

Resistencia natural del Ganado Blanco Orejinegro (Bon) a la infección por Virus de Estomatitis Vesicular (Vev) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB) Proyecto de Investigación

RESTREPO S.G. MV.* ZULUAGA F.N. MV, MS.* MARTÍNEZ M. BACT.* CONTRERAS
Y. MVZ.* OSSA J.E. MV, PhD.* VELÁSQUEZ J.I. MV, Esp.**

Introducción

La resistencia natural frente a las enfermedades infecciosas ha sido observada en varias especies de animales y se demostró un control genético de la respuesta en el ratón y el humano, y se estableció que los mecanismos por los cuales un individuo puede resistir la enfermedad incluyen mecanismos inmunes y no inmunes controlados genéticamente (19).

La resistencia genética de los animales frente a las infecciones se constituye en una estrategia importante para combatir las enfermedades. Un aspecto crucial de la resistencia genética es la característica de heredabilidad y la posibilidad de incrementar la resistencia natural en los individuos y en las poblaciones mediante un manejo adecuado de las técnicas genéticas en la reproducción dirigida, por medio de cruces y selección de individuos que presenten las características deseadas.

Con el apoyo de la biotecnología se tienen los medios para la obtención de animales genéticamente resistentes a una variedad determinada de agentes patógenos y se hace posible mediante la identificación y el aislamiento de genes involucrados en la resistencia natural y la transferencia de tales genes al genoma de embriones seleccionados, teniendo como resultado individuos transgénicos, los cuales serían utilizados en los programas de reproducción dirigida para hacer el reemplazo de las poblaciones según se requiera.

Aunque al aumentar el grado de resistencia natural no se protege completamente frente a enfermedades infecciosas, el incremento de la resistencia natural conferida por la reproducción controlada podrá reducir la morbilidad y las pérdidas económicas cau-

sadas. Las estrategias de control de enfermedades basadas en la resistencia natural en combinación con programas de vacunación producen mejores resultados en protección frente a las enfermedades que cuando se utilizan los programas por separado (20).

La resistencia o la susceptibilidad natural de varias especies de animales frente a enfermedades producidas por bacterias, virus y parásitos ha sido documentada en la literatura científica. En los bovinos se ha informado sobre la resistencia natural frente a la infección por *Brucella abortus*, *Mycobacterium bovis* y *Salmonella dublin*, por evaluación de la habilidad de los macrófagos obtenidos de bovinos seleccionados, de controlar la replicación intracelular de las bacterias *in vitro*, aunque los genes comprometidos no han sido identificados (15). En la resistencia natural a la brucelosis se ha propuesto la interacción de varios genes que conducen a tipos genéticos complejos (20).

La identificación de genes que contribuyen a la resistencia natural frente a enfermedades es una realidad en progreso y un propósito de la investigación actual es la creación de mapas genéticos de los animales domésticos.

En el ganado criollo Blanco Orejinegro (BON) se han reconocido características de resistencia frente a fiebre aftosa y a brucelosis, así como frente a parásitos internos y externos (12).

El ganado BON es una raza de ganado derivada de los bovinos introducidos por los conquistadores y que se adaptó a las condiciones medioambientales de las regiones andina y cafetera, durante cinco siglos de selección natural. Esta raza de ganado representa un recurso genético valioso por su desempeño en la producción con buenos rendimientos, alta fertilidad, rusticidad y longevidad en condiciones de explota-

* Laboratorio de Virología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

** Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia.

ción de suelos pobres de climas cálidos y húmedos del trópico colombiano (3).

En la actualidad se cuenta con unos pocos núcleos de ganado BON, conservados por algunas instituciones que han evitado su extinción, pues a pesar de los esfuerzos realizados por algunas personas en la tarea de promover la raza y dar a conocer sus bondades y potencialidad en la producción agropecuaria, el común de los ganaderos no ha sabido reconocerlo, dando preferencia a la explotación de otras razas foráneas. Solamente en los últimos años se ha venido despertando el interés por acoger el ganado BON y utilizarlo en la producción.

Instituciones y personas interesadas en la conservación, el mejoramiento y posible expansión de la raza, promueven y dirigen sus esfuerzos a la realización de estudios del genoma para la caracterización genética del ganado BON, lo cual redundará en el conocimiento científico y permitirá ofrecer la utilización más adecuada de estos animales mediante la aplicación de las técnicas más avanzadas de la biotecnología (13).

Estudios tendientes a la identificación y caracterización *in vitro* de la resistencia o susceptibilidad del ganado BON frente a fiebre aftosa y brucelosis son adelantados por investigadores del Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia. Con el propósito de obtener mayor información sobre las características de resistencia del ganado BON, se propone ampliar el campo de investigación, incluyendo otras enfermedades de común ocurrencia en nuestro medio, tales como Estomatitis Vesicular (EV) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB).

La EV es una enfermedad infecciosa aguda producida por un virus de la familia Rhabdoviridae, género Vesiculovirus. Los signos clínicos incluyen la presentación de vesículas en las regiones de la boca, nariz, ubre y extremidades, similares a las que se presentan en animales infectados por virus de la fiebre aftosa. Afecta a bovinos, equinos y porcinos produciendo graves pérdidas económicas.

