepático podría no manifestarse (Riet-Correa y col., 1993).

La morbilidad varía entre 1 y 30% y la letalidad es prácticamente 100% (Barros y col., 1987; Méndez y col., 1987). Otros datos revelan una morbilidad de 4,92% y letalidad 95,59% (Karam y col., 2004).

Podestá y col. (1976), encontraron que la morbilidad es casi siempre superior en primavera, llegando en un año a ser superior en el otoño. En el primer año de estudio fue del 11%; mientras que la mortalidad máxima fue del 7,7% en el mismo año en que la morbilidad también fue la más elevada.

En cuanto a la época de aparición de la enfermedad, primavera y otoño son las estaciones con mayor ocurrencia de brotes (Karam y col., 2002). La mayor frecuencia de intoxicaciones en esta época revela, aparentemente el mayor consumo de Senecio durante fin de otoño e invierno, épocas en las que existe escasez de forraje de buena calidad (Riet-Correa y col., 1993).

Dado que la lesión se desarrolla lentamente (Bull, 1955), es probable que los animales que hayan ingerido la planta durante fin de otoño e invierno, enfermen a fin de otoño y primavera (Karam y col., 2004).

Otoño e invierno son las épocas más propicias para la emergencia y establecimiento de plántulas (Karam y col., 2002) siendo muchas veces la única oferta de plantas verdes que existe en este periodo, sumado a que en los meses de junio y julio se encuentra una mayor concentración de alcaloides en las plantas (Karam y col., 2004).

Karam y col. (1992) encontraron que el Senecio spp está presente en los establecimientos con casos de intoxicación, en diferentes fases de crecimiento en diferentes épocas del año, observándose que siempre hay Senecio en estado vegetativo lo que indica la constante disponibilidad para los animales.

Las fases de las plantas están influenciadas por la precipitación, humedad del suelo, luz, temperatura y manejo de las pasturas. Se mantienen verdes en otoño-invierno o en épocas que las condiciones ambientales sean similares, si las mismas son favorables, el desarrollo de las plantas se puede dar en cualquier época del año y en consecuencia puede existir ingestión e intoxicación en diferentes épocas (Karam y col., 1992).

La toxicidad de *Senecio* spp varía de acuerdo al contenido y tipo de alcaloides presentes en las plantas, dependiendo del local, época y etapa de crecimiento. Por otro lado, también se verifican variaciones de susceptibilidad individual entre animales de la misma especie (Riet-Correa y col., 1993).

La toxicidad de *Senecio* spp, comunicada en el país por Podestá y col. (1976), no llamó mucho la atención, tal vez por lo poco espectacular de su acción directa (muertes en goteo) o la escasa relación que se atribuye a primera vista al consumo de la planta con la muerte, ya que se trata de una intoxicación crónica.

Esta problemática ha llegado a ser de gran importancia para algunos predios chicos dedicados a la producción de leche en los que la supervivencia de ellos está supeditada en gran medida al control de esta intoxicación (Moraes y Rivero, 1991).

4.3.1 Principio Activo

Con unas 21000 especies distribuidas en 1300 géneros, Asteraceae es una de las mayores familias del reino vegetal. Las Asteráceas tóxicas son bastante peligrosas. El mayor problema que plantean, es la existencia en las Senecioneas y algunas Eupatorieas de especies que tienen alcaloides pirrolicidínicos (Bruneton, 2001). Existen otros grupos de sustancias volátiles en la planta, como los terpenos, que también pueden ser tóxicos (Zeinsteger, 2003).

Contenidos en plantas pertenecientes a varias familias botánicas no relacionadas, entre ellas las Compositae (Asteraceae), hay una enorme gama de alcaloides pirrolicidínicos, de los cuales más de 100 han sido definidos químicamente y unos 30 de éstos han demostrado ser tóxicos. La mayoría de las especies de plantas tóxicas contiene más de uno de los alcaloides, las variedades tóxicas de los cuales son todos ésteres de uno o tres bases aminoalcohólicas (Kelly, 1990).

Los APs pueden producir toxicidad aguda, pudiendo morir los animales entre 1 a 8 días de ingerido el tóxico, lo que ha sido producido experimentalmente. En forma natural, sin embargo, la toxicidad crónica por ingestión de dosis subletales de los APs por largos períodos de tiempo es lo más común, como sucede al ingerir forrajes contaminados con Senecio (Araya, 1990).

Los alcaloides son compuestos que contienen nitrógeno, usualmente en un anillo heterocíclico y son generalmente básicos. De ahí su nombre, "como álcalis". Generalmente son amargos, constituyendo esto un mecanismo químico de defensa de las plantas contra los herbívoros (Villar y Ortiz, 2006).

La época de mayor tenor de alcaloides coincide con los meses de invierno (junio, julio), justamente cuando las especies vegetativas son más vigorosas (Karam y col., 2004).

El nivel de toxicidad depende de la especie de planta y las hojas jóvenes parecen ser más tóxicas que hojas y tallos viejos (Elcock y Oehme citado por Araya, 1990).

Para Radostitis y col. (1999) el estadio de floración es considerado el más rico en alcaloides.

Según análisis espectrofotométrico, los tenores de APs más elevados se encuentran en *Senecio brasiliensis*, seguido de *S. heterotrichius* y cayendo drásticamente en *S. oxyphyllus* y *S. Selloi*. *S. brasiliensis* además es una de las dos especies más frecuentes y predominantes en los establecimientos con casos de intoxicación, lo cual confirma que esta especie es la más importante en los casos de seneciosis de nuestra región (Karam y col., 2004).

Los APs son absorbidos y metabolizados en los hepatocitos, especialmente en la región centrolobulillar, donde existe la mayor actividad de las enzimas microsomales. Los alcaloides que no son metabolizados por el hígado pueden ser activados y transformados en metabolitos tóxicos. Las principales vías de metabolización de los APs son hidrólisis de ésteres, conversión a N-óxidos y dehidrogenación a derivados pirrólicos. La última vía es la única forma capaz de producir citotoxicidad (Mattocks, 1986 citado por Araya, 1990).

Los alcaloides pirrolicidínicos son oxidados por el hígado a derivados pirrólicos que provocan la necrosis de células endoteliales de las venas centrolobulares, lo que conduce a la infiltración y al edema de sus paredes, de lo que resulta una hipertensión y, secundariamente fibrosis: es la enfermedad veno-oclusiva (Bruneton, 2001).

La toxicidad de un alcaloide para un órgano dado depende de tres factores: la velocidad a la cual el alcaloide primitivo es convertido al derivado pirrólico, la proporción del alcaloide así convertido y la capacidad de reactividad o de unión del pirrol. Estos factores varían con la especie, la edad y el sexo del animal intoxicado y el estado metabólico y mitótico de las células afectadas por él. Estas variables explican en alguna medida la dificultad en predecir el resultado del envenenamiento con alcaloides pirrolicidínicos en un individuo. A esto se suma, en el caso de los rumiantes, el grado al cual las toxinas son degradadas en el rumen antes de que hayan tenido una oportunidad de ser absorbidas (Kelly, 1990).

Existen diferencias entre la susceptibilidad de las diferentes especies a estas toxinas. Los cerdos pueden ser hasta 200 veces más susceptibles que los ovinos y caprinos, mientras que los vacunos y equinos son solamente 15 veces más resistentes que los cerdos. Esto explica el hecho de que los ovinos pueden ser utilizados para pastorear campos invadidos por Senecio que serían letales para los vacunos (Kelly, 1990).

Para Radostits y col. (1999) vacas y caballos son unas 30-40 veces más susceptibles que las ovejas y cabras. Esta diferencia a favor de los pequeños rumiantes se podría deber a una mayor capacidad de los mismos para detoxificar las pirrolicidinas en el hígado, hecho que probablemente esté relacionado con la dieta consumida por estos herbívoros antes de la domesticación, existiendo mayor probabilidad de que se hayan alimentado con estas plantas y desarrollado una mayor resistencia a las toxinas. También es posible que la detoxificación de los APs por los rumiantes sea consecuencia de la actividad bacteriana, pero hay opiniones controvertidas al respecto (Burger y col., 1994 citado por Radostits y col., 1999).

A los senecios en casi todo el mundo se les atribuye supuestas propiedades medicinales, lo que, en algunos casos, provoca serias y a veces fatales intoxicaciones. Hay pirrolicidinas en los senecios por lo que es prudente no utilizarlas a pesar de su reputación de "medicinales". Los metabolitos pirrólicos, la mayoría son cancerígenos (Bruneton, 2001).

