

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**ADHERENCIA DE PASTEURELLA MULTOCIDA TIPO A. A
EXPLANTES DE TRAQUEA PORCINA**

G.M. Quintero, J.D. Mogollón

Programa de Salud Corporación de Investigación Agropecuaria
CORPOICA.

Centro Nacional de Referencia Diagnóstica, Instituto Colombiano
Agropecuario ICA. A.A. 29743 y Facultad de Ciencias. Universidad
Javeriana Bogotá D.C.. Colombia.

La investigación presente se propuso demostrar la propiedad de adherencia versus daño del epitelio ciliado traqueal, como primario en el proceso de colonización de la Pasteurella utilizando diferentes cepas tipo A aisladas de pulmones neumónicos. El cultivo de anillo traqueales se estandarizó según el método modificado por Dugal y Co. (1990) para el mantenimiento del epitelio respiratorio vivo. Se verificó la actividad ciliar previa infección de los anillos con una suspensión bacteriana de 1.5×10^8 U. F. C/ml. Luego se efectuaron recuentos de células viables a los 30, 60 minutos y 3, 4, 6 y 24 horas post inoculación y se determinó el índice de adherencia.

Para evaluar la interacción virus bacteria se infectaron previamente anillos con 0.2 ml. de virus vivo atenuado de tipo vacunal de la Peste Porcina. Después de un período de 60 y 90 minutos se infectaron los anillos con *P. multocida* por 30 y 60 minutos, luego se llevo a cabo el recuento de colonias.

Se encontró que la *P. multocida* se adhiere pobremente al epitelio de explantes de tráquea. El índice de adherencia fué de 2.08 a las 4 horas. En contraste, en anillos desafiados con virus el índice de adherencia fué de 39.7 a los 60 minutos. Estos hallazgos sugieren un efecto aditivo virus- bacteria que pudiera llevar a una mayor colonización. Se cree que alguna sustancia antigénica no identificada de la *P. multocida* puede provocar cambios variables en el epitelio traqueal.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**CARACTERIZACION DE BACTERIAS ANAEROBIAS ESPORULADAS PRESENTES EN LOS
SUELOS DE LA ALTILLANURA PLANA COLOMBIANA**

Efraín Benavides O.¹; Diana Duque R.²; Claudia Estupiñán G.²; Johanna Benavides A.¹; Rocío Altuzarra B.¹ & Diego Ortiz O.¹.

Resumen

Como soporte a las investigaciones sobre botulismo en la región se intentó el cultivo y caracterización de bacterias anaerobias del suelo de la Orinoquía Colombiana, en especial de potreros afectados por la enfermedad. Muestras de suelo procedentes de la región fueron sembradas en medio caldo trozos de carne pre-reducido en cantidad de 10 gm., 1 gm. por tubo de caldo; de los 10 tubos obtenidos dos fueron sometidos a calentamiento a 80°C por 10 minutos, con el fin de obtener solo organismos esporulados (shock térmico); pasados siete días de incubación en ambiente anaerobio a 37°C se observaron las características del crecimiento y los tubos fueron centrifugados a 3000 r.p.m.; los sobrenadantes fueron separados para evaluar toxicidad mediante la prueba biológica en ratón; los extractos fueron inoculados intraperitonealmente en cantidad correspondiente a 0.5 ml., bajo los siguientes tratamientos: 1). Un tubo sometido a shock térmico se tripsiniza, 2). El tubo restante sometido shock térmico se inocula puro, 3). Tres de los sobrenadantes de los ocho tubos restantes se mezclan en partes iguales y se tripsinizan, 4). El sobrenadante de un sexto tubo se calienta a 100°C, con el fin de observar la característica de termolabilidad del extracto, 5). Los sobrenadantes de los cuatro tubos restantes se inoculan puros en forma individual. Los sedimentos fueron agrupados según características de shock térmico o no y almacenados en anaerobiosis, mientras fueron procesados. Del pool de cada uno de los sedimentos porciones correspondientes a 250µl de cada tratamiento se adicionaron a la misma cantidad de alcohol absoluto e incubado a temperatura ambiente por una hora, con el fin de obtener únicamente formas esporuladas. Luego cada sedimento se inoculó en medio sólido (agar sangre), pasadas 24 horas de incubación en ambiente anaerobio a 37°C se analizaron las colonias producidas tanto macro (morfología y presencia de hemólisis) como microscópicamente (coloración de gram y esporas). La caracterización de cada aislamiento se realizó mediante la aplicación de pruebas bioquímicas utilizando agar yema de huevo, azúcares con azul de bromotimol como indicador, sulfuros, indol, motilidad, úrea, nitratos y gelatina. En total se trabajó con 34 muestras de suelo, de las cuales 32 demostraron ser toxigénicas, correspondientes a 21 con características de termolabilidad (inactividad de la toxina mediante calentamiento) y 11 resultaron ser termoestables; 23 requirieron de tripsinización para provocar la muerte. De los sedimentos obtenidos se logró un total de 203 aislamientos catalasa negativos, correspondientes a 86 de *Clostridium bifermentans*, 88 de *Clostridium novyi* tipo A, 3 de *Clostridium histoliticum*, 1 de *Clostridium tetanomorphum* y 16 de posiblemente *Clostridium botulinum* A. Los extractos no toxigénicos correspondieron a 4 aislamientos de *Clostridium novyi* tipo A, 7 aislamientos de *Clostridium bifermentans* y 1 aislamiento de *Clostridium histoliticum*.

DOWELL, V.R. Jr., HAWKINS, T.M. (1981). Laboratory methods in anaerobic bacteriology, C.D.C. laboratory manual, Department of Health and Human Service, Center for Diseases Control, 81p. GAMBOA, M., RODRIGUEZ, E., FERNANDEZ, B. (1993). *Clostridium botulinum* en los suelos de Costa Rica. Revista Biológica Tropical. 41(3), 359-363. PACE, P.J. KRUMBIEGEL, R. ANGELOTTI & H.J. WISNIEWSKI. (1967). Demonstration and isolation of *Clostridium botulinum* types from whitefish chubs collected at fish smoking plants of the Milwaukee area. Applied Microbiology. 15, 877-884.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

² Estudiantes último semestre de bacteriología. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

IDENTIFICACIÓN DE LA FLORA NORMAL Y PATÓGENA EN EL CANAL AUDITIVO EXTERNO DE CANINOS EN LA CIUDAD DE MEDELLÍN

G. J. Alzate ; O. Arroyave ; W. A. Ramírez ; W. E. Cardona ; C. J. Tabares
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad de Antioquia. Medellín-Colombia.

Según reportes de literatura, las otitis externas representan uno de los problemas mas frecuentes en la práctica veterinaria diaria, con una incidencia del 20% para los caninos. En nuestro medio se hace necesario un estudio que soporte unas terapias adecuadas, para acabar así con tratamientos indiscriminados y sin base científica. Para lograr esto necesitamos :

1. Conocer la flora normal y patógena del canal auditivo externo de los caninos.
2. Identificar factores de riesgo asociados en la ocurrencia de otitis externa.

Para poder llevar a cabo el trabajo de investigación tuvimos la necesidad de contar con Medios de cultivo y de transporte, colorantes, reactivos químicos, equipo completo de laboratorio de microbiología.

Se realizó un estudio bacteriológico, micológico y parasitario de secreción del oído externo procedente de 200 perros (100 sanos y 100 afectados por otitis externa) de diferentes edades, razas y condiciones de manejo en la ciudad de Medellín. Se tomaron hisopos del canal auditivo externo efectuando luego frotis y cultivos, utilizando medio Stuart para su transporte.

Entre los microorganismos de importancia encontrados en conductos afectados tenemos : *Estafilococo coagulasa* + (25.1%), *Estafilococo coagulasa* - (5.9%), *Proteus Sp* (4.4%), *Enterobacter* (4.4%), y *Malassezia Sp* (46.6%).

En los conductos sanos se identificaron : *Estafilococo coagulasa* + (15.38%), *Streptococo B-hemolítico* (1.28%), *Malassezia Sp* (29.5%), y *Cándida Sp* (1.28%).

Tanto en animales sanos como afectados se detectaron diferentes tipos de asociaciones entre gérmenes bacterianos y/o micóticos.

El aumento en la consulta de problemas de otitis externa nos llevó a plantear la búsqueda de información para identificar la flora normal y patógena del canal auditivo externo de los caninos.

La microflora mas frecuente en los canales auditivos sanos son el *Estafilococo coagulasa* + y la levadura *Malassezia Sp*. Esta flora puede ser influenciada por diversos factores como alergéanos externos y condiciones de manejo hasta llegar a ser patógena.

La mayor cantidad de caninos afectados se encuentran en edades de 0 a 3 años aunque fueron muestreados animales desde los 2 meses hasta los 18 años. De otro lado las razas de mayor predisposición a las otitis externa son aquellas de oreja péndula (Poodle, Cocker, Labrador etc.) debido a una inadecuada ventilación del canal auditivo haciendo de este un medio apto para el desarrollo de diferentes microorganismos.

Las bacterias Gram + predominaron dentro de los microorganismos encontrados, siendo *Estafilococo coagulasa* + la mas representativa. Igualmente la *Malassezia Sp* se halló en un gran porcentaje tanto en canales auditivos de afectados o sanos. Se plantea la hipótesis de la presencia de factores hormonales o inmunológicos capaces de favorecer la presentación de procesos inflamatorios y signos clínicos en el canal auditivo externo, ya que encontramos los mismos gérmenes tanto en animales sanos como en animales afectados de otitis bajo iguales condiciones de manejo. Como recomendación médica se hace indispensable tomar las muestras para cultivo en todo caso clínico de otitis por que se encontró bastantes casos ya tratados y con resistencias a los antibióticos por el uso indiscriminado de estos.

THIBAUT, J. Et al. Contribución al estudio de otitis externa del perro. En Archivos de Medicina Veterinaria, Vol 26 Nro. 2. (1994) p. 85-90.

MOBLEY, D. y MEYER, D. Dermatitis a *Malassezia* en canines. En: selecciones veterinarias. Vol. 3. Nro. 5. (1994). P. 288-289

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

DETERMINACIÓN DE LA FLORA VAGINAL BACTERIANA EN LA HEMBRA CANINA.

P. Osomo Restrepo y J. C. Tobón Arcila. U de A. Medellín, Colombia.

INTRODUCCIÓN: Con el presente trabajo se pretende establecer la flora vaginal normal de la hembra canina como punto de partida para investigaciones futuras. Todo ello se conseguirá mediante la toma de hisopos del vestíbulo vaginal que se someterán a cultivo bacteriano y a las diferentes pruebas de laboratorio microbiológico para su identificación.