La EV es una enfermedad endémica en América y en Colombia ocurre con la presentación de ondas epizooticas en ciclos que se repiten anualmente, con una mayor tendencia a presentarse entre los meses de diciembre a abril (pico mayor) y de junio a octubre (pico menor) (11). La enfermedad se constituye en un factor limitante de la producción ganadera en regiones geográficas identificadas en estudios epidemiológicos.

Después de la infección, los animales desarrollan la respuesta inmune contra dos antígenos mayores del virus: los anticuerpos contra la proteína N son grupo-específicos y contra la proteína G son tipo-específicos. La proteína G estimula la formación y reacciona con los anticuerpos neutralizantes específicos. La proteína G estimula la formación y reacciona con los anticuerpos neutralizantes.

Aunque se tienen avances importantes en el conocimiento del virus de EV y de la respuesta inmune que se genera, aún faltan por ser definidos muchos de los mecanismos de la inmunidad y la protección frente a la enfermedad, como lo que ocurre en un fenómeno observado en bovinos de áreas endémicas que después de sufrir la enfermedad pueden ser re infectados con virus del mismo serotipo aún en la presencia de niveles altos de anticuerpos neutralizantes.

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina es una enfermedad viral, con distribución mundial, cuyo agente etiológico es el herpesvirus bovino-1 (HVB-1), perteneciente a la familia Herpesviridae, subfamilia Alphaherpesvirinae y género varicellovirus (18).

El virus causante de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, la cual se presenta como una enfermedad respiratoria aguda en los bovinos, puede también causar una enfermedad genital conocida como Vulvovaginitis Pustular Infecciosa (VPI) en las hembras y Balanopostitis Pustular Infecciosa en los machos. Produce abortos y una sintomatología muy variada que acompaña los distintos cuadros de la enfermedad.

El virus entra por el tracto respiratorio por medio de aerosoles, o por contacto directo con secreciones nasales. La transmisión venérea ocurre a través del coito o de semen contaminado en la inseminación artificial (10). El virus tiene la capacidad de establecer un estado de latencia por largos períodos de tiempo y producir reactivación de la infección de manera intermitente, al igual que otros virus pertenecientes a la misma familia (6,7).

Existen varias vacunas comerciales, preparadas con virus inactivado o con virus vivo, las cuales reducen la severidad de la enfermedad pero no previenen la infección, el establecimiento de la latencia, ni la reactivación. El uso de vacunas con virus vivo, sin los controles debidos, trae como consecuencia la diseminación del virus y puede convertirse en el medio para la introducción del virus a los hatos o a las regiones libres.

En Colombia se aisló el virus de RIB por primera vez en 1972, en muestras obtenidas en matadero de vacas con historia de aborto (5). Desde entonces, el virus ha sido asociado a la presentación de abortos y problemas reproductivos (9), pero la enfermedad clínica ha sido reconocida con baja frecuencia y se cuenta con pocos aislamientos del virus, lo cual contrasta con la alta prevalencia de anticuerpos, determinada en encuestas serológicas que muestran amplia distribución de la infección en el país (2,4,21,22).

En Antioquia, se han desarrollado trabajos de investigación para el aislamiento de virus HVB-1, tendientes a la caracterización bioquímica y patogénica de las cepas virales. Con estos objetivos se procesaron para aislamiento 716 muestras de hisopados nasales, vaginales o prepuciales de 480 animales destinados al sacrificio, pero no se consiguió aislar el virus. Sin embargo, en el mismo estudio, se demostró la presencia de virus por medio de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en muestras de semen de tres toros seropositivos y que fueron negativos para aislamiento (16).

Dada la importancia de poder determinar las implicaciones de la RIB en la ganadería y que los factores que influyen sobre los procedimientos desarrollados para el aislamiento infructuoso del virus permanecen sin definir, los investigadores recomendaron continuar con los intentos de aislamiento de virus, con algunos cambios en las estrategias. Igualmente, consideraron que las posibles causas de la falta de éxito en el aislamiento pudieron ser la baja concentración de viriones, la inactivación del agente durante el traslado de la muestra al laboratorio o la toxicidad de la muestra que impide ver el efecto citopático (16).

En una participación al proceso de caracterización del ganado BON en Antioquia, se estudió la prevalencia de la infección por HVB-1 en esos animales y se encontró un nivel bajo de reactivos (11.5%) (17), en comparación con los índices reportados para el departamento y otras regiones del país que fluctuaba entre un 13% en la población general de la Costa

Atlántica (5) y el 67% en la población de toros del Urabá antioqueño (22). Como una contribución a la conservación de la raza y considerando estos resultados y las características especiales de manejo de la población relativamente pequeña de los hatos de ganado BON, los autores sugirieron la posibilidad de eliminación del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en estos animales, con la adopción de medidas de erradicación basadas en las experiencias de otros países.

En este proyecto se propone investigar la ocurrencia de resistencia genética en el ganado BON mediante la determinación de posibles variaciones fenotípicas en la capacidad de replicación de virus de Estomatitis Vesicular y de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, en fibroblastos obtenidos de muestras de piel, mediante la titulación de virus en cultivos primarios.