Las principales fuentes de exposición en humanos a las pirrolicidinas son la contaminación accidental de alimentos, la ingestión accidental de plantas que contienen estas sustancias en preparaciones culinarias e infusiones o medicinas caseras, y la ingestión de alimentos como la miel o leche que contengan estos alcaloides (Riet Correa & Medeiros, 2001).

Para Radostits y col., (1999), los metabolitos de los AP se excretan por leche pero se cree que ello no constituye peligro alguno para los seres humanos que tomen leche de vaca intoxicada, mientras que para Tokarnia y col. (2000), la leche sí representa un peligro para los humanos, especialmente cuando es administrada a recién nacidos.

4.3.2 Signos clínicos

En bovinos la intoxicación ha sido descrita en las formas aguda, sub-aguda y crónica aunque la forma aguda es raramente vista en condiciones naturales (Bull, 1961 citado por Barros y col 1987).

Los síntomas de la intoxicación están primariamente asociados con la lesión hepática y pueden aparecer varios meses después que el animal haya ingerido la planta por última vez. El desarrollo de las lesiones hepáticas tiene curso crónico pero la aparición de los signos clínicos y la evolución es generalmente rápida (Bull, 1961).

Los signos clínicos observados en los bovinos son variables, pudiendo ser agrupados en dos grandes grupos: el cuadro clínico más específico de intoxicación por alcaloides pirrolicidínicos, caracterizado por sintomatología nerviosa, agresividad, incoordinación, tenesmo y ocasionalmente prolapso rectal, diarrea en un curso de 24 a 72 horas, siendo que algunos animales pueden recuperar y volver a presentar esta sintomatología posteriormente; y otro, un cuadro clínico caracterizado por adelgazamiento progresivo, con o sin diarrea, que puede ser de varios meses, pudiendo observarse antes de la muerte, los signos descritos anteriormente, o los animales permanecen en decúbito hasta la muerte (Riet-Correa y col.,1993).

Los signos clínicos más comúnmente encontrados en bovinos son depresión de aparición brusca con escasa sensibilidad a los estímulos externos a veces salpicada de episodios breves de excitabilidad y frenesí y a menudo de conducta agresiva (Barros y col.,1987; Rivero y col., 1989; Radostits y col.,1999), abulia (Rivero y col., 1989), anorexia (Barros y col., 1987; Bruneton, 2001; Radostits y col., 1999), atonía ruminal (Barros y col.,1987) y debilidad (Barros y col., 1987; Bruneton, 2001).

Otro signo clínico presente en los casos de Seneciosis es la diarrea (Barros y col., 1987, Bruneton, 2001, Radostits y col., 1999), aunque a veces existe constipación (Rivero y col., 1989), heces resacas y coprostasis (Barros y col., 1987), acompañadas de adelgazamiento progresivo (Barros y col., 1987; Rivero y col., 1989; Radostits y col., 1999; Bruneton, 2001).

Puede haber tenesmo que puede dar lugar a prolapso rectal (Barros y col., 1987; Radostits y col., 1999), con dilatación del abdomen (Barros y col., 1987) y contracción abdominal acompañada de gemidos de dolor, “como si estuviera pariendo” (Barros y col., 1987).

Otros signos que han sido descriptos son: ictericia (Barros y col., 1987; Radostits y col., 1999) y a veces fotosensibilización secundaria (Barros y col., 1987, Bruneton, 2001; Radostits y col., 1999).

La fotosensibilización secundaria solamente ocurre en aquellos animales con curso clínico más prolongado, estando ligada su aparición al grado de compromiso hepático (Karam y col., 2004). Estos autores describen la fotosensibilización en casos clínicos de más de una semana de duración pudiendo ser pasajera y los animales recuperarse de este síntoma. Las lesiones se encuentran en orejas, hocico, dorso y úlceras en la parte inferior de la lengua (Karam y col., 2004).

La forma aguda de la enfermedad es rara en caballos (Araya, 1990). En un caso de seneciosis en esta especie diagnosticado en el Hospital Veterinario de la Universidad Austral de Chile, se encontró que los signos clínicos se iniciaron en general bruscamente sin signos premonitorios importantes que indicaran que los animales estaban sufriendo una alteración hepática (Araya y González, 1979 citado por Araya, 1990).

Los signos se caracterizan por apatía, pérdida de peso, anorexia, ictericia, diarrea, somnolencia, incoordinación, disimetría, temblores musculares, andar en círculos, pechando contra objetos, presión de la cabeza contra la pared, fuertes contracciones musculares y gemidos de dolor. El curso clínico puede variar de uno a seis días (Araya, 1990; Gava y Barros, 1997).

Los trastornos nerviosos, se desarrollan principalmente en el caballo como consecuencia de la hiperamoniemia (Bruneton,2001), y están caracterizados por presión de la cabeza contra obstáculos (Bruneton,2001), agitación y movimientos desordenados (Bruneton, 2001), ataxia, agresividad, hipermetría (Gava y Barros, 1997), marcha tambaleante (Radostits y col., 1999), marcha en círculos (Bruneton, 2001; Radostits y col., 1999), ceguera (Barros y col., 1987) y pérdida de la agudez visual (Bruneton, 2001).

4.3.3 Lesiones

Para Barros y col. (1987) ocurre fibrosis en mayor o menor grado, la cual primariamente es periportal pero luego se extiende adentro de los lóbulos desorganizando su arquitectura y englobando grupos de hepatocitos.

Hay oclusión de los canales biliares con depósito de pigmentos y regeneración acusada por células multinucleares (Molyneux y col., 1988; Barros y col., 1992).

Rivero y col. (1989) encontraron espesamiento de la cápsula de Glisson y nódulos de regeneración hepática rodeados por tejido fibroso con ausencia de hepatocitos e infiltrado por elementos mononucleares.

Las lesiones microscópicas observadas consisten en diferentes grados de proliferación fibrosa y megalocitosis en hígado y riñón con hiperplasia ductal en hígado y glomerulopatía y pérdida de proteínas en riñón, degeneración vacuolar e hialina de fibras cardíacas y degeneración esponjosa de la sustancia blanca del cerebro (Barros y col., 1987).

Los alcaloides pirrolicidínicos son hepatotóxicos y producen una lesión crónica de forma irreversible, caracterizada por inhibición de la mitosis. Los hepatocitos no se dividen pero continúan sintetizando ADN en el núcleo y aumentando su tamaño (megalcitos). El metabolismo de estos hepatocitos lesionados se vuelve subnormal. Posteriormente, estas células van muriendo, y en consecuencia ocurre la fibroplasia e hiperplasia de las células de los ductos y de los canalículos biliares (Riet-Correa y col., 1993).

Como un evento terminal, los hepatocitos no sintetizan adecuadamente la urea, y la muerte del animal se debe frecuentemente a la intoxicación por amoníaco en el sistema nervioso central (Kelly, 1990).

En el sistema nervioso central hay edema de las vainas de mielina. Cortes del encéfalo revelan alteraciones conocidas como degeneración esponjosa o "status spongiosus", que consiste en una microcavitación difusa principalmente de la sustancia blanca subcortical, tálamo, núcleos basales, pedúnculos cerebelares y sustancia blanca del cerebelo. El aspecto esponjoso está dado por la formación de vacuolas redondeadas u ovals, dispuestas a lo largo de los tractos de las fibras mielinizadas de sustancia blanca. La sustancia gris es menos afectada, sin embargo se puede ver dilatación de los espacios perineuronales y perivasculares (Barros y col., 1987).

En un caso relatado por Barros y col. (1987) se observó el riñón con marcada fibroplasia en corteza y médula, los túbulos contorneados aparecen dilatados, megalocitosis y signos de regeneración de las células epiteliales tubulares, glomérulos hiper celulares, engrosamiento fibroso de la cápsula de Bowman con acúmulos linfoplasmocitarios en el intersticio, inmediatamente adyacentes a la cápsula glomerular.

Se observaron acúmulos de pigmento biliar en el acino glomerular y en las células tubulares de los túbulos contorneados, degeneración vacuolar del epitelio de los túbulos, presentando estas células raras figuras de mitosis. En el espacio urinario de los glomérulos aparecen abundantes esferas eosinofílicas así como abundantes cilindros hialinos en los túbulos contorneados, acúmulos linfoplasmocitarios en el intersticio e hipertrofia y/o hiperplasia de las arterias renales. Este tipo de lesiones acentuadas indican pérdida de proteína y no deben ser ignoradas como posibles contribuyentes a la composición del cuadro clínico (Barros y col., 1987).

