

## Intoxicación por *Condalia microphylla* (Piquillín). Descripción clínica y patológica y su reproducción experimental.

Delgado, F.<sup>1</sup>; Salvat, A.<sup>1</sup>; Capellino, F.<sup>1</sup>; Antonacci, L.<sup>1</sup>; Godoy, H.<sup>1</sup>; Blanco Viera, F.J.<sup>1</sup>

1. Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA Castelar. CC 25, 1712, Moron, Bs. As. Argentina fdelgado@cnia.inta.gov.ar

**Palabras claves:** *Condalia microphylla*, Piquillín, intoxicación, reproducción experimental, degeneración axonal.

**Keywords:** *Condalia microphylla*, Piquillín, poisoning, experimental reproduction, axonal degeneration.

### RESUMEN

La intoxicación por *Condalia microphylla* (Piquillín) fue identificada en Argentina, afectando a bovinos tras el consumo de su corteza. Los mismos manifestaron signos neurológicos, con lesiones en la médula espinal. El objetivo del presente trabajo es reproducir experimentalmente la intoxicación en bovinos, porcinos y cobayos. Para esto, se utilizaron dos bovinos, dos porcinos y nueve cobayos a los que se administró corteza molida, utilizando un porcino y un cobayo como controles negativos. Tras la aparición de signos clínicos se realizó la necropsia, recolectándose muestras de sistema nervioso central. Los signos y las lesiones microscópicas observadas en todas las especies coinciden con los descritos previamente en bovinos. Los resultados obtenidos permiten concluir que el metabolismo ruminal del tóxico no es necesario para el desarrollo de la enfermedad. El cobayo puede ser utilizado como modelo experimental de la enfermedad.

### SUMMARY

***Condalia microphylla* (Piquillín) disease. Clinical and pathological description and experimental reproduction.**

*Condalia microphylla* (Piquillín) poisoning was identified in cattle from Argentina after Piquillín cortex consumption. Sick animals showed neurological signs, with spinal cord lesions characterized by axonal degeneration and vacuolation of the myelin sheath. In this work we experimentally reproduce the disease in two bovines, two swine and nine guinea pigs, using one pig and one guinea pig as negative controls. Once clinical signs appeared, animals were sacrificed, and central nervous system samples taken for histopathological studies. Clinical signs and lesions were similar to those seen in natural bovine cases of Piquillín poisoning previously described. Our results suggest that these toxics do not need the ruminal metabolism for the disease to develop. The Guinea pig can be used as an experimental model for Piquillín poisoning research.

### Introducción

La intoxicación por *Condalia microphylla* fue identificada en Argentina sin encontrarse antecedentes de este cuadro en otra región del mundo. Se han descrito casos naturales de esta intoxicación en bovinos, realizándose la primera descripción de este cuadro a partir de animales que desarrollaron sintomatología neurológica en el sur de la Provincia de Buenos Aires (Blanco Viera y otros, 2000).

*Condalia microphylla* (Piquillín) es un arbusto perteneciente a la familia de las *Rhamnaceae*. Su altura va de 0.5 a 2 metros y se presenta con ramitas espiciformes de 2-6 cm., muchas veces espinosas. En Argentina habita desde el Sur de la provincia de Salta hasta la provincia de Chubut. En la Patagonia se distribuye en el Norte y Este de Río Negro, Península de Valdez y en el extremo NE de Chubut. Sus hojas tienen un tamaño de 4-8 x 1.5-2.5 mm, aunque en los ejemplares no patagónicos suelen ser mayores. Sus láminas son

elípticas o elíptico-obovada, mucronada. Sus flores son amarillo-verdosas, glabras en los ejemplares de la Patagonia y sus frutos son de forma ovoide, negros, rojos o amarillentos de 7-9 x 4-6 mm (Correa 1988). No es una especie vegetal forrajera, ni particularmente apetecida por los animales. Éstos la consumen de manera aislada bajo ciertas condiciones ambientales o de manejo, (Bedotti y otros, 2004) como puede ser el desmonte "a cadena" que expone el tronco del arbusto, facilitando el acceso a su corteza, que es masticada por los animales probablemente por falta de otra fuente de alimento, aburrimiento u otra causa todavía no dilucidada.