OBJETIVOS: General: Determinar la flora bacteriana de mayor incidencia en la hembra canina. Específicos: * Estandarizar el procedimiento para la recolección y procesamiento de muestras. * Comparar los resultados obtenidos con los reportados en otros estudios.

MATERIALES: 2 vaginoscopios de diferente tamaño, 500 ml jabón yodado, 3 paquetes de toallas absorbentes de papel, 100 pares de guantes latex, 500 de medio BHI (medio de transporte), 2 botellas de alcohol im potable, 1 rollo papel Kraft 500 ml., 500 ml. Plasma de conejo, 500 gr agar MacConkey, 500 gr. EMB, 500 gr. base tripticase, 500 gr. base azida, 1000 ml. Violeta de genciana, 1000 ml. Lugol, 1000 ml. Alcohol acetona, 1000 ml. Safranina, 100 ml aceite inmersión, 6 cajas portaobjetos, 2 rollos cinta enmascarar, 500 ml. TSI, 500 ml. Agar Simons citrato, 500 ml. SIM, 500 ml. Lisina, 500 ml. Caldo urea más suplemento, 1000 ml. H₂ O₂, 500 ml de Extran, 100 cajas de petri, 100 tubos de ensayo tapa rosca, 1000 aplicadores de algodón, estufa de incubación, autoclave, nevera, microscopio, mecheros, destilador, parrilla eléctrica, centrífuga y balanza.

MÉTODOS: 80 perras en diferente fase del ciclo estral divididas en 16 subgrupos (por grupo racial y grupo de edad) a las cuales se les tomarán 2 hisopos vaginales que se obtienen luego del lavado y secado de los labios vulvares. Se separan los labios con espéculo vaginal estéril. Con el primer hisopo se hace un extendido para tinción de gram y el segundo es para cultivo por lo cual se introduce en el medio de transporte para llevarlo al laboratorio. Cada muestra se siembra en agar sangre y agar MacConkey y se incuba por 24 a 48 horas. Los gérmenes gram positivos se someten a prueba de catalasa, al Staphylococcus se le realiza prueba de coagulasa y a los gérmenes gram negativos se les realizan las diferentes pruebas bioquímicas para su identificación. Además se realizó una prueba de contingencia para determinar si el cultivo bacteriano depende de la raza o la edad

RESULTADOS: Cultivos puros (1 solo género bacteriano) 78.75%, mixtos (2 géneros): 12.5% y cultivos negativos (sin crecimiento): 8.75%. **En cultivos puros:** E. coli 31.74%, Proteus 17.46%, Staphylococcus coagulasa positivos 11.11%, Staphylococcus coagulasa negativos y Klebsiella 9.52% c/u, Aerobacter y Enterobacter 7.93% c/u y Streptococcus 4.76%. **En cultivos mixtos:** E. coli y Staphylococcus coagulasa negativo 30%, E. coli y Enterobacter 20%; Streptococcus y Staphylococcus coagulasa negativo, y Staphylococcus coagulasa negativo y Corinebacterium, E. coli y Klebsiella, Staphylococcus coagulasa positivo y Klebsiella, Staphylococcus coagulasa positivo y Streptococcus 10% c/u. **Distribución total de gérmenes aislados:** E. coli 31.32%, Proteus 13.25%, Staphylococcus coagulasa negativo y Staphylococcus coagulasa positivo 12.04% c/u, Klebsiella 9.63%, Enterobacter 8.43%, Streptococcus y Aerobacter 6.02% y Corinebacterium 1.02%. **En perras menores de 1 año:** E. coli 39.09%, Staphylococcus coagulasa positivo 14.28%, Proteus, Enterobacter, Klebsiella y Staphylococcus coagulasa negativo 9.52% c/u y cultivos mixtos con: Staphylococcus coagulasa positivo con E. coli y Staphylococcus coagulasa negativo con Klebsiella 4.76% c/u. **En perras de 1 a 4 años:** E. coli 21.42%, Proteus 14.28%, Aerobacter, cultivos negativos y Staphylococcus coagulasa positivo 7.14%, Klebsiella, Streptococcus, Staphylococcus coagulasa negativo con E. coli y E. coli con Enterobacter 4.76% c/u, Enterobacter, Staphylococcus coagulasa negativo, E. coli con Klebsiella, Staphylococcus coagulasa negativo con Streptococcus y Staphylococcus coagulasa negativo con Corinebacterium 2.38% c/u. **En perras de 5 a 9 años:** E. coli 25%, Proteus y Staphylococcus coagulasa positivo 16.66% c/u, Enterobacter, Klebsiella, Staphylococcus coagulasa negativo, Streptococcus y Streptococcus con Staphylococcus coagulasa positivo 8.33% c/u. **En perras de 10 ó más años:** Cultivos negativos 60%, Proteus y Enterobacter 20% c/u. **Perras antes del primer celo:** E. coli 40%, Staphylococcus coagulasa positivo 26.66%, Proteus 13.33%, Enterobacter, Klebsiella y Staphylococcus coagulasa positivo con klebsiella 6.66% c/u.

El resultado de la prueba de contingencia para la característica de edad o grupo racial versus géneros bacterianos, con una P = 0.05, define que la presentación de los géneros bacterianos es independiente de la edad o el grupo racial.

DISCUSIÓN: Para Caudle, 1991, el género predominante fué el Bacteroides, en este estudio se comprueba que el E. coli es el principal germen de la flora vaginal. Los estudios realizados por este autor, muestran que la flora está compuesta por Mycoplasma, Pasteurella, Peptococcus, Haemophilus y Bacillus, gérmenes que no están presentes en la flora vaginal en nuestro medio, en donde se encontró Klebsiella, Enterobacter, Aerobacter, y Corinebacterium además de Streptococcus y Staphylococcus coagulasa positiva y negativa.

BIBLIOGRAFÍA: Journal Veterinary research (1971), Journal of American Animal Hospital Association (1978), Vet Rec (1983), Acta Vet Scand (1993), Veterinary Medicine (1994).

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS EN CERDAS CON
DESCARGAS VULVARES Y PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN
20 GRANJAS DEL ALTIPLANO NORTE DE ANTIOQUIA.**

D. Osorio¹; J.A. Tobòn²; M.E. Ramírez³.

¹ M.V. ICA. ² M.V. CORPOICA. ³ Bacterióloga. ICA. Medellín-Colombia.

Las alteraciones inflamatorias del sistema genito-urinario en cerdas, visualizadas por una descarga vulvar, ocasionan descarte de hembras con altas tasas de reemplazo hasta en un 55% anualmente, y disminuyen hasta en un 10% el porcentaje de natalidad. El presente estudio tuvo como objetivos identificar y aislar microorganismos asociados a descargas vulvares en cerdas y determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de los gérmenes aislados.

El estudio fue realizado en el periodo de junio/ 95 - mayo/ 96 en la región del Altiplano Norte de Antioquia. Se visitaron 20 granjas con una población de 890 cerdas de cría, a las cuales se les efectuó un chequeo de órganos genitales externos y se les realizó un muestreo de hisopados cervicales a todas las que presentaron descarga vulvar anormal; los estudios de identificación, aislamiento y pruebas de sensibilidad se realizaron en el centro de diagnóstico del ICA. El análisis estadístico utilizado fue de tipo descriptivo.

Se observaron descargas vulvares en el 55.0% de las granjas visitadas; del total de cerdas examinadas, 90 presentaron flujos vulvares (10,1%) y en el 77.0% de ellas se hicieron aislamientos bacterianos. El 70,7% de los aislamientos puros correspondió a bacterias GRAM-negativas, el 25,9% a bacterias GRAM-positivas y el 3.4% a hongos. La bacteria más frecuente fue la Escherichia coli en 36 cultivos puros (62,1%), le siguieron el Streptococcus hemolítico (15,5%), Staphylococcus aureus (5,2%), Corynebacterium pyogenes (5,2%), Proteus s.p.p. (5,2%), Edwardsiella s.p.p. (1,7%), Shigella s.p.p. (1,7%) y los hongos Penicillium s.p.p. (1,7%) Aerobacidium pullurans (1,7%); dichos hongos no se encontraron reportados en la literatura consultada.

Las bacterias GRAM - negativas se aislaron en el 90.9% de las granjas afectadas, destacándose la Escherichia coli como la bacteria más importante ya que fue aislada en 10 granjas de 11 afectadas y en un gran número de cultivos (45 en total), constituyéndose como el agente etiológico más asociado a las descargas vulvares en cerdas en el Altiplano Norte de Antioquia. Dentro de las bacterias GRAM-positivas, estas se encontraron en el 81,8% de las granjas afectadas, destacándose el Streptococcus hemolítico presente en 7 granjas (63,6%) y un total de 18 cultivos.

Con respecto a la prueba de sensibilidad antimicrobiana, todas las bacterias aisladas fueron resistentes a la penicilina y a la lincomicina en un 100%, con excepción del Streptococcus hemolítico que fue resistente a la lincomicina en el 94,1% de los cultivos. La Escherichia coli presentó resistencia además a la furaltadona en el 100% y a la tetraciclina en el 88,9% de los cultivos; el Streptococcus hemolítico fuera de la penicilina y de la lincomicina presentó también resistencia al cefacetril en el 100% y a la eritromicina en el 81,2% de los aislamientos. En general las bacterias GRAM-negativas fueron sensibles en el 100% a la enrofloxacina y en el 94,4% a la gentamicina; a su vez las bacterias GRAM-positivas fueron sensibles en el 100% a la enrofloxacina, a la furaltadona y al florfenicol.

Por la facilidad en la toma de las muestras para cultivo y la rapidez en la obtención de la prueba de sensibilidad, se hace indispensable utilizar este recurso ya que se encontró alta resistencia por la aplicación incorrecta de fármacos.

- BIBLIOGRAFIA: 1. Archivos Facultade de Veterinaria, Vol. 13 Nº. 12, 1985.
2. Veterinary anual, Vol. 24, 1984.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS CELULARES DE CORNEA BOVINA, EFECTO DE
PATOGENOS VIRALES Y CRIOPRESERVACIÓN.**

GLORIA RAMIREZ, JAIRO JAIME, VICTOR VERA, LUIS C. VILLAMIL

El epitelio de la cornea constituye un potencial sustrato para el estudio de los fenómenos asociados con infecciones oculares y el establecimiento de modelos in vitro de células corneales.

El presente trabajo buscó establecer y normalizar cultivos primarios a partir de explantes de cornea bovina así como su conservación y evaluación como modelo para la infección con algunos agentes virales.