Las lesiones renales podrían actuar en la patogenia del edema que tiene lugar en las intoxicaciones por alcaloides pirrolicidínicos y que usualmente se explica como consecuencia de la hipertensión portal debido a la fibrosis hepática (Barros y col., 1987).

A la necropsia se observa ascitis, edema de mesenterio, edema de abomaso, hígado endurecido o fibroso pudiendo estar aumentado o disminuido de tamaño o tener tamaño normal, riñón endurecido por proliferación fibrosa, puede haber ictericia generalizada, edema de los linfonódulos mesentéricos, petequias y sufusiones en epi y endocardio y en otras serosas y engrosamiento de la vesícula biliar que muchas veces está dilatada y a veces presenta nódulos poliposos en la mucosa (Barros y col., 1987).

El edema de abomaso llega a engrosar la pared del órgano hasta unas 5 veces su espesor normal. La superficie de corte del hígado muestra una coloración que según los casos puede ser desde amarillo pálido hasta un rojo oscuro con estrías más claras (Rivero y col., 1989).

4.3.4 Métodos de diagnóstico para la Intoxicación por Senecio spp.

Las lesiones hepáticas causadas por la intoxicación por Senecio spp en bovinos son progresivas y las muertes pueden ocurrir varios meses después de la ingestión de la planta (Barros y col., 2007).

Los tests de laboratorio acerca de la funcionalidad hepática no siempre son indicadores confiables de animales subclínicamente afectados (Barros y col., 2007).

La biopsia hepática puede ser indicada para identificar bovinos con lesiones hepáticas pero sin signos clínicos y puede tener también valor pronóstico, una vez que se cree que las lesiones hepáticas evolucionen para causar insuficiencia hepática y muerte. Estos bovinos podrían ser identificados por la biopsia hepática y podrían ser enviados a faena antes que desarrollen signos clínicos, minimizando así las pérdidas (Barros y col., 2007).

Los cambios patológicos del hígado son mucho más comunes que la evidencia de fallo hepático (Kelly, 1990).

Las tasas de enzimas séricas (GOT) en animales con la forma crónica, no muestran desviaciones de los valores normales. La bilirrubina total y las proteínas séricas en los mismos animales, se mantienen con valores normales (Podestá y col., 1976).

La sola dosificación de las enzimas GOT y GGT (Gama glutamil transferasa), indicadoras de daño hepatocítico no sirve para evaluar el grado de compromiso hepático y así poder descartar vacas con el fin de evitar muertes o ingentes pérdidas productivas. Sería necesaria más de una dosificación, lo que resultaría antieconómico y no aporta datos sobre otras causas de daño hepático que pudieran haber actuado (Moraes y Rivero, 1991).

El costo de un análisis de funcionalidad hepática es de \$U 433 por muestra (AUVELA, 2008). Además estos tests detectan insuficiencia hepática por cualquier causa no siendo específicos para detectar la insuficiencia hepática causada por la intoxicación por *Senecio spp.* (Lloyd, 1957 citado por Barros y col., 2007).

Las alteraciones en las enzimas hepáticas séricas preceden a las detectables histológicamente en las biopsias de hígado. Para la predicción de la lesión hepática inicial en las vacas que pastan especies de Senecio se recomienda efectuar mediciones de gama-glutamyl transpeptidasa y glutamil deshidrogenasa en suero (Radostits y col., 1999).

En los caballos las más útiles son gama glutamil transferasa y la fosfatasa alcalina sérica. Para la valoración del grado de lesión hepática en los casos crónicos parece que lo más útil tanto en vacas como en caballos es la combinación del aclaramiento de bromosulfaleína (BSP) y la biopsia hepática (Radostits y col., 1999).

Dada la poca significación diagnóstica de las pruebas de funcionalidad hepática, se considera que la biopsia hepática podría ser la prueba más al alcance del veterinario en Uruguay y de mayor seguridad diagnóstica para el cuadro estudiado. Para su realización es necesaria la utilización de instrumental apropiado. La prueba no es peligrosa y como método de diagnóstico es digna de confianza (Podestá y col., 1976).

Según Mendel y col. (1988) citado por Araya,(1990), el control constante de peso podía ser de utilidad en animales que están en praderas contaminadas con senecio, de tal manera de poder detectar tempranamente la lesión, antes de que se haya consumido una dosis letal.

La ingestión de 0,6 a 5,0 g de planta verde por Kg. de peso vivo, por un período de uno a ocho meses, provoca lesiones hepáticas progresivas e irreversibles (Tokarnia y col., 2000).

4.4 BIOPSIA HEPÁTICA

La técnica de la biopsia hepática descrita para humanos en 1939 por Iversen y Roholm, desarrollada por primera vez en animales de granja por Dick en 1944 en Australia en ovinos y posteriormente aplicada a los bovinos por Garner en 1950, en Inglaterra, ha venido siendo perfeccionada con el correr de los años demostrando ser una técnica de gran importancia clínica (Amorim y col., 2003).

La técnica ha sido utilizada extensamente para el diagnóstico de lesiones difusas en el hígado presentando un resultado de gran valor (Rosemberger, 1977; Santos y col., 2008). Las lesiones patológicas que con frecuencia son focales requieren que la biopsia sea guiada por ultrasonografía lo que aumenta la eficacia de la técnica pero disminuye su practicidad (Radostits y col., 1999).

Es adecuada para controlar el curso de hepatopatías y para determinar el contenido en vitaminas A, E, glucógeno, grasa, enzimas, plomo, cobre y otras sustancias del hígado (Rosemberger, 1977).

La biopsia hepática puede ser indicada para la detección de casos subclínicos de Intoxicación por Senecio spp, pues las lesiones hepáticas son difusas y no se necesita orientación para la biopsia (Barros y col, 2007). Permite además, evaluar la intensidad de las lesiones hepáticas (Santos y col, 2008).

Es una herramienta útil para ser empleada para el diagnóstico pero fundamentalmente para el pronóstico productivo-económico de un rodeo en el que se hayan producido muertes o pérdidas por alteraciones hepáticas irreversibles (Moraes y Rivero, 1994).

4.4.1 Descripción de la técnica

El punto de elección para la introducción de la aguja es el 11° espacio intercostal derecho, aproximadamente 20 cm. por debajo de la línea del dorso, donde se cruzan una línea imaginaria entre la tuberosidad externa del ileon y la escápula AB, con otra línea perpendicular al 11° espacio intercostal CD según indica la figura 1. Este punto corresponde a la ubicación topográfica del lóbulo derecho del hígado (Barros y col., 2007).

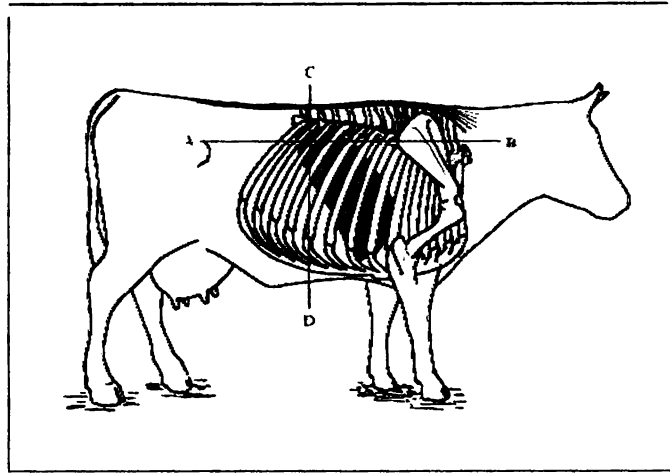


Figura 1: Punto para la introducción de la aguja de biopsia hepática. (Fuente: Barros y col., 2007).

Previo a la introducción de la aguja se realiza anestesia local con lidocaína al 2%, antisepsia con alcohol 70° GL y una incisión de la piel con bisturí de 1,5 cm de extensión. Luego de penetrar en la cavidad abdominal en la inserción del diafragma con la pared torácica, se retira el mandil y la cánula se orienta en dirección craneocaudal hacia la articulación femorotibiorotuliana del miembro izquierdo, dándole una inclinación de aproximadamente 45° y realizando movimientos de rosca, es introducida en el parénquima hepático (Amorim y col., 2003).

Se continúa hasta que el instrumento penetre completamente a través del órgano o hasta que se oponga resistencia que impida el avance, momento en el cual se retira la cánula. Este procedimiento ha resultado mas satisfactorio que el de colocar una jeringa para desarrollar presión negativa. Esta última técnica puede hacer que sangre u otros fluidos ingresen a la jeringa (Chapman y col., 1963).

A medida que se va introduciendo la aguja de biopsia se escucha claramente la penetración del parénquima (Moraes y Rivero, 1994).