El cuadro clínico de la enfermedad, descrito a partir de casos naturales, se caracteriza por la aparición de incoordinación, ataxia y paresia, afectando inicialmente los miembros posteriores, visualizándose como primer signo una flexión exagerada de la articulación metatarso falangeana. Pese a la disminución motriz que sufren los animales, el

sensorio parece no estar afectado ya que los animales intoxicados mantienen el apetito y reaccionan ante estímulos sensoriales (Blanco Viera y otros, 2000).

El estudio anatomopatológico de estos animales no reveló lesiones macroscópicas de significación. Al examen microscópico fue descrita la observación de degeneración axonal difusa en la médula espinal, con deformación de las vainas de mielina, y presencia de pequeños focos de gliosis en la sustancia gris medular (Blanco Viera y otros, 2000).

Se han realizado escasos reportes de casos de animales intoxicados en diversas regiones del país, en concordancia con la distribución geográfica del Piquillín (Blanco Viera y otros, 2000; Bedotti y otros, 2004).

El objetivo de este trabajo es describir los resultados obtenidos en los ensayos de reproducción experimental de la intoxicación por *Condalia microphylla*, en diferentes especies animales productivas y de experimentación.

## Materiales y métodos

### Extracción y molienda de corteza de *C. microphylla*

Ramas de *C. microphylla* fueron remitidas al Instituto de Patobiología, CICVyA, INTA, provenientes de la zona de Carmen de Patagones, Pcia. de Buenos Aires. Se separó manualmente la corteza, que fue molida exhaustivamente utilizando un molino de martillo, hasta alcanzar partículas menores a 1,5 mm, bajo campana de extracción, debido al desconocimiento de las propiedades toxicológicas del material en estudio.

### Especies animales utilizadas y tratamiento

Se realizaron reproducciones experimentales con bovinos, porcinos y cobayos a los que se administró corteza molida de *C. microphylla* hasta la aparición de signos clínicos.

Se utilizaron dos bovinos de cuatro meses de edad de 90 y 100 kg de peso vivo (KPV) a los cuales se les suministró diariamente una dosis de 50 g y 25 g por día respectivamente de corteza de Piquillín, y 10 cobayos de 350 g de peso que se distribuyeron al azar en cuatro grupos, a los que se les asignó los siguientes tratamientos: control (1 animal), 3 gr (3 animales), 6 gr (3 animales) y 9 gr (3 animales).

Por otra parte se trabajó con dos porcinos de 10 KPV cuyo tratamiento consistió en la administración de 4 g diarios de corteza mezclados con un puñado de maíz. Esta dosificación fue utilizada durante 34 días, modificándose luego la misma a 12 g de corteza molida por día a cada uno. Como testigo se utilizaron un porcino y un cobayo de igual características a los tratados, sin administrársele corteza (cuadro 1).

Los porcinos y bovinos en experimentación fueron mantenidos en boxes de aislamiento individuales con fuentes de agua y alimento independientes, observados y revisados diariamente. Los cobayos permanecieron en jaulas individuales con recipientes de agua y alimento individuales y fueron observados cuidadosamente para detectar la presencia de síntomas neurológicos. Se registró diariamente el consumo de alimento y se calculó la ingesta promedio de corteza de piquillín en cada grupo.

Los bovinos y porcinos fueron sacrificados mediante inyección intravenosa de barbitúrico, y los cobayos mediante la respiración de una atmósfera saturada de dióxido de carbono, en cámara especial, siguiendo los criterios sobre manejo y experimentación animal del Instituto de Patobiología.

**Cuadro 1**

Especie (Nº animales)	Grupos (Nº animales)	Tratamiento (g/día)	Duración (días)	Signos clínicos	Lesiones microscópicas
Bovinos (2)	Único (2)	25 y 50	7	SI	Deg. axonal, deformación vainas mielina.
Cobayos (10)	Control (1)	0	4	NO	NO
	1 (3)	3		SI	Deg. axonal, deformación vainas mielina.
	2 (3)	6			
	3 (3)	9			
Porcinos (3)	Control (1)	0	11	NO	NO
	Tratamiento (2)	12*		SI	Deg. axonal, deformación vainas mielina.