Se utilizaron terneros de la raza Holstein de 1 a 2 días de edad. Los explantes de cornea fueron obtenidos en condiciones de esterilidad y cultivados en medio MEM suplementado con SFB, antibióticos, glutamina y lactoalbumina.

Las monocapas celulares confluentes fueron sometidas a subcultivos. En el tercer pasaje se hizo evaluación de susceptibilidad al virus de DVB e IBR determinándose la capacidad infecciosa, se estableció un modelo de congelación tanto para el cultivo primario como para los explantes de cornea recién extraídos.

De los dos sistemas de siembra empleados: órgano completo y separación de capas constitutivas, se establecieron para el primero 4 pasajes celulares y para el segundo (explante sin la capa epitelial ni lámina anterior) confluencia entre los días 25 y 28 y viabilidad a través de 7 a 10 pasajes.

Cultivos negativos a VDVB e IBR fueron infectados con cepas de referencia de los virus VDVB e IBR, mostrando una susceptibilidad mayor a la de los cultivos empleados tradicionalmente. La congelación en una concentración de 10^5 células / ml, 70% SFB y 10% DMSO confirió una viabilidad celular del 50 - 80%, mejorándose ésta cuando se hizo congelación a -70°C durante 12 horas previo a congelación en N_2 líquido.

A través de la presente investigación se normalizó una técnica de cultivo primario a partir de corneas bovinas la cual constituye una mejor alternativa en el aislamiento de los dos agentes virales probados por tener éste órgano una baja probabilidad de encontrarse infectado con los mismos.

Las capas internas de la cornea constituyeron un buen soporte celular, con facilidad de adherencia a la superficie del frasco de cultivo previamente tratado.

Por ser estas células de tipo fibroblástico su utilización en el aislamiento de patógenos virales ofrece ventajas comparativas. Adicionalmente, la criopreservación de este cultivo primario amplía su capacidad de utilización a nivel de investigación tanto en el campo de la salud humana como de la salud animal.

Bibliografía: Bourne *Refractive and corneal surgery* 7, 1991; Guerin y col. *Theriogenology* 37 (1): 217, 1992; Høien -Dalen y Rosenbush *Am. Vet. Res.* 51 (2): 191 - 198, 1990; Walkenbach y col. *Investigative Ophthalmology and Visual Science.* 32 (5): 15 - 51, 1991.

*Respectivamente: M. V. MSc. Profesor Asistente; M. V. MSc. ; D. M. V. MSc. Profesor Asociado; D. M. V. MSc. PhD. Profesor Asociado. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia. Santa Fe de Bogotá, D. C.

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS CELULARES DE CORNEA BOVINA, EFECTO DE
PATOGENOS VIRALES Y CRIOPRESERVACIÓN.**

GLORIA RAMIREZ, JAIRO JAIME, VICTOR VERA, LUIS C. VILLAMIL

El epitelio de la cornea constituye un potencial substrato para el estudio de los fenómenos asociados con infecciones oculares y el establecimiento de modelos in vitro de células corneales.

El presente trabajo buscó establecer y normalizar cultivos primarios a partir de explantes de cornea bovina así como su conservación y evaluación como modelo para la infección con algunos agentes virales.

Se utilizaron terneros de la raza Holstein de 1 a 2 días de edad. Los explantes de cornea fueron obtenidos en condiciones de esterilidad y cultivados en medio MEM suplementado con SFB, antibióticos, glutamina y lactoalbumina.

Las monocapas celulares confluentes fueron sometidas a subcultivos. En el tercer pasaje se hizo evaluación de susceptibilidad al virus de DVB e IBR determinándose la capacidad infecciosa, se estableció un modelo de congelación tanto para el cultivo primario como para los explantes de cornea recién extraídos.

De los dos sistemas de siembra empleados: órgano completo y separación de capas constitutivas, se establecieron para el primero 4 pasajes celulares y para el segundo (explante sin la capa epitelial ni lámina anterior) confluencia entre los días 25 y 28 y viabilidad a través de 7 a 10 pasajes.

Cultivos negativos a VDVB e IBR fueron infectados con cepas de referencia de los virus VDVB e IBR, mostrando una susceptibilidad mayor a la de los cultivos empleados tradicionalmente. La congelación en una concentración de 10^5 células / ml, 70% SFB y 10% DMSO confirió una viabilidad celular del 50 - 60%, mejorándose ésta cuando se hizo congelación a -70°C durante 12 horas previo a congelación en N_2 líquido.

A través de la presente investigación se normalizó una técnica de cultivo primario a partir de corneas bovinas la cual constituye una mejor alternativa en el aislamiento de los dos agentes virales probados por tener éste órgano una baja probabilidad de encontrarse infectado con los mismos.

Las capas internas de la cornea constituyeron un buen soporte celular, con facilidad de adherencia a la superficie del frasco de cultivo previamente tratado.

Por ser estas células de tipo fibroblástico su utilización en el aislamiento de patógenos virales ofrece ventajas comparativas. Adicionalmente, la criopreservación de este cultivo primario amplía su capacidad de utilización a nivel de investigación tanto en el campo de la salud humana como de la salud animal.

Bibliografía: Bourne Refractive and corneal surgery 7, 1991; Guerin y col. Theriogenology 37 (1): 217, 1992; Hoiem -Dalen y Rosenbush Am. Vet. Res. 51 (2): 191 - 196, 1990; Walkenbach y col. Investigative Ophthalmology and Visual Science. 32 (5): 15 - 51, 1991.

*Respectivamente: M. V. MSc. Profesor Asistente, M. V. MSc., D. M. V. MSc. Profesor Asociado; D. M. V. MSc. PhD. Profesor Asociado. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia. Santa Fe de Bogotá, D. C.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**ESTUDIO PILOTO DE LA ESTANDARIZACION DEL METODO DE LIOFILIZACION
Y ESTABILIDAD DE LA HEMOLISINA Y EL COMPLEMENTO**

Flor Angela Tobón, MSc Farmacología, **Sadoh Molina**, Médico Veterinario,
Mónica Alvarez Vélez y **Xiomara Ramírez Castaño**, Estudiantes
de la Facultad de Química Farmacéutica

La estabilidad de los productos biológicos es importante para determinar la seguridad y la eficacia de los mismos para su uso y comercialización. La investigación de la estabilidad de la Hemolisina del suero de *Oryctolagus cuniculus* y el Complemento del suero de *Cavia porcellus*; es un factor crítico porque su forma líquida es muy susceptible a la degradación causada por variables fisicoquímicas y biológicas, las cuales disminuyen su bioactividad, de ahí la importancia de implementar un método adecuado para conservar la estabilidad del producto por más tiempo y en condiciones críticas de almacenamiento y de transporte. La liofilización es uno de los métodos a emplear en estos casos, ya que éste incluye remoción de agua o de otros disolventes, de un producto congelado por un proceso conocido como sublimación.

En el presente estudio piloto se realizó la liofilización de la Hemolisina y el Complemento contenidas en el suero de *Oryctolagus cuniculus* (conejo) y del *Cavia porcellus* (curi) respectivamente. Se tomaron volúmenes diferentes de las muestras en cada serie y los parámetros críticos involucrados en el proceso de liofilización, la presión y la temperatura fueron controlados. Además se tuvo en cuenta el tiempo de duración de cada proceso. Una vez liofilizadas las muestras se almacenaron a temperaturas de 5 °C, 25 °C y 37 °C durante cuatro días. Posteriormente las muestras se llevaron a la Estación de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Antioquia (U de A), y allí se determinó bioactividad *in-vitro*, mediante el título hemolítico del producto liofilizado, de los cuales se consideraron aceptables las concentraciones mayores o iguales de 1: 1000, según reporte de la literatura. Para la evaluación y análisis de la estabilidad, se comparó la bioactividad del título hemolítico *in-vitro* de las muestras pre y post liofilización, y ésta se mantuvo durante este período de prueba. Los resultados obtenidos se consideraron preliminares para determinar el tiempo de conservación y la estabilidad de la bioactividad de las muestras de la Hemolisina y el Complemento después del proceso de la liofilización.

BIBLIOGRAFIA

1. Catalogo A. Guide To Freeze Dryng for the Laboratory. Labconco. 1987 by Labconco Corporation. Printed in the USA.
2. Catalogo Bentchop Shell Freeze and optional Shell Freezer for consule models. Labconco. 1992 Labconco Corporation Printed in the USA.
3. Manual de Operación del equipo Liofilizador LABCONCO SHELL de la Facultad de Química Farmacéutica.
4. ARANGO MEJIA ANDRES. Producción y Titulación de una Hemolisina Desarrollada en Conejos. Proyecto para Tesis de Grado. 1997. U de A. Medellín.
5. Molina, Sadoh. Información personal. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Antioquia. Medellín-Colombia. Febrero de 1997.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**EVALUACION PRELIMINAR DE UNA PRUEBA INMUNOENZIMATICA USANDO
LECHES PARA DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA
EL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA**

Fredy García C.¹; Efraín Benavides O.¹; Clara Garzón A.¹; Gabriel Jiménez P.¹; Dildo Márquez L.¹ & Diego Ortiz O.¹