Otras técnicas han sido descriptas, como la biopsia hepática bajo control visual (Rosemberger, 1977) y la biopsia hepática por aspiración (Loosmore y Allcroft, 1951; Erwin y col., 1956).

La biopsia hepática por aspiración con aguja fina suele fragmentar el tejido y es utilizada principalmente para la detección de células neoplásicas donde la arquitectura del órgano no es importante (Simpson, 1985).

4.4.2 Instrumental, tiempo insumido y tamaño de fragmento

Loosmore y Allcroft (1951) presentaron su técnica como una simple modificación a la técnica de Dick (1944) para ovinos y con algunas ventajas sobre la técnica que Garner (1950) había adaptado para los bovinos.

Estos autores utilizaron un trócar de acero inoxidable de 18 cm de largo y 4mm de diámetro de punta cónica, y una cánula de 5mm de diámetro externo la cual consistía en un tubo de acero inoxidable que en uno de los extremos presentaba una adaptación para poder encajar una jeringa de 20 ml.

Rosemberger (1977) presenta un trócar hepático de 5mm de diámetro con borde cortante liso, mientras que Moraes y Rivero (1994) utilizaron una aguja de 2,4 mm de calibre interno y 15 cm de largo, sin bisel, con punta en sacabocados con filo interno.

Simpson (1985) plantea que con los instrumentos para biopsia en forma de tubo se obtiene una muestra cilíndrica del parénquima hepático pero que los mismos no cortan en la base, la cual permanece adherida al órgano dificultando la extracción de la muestra y llevando a que la punción deba ser repetida lo que trae consigo un mayor traumatismo del órgano y una mayor probabilidad de complicaciones como hemorragias o infección. Por tal motivo describe una aguja de biopsia que consta de 3 componentes (trócar, tubo interno y filo cortante y estilete) especialmente diseñada para salvar estos inconvenientes.

En el estudio realizado por Amorim y col. (2003) se utilizó un instrumento confeccionado con las siguientes dimensiones: largo del mandil 25 cm., largo de la cánula 23 cm., diámetro interno de la cánula 0,7 cm y externo 0,8 cm. El aprovechamiento en la obtención de los fragmentos fue del 100% con un peso de fragmento variable entre 0,6 y 1,8 g y un tiempo de procedimiento en torno a 15 minutos por animal no se observándose complicaciones clínicas en los animales biopsiados.

Para Kelly (2002), las muestras deben medir como mínimo 7mm de modo que haya tejido suficiente para un diagnóstico histológico adecuado o para análisis químico, como por ejemplo cobre.

El tiempo necesario para la realización de la biopsia hepática es poco mayor al empleado para la aplicación de una inyección y permite que varios bovinos de un rebaño sean testeados (Barros y col., 2007).

Un operador no entrenado no demora más de cinco minutos por animal en la extracción de la muestra (Moraes y Rivero, 1994). Para Chapman y col. (1963) quince a veinte animales pueden ser biopsiados en una hora sin dificultad.

4.4.3 Contraindicaciones y efectos adversos

Las pequeñas lesiones tisulares causadas por la biopsia hepática no producen alteraciones significativas en los valores del hemograma, leucograma, fibrinógeno y actividad sérica enzimática de FA (Fosfatasa alcalina) y GGT (Amorim y col., 2003).

No se observan alteraciones en el post-mortem salvo la identificación del lugar de la punción (Moraes y Rivero, 1994).

Chapman y col. (1963), repitieron el procedimiento de la biopsia hepática cada 28 días en un mismo animal, durante dos años sin observar perjuicios al desarrollo corporal. Tampoco se observaron problemas de salud ni de producción (Moraes y Rivero, 1994).

La intervención está contraindicada en casos de mayor tendencia a las hemorragias. Esto puede ocurrir en las lesiones difusas del parénquima hepático a causa de una menor síntesis de protrombina por lo que es aconsejable controlar previamente el tiempo de coagulación en aquellos casos dudosos (Rosemberger, 1977).

Otro peligro es la liberación de agentes piógenos a la cavidad abdominal en caso de punzar un absceso o vías biliares con estasis (Rosemberger, 1977).

El hígado de los bovinos es asiento frecuente de abscesos (Moraes e Ibarguren, 1998). El estudio realizado por estos autores revela una incidencia del 5,79% por lo que se debe considerar la posibilidad de que estos abscesos pudieran ser eventualmente puncionados durante la biopsia hepática.

La posibilidad de puncionar un quiste hidático durante el procedimiento de la biopsia también debe ser considerado, existiendo riesgo de siembra a otros órganos si se punciona una larva (metacestode) viva (Nari y Fiel, 1994). Este hecho sería poco probable si consideramos que la prevalencia de quiste hidático en nuestro país en los bovinos es de 6,5% y su localización en esta especie es mayormente pulmonar (Cabrera, P., Com. Pers., 2008).

El valor pronóstico (sensibilidad) de la biopsia hepática fue alto (88,23%) y la especificidad fue considerada bastante alta (99,16%) en el trabajo realizado por Barros y col. (2007).

En ningún bovino fue observado cualquier efecto negativo relacionado a la técnica de la biopsia hepática (Loosmore & Allcroft ,1951; Amorim y col., 2003; Barros y col., 2007).

Se trata de una técnica segura y eficaz que no provoca daño hepático significativo y permite obtener rápidamente fragmentos adecuados para análisis histopatológico (Amorim y col., 2003).

5. OBJETIVO

Demostrar que la biopsia hepática es una técnica sencilla, de fácil implementación a nivel de campo y de gran utilidad para el diagnóstico y pronóstico de la hepatopatía crónica en vacas causada por la Intoxicación por Senecio spp.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 IDENTIFICACIÓN Y VISITA A PREDIOS

En el mes de setiembre de 2007, se identifican establecimientos donde en años anteriores se habían dado casos de Seneciosis o se sospechaba la ocurrencia de los mismos. Los establecimientos fueron identificados en base a datos aportados por veterinarios de la zona y luego visitados con el fin de obtener animales sospechosos de estar intoxicados por Senecio spp y poder realizarles biopsia hepática con fin diagnóstico.

Se concurre a dos establecimientos lecheros familiares del departamento de Rivera los cuales presentaban sospechas y/o diagnóstico de Seneciosis. Los establecimientos se encuentran ubicados en el Km. 489 y 490 de la Ruta Nacional No. 5, paraje Curticeiras, 2ª Sección Policial del departamento de Rivera.

También se concurrió a dos establecimientos ganaderos: el primero de carácter familiar situado en la zona de Tranqueras, 3ª Sección Policial del departamento de Rivera, y el segundo, un establecimiento empresarial situado en paraje Blanquillos, 6ta. Seccional Policial del mismo departamento.

En última instancia se concurrió a un tercer establecimiento ganadero situado en la zona de Yaguarí, 6ª sección Policial del departameto de Rivera, Ruta 44 Km. 21.

6.2 ENTRENAMIENTO EN ANIMALES DE FAENA E HÍGADOS DE DECOMISO

A los efectos de adquirir la destreza necesaria para la realización de la técnica, se concurrió al Abasto Municipal de Rivera, ubicado a 8 Km del centro de la ciudad, en el mes de octubre de 2007 y al Matadero "Los Olivos" del departamento de Paysandú ubicado a 3 Km de la capital departamental.

6.2.1 Animales

El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) de la Universidad de la República.

En la etapa de entrenamiento fueron utilizados 28 bovinos de todas las categorías de las razas Hereford, Charolais y cruza, a los cuales se les practicó la biopsia en el tubo, previo al pesaje que precede a su ingreso a faena.

En los establecimientos caracterizados se intervinieron un total de 26 animales: 16 vacas Holando, 3 vaquillonas cruza y 7 vacas Aberdeen Angus. Tres de ellos presentaban fotosensibilización en zona dorsal y glándula mamaria, tres adelgazamiento y signos de inapetencia habiéndose registrado muertes en los compañeros del lote, los demás animales fueron elegidos al azar entre los presentados como sospechosos por los productores tras haberse producido muertes o haberse observado a los mismos ingiriendo la planta.

Por último fueron intervenidos cuatro animales de las razas Hereford y Holando del último establecimiento descripto.

6.3 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

La técnica empleada tanto en el entrenamiento con los animales de abasto como en la toma de muestras de los animales sospechosos fue adaptada de la descrita por Moraes y Rivero (1994).