Metodología propuesta

Se obtendrán cultivos primarios de fibroblastos a partir de biopsias de piel de cien bovinos BOM, en los cuales se hará la titulación de virus de EV y RIB por pruebas en microplacas. La infección de las células se hará por el método en suspensión y la cuantificación del efecto del virus sobre las células se hará por evaluación de la viabilidad celular residual por medio de la técnica de adsorción de rojo neutro. Se leerá la absorbancia a la longitud de onda de 540 nm y se calcula el título infectante 50% con base en los porcentajes de células viables por la fórmula de Reed y Muench.

Resultados esperados

Se espera determinar, in vitro, las características fenotípicas de susceptibilidad/resistencia a virus de Estomatitis Vesicular y de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, en animales de raza BON, procedentes de varias explotaciones, las cuales, posteriormente, podrán ser agrupados para la conformación de hatos susceptibles y hatos resistentes a la infección por estos virus.

Referencias

1. Ángel, M.G. Evaluación biológica in vitro de extractos de *Euphorbia aphilla* de uso común en medicina popular. Trabajo de grado. Departamento de Biología, U. de A. 1996.
2. Arboleda, J.J.; Rodas, J.D.; Ossa, J.R.; Zuluaga, F.N. Espectro clínico y epidemiológico de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. Rev.Col.Cienc.Pec.1996. 9(12): 3-13.
3. Arboleda, O; Gutiérrez, I.D. El ganado blanco orejinegro-BON. Resúmenes. Memorias. I Congreso Mundial de Veterinaria (Salónica, Grecia), Julio 6-12, 1975.
4. CIAT. Informes anuales. Salud Animal. 1972, 1973, 1974, 1975.
5. Fenner, F; Bachman, P; Gibbs E, et. al. Veterinary Virology. Orlando: Academic Press, 1987. 660 P.
5. Fields, B; Knipe, D. Fields Virology. 2a. New York: Raven Press. 1990, 2336 p.

- 7 Giapetti, G; Granchi, D; Verri, E; Salvarino, L; Cavedagna, D; Pizzoferrato, A. Application of a combination of neutral red and amido black staining for rapid, reliable cytotoxicity testing of biomaterials. *Biomaterials*. Vol. 17, No. 13, 1259-1264 1996.
- 8 Góngora, A; Villamil, L.C.; Vera, V.J. et. al. Aislamiento de un herpes virus bovino tipo 1(HVB-1) de secreción nasal y esmegma prepucial de un toro reproductor. *Rev. Med. Vet. y Zoot.* Vol. 43, No. 1. Junio 1995. 43-47.
- 9 Merchan, I; Parker, R. *Bacteriología y Virología Veterinarias*. 3a De. Zaragoza: Acribia, 1980, 763 p.
- 10 Morales, L. F. Estomatitis vesicular por tipo de virus y municipios de Antioquia, áreas 2 y 3. Período 1982-1996. Programa Cooperativo ICA-USDA. Documento de trabajo, pp3. 1997.
- 11 Moreno, F.; Ruiz, A. El concepto de genética de poblaciones y proyecto de genoma bovino. *Rev.Col.Cienc.Pec.* 9:77-80, 1996.
- 12 Ossa, J.E. Duck Plague, Carrier State and Gross Pathology in black Ducks. Thesis. University of Wisconsin, Madison, USA. 1975 p.78.
- 13 Ossa, J.R. caracterización genética y conservación del ganado criollo colombiano. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 9:85, 1996.
- 14 Qureslú, T; Templeton, J.W; Adams, L.G. Intracellular survival of *Brucella abortus*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Salmonella dublin* and *Salmonella thiphimurium* in macrophages from cattle genetically resistant to *Brucella abortus*. *Vet. Immunology and Immunopathology*, 50:55-65, 1966.
- 15 Restrepo, M; Rodas, J.D.; Mogollón, M.; Zuluaga F.N.; Ossa, J.E. Encuesta virológica de herpesvirus bovino 1 (HVB-1) en la feria de ganados de Medellín. *Rev.Col.Cienc.Pec.*1996, 9 (122), 58-64.
- 16 Roizman, B; Carmichael, L; Deinnhardt, F. et.al. *Ipersviridae* definition, provisional nomenclature and toxinomy *Intervinology* 1981. 16:201-217.
- 17 Templeton, J.W.; Smith III,R; Adams, L.G. Natural disease resistance in domestic animals. *Javma*. 192, No. 9:1306-1315. Mayo 1, 1988.
- 18 Templeton, J; Adams, G. Natural resistance to bovine Brucellosis. P. 144-150. En Adams G. (De. *Advances in Brucellosis Research*. Texas A&M University Press, Collage Station, Tx, 1990.
- 19 Zuluaga, F.N. Implicaciones epidemiológicas de la RIB en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 1978. Vol. 2, No. 1: 45-48.
- 20 Zúñiga, I; Ossa, J; Hincapié, O. Prevalencia de IBR en reproductores del Urabá antioqueño para 1977. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 1978. Vol. 1. No. 2:135-148.