Resumen

Diferentes métodos han sido descritos para la detección de anticuerpos contra el virus de la Leucosis Bovina (VLB) en el suero del ganado. La prueba de inmunodifusión en gel agar (AGID) es probablemente el procedimiento más sencillo, pero su falta de sensibilidad es manifiesta cuando es usado durante la etapa inicial de la infección, o para la detección de anticuerpos VLB en muestras de leche. Los programas de erradicación del VLB en algunos países Europeos han sido dependientes de la sensibilidad y especificidad de la prueba a usar para detectar los animales infectados. La ELISA ha sido usada en la parte diagnóstica desde 1988, gradualmente reemplazando la prueba de AGID. Los resultados de numerosas pruebas llevadas a cabo hasta el momento permiten postular que el examen en leche es tan confiable como el examen en suero. Así, y contando que en el comercio existe una prueba ELISA indirecta para la detección de anticuerpos contra el VLB en leche y suero, se quiso validar dicha prueba bajo las condiciones del laboratorio en CEISA. En el presente trabajo, se validó la aplicación de un Kit de ELISA (Institut Pourquier) para diagnóstico de VLB a partir de muestras de leche. Además, se comparó los resultados encontrados por ELISA en leche contra la prueba tradicional de AGID en suero. Muestras de suero y leches individuales fueron obtenidas a partir de 168 vacas lecheras. A dichas muestras se les aplicó la prueba de AGID (sólo a muestras de suero) y ELISA (sólo a muestras de leche). Los animales usados en el estudio pertenecen a un área de alta prevalencia al VLB (Sabana de Bogotá). Además, se colectaron leches de cantina provenientes de 6 fincas ubicadas en la Sabana de Bogotá, a las cuales previamente se les conocía su porcentaje de prevalencia al VLB. La densidad óptica (DO) fue medida a 405 nm en un lector Multiscan plus MK2. Se calculó la DO.405 corregida para cero (absorvancia corregida). Dichas absorvancias corregidas tuvieron un valor medio de 2.518 con una desviación estándar de 1.072. Los resultados encontrados de las 168 muestras analizadas, se ubicaron tanto en el rango de la zona negativa como de la positiva. Ninguna absorvancia corregida dio en el rango que delimitó la zona dudosa. La copositividad y la conegatividad de la prueba ELISA respecto a AGID fue del 85.9% y 100% respectivamente. Los resultados del análisis de las leches de cantina permitieron generar un modelo de regresión lineal, el cual puede predecir el porcentaje de animales infectados en el rebaño a partir de los valores de absorvancia obtenidos de las leches analizadas. La prueba de AGID es incapaz de encontrar vacas infectadas con VLB, al usar como muestras leches individuales o de cantina, aspecto que al aplicar la prueba ELISA sí se manifiesta. Este trabajo demuestra, que ELISA puede detectar en muestras de leche, tanto individuales como de cantina, anticuerpos contra el VLB. Se puede concluir que un estudio de prevalencia sobre VLB podría ser realizado a partir de muestras de leche. Además, el poder usar leches provenientes de cantinas ofrece la posibilidad de pensar en desarrollar estudios epidemiológicos a gran escala. De otro lado, se debe tener en cuenta las facilidades que se obtendrían al coleccionar muestras de leche en vez de muestras de suero (menor equipo, menor estrés animal, etc.).

KLINTEVALL, K., NASLUND, K., SVEDLUND, G., HADJU, L., LINDE, N. AND KLINGEBORN, B. (1991). Evaluation of an Indirect ELISA for the Detection of Antibodies to Bovine Leukemia Virus in Milk and Serum. *Journal of Virological Methods* 33, 319-333. PORTETELLE, D., BRUCK, C., MAMMERICKX AND BURNY, A. (1983). Use of Monoclonal Antibody in an ELISA test for the Detection of Antibodies to Bovine Leukemia Virus. *Journal of Virological Methods* 6, 19-29.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA ELISA PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL HERPES VIRUS BOVINO-1 (HVB-1) EN MUESTRAS DE LECHE ENTERA.

JC Palacio, OA Saldarriaga, JJ Arboleda, JD Rodas, FN Zuluaga, JE Ossa. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

INTRODUCCIÓN. El Herpes Virus Bovino -1 (HVB-1) es el agente causal de La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (RIB), la cual está distribuida mundialmente y ocasiona grandes pérdidas económicas en hatos de leche y carne⁽¹⁾. El virus se aisló por primera vez en Colombia en 1972⁽³⁾ y es prevalente⁽²⁾, según múltiples estudios serológicos. La técnica de ELISA es considerada como la herramienta más apropiada para llevar a cabo la vigilancia epidemiológica en campañas de control o erradicación de la infección⁽⁴⁾.

Los objetivos del presente trabajo son en general, contribuir a la caracterización epidemiológica y al control de la RIB en Colombia y, en forma específica, estandarizar la técnica de ELISA para la detección de anticuerpos contra el HVB-1 en muestras de leche de animales individuales y en mezclas de leche de varios animales.

MATERIALES Y MÉTODOS. Se utilizaron muestras de sangre y de leche entera de 200 vacas provenientes de diferentes hatos de Antioquia y Córdoba. Los platos fueron sensibilizados con antígeno sonicado y clarificado de la cepa Cooper del HVB-1, titulado sobre monocapas de células MDBK⁽⁵⁾.

Para la estandarización de la técnica se utilizaron las muestras de los animales cuyos sueros sanguíneos tuvieron una reactividad previamente conocida y concordante por las pruebas de Neutralización y ELISA. Con el fin de determinar la dilución de trabajo para las muestras de leche se probaron varias diluciones, y finalmente empleamos, aquella en la cual la diferencia entre los deltas de densidad óptica fue más amplia. La prueba de leche estandarizada en muestras individuales se utilizó para probar mezclas de un positivo en un negativo, un positivo en dos negativos, y así sucesivamente hasta que el delta de absorbancia para el positivo mezclado estuvo por debajo del punto de corte. El punto de corte, la sensibilidad y la especificidad de la técnica, se determinaron utilizando las Curvas de Respuesta Operativa (R.O.C) por medio del paquete estadístico Medcalc.

RESULTADOS. La técnica fue estandarizada en leche entera sin diluir, se obtuvo un punto de corte de 0.09 con una sensibilidad y especificidad de 94%. La técnica puede detectar un positivo diluido en un negativo, aunque si el delta de absorbancia del positivo es alto, este se detecta en 4-6 negativos.

DISCUSIÓN. Colombia se enfrenta ante una disyuntiva en el control o erradicación de la RIB, para tomar una decisión se debe conocer el impacto de la enfermedad en nuestro medio, pero este se desconoce por la falta de posibilidades de diagnóstico de esta y de otras enfermedades virales. Nuestro propósito ha sido generar la tecnología necesaria para diagnosticar esta enfermedad, y para el efecto se ha estandarizado la técnica de ELISA en suero sanguíneo y lácteo y, en el presente trabajo en leche entera. Las ventajas de esta última serían la facilidad en la toma de la muestra y la economía, la no invasividad del procedimiento que disminuye el factor de estrés en los animales. Esta técnica se puede utilizar en encuestas serológicas ampliadas bien sea para corroborar el estatus libre de la infección o para evaluar la inmunogenicidad de las vacunas. Puesto que los índices de prevalencia detectados en estudios de nuestro grupo son relativamente bajos (10-15%), sería entonces posible hacer aproximaciones epidemiológicas probando mezclas de leches, por lo menos de dos individuos, lo cual reduciría los costos en más de un 50% con relación al ELISA en suero sanguíneo y adicionalmente, para efectos de control oficial, sería posible hacer pruebas en canecas en los centros de acopio, para detectar los hatos positivos y eventualmente llegar a los animales portadores de la infección. Esta técnica sería de la mayor importancia si el país decide iniciar una campaña de erradicación; en este caso la búsqueda sistemática de animales portadores de la infección se convierte en la principal estrategia para evaluar la campaña.

BIBLIOGRAFIA.

1. Virus Infectious of Vertebrates. 1990
2. Revista Acovez. 1993
3. Rev. Med. Vet. y de Zoot. 1991
4. Medical Microbiology Immunology. 1995
5. Tesis (Médico Veterinario). 1991

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

LA PARAINFLUENZA BOVINA EN NUCLEOS DE GANADO BON EN EL DEPARTAMENTO DE ANTIOQUIA.

S. Molina, J.F. Cadavid, J.O. Zapata, H. Castaño, J.J. Arboleda.

Fac. de Med. Vet. Y de Zoot. Univ. de Ant., Medellín, Colombia.

INTRODUCCION: La parainfluenza bovina es producida por un virus de la familia paramixoviridae el cual tiene una cadena sencilla de ARN, tiene la propiedad de aglutinar glóbulos rojos de curi (Fenner 1987).

La enfermedad se caracteriza por un cuadro respiratorio y por trastornos reproductivos (Blood 1992). El objetivo de este estudio fue determinar por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación el porcentaje de infección al PI-3 en los núcleos de ganado BON en Antioquia.

MATERIALES Y METODO: Se realizó un estudio descriptivo en el cual se emplearon un total de 418 sueros recolectados por la sección de virología de la facultad de medicina de la Universidad de Antioquia, que correspondían a los diferentes animales de los núcleos de BON existentes en Antioquia (1992-1995). Todos fueron procesados por el método de inhibición de la hemoaglutinación (Rodríguez 1982), en la cual se emplearon 10 UHA/50 µl del antígeno.

RESULTADOS: Los títulos de anticuerpos variaron desde ≤ 10 hasta 640 con porcentaje de 31.10 y 0.47 respectivamente. Los porcentajes de reactores positivos fueron de un 57.83%, 76.34%, 53.66% y 86.36% que correspondieron a animales procedentes de San José del Nus (ICA), Hatillo (Ude A), Santa Elena (U. Nal) y Rionegro (Ivan D. Gutierrez) en su orden.

DISCUSION: La prevalencia obtenida fue de 68.89% a PI-3 en núcleos de ganado BON existentes en Antioquia, lo anterior está de acuerdo a lo establecido en una investigación realizada por Ruiz y Carrillo en 1979 en la cual hallaron una prevalencia para PI-3 en reproductores bovinos de Urabá del 40.5 % en donde se definió que títulos de anticuerpos $\geq 1:20$ indicaban haber padecido la infección o haber estado en contacto con el virus. Los altos porcentajes de reactores positivos en los núcleos de BON existentes en Antioquia se debe posiblemente a la consecución de pie de cría en la granja experimental el Nus, en donde Castaño en 1982 halló una prevalencia del 50% a PI-3. Debido a la evidencia serológica a PI-3 hallada en esta investigación es necesario aislar y caracterizar hasta donde sea posible el virus para establecer la causa etiológica de trastornos respiratorios y reproductivos en ganado BON. Lo anterior aumenta la necesidad de que se haga un esfuerzo interinstitucional para crear un servicio de diagnóstico permanente y sistemático con el fin de lograr esclarecer el problema no solamente de IBR (Arboleda et al 1991) sino también a otros virus como el de la PI-3. Una vez obtenido el virus en el laboratorio se podría estandarizar nuevas técnicas de diagnóstico tales como inmunoensayos los cuales tienen mayor especificidad y sensibilidad que las pruebas de Inhibición de la hemoaglutinación y permiten realizar estudios epidemiológicos tanto en suero como en leche en poblaciones mas numerosas, como también medir la respuesta de anticuerpos post inmunización, en el supuesto que se establezca un programa de prevención y control mediante el uso de vacunas, las cuales ya están disponibles comercialmente en Colombia.