\*Previamente se administró 4 g de corteza molida por 34 días, sin desarrollo de signología.

Se indican las especies utilizadas en la reproducción experimental, número de animales utilizados, tratamiento, y aparición de signos clínicos y lesiones

### Muestras recolectadas y procesamiento histológico

Tras la eutanasia de los animales se practicó necropsia de cada uno de ellos. Se recolectaron muestras de sistema nervioso central (SNC) (encéfalo y médula espinal cervical, torácica, lumbar y sacra), bazo, hígado, riñón, corazón y pulmón, que

fueron fijadas en solución salina de formaldehído al 10%. Para el procesamiento histológico se tomaron fracciones de 0.5 cm de espesor de cada muestra, que fueron luego incluidas en parafina según procedimiento histológico de rutina (Luna, 1968a). De las muestras incluidas, se obtuvieron mediante

corte con micrótopo secciones de 3-5 µm de espesor, se colorearon con hematoxilina y eosina según técnica de rutina (Luna, 1968b), y se observaron en un microscopio óptico Leitz Dialux. Las fotografías fueron tomadas con cámara digital Olympus montada al microscopio.

## Resultados

### **Signos clínicos**

Todos los animales tratados desarrollaron sintomatología neurológica, los bovinos a los 7 días, los cobayos a los 4, y los porcinos tras la administración de 11 dosis de 12 gr. Los bovinos y porcinos manifestaron al inicio leve alteración de la posición de un miembro posterior, hiporreflexia y disminución sensitiva, progresando hasta desarrollar ataxia, paresia y parálisis de ambos miembros posteriores, afectándose luego los miembros anteriores, desarrollando finalmente dificultad respiratoria (Foto 1). El sensorio de los animales fue normal durante casi todo el periodo clínico, mostrando

sopor sobre el final del mismo, en coincidencia con la depresión respiratoria. El apetito fue normal hasta esta última etapa del cuadro clínico. En los cobayos el cuadro fue similar, aunque se observó afección de miembros anteriores y posteriores casi simultáneamente, sin mostrar alteraciones en el sensorio ni apetito. Los animales testigo no desarrollaron signos clínicos.

### **Hallazgos macroscópicos**

No se observaron alteraciones macroscópicas de significación patológica que se pudieran relacionar con el cuadro observado, en ninguno de los animales en estudio.

### **Hallazgos microscópicos**

En las muestras de SNC analizadas se observó, en todas las secciones de la médula espinal, grados variables de vacuolización en sustancia blanca con degeneración axonal y deformación de las vainas de mielina en los cordones dorsal, ventral y lateral, y pequeños focos de gliosis en la sustancia gris medular (Foto 2). El grado de lesión observado fue similar en todas las regiones medulares analizadas.