Consiste en la introducción de la aguja de biopsia hepática en el 11° espacio intercostal derecho, aproximadamente 20 cm. por debajo de la línea del dorso, donde se cruzan una línea imaginaria entre la tuberosidad externa del ileon y la escápula, con otra línea perpendicular al 11° espacio intercostal. Este punto corresponde a la ubicación topográfica del lóbulo derecho del hígado.

Previo a la introducción de la aguja se realiza depilación de la zona, anestesia local con lidocaína al 2%, antisepsia con alcohol 70° GL y una incisión de la piel con bisturí de 1,5 cm de extensión. Luego de penetrar en la cavidad abdominal en la inserción del diafragma con la pared torácica, se retira el mandil y la cánula se orienta en dirección craneocaudal hacia la articulación femorotibiorotuliana del miembro izquierdo, dándole una inclinación de aproximadamente 45° y realizando movimientos de rotación, es introducida en el parénquima hepático.

6.3.1 Instrumental

En primera instancia se utilizó un instrumento para biopsia confeccionado con una varilla de acero de 11cm que actúa como trócar, y un tubo de acero de 10,5 cm x 3mm de diámetro interno (Biopsiador 1).

Luego se utilizó un Set para biopsia hepática según técnica de Menghini (Hepafix®). El set consta de una aguja Luer Lock 16G/1,6mm y un bisturí para la realización de la incisión (Biopsiador 2). Esta aguja resultó muy frágil y se rompió al tomar la primera muestra por lo que no fue utilizada posteriormente.

El tercer instrumento utilizado fue el Set para biopsia Precisa® de 14Gx150mm. Este instrumento continuó siendo utilizado durante todo el desarrollo de este trabajo (Biopsiador 3).

Por último, se evaluó otro instrumento para biopsia hepática confeccionado, de acero, de 3,3 mm de diámetro interno x 24 cm de largo (Biopsiador 4).



Figura 2: Tres tipos de instrumentos utilizados para la realización de biopsia hepática.

Todas las muestras extraídas en esta etapa fueron identificadas y dispuestas en tubos de ensayo de vidrio con formol bufferado 10% para su posterior evaluación histológica. Se buscará determinar la presencia de tejido hepático en las muestras obtenidas.

6.4 TOMA DE MUESTRAS DE ANIMALES SOSPECHOSOS

En esta etapa fueron intervenidos: 16 vacas de la raza Holando pertenecientes a los establecimientos identificados en la primera etapa, 3 vaquillonas cruzas y 7 vacas Aberdeen Angus.

6.5 COMPARACIÓN DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS CON LOS TRES TIPOS DE INSTRUMENTAL UTILIZADOS

Con cada uno de los tres instrumentos utilizados (Biopsiador 1, Biopsiador 3 y Biopsiador 4), se tomaron muestras de un hígado enviado al Laboratorio regional noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino" el cual presentaba lesiones características de Intoxicación por Senecio spp diagnosticadas luego de haber realizado examen histológico a un fragmento del mismo, el cual hizo las veces de patrón.

6.6 PROCESAMIENTO EN LABORATORIO DE PATOLOGÍA

El procesamiento de las muestras obtenidas por biopsia hepática, fue realizado en el Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino" según procedimiento histopatológico de rutina y coloreadas con Hematoxilina Eosina.

Se evaluaron muestras de hígado tomadas con los tres tipos de instrumento utilizados en este trabajo.

6.7 ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS

Luego de obtenidas las láminas se observaron a 400 aumentos en microscopio óptico marca OLYMPUS.

6.8 DETERMINACIONES

1. Presencia de tejido hepático en la muestra.
2. Presencia de cambios patológicos característicos de seneciosis o de hepatopatía crónica (megalocitosis hepática, fibrosis e hiperplasia biliar).
3. Elección de un instrumento adecuado para la toma de muestras.
4. Dificultades inherentes a la aplicación efectiva de la técnica (Tiempo insumido en cada animal y otras apreciaciones).

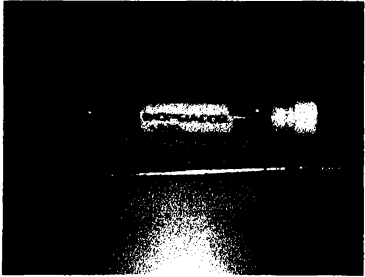
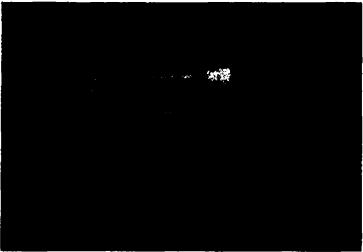
7. RESULTADOS

7.1 PRESENCIA DE TEJIDO HEPÁTICO Y EVALUACIÓN DE LAS MUESTRAS

La evaluación de las muestras tomadas durante la etapa de entrenamiento mostró resultados dispares según cual haya sido la aguja utilizada para la toma de las mismas.

Fueron evaluadas 15 muestras como se detalla en el Cuadro I, de las cuales las 5 tomadas con el Biopsiador 1, presentaron escaso tamaño y presencia de algunos hepatocitos, resultando insuficiente el material; mientras que las 10 muestras tomadas con el Biopsiador 4 se presentaron muy adecuadas y de muy buen tamaño.

Cuadro I: Evaluación de las muestras obtenidas. Etapa de entrenamiento.

| Biopsiador | Resultado |
|---|--|
|  Biopsiador 1 | 5 muestras: Todas presentaron escaso tamaño y presencia de algunos hepatocitos. Material insuficiente. |
|  Biopsiador 4 | 10 muestras: <ul style="list-style-type: none">- 8 muestras de tamaño adecuado- 2 muestras con alteración en la forma |

Como muestra el Cuadro II, para la etapa de toma de muestras de animales sospechosos fueron analizadas 25 muestras de las cuales solamente 6 llegaron al final del procedimiento y pudieron ser evaluadas, revelando de todas formas ser de mala calidad por aportar material insuficiente para el diagnóstico de la Intoxicación por Senecio. El escaso tamaño de las mismas limitó la observación de los cambios característicos de la hepatopatía crónica.

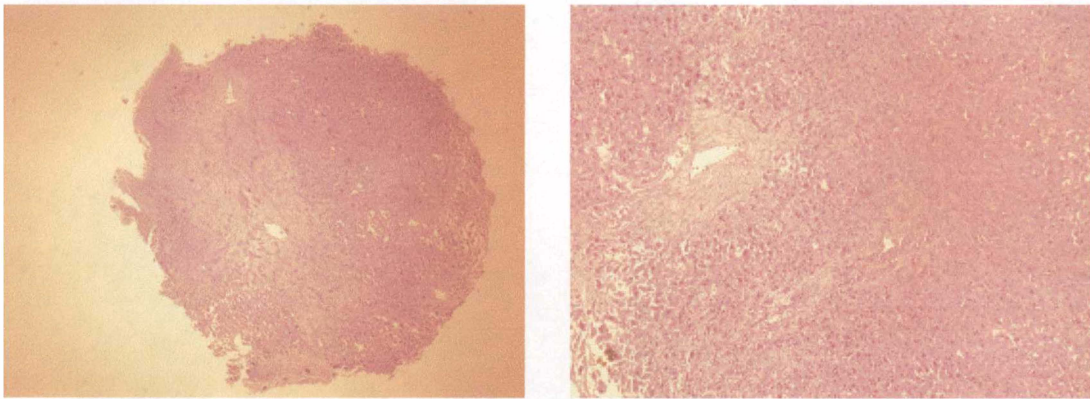
Cuadro II: Evaluación de las muestras obtenidas. Animales sospechosos.

| Biopsiador | Resultado |
|---|---|
| <div data-bbox="182 575 611 896" data-label="Image"> </div> <p data-bbox="329 948 505 981">Biopsiador 3</p> | <p data-bbox="715 614 891 647">25 muestras</p> <ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="853 672 1190 755">- 19 no completaron el procedimiento <li data-bbox="853 774 1136 807">- 2 escaso tamaño <li data-bbox="853 826 1190 859">- 3 escasa información <li data-bbox="853 879 1158 911">- 1 no hubo muestra |

El escaso tamaño de las muestras imposibilitó que el procedimiento de rutina para análisis histopatológico fuera realizado con éxito (se perdieron a través de las ranuras del cassette de plástico o no fueron recuperadas luego del pasaje por el procesador automático de tejidos).

7.2 PRESENCIA DE CAMBIOS PATOLÓGICOS CARACTERÍSTICOS DE SENECIOSIS O DE HEPATOPATÍA CRÓNICA (MEGALOCITOSIS, FIBROSIS E HIPERPLASIA BILIAR).