ARBOLEDA, J., et al. Estudio sobre Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en un hato lechero del Valle de Aburrá. Trabajo de Grado. Fac. de Med. Vet. Y de Zoot. Univ. de Ant. 1991

BLOOD, D. C.; Radostits, O. M. Medicina Veterinaria. Editorial Interamericana. Mc. Graw Hill 1992

CATAÑO, B. A.; et al. Estudios Serológicos para el virus PI3 en el Ganado de la Estación Agropecuaria del Nus. Trabajo de Grado Fac. de Med. Vet. Y de Zoot. Univ. de Ant. 1982

FENNER, F., et al. Veterinary Virology. Orlando. Academic Press. 1987.

RODRIGUEZ, G. Y Col. Manual de Técnicas en Microbiología. Documento de Trabajo No. 18. ICA 1983.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

LA PARAINFLUENZA BOVINA EN NUCLEOS DE GANADO BON EN EL DEPARTAMENTO DE ANTIOQUIA.

S. Molina, J.F. Cadavid, J.O. Zapata, H. Castaño, J.J. Arboleda.

Fac. de Med. Vet. Y de Zoot. Univ. de Ant., Medellín, Colombia.

INTRODUCCION: La parainfluenza bovina es producida por un virus de la familia paramixoviridae el cual tiene una cadena sencilla de ARN, tiene la propiedad de aglutinar glóbulos rojos de curi (Fenner 1987).

La enfermedad se caracteriza por un cuadro respiratorio y por trastornos reproductivos (Blood 1992). El objetivo de este estudio fue determinar por la prueba de inhibición de la hemoaglutinación el porcentaje de infección al PI-3 en los núcleos de ganado BON en Antioquia.

MATERIALES Y METODO: Se realizó un estudio descriptivo en el cual se emplearon un total de 418 sueros recolectados por la sección de virología de la facultad de medicina de la Universidad de Antioquia, que correspondían a los diferentes animales de los núcleos de BON existentes en Antioquia (1992-1995). Todos fueron procesados por el método de inhibición de la hemoaglutinación (Rodríguez 1982), en la cual se emplearon 10 UHA/50 µl. del antígeno.

RESULTADOS: Los títulos de anticuerpos variaron desde ≤ 10 hasta 640 con porcentaje de 31.10 y 0.47 respectivamente. Los porcentajes de reactores positivos fueron de un 57.83%, 76.34%, 53.66% y 86.36% que correspondieron a animales procedentes de San José del Nus (ICA), Hatillo (Ude A), Santa Elena (U. Nal) y Rionegro (Ivan D. Gutierrez) en su orden.

DISCUSION: La prevalencia obtenida fue de 68.89% a PI-3 en núcleos de ganado BON existentes en Antioquia, lo anterior está de acuerdo a lo establecido en una investigación realizada por Ruiz y Carrillo en 1979 en la cual hallaron una prevalencia para PI-3 en reproductores bovinos de Urabá del 40.5% en donde se definió que títulos de anticuerpos $\geq 1:20$ indicaban haber padecido la infección o haber estado en contacto con el virus. Los altos porcentajes de reactores positivos en los núcleos de BON existentes en Antioquia se debe posiblemente a la consecución de pie de cria en la granja experimental el Nus, en donde Castaño en 1982 halló una prevalencia del 50% a PI-3. Debido a la evidencia serológica a PI-3 hallada en esta investigación es necesario aislar y caracterizar hasta donde sea posible el virus para establecer la causa etiológica de trastornos respiratorios y reproductivos en ganado BON. Lo anterior aumenta la necesidad de que se haga un esfuerzo interinstitucional para crear un servicio de diagnóstico permanente y sistemático con el fin de lograr esclarecer el problema no solamente de IBR (Arboleda et al 1991) sino también a otros virus como el de la PI-3. Una vez obtenido el virus en el laboratorio se podría estandarizar nuevas técnicas de diagnóstico tales como inmunoensayos los cuales tienen mayor especificidad y sensibilidad que las pruebas de Inhibición de la hemoaglutinación y permiten realizar estudios epidemiológicos tanto en suero como en leche en poblaciones mas numerosas, como también medir la respuesta de anticuerpos post inmunización, en el supuesto que se establezca un programa de prevención y control mediante el uso de vacunas, las cuales ya están disponibles comercialmente en Colombia.

ARBOLEDA, J., et al. Estudio sobre Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en un hato lechero del Valle de Aburrá. Trabajo de Grado. Fac. de Med. Vet. Y de Zoot. Univ. de Ant. 1991

BLOOD, D. C.: Radostits, O. M. Medicina Veterinaria. Editorial Interamericana. Mc. Graw Hill 1992

CATAÑO, B. A.; et al. Estudios Serológicos para el virus PI3 en el Ganado de la Estación Agropecuaria del Nus. Trabajo de Grado Fac. de Med. Vet. Y de Zoot. Univ. de Ant. 1982

FENNER, F., et al. Veterinary Virology. Orlando. Academic Press, 1987.

RODRIGUEZ, G. Y Col. Manual de Técnicas en Microbiología. Documento de Trabajo No. 18. ICA 1983.

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

ESTUDIOS SEROLOGICOS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY EN
GRANJAS PORCÍCOLAS INTENSIVAS DE COLOMBIA

Arbeláez G., Ruiz S., Gómez A., Barrero D., Peña N., Rincón M.A.,
Mogollón J.D.

Instituto Colombiano Agropecuario ICA - División de Sanidad
Animal.

Laboratorio Central de Referencia Diagnóstica- CEISA- Avenida el
Dorado No. 42-42 A.A. 29743 Santafé de Bogotá.

El presente trabajo tuvo como objeto detectar la presencia de reactores serológicos a la enfermedad de Aujeszky en granjas de de producción porcina intensiva del país. Actualmente la enfermedad se considera exótica para nuestro medio y se requiere establecer la situación. El estudio se desarrolló principalmente en granjas porcinas de ciclo completo existentes en la Zona Andina y Valles Interandinos. En cada granja se llevó a cabo un muestreo serológico estratificado colectando muestras de diferentes grupos etáreos: Lechones de 4 semanas de edad, lechones de 8 semanas, cerdos sacrificio o cerdas madres de diferentes partos. De cada grupo etáreo se colectaron 10 sueros tomados al azar dentro de la población presente en cada granja. La detección de anticuerpos se llevó a cabo mediante un kit comercial de ELISA (Herdcheck-Aujeszky- Screening IDEEX U.S.A.). En total se analizaron 2.166 sueros correspondientes a 56 granjas localizadas en 8 departamentos. Se encontró un promedio de 1.85% de reactores positivos, siendo los departamentos de Risaralda (1.29%), Quindío (2.20%), y Caldas (3.51%) los que presentaron un mayor número de reactores. Se concluye que podría existir actividad viral en el país, pero se sugieren estudios epidemiológicos y de aislamiento viral para confirmar los hallazgos de los exámenes serológicos.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**ESTUDIOS SEROLOGICOS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY EN
GRANJAS PORCÍCOLAS INTENSIVAS DE COLOMBIA**

Arbeláez G., Ruiz S., Gómez A., Barrero D., Peña N., Rincón M.A.,
Mogollón J.D.

Instituto Colombiano Agropecuario ICA - División de Sanidad
Animal.

Laboratorio Central de Referencia Diagnóstica- CEISA- Avenida el
Dorado No. 42-42 A.A. 29743 Santafé de Bogotá.

El presente trabajo tuvo como objeto detectar la presencia de reactores serológicos a la enfermedad de Aujeszky en granjas de de producción porcina intensiva del país. Actualmente la enfermedad se considera exótica para nuestro medio y se requiere establecer la situación. El estudio se desarrolló principalmente en granjas porcinas de ciclo completo existentes en la Zona Andina y Valles Interandinos. En cada granja se llevó a cabo un muestreo serológico estratificado colectando muestras de diferentes grupos etáreos: Lechones de 4 semanas de edad, lechones de 8 semanas, cerdos sacrificio o cerdas madres de diferentes partos. De cada grupo etáreo se colectaron 10 sueros tomados al azar dentro de la población presente en cada granja. La detección de anticuerpos se llevó a cabo mediante un kit comercial de ELISA (Herdcheck-Aujeszky- Screening IDEEX U.S.A.). En total se analizaron 2.166 sueros correspondientes a 56 granjas localizadas en 8 departamentos. Se encontró un promedio de 1.85% de reactores positivos, siendo los departamentos de Risaralda (1.29%), Quindío (2.20%), y Caldas (3.51%) los que presentaron un mayor número de reactores. Se concluye que podría existir actividad viral en el país, pero se sugieren estudios epidemiológicos y de aislamiento viral para confirmar los hallazgos de los exámenes serológicos.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**PORCENTAJES DE PROTECCIÓN CONTRA LA PARVOVIROSIS CANINA (PVC)
EN CUATRO CRIADEROS DEL VALLE DE ABURRA**

I.D. ESCOBAR, L. A. MESA y S. MOLINA.

Univ. de Ant., Fac. de Med. Vet. Y de Zoot. MEDELLÍN - COLOMBIA

INTRODUCCIÓN: La PVC es producida por un agente perteneciente a la familia Parvoviridae, tiene DNA de cadena simple desenvuelto, aglutina glóbulos rojos de cerdo (Fenner 1992), afecta generalmente cachorros y perros jóvenes, la inmunidad pasiva la obtienen por ingestión de calostro la cual puede persistir dieciocho semanas o más (Pollok 1982), la inmunidad activa se adquiere por el uso de vacunas (Pollok 1983). En estudios realizados por varios investigadores definieron que títulos de anticuerpos por IH mayores a 1:80, $0 \geq 1:128$ indica que los caninos están protegidos a la PVC (Quijano 1996, Rejas 1988). El propósito de esta investigación fue determinar el porcentaje de protección contra la PVC en cuatro criaderos del área metropolitana.

MATERIALES Y METODOS :Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, se determinaron los porcentajes de protección contra la PVC en animales mayores de un año, por la prueba de IH descrita por POLLOK et al en 1993

RESULTADOS Y DISCUSIÓN :Los porcentajes de protección fueron de 73, 73, 67 y 97 que correspondían a los criaderos 1, 2, 3 y 4 respectivamente. En los caninos se halló que los títulos de anticuerpos protectores están de acuerdo con lo expuesto por Quijano y Margolet citado por Rejas López.. En el criadero cuatro se encontró el porcentaje de protección más alto, esto se puede atribuir al poco tiempo existente entre las vacunaciones lo cual permitió alcanzar en los animales niveles de anticuerpos satisfactorios. El nivel de protección más bajo se presentó en el criadero tres en el cual la última vacuna se aplicó once meses antes de tomar las muestras, razón por la cual la protección descendió. De acuerdo a los resultados obtenidos se sugiere realizar medición de los anticuerpos contra el PVC antes del parto en las reproductoras con el fin de establecer los niveles de protección que serán conferidos a los cachorros a través de calostro y la placenta. Si estos son bajos o no protectores se debe vacunar a la futura madre y luego evaluar la respuesta posvacunal. Los cachorros también deben ser evaluados serológicamente antes de la primovacuna para adquirir una idea del catabolismo de los anticuerpos maternos y definir de este modo el momento en el cual no sea neutralizada la vacuna y garantizar en esta forma una respuesta de anticuerpos efectiva. Además se deben efectuar serologías periódicas en todos los perros de cada criadero, para establecer una línea base que permita implementar un plan de vacunación racional y adecuado.