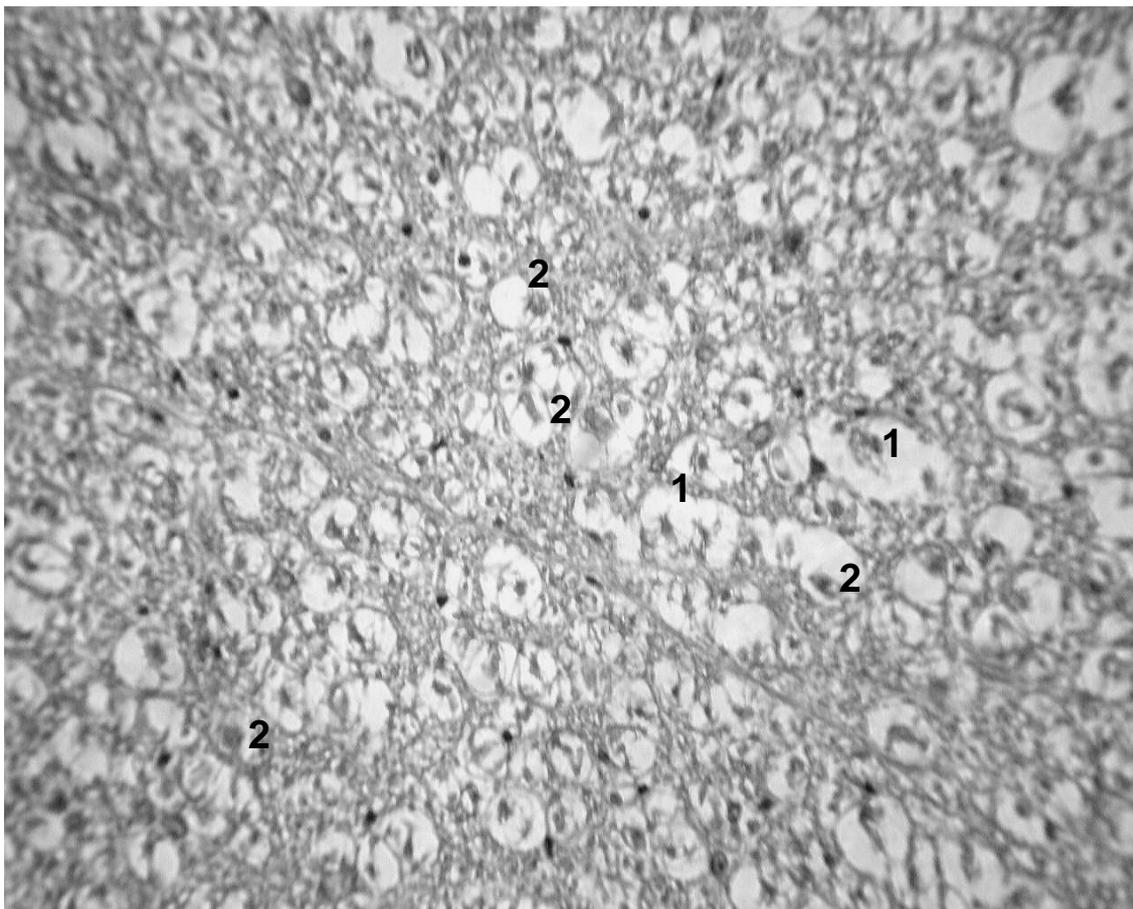
En los restantes órganos y en los animales control no se evidenciaron lesiones microscópicas de importancia patológica.

**Foto 1.**



Porcino con ataxia y dificultad para mantener la estación tras la administración de 12 dosis de 12 g. de corteza de *C. microphylla*. Obsérvese la posición de los miembros posteriores, con flexión de la articulación coxofemoral y extensión de las demás articulaciones de los miembros posteriores.

Foto 2.



Aspecto microscópico de la médula espinal (H-E, 400X). Se observa: 1- Irregularidad en el tamaño y forma de la vaina de mielina, 2- Alteración en el tamaño y forma de los axones (Degeneración axonal)

## Discusión

Las especies animales de producción padecen una serie de entidades nosológicas caracterizadas por sintomatología neurológica, de etiología muy variable. Diversas intoxicaciones son conocidas por producir desórdenes neurológicos en distintas especies. Plantas tóxicas, productos fúngicos, fármacos y sustancias químicas han sido identificados como causas de enfermedad en bovinos, porcinos y otras especies (Blood, D. C y otros, 1997). La intoxicación por *Condalia microphylla* (piquillín), no ha sido descrita en otras regiones del mundo, por lo que su descripción es de suma importancia para el medio agropecuario local.

La sintomatología descrita en los casos de intoxicación natural y la observada en las reproducciones

experimentales realizadas fueron similares. En todos los casos la sintomatología neurológica fue evidente y no dejó lugar a dudas. El cuadro clínico evolucionó siempre de caudal a craneal y, salvo en los cobayos donde el examen clínico y la percepción pudieron ser algo confusos, el estado del sensorio se mantuvo siempre alerta hasta el final. La progresión ascendente de los trastornos neurológicos fue una constante en los animales de producción, iniciándose con hiporreflexia y alteración de la posición de un miembro posterior, para finalizar con tetraparesia, ataxia y disnea que obligaron la eutanasia del animal afectado.