Las muestras tomadas de un hígado enviado a la Regional Noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino", que tenía un diagnóstico histológico confirmado de Intoxicación por Senecio spp hizo las veces de patrón. Estas revelaron cambios característicos de hepatopatía crónica como áreas de fibrosis, megalocitosis hepática y proliferación de canaliculos biliares además de una notoria desorganización de la estructura del parénquima hepático. Todas las muestras obtenidas, con las distintas agujas para biopsia, aportaron buena información.



(A)

(B)

Figura 3: (A) Aspectos histológicos de la biopsia hepática. Muestra tomada en hígado post-mortem. (B) A mayor aumento se pueden observar desorganización general de la estructura hepática y cambios característicos de Intoxicación por Senecio: áreas de fibrosis, megalocitosis y proliferación de canaliculos biliares. (Foto de muestra tomada y procesada en el Laboratorio Regional Noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino", 2008).

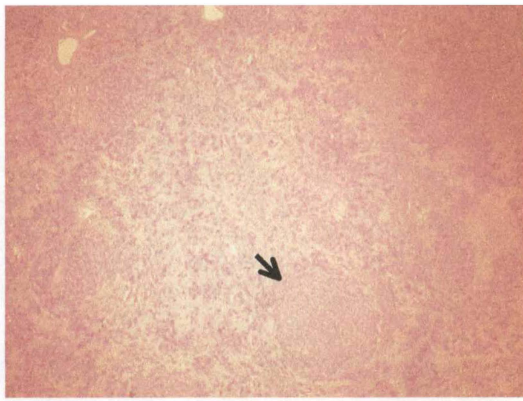

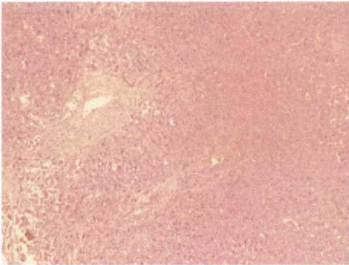
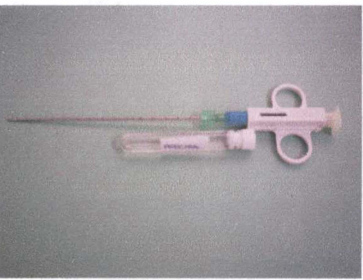
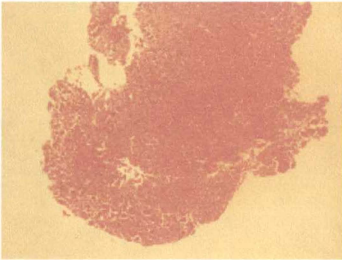

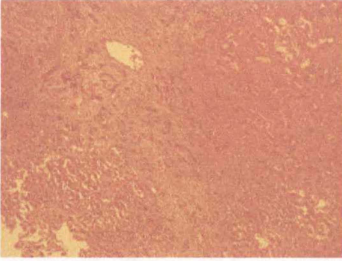


Figura 4: La flecha indica un nódulo de regeneración hepática encontrado en otro caso de Intoxicación por Senecio diagnosticado en la Regional Noroeste de la DILAVE "Miguel C. Rubino". (Rivero, R., Com. pers., 2008).

7.3 COMPARACIÓN DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS CON LOS TRES INSTRUMENTOS PARA BIOPSIA UTILIZADOS

Para el caso de esta comparación efectuada en un hígado post mortem, todas las muestras obtenidas aportaron información acerca de los cambios encontrados en el parénquima hepático debido a la Intoxicación por Senecio spp. De todas formas se puede apreciar en el Cuadro III el menor tamaño de aquella muestra obtenida con la aguja de calibre 16G (Biopsiador 3).

Cuadro III: Comparación de las muestras obtenidas de un hígado post mortem, utilizando tres tipos de aguja para biopsia.

| Instrumental utilizado | Evaluación de la muestra | | | Vista 40X |
|---|--------------------------|----|----|--|
| | 1* | 2* | 3* | |
|  <p>Biopsiador 1</p> | Si | Si | Si |  |
|  <p>Biopsiador 3</p> | Si | Si | Si |  |
|  <p>Biopsiador 4</p> | Si | Si | Si |  |

1* Presencia de tejido hepático

2* Tamaño adecuado

3* Visualización de cambios patológicos característicos de Seneciosis (megalocitosis hepática, fibrosis e hiperplasia biliar).

En todas las muestras obtenidas en esta instancia se pudo observar megalocitosis hepática, áreas de fibrosis y proliferación de conductos biliares.

7.4 DIFICULTADES INHERENTES A LA APLICACIÓN EFECTIVA DE LA TÉCNICA

7.4.1 Tiempo insumido

Se realizó biopsia de hígado según la técnica descrita insumiendo un tiempo que al inicio fue de aproximadamente 5 minutos por animal contando todo el proceso desde la introducción del trócar hasta el depósito de la muestra obtenida en el tubo con formol bufferado. Este tiempo se fue reduciendo con el advenimiento de las sucesivas biopsias, llegando a ser de aproximadamente un minuto si los animales se encuentran debidamente sujetos y no oponen resistencia a la introducción del trócar.

7.4.2 Sujeción de los animales

Los animales fueron biopsiados en el tubo, resultando más práctico que los mismos fueran aprehendidos en el cepo o en su defecto que se colocara un número de animales justo para la medida del tubo, de manera que quedaran apretados, restringiendo así sus movimientos. En ningún caso fue necesario realizar tranquilización- sedación.

8. DISCUSIÓN

La biopsia hepática es una técnica de gran importancia clínica, por lo que desde 1950 cuando fuera aplicada por primera vez en bovinos, ha sido perfeccionada por diferentes autores (Amorim, 2003).

La técnica utilizada en este trabajo fue adaptada de la descrita por Moraes y Rivero (1994) y demostró ser de fácil aplicación. Se trata de una técnica sencilla y segura, cuyo adiestramiento se adquiere rápidamente.

Las biopsias fueron realizadas en el tubo o cepo según el caso, insumiendo un tiempo que en la etapa de entrenamiento fue de 5 minutos por animal y luego descendió a aproximadamente un minuto, contando desde la introducción del trócar hasta el depósito de la muestra en el tubo con formol bufferado. Esto coincide con los tiempos mencionados por Moraes y Rivero (1994) y Barros y col., (2007). Para Moraes y Rivero (1994), un operador no entrenado no demora más de cinco minutos por animal en la extracción de la muestra, mientras que Barros y col, (2007) en un día de trabajo con dos turnos de aproximadamente cuatro horas cada uno, intervinieron 80 animales lo que representa un promedio de 6 minutos por bovino. Para estos últimos autores, el tiempo necesario para la realización de la biopsia hepática es poco mayor al empleado para la aplicación de una inyección y permite que varios bovinos de un rebaño sean testeados.

La biopsia hepática fue realizada a 58 animales durante el desarrollo de este trabajo sin presentar dificultades para su aplicación, así como ningún efecto adverso para los animales intervenidos.

La biopsia hepática puede ser indicada para el diagnóstico de la Intoxicación por *Senecio spp* ya que la lesión que causa es difusa y no se necesita orientación para la biopsia (Barros y col, 2007).

Es una herramienta útil para ser empleada para el diagnóstico pero fundamentalmente para el pronóstico productivo-económico de un rodeo en el que se hayan producido muertes o pérdidas por alteraciones hepáticas irreversibles (Moraes y Rivero, 1994).

A pesar de la utilidad de la biopsia hepática en el diagnóstico y fundamentalmente en el pronóstico productivo económico de rodeos en los que se hayan producido muertes o pérdidas por alteraciones hepáticas irreversibles (Moraes y Rivero, 1994), la técnica no está del todo difundida entre los veterinarios de nuestro medio. Esto ocurre por desconocimiento de su aplicación y falta de uso de la misma.

El instrumental de biopsia es diverso, no habiéndose estandarizado las características óptimas que debe reunir una aguja de biopsia para la toma de muestras adecuadas al procesamiento del laboratorio de patología (Rivero, Com. pers., 2007).

Los calibres varían desde 2,4 mm (Moraes y Rivero, 1994) hasta 4 mm para Loosmore & Allcroft (1951), 5mm para Rosemberger (1977) y 70mm para Amorim y col. (2003). La mayor limitante encontrada a este nivel ha sido el escaso tamaño de las muestras que llegan al laboratorio, impidiendo el manipuleo de las mismas o en otros casos impidiendo un diagnóstico preciso. En este trabajo, en el cual se evaluaron tres calibres de agujas para biopsia (Biopsiador 1, 3 y 4), las mejores muestras fueron obtenidas con la aguja de calibre 3,3 mm. (Biopsiador 4), no habiéndose alcanzado buenos resultados con agujas de calibre interno menor a 3 mm.