Fenner, F. et al. *Virología veterinaria*. Zaragoza, España. E d. Acribia. 1992. p.421-434.

Veterinary Medical Association. Vol 180. N1. (1982) p.27-42.

Pollock, R.V.H. y Carmichael, L.E. En: *Veterinary clinics of North America: Small Animal*
Pollock, R. V. H. y Carmichael, L. E. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection transfer, decline and interference with vaccination. En: *Journal of the American Practice*. Vol.13. N3 (1983) p.551-567)

Quijano, O. et al. En: *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Vol.9. Suplemento 1996. p.10-11.

Rejas Lopez, J. et al. Inmunidad en parvovirus Canina II. Cinética de anticuerpos Inhibidores de la Hemoaglutinación en perros de la raza mastin español vacunados contra la parvovirus canina. En: *Anales de la Facultad de Veterinaria de Leon*. N.34 (1988). p.41-53.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**ESTUDIO DEL SINDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO
PORCINO (PRRS) EN GRANJAS PORCICOLAS INTENSIVAS DE
COLOMBIA**

Arbeláez G., Ruiz B., Gómez A., Barrero D., Peña N., Ojuela
N., Rincón M.A., Mogollón J.D.

Instituto Colombiano Agropecuario -ICA- División de Sanidad Animal
Laboratorio Central de Referencia Diagnóstica CEISA, Avenida el
Dorado No. 42-42- A.A. 29743. Santafé de Bogotá.

El presente estudio tuvo como propósito determinar la presencia del Síndrome Reproductivo Porcino (PRRS), en las granjas porcícolas intensivas por medio de estudios serológicos y por medio de aislamiento viral. para tal efecto se seleccionaron al azar explotaciones porcícolas intensivas en los departamentos del país donde éste sector pecuario está más tecnificado de la siguiente manera: 10 sueros de lechones de cuatro semanas de edad, 10 sueros de lechones de 8 semanas, 10 sueros de lechones de sacrificio o de cerdas de reemplazo y 10 sueros de cerdas de diferentes partos.

La Detección de anticuerpos contra el virus del PRRS se realizó utilizando un kit comercial de ELISA Herdcheck (PRRS), IDDEX U.S. A. Para los trabajos de aislamiento viral se colectaron muestras de macrófagos alveolares, pulmón, tonsila y bazo de lechones de precebo en 2 granjas consideradas dentro del estudio serológico con signos clínicos respiratorios y seropositividad alta. El virus se aisló en células MA-104 donde se observó efecto citopático y la presencia del agente por Inmunofluorescencia directa e indirecta.

En total se analizaron 2.166 sueros, correspondientes a 56 granjas intensivas distribuidas en ocho departamentos. el porcentaje promedio de positividad fué de 19.2% y la presencia de reactores por departamento sería entre 1.2% y 27.8%. Hasta el presente se han aislado 2 cepas virales de campo confirmadas como se describió anteriormente.

De acuerdo a los resultados se concluyó que el PRRS está en Colombia en las explotaciones porcinas intensivas y por lo tanto es necesario desarrollar programas de prevención y control de la enfermedad.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**ESTUDIO DEL SINDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO
PORCINO (PRRS) EN GRANJAS PORCICOLAS INTENSIVAS DE
COLOMBIA**

Arbeláez G., Ruiz S., Gómez A., Barrero D., Peña N., Orjuela N., Rincón M.A., Mogollón J.D.

Instituto Colombiano Agropecuario -ICA- División de Sanidad Animal
Laboratorio Central de Referencia Diagnóstica CEISA, Avenida el
Dorado No. 42-42- A.A. 29743. Santafé de Bogotá.

El presente estudio tuvo como propósito determinar la presencia del Síndrome Reproductivo Porcino (PRRS), en las granjas porcícolas intensivas por medio de estudios serológicos y por medio de aislamiento viral, para tal efecto se seleccionaron al azar explotaciones porcícolas intensivas en los departamentos del país donde éste sector pecuario está más tecnificado de la siguiente manera: 10 sueros de lechones de cuatro semanas de edad, 10 sueros de lechones de 8 semanas, 10 sueros de lechones de sacrificio o de cerdas de reemplazo y 10 sueros de cerdas de diferentes partos.

La Detección de anticuerpos contra el virus del PRRS se realizó utilizando un kit comercial de ELISA Herdcheck (PRRS), IDDEX U.S.A. Para los trabajos de aislamiento viral se colectaron muestras de macrófagos alveolares, pulmón, tonsila y bazo de lechones de precebo en 2 granjas consideradas dentro del estudio serológico con signos clínicos respiratorios y seropositividad alta. El virus se aisló en células MA-104 donde se observó efecto citopático y la presencia del agente por Inmunofluorescencia directa e indirecta. En total se analizaron 2.166 sueros, correspondientes a 56 granjas intensivas distribuidas en ocho departamentos. el porcentaje promedio de positividad fue de 19.2% y la presencia de reactores por departamento sería entre 1.2% y 27.8%. Hasta el presente se han aislado 2 cepas vírales de campo confirmadas como se describió anteriormente.

De acuerdo a los resultados se concluyó que el PRRS está en Colombia en las explotaciones porcinas intensivas y por lo tanto es necesario desarrollar programas de prevención y control de la enfermedad.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE IH PARA LA MEDICIÓN DE
ANTICUERPOS CONTRA NEW CASTLE EN YEMA DE HUEVO**

V. OSPINA, L. PALACIOS, S. MOLINA.

Univ. de Ant., Fac. Med. Vet. Y de Zoot., MEDELLÍN - COLOMBIA

INTRODUCCIÓN La enfermedad de NC es producida por un virus de la familia Paramyxoviridae, poseen una membrana lipídica, ARN, hemoaglutina glóbulos rojos de aves. En 1988 SILIM y colaboradores realizan un estudio comparativo de los títulos de anticuerpos en suero y yema de huevo por medio de la prueba de Elisa, observaron una alta correlación entre los títulos de inmunoglobulinas para varias enfermedades virales (Silim 1989). Durante 1991 ARPIN et al en un lote de ponedoras, obtuvieron una importante correlación entre los títulos de anticuerpos en suero y en la yema lo anterior permitió concluir que se puede monitorear el estado inmunológico de las aves de postura en la yema de los huevos. VARGAS, en 1990 reporta una alta correlación en los títulos de anticuerpos en suero y en yema por la prueba de Elisa para la enfermedad de NC. BUSTOS y NAVAS en 1988 en Colombia no encontraron diferencias significativas en los títulos de anticuerpos por IH contra NC tanto en yema como en suero.

MATERIALES Y METODOS: De un lote (I) de 5300 gallinas de 64 semanas de edad que habían recibido cinco vacunaciones contra NC se recolectaron 70 huevos y de las mismas gallinas se tomó muestras de suero. De otro lote (II) de 20 gallinas las cuales no fueron sometidas a ningún plan vacunal ni se conoció en ellas historia de sintomatología compatible con NC se recolectaron huevos y sangre de ellas, las yemas y los sueros fueron procesados por la técnica de extracción de anticuerpos descrita por SILIM 1989.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: En todas las yemas del lote I se hallaron títulos de anticuerpos protectores y superiores a los encontrados en sus mismos sueros. Estos resultados determinan la efectividad de la técnica de extracción de anticuerpos utilizada y concuerdan con lo reportado por PIELA, SILIM 1989, y por ARPIN et al en 1991, quienes consideraron que la yema sirve para monitorear el estado inmunológico de las aves. Las yemas y los sueros del lote II no mostraron título alguno por el método de IH. Esta prueba de IH en la yema de los huevos es práctica por la facilidad de la toma y el envío de las muestras, además se evita el estrés de las aves por la manipulación en el sangrado. En granjas reproductoras e incubadoras, esta técnica sería una buena alternativa para medir el grado de protección que las gallinas están transmitiendo a su progenie contra NC y bronquitis infecciosa, pues los huevos tienen un costo inferior al del pollito el cual generalmente muere después de la sangría.

Arpin, C., et al. Kinetics of Serum Antibodies and yolk antibodies to four avian viruses in five broiler breeder flocks. En: *Annales de médecine vétérinaire*. Vol 135, N.5 (1991); p.377-380.

Bustos, Francisco y Navas, Yolanda de. Determinación de anticuerpos contra Newcastle a partir de la yema de huevo. En: *Rev. Ica*. Vol 20 (1985); p. 251-254.

Piela, T. et al Use of egg yolk in serological test (Elisa and HI) to detect antibody Newcastle infectious bronchitis, and Mycoplasma gallisepticum. En: *Avian Disease*. Vol. 28, N.4 (1984); p. 877-883.

Silim, A. and Venne, D. Comparison of Egg-Yolk and Serum Antibody Titers to four Avian Viruses by Elisa Using Paired Field Samples. En: *Avian Diseases*. vol 33, N.4 (1989); p.643-

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**PARVOVIROSIS PORCINA (PVP) EN ANIMALES NO VACUNADOS Y
SACRIFICADOS EN EL MATADERO DEL MUNICIPIO DE ANDES ANTIOQUIA**

S. Molina, R. Hubert M., D. Zuluaga

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

Medellín Colombia. A.A.1226

INTRODUCCION: El agente causante de la (PVP) pertenece a la familia Parvoviridae, género parvovirus, tiene un genoma DNA, de cadena simple, desenvuelto, aglutinan glóbulos rojos de cobayo (Mohanty 1983). La infección es considerada enzoótica en granjas porcinas de todo el mundo y es altamente prevalente. En estudios realizados en Colombia se encontró un porcentaje de positividad de 87.8 en hembras de cría y un 39 en ceba (González 1987). Cuando los animales se infectan, desarrollan títulos elevados de anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación (IH) $\geq 1:256$ (Mengelig 1986). El objetivo de este estudio fue determinar los títulos de anticuerpos a PVP por medio de la prueba del IH en cerdos sacrificados en el matadero de Andes Antioquia.