Los resultados de necropsia no demostraron lesiones macroscópicas de importancia, mientras que la histopatología reveló cuadros degenerativos a nivel de la médula espinal

con degeneración axonal, y afección de las vainas de mielina. Los pulmones no mostraron alteraciones patológicas, por lo que puede suponerse que el origen de la disnea sea principalmente de índole neurológico y no consecuencia de una afección respiratoria primaria. Esto coincide con los tiempos observados en la progresión clínica, en la que puede verse una alteración motriz inicial en los miembros posteriores, afectando luego los anteriores, observándose finalmente y casi en simultáneo depresión del sensorio y alteraciones respiratorias. La reproducción experimental de la intoxicación tras la ingesta de corteza molida de Piquillín en especies monogástricas y ruminantes indicaría que el principio tóxico se encuentra en dicha porción de la planta, y que no es necesaria la metabolización del mismo por microorganismos rumi-

nales para el desarrollo de la enfermedad. Esto queda en evidencia tras la aparición de sintomatología en porcinos y cobayos, luego del consumo de corteza molida. No podemos estimar la dosis necesaria que debe ingerir un animal para enfermar, pero de acuerdo a lo observado con los porcinos podríamos sospechar que, por debajo de cierta dosis ingerida, los animales no enferman, ya que tras 34 días de recibir una cantidad fija no mostraron sintomatología, debiéndose triplicar la misma para que se desarrolle el cuadro tóxico.

Las lesiones observadas no permiten identificar en qué sitio se origina el trastorno, ya que se vieron afectados todos los cordones, a lo largo de la médula espinal. El cuadro clínico podría responder a una lesión axonal iniciada en porciones caudales de la médula espinal, que asciende progresivamente hacia craneal afectando la propiocepción y la motilidad de los miembros anteriores, para finalizar involucrando regiones más craneales, donde se originan por ejemplo los nervios frénicos (Segmentos Cervicales 5, 6 y 7) (Ghoshal, N. G, 1995). Esto podría coincidir temporalmente con alteraciones en la conducción axonal en el encéfalo, ya que clínicamente se observa, en este período, disminución del estado del sensorio, pese a no identificarse daño histológico en las preparaciones observadas, lo que indicaría un trastorno funcional anterior a la aparición de las lesiones. Nuevos estudios serán necesarios para conocer detalles de la patogenia de esta intoxicación, como así también para evaluar cuál es la dosis letal de corteza para cada especie de interés.

La reproducción experimental de la intoxicación en cobayos permite inferir que esta especie de laboratorio podría ser utilizada para futuras investigaciones de la enfermedad. La administración de corteza no fue sencilla. La misma se realizó mezclando la corteza molida al pellet ofrecido como alimento también molido, lo que dificultó asegurar el consumo completo de la dosis experimental. El examen clínico de los animales, si bien es sencillo, requiere de cierto conocimiento particular de la especie, limitando el tamaño de la misma, la interpretación de ciertas maniobras semiológicas. Si bien la realización de la necropsia no tiene complicaciones en esta especie, la toma de muestra de médula espinal es relativamente dificultosa, ya que la misma puede dañarse al momento de la apertura del canal medular. Pese a esto, la susceptibilidad presentada y la posibilidad de realizar experimentos con varios individuos en poco espacio con bajos costos de mantenimiento por animal, hacen que sea recomendable la utilización de esta especie en ensayos de investigación referidos a la intoxicación por consumo de *Condalia microphylla*.

Los resultados del presente trabajo indican la presencia del tóxico en la corteza de *C. microphylla*, aunque no explican el motivo por el cual los animales consumen la misma en condiciones naturales. Por otro lado, no hemos utilizado otras porciones del vegetal, por lo que desconocemos si podrían contener el tóxico o no. Deberán realizarse futuros trabajos que permitan contestar estos y otros interrogantes, como ser la existencia de variación estacional, geográfica y lograr la caracterización

del o los probables principios activos responsables de la intoxicación.