Dos de las agujas utilizadas en este trabajo, incluyendo a la que proporcionó las mejores muestras (Biopsiador 4), fueron de confección propia. Al respecto, Kelly, (2002), menciona que el equipamiento necesario para la biopsia hepática es sencillo y puede ser fabricado en cualquier tornería con una varilla y un tubo de acero (Kelly, 2002).

El Biopsiador 2 o aguja para biopsia hepática según técnica de Menghini (Hepafix®) no pudo ser evaluado. Resultó ser muy frágil y se rompió al tomar la primera muestra por lo que no existen datos discutibles acerca de la utilidad de esta aguja.

El Biopsiador 4 permitió obtener un adecuado tamaño de muestra lo cual permitió realizar un diagnóstico adecuado y además resultó práctico de utilizar a nivel de campo.

El Biopsiador 1 de 3 mm de calibre interno también permitió un tamaño de muestra adecuado pero la falta de filo en el extremo del tubo de acero que contacta con el parénquima hepático hizo que las muestras obtenidas se encontraran deshilachadas al momento de la evaluación histopatológica. Kelly (2002), hace referencia al mantenimiento del instrumental en condiciones adecuadas, mencionando que la toma de muestras de calidad se ve facilitada con el afilado de la cánula antes de su uso y recordando girarla antes de introducirla al parénquima hepático. A propósito del mantenimiento del instrumental, también se recomienda guardarlo limpio y seco, sin restos de antiséptico y envuelto en papel de aluminio (Moraes, J., Com. Pers., 2008).

Las muestras obtenidas durante la etapa de entrenamiento en animales previo a la faena revelaron escasa presencia de tejido hepático. El instrumento utilizado para la toma de muestras en esta etapa (Biopsiador 1) pudo ser responsable ya que el tubo utilizado para cortar el parénquima hepático presentaba carencias de filo en su extremo en contacto con el órgano.

Las muestras previo al examen histológico se veían disgregadas. La ausencia de tejido hepático también puede ser atribuible a la inexperiencia del operador, pero se ha demostrado que un operador no entrenado es capaz de realizar una biopsia hepática y no demora más de cinco minutos por animal en la extracción de la muestra (Moraes y Rivero, 1994).

En la etapa de toma de muestras de animales sospechosos, se obtuvieron 25 muestras tomadas con la aguja de biopsia de 16G (Biopsiador 3)-, de las cuales 19 no completaron con suceso el procedimiento de análisis histológico de rutina.

El escaso tamaño de las mismas hizo que 4 de ellas no pudieran quedar retenidas en el cassette de plástico y que las 15 restantes no lograran quedar retenidas en el cassette luego de los baños de inmersión durante el procesamiento que termina con la inclusión de las muestras en parafina. Quizás esto se podría evitar realizando un procesamiento manual de las muestras o con la colocación de una gasa dentro del cassette que impida la fuga de las muestras.

Solamente 6 muestras llegaron hasta el final del proceso del análisis histológico debido al insuficiente tamaño de las mismas, revelando en la mitad de los casos escasa presencia de tejido hepático, en uno de los casos no se obtuvo tejido hepático y en dos de los casos las muestras apenas permitieron separar grandes componentes resultando imposible determinar si existían lesiones.

La aguja utilizada, con un calibre de 16G fue impedimento para la toma de muestras de tamaño adecuado. El escaso calibre de esta aguja hizo que el tamaño de las muestras obtenidas no fuera suficiente como para poder realizar el diagnóstico de los cambios característicos de hepatopatía crónica. En dos de las muestras se observaron hemorragias producidas por el instrumental de biopsia.

El Biopsiador 3, demostró ser útil para el diagnóstico de Intoxicación por Senecio spp solamente en el hígado post-mortem.

Al realizarse la comparación de los 3 instrumentos en un hígado lesionado post-mortem, todos permitieron obtener buena información.

El Biopsiador 1 aportó una muestra de tamaño adecuado pero presentó el inconveniente de la falta de filo en el extremo de la cánula que toma contacto con el parénquima hepático. El instrumento no fue afilado previo a la extracción de las muestras lo cual nos lleva a pensar que el instrumento por más adecuado que sea como en este caso, debe presentar buen filo y un adecuado mantenimiento.

El Biopsiador 3 a pesar de su menor calibre fue capaz de aportar en este caso información suficiente como para el diagnóstico de las lesiones causadas por la Intoxicación por Senecio spp.

El Biopsiador 4 fue evaluado tanto en la extracción de muestras de hígados sanos como lesionados, todos post-mortem, aportando una muestra adecuada y demostrando ser útil en ambos casos.

Cuando evaluado en animales in vivo permitió obtener resultados equivalentes. Este instrumento fue el que aportó la mejor muestra y la más representativa a pesar de que en dos de los casos la muestra no presentó exactamente forma cilíndrica y se observaron hemorragias que dificultan el diagnóstico.

La biopsia hepática es adecuada para controlar el curso de hepatopatías y también para determinar el contenido en vitaminas A, E, glucógeno, grasa, enzimas, plomo, cobre y otras sustancias del hígado (Rosemberger, 1977). Para Kelly (2002), una muestra de 7mm provee suficiente tejido para un buen estudio histológico y también para un análisis químico, mientras que Amorim y col. (2003), en su estudio sobre la aplicación de la biopsia hepática para el diagnóstico de los desequilibrios minerales de los bovinos y composición bromatológica del órgano obtuvieron fragmentos con un peso variable entre 0,6 y 1,8 g utilizando una aguja con un largo de mandil 25 cm., largo de la cánula 23 cm., diámetro interno de la cánula 0,7 cm y externo 0,8 cm.

En este trabajo, en el cual las muestras eran sometidas únicamente a estudio histológico y no de composición de minerales, las muestras tomadas con instrumental de 3,3 mm de calibre interno fueron evaluadas como muy buenas y cumplieron exitosamente todo el proceso de laboratorio.

Considerando que la biopsia hepática es una técnica segura y eficaz que permite obtener rápidamente fragmentos adecuados para análisis histopatológico (Amorim y col., 2003) y sabiendo que las pruebas de funcionalidad hepática son de escasa significación diagnóstica (Podestá y col., 1976) además de lo antieconómico de su aplicación, se puede decir que la biopsia hepática sería el método más adecuado para el diagnóstico de la Intoxicación por *Senecio* spp.

La biopsia hepática puede ser indicada para identificar bovinos con lesiones hepáticas pero sin signos clínicos y puede tener también valor pronóstico, una vez que se cree que las lesiones hepáticas evolucionen para causar insuficiencia hepática y muerte. Estos bovinos podrían ser identificados por la biopsia hepática y enviados a faena antes que desarrollen signos clínicos, minimizando así las pérdidas (Barros y col., 2007).

Durante el desarrollo de este trabajo no se observó ninguna reacción adversa a la realización de la biopsia hepática. Chapman y col. (1963), citado por Amorim y col. (2003), repitieron el procedimiento de la biopsia hepática cada 28 días en un mismo animal, durante dos años sin observar perjuicios al desarrollo corporal. Moraes y Rivero, (1994) tampoco observaron problemas de salud ni de producción ni alteraciones en el post-mortem salvo la identificación del lugar de la punción (Moraes y Rivero, 1994).