MATERIALES Y METODOS: Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal, las muestras de suero se extrajeron de cerdos que llegan al matadero en donde se sacrifican en promedio 800 animales al mes y provienen de granjas donde no se realiza ningún tipo de vacunación contra la PVP. El tamaño de la muestra fue de 86 sueros, los cuales fueron suficientes para realizar el estudio con un límite de confianza de 95% y un error del 10% (1).

INHIBICION DE LA HEMOAGLUTINACION: Cada suero se inactivo a 56 grados centígrados por 30 minutos en baño maría, luego se trataron con caolin al 25% en PBS pH7.2, se incubó a 4 grados centígrados durante 40 minutos y se agitó cada 5 minutos, luego se centrifugó a 2.000 RPM por 10 minutos, luego se les adicionaron glóbulos rojos de cobayo al 1%, se incubó a 4 grados centígrados durante 18 horas, se centrifugó a 1.500 RPM por 10 minutos; se prepararon diluciones dobles a partir de 1 : 200 hasta 1:12.800, a cada una se le adicionaron 4 UHA/50 ul de antígeno, se dejaron a 22 grados durante una hora, posteriormente se agregaron 50 ul de glóbulos rojos de cobayo al 0.5%, se incubó a temperatura ambiente por 2 horas y el título fue el recíproco de la dilución más alta donde se inhibió completamente la hemoaglutinación, las muestras que no presentaron IH en la dilución inicial 1:200 se consideraron negativas (González 1993).

RESULTADOS: Los reactores positivos fueron de 82.52% (71/86) y los negativos (15/86) correspondían a un 17,44% del total de la población. Los títulos 1:200 (21/71) y 1:600 (20/71) fueron los que más se presentaron.

DISCUSION: En esta investigación se encontró que el alto porcentaje de positividad sueros procesados, coincide con los estudios realizados anteriormente en el Departamento de Antioquia. La alta tasa de sueros positivos indica que los animales encuestados, tuvieron un contacto directo con el virus de campo o fueron amamantados con calostro de madres previamente infectadas con dicho virus, pues los títulos que se alcanzan con antígeno vacunal son bajos y además se requiere de inmunizaciones periódicas para mantenerse estable (Mengeling 1984). Estos resultados, sumados a la falta de vacunación contra la PVP indica que la enfermedad es endémica en la zona y concuerda con la alta prevalencia que tiene el virus a nivel mundial (Palacios 1978). En futuros estudios se debe realizar inspección del tracto reproductivo de las hembras que llegan al matadero para sacrificio con el fin de observar alteraciones compatibles con la PVP, y tratar de aislar e identificar el virus en cultivos celulares. Además determinar las pérdidas económicas producidas y representadas en los bajos índices de productividad como son el menor número de camadas por cerda año, menor número de lechones vivos por camada y mayor número de días no productivos. Se debe recopilar los diferentes estudios serológicos sobre PVP realizados por el grupo de investigaciones en enfermedades infecciosas de los animales, con el fin de realizar un mapa epidemiológico a nivel Departamental. La consecución del pie de cría para las diferentes granjas del Municipio de Andes, se debe efectuar en granjas donde se lleve a cabo un buen programa de inmunización y bioseguridad. De acuerdo al alto porcentaje de prevalencia encontrado, se hace necesario realizar un mapa epidemiológico de acuerdo a la procedencia de las diferentes regiones que aportaron animales para el sacrificio en el matadero, e identificar factores de riesgo que favorezcan la presentación de la PVP.

Gaviria, G. Determinación del tamaño de muestra presentado en: Segundo Seminario Taller de Inmunovirología y Gonzalez, G, Guillermo, Torres T, Miryam. Enfermedades virales porcinas. Manual de técnicas serológicas. Bogotá. CEISA. 1993 p.86-87

Gonzalez, G, Guillermo, Torres T, Miryam. Serología de las infecciones por pseudorabia y parvovirus en piaras de ceba de Antioquia y mixtas del Valle del Cauca. En: Rev. ICA. Vol.22. N2. (1987).p.70-74.

Serología Veterinaria 1997.

Mengelin, W.I. et al. Porcine Parvovirus -Induced reproductive failure. En: Howard Current Veterinary Therapy 2.

Mengelin, W.I. et al. Oronasal and Intramuscular Vaccination of swine with a modified live porcine parvovirus vaccine virus. En: American Journal Veterinary Research. Vol. 45. N.12. (1984); p.2481-2485

Mohanty, Sashy B. And dutta, Sukanta. Virología Veterinaria. E d. Interamericana. 1983.

Food Animal Practice. 1986; p. 539-540.

Palacios, Jose y Ossa, Jorge. Fallas reproductivas por parvovirus porcino. En: Rev. Col. Cien. Pec.vol.1.N.1. (1978).p.55-63.

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**SEROCONVERSIÓN EN PONEDORAS COMERCIALES VACUNADAS CONTRA NEW
CASTLE EN CRÍA Y LEVANTE**

M. CIFUENTES, C. BEDOYA y S. MOLINA

Univ. de Ant., Fac. De Med. Vet. Y de Zoot. MEDELLÍN - COLOMBIA

INTRODUCCIÓN :La enfermedad de New Castle (NC) se reconoció por primera vez en Indonesia en 1926 es producida por un Paramixovirus Tipo 1 (Fenner 1992). En 1993 GARCIA et al encontraron que aves las cuales recibieron varias vacunas contra la enfermedad de NC estaban protegidas cuando tenían títulos $\geq 1:40$ por IH. BEARD, C., HANSON, R., en 1984 establecieron que aves con títulos IH de aproximadamente 1:40 usualmente no mueren después de desafiarlas con el virus de NC. CEBALLOS et al en 1993 definió qué títulos por IH $\geq 1:32$ protegen contra la mortalidad debida a NC. DE LOS RIOS estableció que un promedio geométrico (PG) de 30 era el standard mínimo de protección para las aves vacunadas contra NC a las cuales se les determine su grado de inmunidad por la prueba de IH. BOTERO en 1995 en Colombia estableció que los títulos de IH contra New Castle entre 20 y 640 indicaban protección y títulos entre 5 y 10 indicaban desprotección.

MATERIALES Y METODOS: En tres lotes de aves de reposición por el método de IH se midieron los títulos de anticuerpos transferidos por la madre a los dos días de edad, luego a los veinticinco días, a las ocho semanas, a las trece semanas y a las diecisiete semanas después de haber recibido la primera, segunda, tercera y cuarta vacuna contra NC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN: En la tabla 1 se observan los promedios geométricos de los títulos de anticuerpos contra NC en los diferentes lotes analizados. Los promedios geométricos de los títulos en las pollitas de un día de edad para los lotes 55, 56 y 57 fueron de 131.8, 100 y 51.3 respectivamente los resultados anteriores son superiores a lo establecido por DE LOS RIOS el cual definió un PG de 30 como standar mínimo de protección. A los 25 días y a las 8 semanas de edad los PG en los diferentes lotes estaban por debajo de lo establecido por el mismo autor, posiblemente lo anterior se debe a los antígenos vacunales los cuales hacen que se formen complejos inmunes y originan un descenso de los títulos de anticuerpos y hacen reducir el PG. Los PG a las 17 semanas de edad cuando han recibido la cuarta vacuna contra NC estos fueron de 102.3, 97.7 y 41.6 los cuales indican una protección de los diferentes lotes esto debido a la respuesta inmune de anticuerpos en forma inmediata, obteniéndose esta por la memoria inmunológica dada por las inmunizaciones anteriores. Con estos resultados se puede concluir que las aves de esta explotación en las etapas de cría y levante con esas vacunaciones y bajo las mismas condiciones de manejo están protegidos y no es necesario hacer ajustes al programa de vacunación contra NC. Se debe establecer una línea base en la etapa de postura en los diferentes lotes de la empresa, con el fin de evaluar la protección adquirida con la vacuna oleosa en producción y realizar las pruebas de IH en las yemas de los huevos y aprovechar la standarización de este procedimiento en el laboratorio de microbiología y de parasitología de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Beard, C. W., Hanson, R., P. Newcastle disease. En: Hofstad, M.S. Diseases of poultry. 8 de Ames: Iowa State University. 1984. p.452-470

Botero, L. A. Pruebas serológicas en avicultura y su interpretación. Avides S.A. Col. 1995

Ceballos Y., et al. Comportamiento inmunológico de ponedoras comerciales de la sabana de Bogota frente De los Rios, G. Inmunología aviar y sus aplicaciones practicas. En: Avicultura andina. Vol.9. N.40. 1995 p.163-166.

al antigeno vacunal de Newcastle utilizando la prueba de IH. En: Rev. Acovez Vol.17. N.3. Dic.1993.

Fenner, F. et al. Virología veterinaria. Saragosa. España. E. d. Acribia. 1992. p.421-434.

García, E., et al. Niveles de anticuerpos en ponedoras inmunizadas con vacuna oleosa inactivada contra Newcastle. Medellín, 1993. Trabajo de grado (Fac. de Med. Vet. y de Zoot., Univ de Ant.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**EFFECTO DE LA INFECCION CON MYCOPLASMA gallisepticum EN LA
PRESENTACION DEL SINDROME ASCITICO AVIAR**

L. GUZMAN, M.MORENO de S.; A. HERNANDEZ

UNIVERSIDAD NACIONAL, FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y DE ZOOTECNIA

La hipoxia determina la presentación de hipertensión arterial pulmonar y ésta conduce al síndrome ascítico. Cualquier factor que predisponga a los pollos de engorde a la hipoxia puede desencadenar el mencionado síndrome ascítico (Lopez,1990).

Las enfermedades que ocluyan las vías respiratorias pueden ocasionar problemas de hipoxia y ascitis por incremento de la presión arterial pulmonar que conduce a insuficiencia cardíaca derecha; se ha demostrado experimentalmente que algunas afecciones respiratorias conducen a la presentación del síndrome ascítico (Huchzermeyer,1988; Julian y col.1990).