Durante la redacción del presente trabajo fue comunicada la intoxicación natural de casos en porcinos bajo producción semi-intensiva (Delgado y otros, 2006). En la misma se describe la aparición de animales con signología neurológica y presencia de lesiones microscópicas compatibles, a lo que se agrega la presencia de arbustos de piquillín con la corteza roída en el área de permanencia de los animales enfermos. Este hallazgo y los resultados del presente trabajo, incrementan la importancia de *Condalia microphylla* como agente capaz de producir intoxicación en especies de interés productivo, por lo que tendrá que ser tenido en cuenta en el diagnóstico diferencial de enfermedades neurológicas en regiones donde se identifique esta especie vegetal. Para esto, es muy importante la incorporación de médula espinal a la toma de muestra de rutina para estudio microscópico, a pesar de las dificultades que esto trae al momento de realizar la necropsia. Por otro lado, la naturaleza del tejido nervioso hace que solo puedan examinarse animales con escaso tiempo de muerte, ya que las alteraciones post mortem producen cambios significativos en el SNC que pueden confundir el diagnóstico.

En conclusión, el consumo de corteza de *Condalia microphylla* produce intoxicación en diversas especies animales, ya sean de producción como de laboratorio, ocasionando signología neurológica y un cuadro patológico de desmielinización y degeneración axonal.

#### Agradecimientos

Queremos agradecer a las histotécnicas María del Carmen Tagle, Gladys Francinelli y Claudia Moreno su labor en la realización de las secciones histológicas, al Sr. Manuel Sánchez su colaboración en el cuidado de los animales, y al Dr. Gustavo Ribera Tintori, su colaboración en la remisión de ramas de Piquillín al CICVyA, INTA Castelar. El presente trabajo fue financiado por el Proyecto Nacional INTA AESA 1571.

#### Bibliografía

1. **Bedotti, D. O.; Castiñeira, J.; Perez, L. A.; Fort, M., Molina, R.; Esain, F.; Sager, R., 2004.** Intoxicación por Piquillín (*Condalia microphylla*) en Bovinos de la Provincia de La Pampa. En Federación Veterinaria Argentina, XIX Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Buenos Aires, Argentina, Oct 24-28.
2. **Blanco Viera, F.J.; Salvat, A.; Godoy, H.M.; Antonacci, L.; Rivera, G.; Tagle, M.C.; Carrillo, B.J., 2000.** Intoxicación por *Condalia megacarpa* (Piquillín). Descripción de un caso natural y reproducción experimental. Comunicación preliminar. En Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, XIII Reunión Científico- Técnica, Merlo, San Luis, Argentina, Nov, 15-17.
3. **Blood, D. C.; Radostis, O. M.; Henderson, J. A.; Arundel, J. H.; Gay, C. C., 1988.** Enfermedades del Sistema Nervioso. En Blood, D. C.; Radostis, O. M.; Henderson, J. A.; Arundel, J. H.; Gay, C. C. Medicina Veterinaria 6º Edición. México D. F., Interamericana, pp a) 399-439, b) 1198-1315.

4. **Correa, M. N., 1988.** Flora Patagónica. Colección Científica INTA. Buenos Aires. Inst. Nacional de Tecnología Agropecuaria, 8, 5, 116.
5. **Delgado, F.; Burtre, C; Capellino, F.; Francinelli, G.; Tagle, M.; Salvat, A.; Godoy, H.; Blanco Viera, F. J. 2006.** Intoxicación por consumo de *Condalia microphilla* (Piquillín) en cerdos. Descripción de un caso de campo. En Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, XVI Reunión Científico- Técnica, resúmenes. Mar del Plata, Argentina, Dic 5-7.
6. **Ghoshal, N. G. 1995.** Nervios espinales, en Getty, R. Anatomía de los Animales Domésticos, 5º ed. México. Salvat, Tomo I, pp 1242-1270.
7. **Koestner, A.; Jones, T. C. 1997.** The Nervous System. En Jones, T. C.; Hunt, R. D.; King, N., Veterinary Pathology, 6º ed. Baltimore, Maryland, Ed. Williams & Wilkins. pp 1259-1298.
8. **Luna, L. G. 1968.** Manual of staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3º ed, Washington. Mc Graw- Hill. pp a) 12-20, b) 32-47.