9. CONCLUSIONES

- La técnica de la biopsia hepática es sencilla, de fácil aplicación para el veterinario, permitiendo diagnosticar la fibrosis responsable de la Intoxicación por Senecio en el hígado post- mortem utilizado como patrón.
- El tamaño de la muestra obtenida podría ser una limitante para el diagnóstico histológico por lo que debe ser tomada con agujas de calibre interno de por lo menos 3mm.
- La destreza en la técnica se adquiere rápidamente y el tiempo insumido en la intervención de un animal es de aproximadamente un minuto si los mismos se encuentran contenidos por el cepo o debidamente sujetos.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amorim, R.M., Borges, A.S., Graf Kuchembuck. M.R., Takahira, R.K., Alencar, N.X. (2003) Bioquímica e hemograma de bovinos antes e após a técnica de biópsia hepática. *Ciência Rural Santa María*, 33:519-523.
2. Araya, O. Seneciosis en caballos.(1990) *Monografías de Medicina Veterinaria*,12:3-10.
3. Asociación Uruguaya de Veterinarios Especialistas en Laboratorios (2008) Aranceles. Disponible en <http://www.smvu.com.uy/paginas/aranceles.xls> Fecha de consulta: 8 de mayo de 2008.
4. Barros, C. S. L. , Castilhos, L. M. , Rissi, D. R. , Kommers, G.D. , Rech, R. R. (2007) Biópsia hepática no diagnóstico da intoxicação por *Senecio brasiliensis* em bovinos. *Pesq. Vet. Bras*, 27:53-60.
5. Barros, C.S., Driemeier, D., Pilati, C., Barros, S.S., Castilhos, L.M. (1992) *Senecio Spp Poisoning in Cattle in Southern Brazil*. *Vet Hum Toxicol*, 34:241-246.
6. Barros, C.S.L., Metzdorf, L.L., Peixoto, P.V. (1987) Ocorrência de surtos de intoxicação por *Senecio spp. (Compositae)* em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras*, 7:101-107.
7. Bloom, W., Fawcett, D.W. (1995) *Tratado de Histología*. 12ª.ed. Madrid. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill. 1044 p.
8. Bruneton, J. (2001) *Plantas tóxicas. Vegetales peligrosos para el hombre y los animales*. Zaragoza. Acribia. 527 p.
9. Bull, L.B. (1955) The histological evidence of liver damage from pyrrolizidine alkaloids: megalocytosis of the liver cells and inclusion globules. *Aust. Vet.J.* (31):33-40.
10. Bull, L.B. (1961) Liver diseases in livestock from intake of hepatotoxic substances. *Aust. Vet. J.* 37:126-130.
11. Chapman, H.L.Jr.; Cox, D.H.; Haines, C.E.; Davis, G.K.(1963) Evaluation of the Liver Biopsy Technique for Mineral Nutrition Studies with Beef Cattle. *J Anim Sci* 22: 733-737. Disponible en <http://jas.fass.org/> Fecha de consulta: 8 de abril de 2008.

12. Erwin, E.S.; Dyer, I.A.; Meyer, T.O.; Scott, T.W. (1956) Uses of aspiration biopsy technique. *J Anim Sci* 15: 428-434. Disponible en <http://jas.fass.org/> Fecha de consulta: 8 de abril de 2008.
13. Gallo, G. (1987). Plantas tóxicas para el ganado en el cono sur de América. 2a. ed. Buenos Aires. Hemisferio Sur, 213p.
14. Gava, A. , Barros, C.S.L. (1997) Senecio spp poisoning in horses in southern Brazil. *Pesq. Vet. Bras*, 17:36-40.
15. Ilha, M.R.S., Loretto, A.P., Barros, S.S., Barros, C.S.L. (2001) Intoxicação espontanea por Senecio brasiliensis (Asteraceae) em ovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras*, 21:123-138.
16. Karam, F.S.C. , Méndez, M.C., Jarenkow, J. A. , Riet-Correa, F.(2002) Fenologia de quatro espécies tóxicas de Senecio (Asteraceae) na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras*, 22:33-39.
17. Karam, F.S.C. , Pereira Soares, M., Haraguchi, M., Riet-Correa, F., Méndez, M.C., Jarenkow, J. A. (2004) Aspectos epidemiológicos da seneciose na região sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras*, 24:191-198.
18. Kelly, R. (1990) El hígado y el sistema biliar. En: Jubb, K.V., Kennedy, P.C., Palmer, N. *Patología de los animales domésticos*. Vol.2. 3ª. ed. Montevideo. Agropecuaria Hemisferio Sur . pp. 277-360.
19. Kelly, R. (2002) Enfermedad del hígado en grandes y pequeños rumiantes. XXX Jornadas de Buiatría. Paysandú. Uruguay. p.1-6.
20. Loosmore, R.M. ; Allcroft, R. (1951) Technique and use of liver biopsy in cattle. *Vet Rec*, 63: 414-416.
21. Marzocca, A., Marisco, O. J., Del Puerto, O. (1976). Guía de identificación de las principales malezas. En: Marzocca, A.; Marisco, O. J.; Del Puerto, O. *Manual de malezas*. 3a ed. Buenos Aires. Hemisferio Sur, pp.137-507.
22. Méndez, M.C., Riet-Correa, F. (2000). *Plantas Tóxicas e Micotoxinoses*. Pelotas: Editora e Gráfica Universitaria UFP, Faculdade de Veterinaria, 112 p.
23. Méndez, M.C., Riet-Correa, F., Schild, A.L. (1987) Intoxicação por Senecio spp. (Compositae) em bovinos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras*, 7:51-56.

24. Molyneux R.J., Johnson, A.E., Stuart, L.D. (1988). Delayed manifestation of Senecio-induced pyrrolizidine alkaloidosis in cattle: case reports. *Vet Hum Toxicol.* 30(3):201-5.
25. Moraes, J., Iburguren, S. (1998) Prevalencia y etiología de abscesos hepáticos en vacas lecheras. Estudio en frigorífico II. XXVI Jornadas de Buiatría. Paysandú. Uruguay. p.21-22.
26. Moraes, J., Rivero, R. (1991) La seneciosis en bovinos como limitante productiva. 2das Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay. pp. 36.
27. Moraes, J., Rivero, R. (1994) Biopsia hepática en bovinos: su aplicación clínica. 3as. Jornadas Técnicas de la Facultad de Veterinaria. Montevideo. Uruguay. pp. 65.
28. Nari, A., Fiel, C. (1994) Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos: bases epidemiológicas para su prevención y control en Argentina y Uruguay. Montevideo. Hemisferio Sur. 519 p.
29. Podestá, M. et al. (1977) Seneciosis en bovinos. Su comprobación en el Uruguay. *Rev. Vet. (Uruguay)* 64:97-112.
30. Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Hinchcliff, K.W. (1999) *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* 9ª ed. Madrid. Mc Graw-Hill – Interamericana. 2V.
31. Riet Correa, F., Méndez, M. C., Schild, A. L. (1993) *Intoxicações por plantas e micotoxícoses em animais domésticos. Volume I.* Montevideo. Agropecuaria Hemisferio Sur. 340 p.
32. Riet-Correa F., Medeiros R.M.T. (2001) Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. *Pesq. Vet. Bras.*, v.21, n.1, p.38-41.
33. Rivero R., Riet-Correa F., Dutra F. (2000) Toxic plants affecting cattle and sheep in Uruguay. En: XXI World Buiatrics Congress, Punta del Este, Uruguay, 4- 8 diciembre de 2000 . p. 10.
34. Rivero, R. ; Quintana, S. ; Féola, R. ; Haedo, F. (1989) Principales enfermedades diagnosticadas em el área de influencia del laboratorio de diagnóstico regional noroeste del C.I.VET. "Miguel C. Rubino". XXII Jornadas de Buiatría. Paysandú. Uruguay. p 130-131.

35. Rivero, R., César, D. (1993) Principales enfermedades diagnosticadas o sospechadas en los últimos años en el país. 2do. Curso de reciclaje para egresados. Facultad de Veterinaria. Plan Piloto Paysandú. Uruguay. H22,H26.
36. Rosemberger, G. (1981) Exploración clínica de los bovinos. 2ª ed. Buenos Aires. Hemisferio Sur. 463 p.
37. Santos, J.C.A., Riet- Correa, F., Simoes, S.V.D., Barros, C.S.L. (2008) Patogênese, sinais clínicos e patologia das doenças causadas por plantas hepatotóxicas em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesq. Vet. Bras*, 28:1-14.
38. Simpson, J.W. (1985) A new biopsy needle for use in the diagnosis of liver disease. *Vet Rec*. 117: 639-640.
39. Tokarnia C.H., Döbereiner J., Peixoto P.V. (2000). Plantas tóxicas do Brasil. Rio de Janeiro. Helianthus, 297p.
40. Universidad de la República. Facultad de Veterinaria. Instituto de Farmacología y Medicina Experimental. Cátedra de Toxicología. (1990) Seneciosis en bovinos. Detección química de los alcaloides de *Senecio brasiliensis* var. *Tripartitus* en la planta. Montevideo. UdelaR. [2] p.
41. Uruguay. Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Estadísticas Agropecuarias (2006). Anuario estadístico agropecuario 2007. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/diea/anuario2007/htm/index.htm>. [Fecha de consulta: 25 de marzo de 2008].
42. Villar, D., Ortiz, J. (2006). Plantas tóxicas de interés veterinario: Casos clínicos. Barcelona. Masson. 179 p.
43. Zeinsteger, P., Romero, A., Teibler, P., Montenegro M., Ríos, E.M., Acosta de Pérez, O., Jorge, N. (2003) Toxicidad de compuestos volátiles de flores de *Senecio grisebachii* BAKER (margarita), en ratones. *Revista Investigaciones Agropecuarias*, INTA, 32:125-136.