El trabajo de investigación tuvo el propósito de evaluar en pollos de engorde localizados en unidades de aislamiento, el efecto de la inoculación a los 14 días de edad con la cepa "R" (K-781) de *Mycoplasma gallisepticum* sobre la presentación del síndrome ascítico de origen hipóxico. A los 29 días de edad los pollos se sacrificaron y se realizaron las necropsias. Se observó un peso corporal menor, unos mayores valores del hematocrito y de la hemoglobina, un mayor índice cardíaco, presencia de secreciones oculares, tráquea congestionada y con menor movimiento ciliar, presencia de aerosaculitis, pericarditis y de perihepatitis en el grupo experimental; el examen histopatológico mostró alteraciones traqueales en los animales inoculados (exfoliación de células ciliadas, hipertrofia e hiperplasia de las células epiteliales, metaplasia epitelial e infiltración de linfocitos y de heterófilos en la lámina propia). No hubo focos neumónicos en los animales inoculados y las alteraciones del lecho arteriolar pulmonar en ambos grupos en animales que presentaron hipertensión arterial pulmonar fueron las mismas. Estadísticamente se encontró una asociación positiva entre las lesiones ocasionadas por el MYCOPLASMA y la presentación de la ascitis hipóxica; los animales del grupo experimental presentaron una mayor incidencia ascitis hipóxica en comparación con el grupo control. Bajo las condiciones del presente trabajo se demostró que la infección por *Mycoplasma* induce el desarrollo de hipertensión pulmonar. En consecuencia, una recomendación práctica para reducir la incidencia del síndrome ascítico, es el control de las enfermedades respiratorias y en particular la Mycoplasmosis.

F.HUCHZERMEYER;A. DE RUYICK; H.VAN ARKK. J.Vet.Res.V.55:5.1988.

R.J.JULIAN; M. GORYO. Avian Pathol. V.22:419.1990.

C.LOPEZ. VII Semin. Inter. de Patol. Avi. 23.1990.

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

CONTROL INTEGRADO DE GARRAPATAS EN EXPLOTACIONES DE DOBLE PROPOSITO EN EL
PIDEMONTE DEL META Y ARAUCA

Los ectoparásitos garrapatas, nuche y moscas, continúan siendo causa de pérdidas económicas a la ganadería bovina del país. Altos costos de control, realizado con técnicas deficientes, sumado a una actitud cultural hacia la utilización indiscriminada de los mismos, complica la situación creando resistencia a productos químicos. El objetivo principal del estudio fué, transferir la información de tecnología de CORPOICA, en control de garrapatas, participativamente con los productores a través de una estrategia educativa y concientizadora; en las regiones del Piedemonte del Meta y Arauca. El trabajo se ha desarrollado desde marzo de 1996 a la fecha, utilizando la siguiente estrategia: 1. Trabajo de educación e investigación aplicada directamente con los productores en cuatro fincas de los municipios de: Guamal, Restrepo, Granada, Villavicencio, Fuente de Oro y aplicación de una encuesta. 2. En las mismas fincas se evaluaron garrapaticidas con el Kitt de la Fao; se instruyó al personal encargado del ganado sobre aplicación técnica de baños garrapaticidas; 3. Conferencias, demostraciones de método, entrega de plegables divulgativos en veredas de los municipios de: Mesetas, Granada, San Martín, Villaviencio, Restrepo, Cumaral, Tame y Saravena (Arauca). Las fincas que decidieron colaborar con el trabajo de investigación han permitido evaluar actitudes culturales ante la tecnología propuesta que se refleja en mantener igual actitud frente al control de garrapatas o mejorarlo. La bomba de espalda es el método más utilizado para bañar con garrapaticidas la mayoría no tiene idea de la dosificación correcta del producto, no conocen la cantidad adecuada para bañar, cambian productos sin concepto técnico, rotan y mezclan. Las pruebas con el Kitt de la FAO mostraron altos niveles de resistencia a Cipermetrina y Flumetrina en tres de las cuatro fincas; los organos fosforados en dichas fincas mostraron resistencia intermedia. En una finca donde el productor utiliza Clorpirifos se encontró resistencia intermedia a Coumaphos; los principios activos Flumetrina y Cipermetrina mostraron bajos niveles de resistencia. La mayoría de productores utiliza Amitraz con varias marcas comerciales, pues lo consideran altamente efectivo. Los resultados de la investigación no muestran mayores logros a los reportes de Benavides, 1992 y Mateus, 1985. El concepto de conocer como y porqué se baña contra garrapatas no es claro en los productores; la gran mayoría de ellos depende del concepto del dueño de la droguería veterinaria; poseen además el concepto de ahorrar productos y bañar con cantidades inadecuadas. La actitud cultural es de vital importancia, para definir estrategias de transferencia de tecnología, como lo muestra la presente investigación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Benavides, E. Control de garrapatas nuevos enfoques para un viejo problema. Mimeografiado C.I. La Libertad. ICA. 1985.
2. Benavides, E. Cárdenas, D. Perea, J. Villar, C. Control de garrapatas actitudes y percepción de la tecnología por el usuario En: Memorias XVIII Congreso Nacional de Medicina Veterinaria. Ibagué. 1992. p 55-57
3. Mateus, G. Informe Anual Programa Patología Animal C.I. La Libertad. ICA. 1985).

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**ESTADO DE LA RESISTENCIA DE LA GARRAPATA *Boophilus microplus* A
PIRETROIDES SINTETICOS Y ORGANOFOSFORADOS EN FINCAS DEL NORTE DE
SANTANDER.**

Diklo Márquez L.¹ ; Efraín Benavides O.¹ ; Alvaro Romero N.¹; Gustavo Hernández² & Clara Sánchez S.³

Resumen

Las garrapatas y las enfermedades por ellas transmitidas ocasionan importantes pérdidas en la industria ganadera, particularmente la producción bovina en las áreas tropicales y subtropicales. Debido a que el control de las garrapatas en Colombia se ha realizado exclusivamente con base en el uso de sustancias químicas, la aparición de resistencia a los productos ha agravado la problemática del control de estos parásitos. Actualmente, se buscan alternativas que conduzcan reducir la dependencia hacia las sustancias químicas, orientando el control hacia esquemas integrales, de acuerdo con el concepto de Manejo Integral de Plagas (MIP), para lo cual se requiere, además de la comprensión de los aspectos bioecológicos y epidemiológicos, el conocimiento de la frecuencia de los genotipos resistentes a los diferentes productos químicos en las poblaciones de garrapatas. Mediante técnicas validadas internacionalmente se realizó el presente trabajo, con el objeto de detectar la presencia de genes resistentes en poblaciones de garrapatas a los acaricidas más comúnmente usados en la región, lo cual, se aspira, sirva de base para la selección de los compuestos a utilizar por los ganaderos de las fincas estudiadas. Para ello, se recolectaron teleoginas de 13 fincas del departamento de Norte de Santander, las que fueron procesadas mediante la técnica de paquetes de papel de filtro impregnadas con acaricidas (Fits FAO). Entre 30 y 40 teleoginas de cada finca fueron incubadas en el laboratorio a 28-30° C, con una humedad relativa del 80%. Las pruebas fueron realizadas cuando las larvas tenían entre 14 y 21 días de edad, y la graficación de los datos de mortalidad se realizó en papel log-próbit, comparándose estos resultados con el patrón de la curva dosis-efecto en una cepa susceptible (Yeerongpilly) y acorde a los criterios establecidos por la FAO. Los resultados de laboratorio demostraron la presencia de resistencia a los piretroides sintéticos Flumetrina y Deltametrina en cinco fincas, mientras que en nueve se encontraron altos niveles de resistencia a algunos de los organofosforados evaluados Coumafós, Clorfenvinfos y Diazinón). De las 13 fincas evaluadas, cuatro mostraron resistencia a piretroides y organofosforados. Los resultados evidencian que la resistencia varía de finca en finca, probablemente debido al tipo de manejo dado a los acaricidas. Igualmente se confirman que, al menos, en un importante porcentaje, las permanentes quejas de los ganaderos por la poca efectividad de los compuestos debida a la existencia de genotipos resistentes a los compuestos acaricidas en las poblaciones de garrapatas blanco de los intentos de control.

BETANCOURT, A. (1993). Susceptibilidad de varias cepas de la garrapata *Boophilus microplus* a diferentes acaricidas. Revista CEBÚ, 272, 86-91. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, FAO. (1984). Acaricide resistance Test Kit. Instruction for use. World Acaricide resistance Reference Center, WARCC. 12p. JOUJEGAN, F. and UILLEMBERG, G. (1994). Ticks and control methods. Review Scientific Technical Office International Epizootiology. 13. (4), 1201-1226.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria, CORPOICA -CEISA.

² Grupo Pecuário Regional 7, CORPOICA.

³ Bacteriólogo Rural.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

CICLO DE VIDA NO PARASITARIO DE Boophilus microplus EN CONDICIONES MEDIOAMBIENTALES DE LA CIUDAD DE MEDELLIN

J. Quijano¹, J. Peña², A. Serna², G. López³

¹ M.V. Profesor Fac.Med.Vet. U. de A., ² M.V. U. de A., ³ M.V. ICA Medellín, Colombia

La eficiencia en el control de garrapatas depende del conocimiento de los diferentes aspectos de su ciclo de vida. Por esta razón se realizó el presente estudio con el fin de conocer algunos aspectos relacionados con la biología de la garrapata Boophilus microplus en condiciones medioambientales de la ciudad de Medellín mensualmente y durante un año.

El estudio de campo se realizó en un área de 20 m² en la facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la U. de A., la cual se encerró con una malla metálica. En esa área se sembraron 12 materas con pasto puntero Hyparrhenia rufa y mensualmente durante un año se realizaron exposiciones de Teleoginas B. microplus obtenidas de bovinos en la Feria de Ganados de Medellín. Para la exposición, mensualmente se utilizaron 20 Teleoginas colocadas individualmente en tubos de malla de cobre con tapón de corcho para visualizar el periodo de preoviposición, oviposición e incubación y luego se separó el corcho para permitir que las larvas subieran libremente al pasto y determinar la supervivencia larvaria. En el laboratorio se dejaron garrapatas en tubos de vidrio con tapón de algodón las cuales sirvieron como grupos controles.

Los promedios y rangos en días para los diferentes periodos no parasíticos en los grupos de campo y de laboratorio se presentan en la tabla 1.

TABLA 1. Ciclo de vida no parasitaria de Boophilus microplus en el Campo y en el Laboratorio.

(PROMEDIO DE DESARROLLO Rango en días por grupo)

FASE DE DESARROLLO	CAMPO	LABORATORIO
PREOVIPOSICION	5.7 (3-12)	4.4 (3-7)
OVIPOSICION	22.5 (5-38)	17.7 (11-28)
INCUBACION	48.1 (41-59)	41.2 (36-58)
SUPERVIVENCIA LARVAS	71.1 (53-85)	59.9 (13-117)
LONGEVIDAD TOTAL	125 (110-135)	105.3 (68-168)
MAXIMAS GENERACIONES POR AÑO	5.6	5.44

Durante el estudio de campo la temperatura promedio mensual mínima y máxima fue de 21.4°C y 22.9°C, respectivamente y la humedad relativa mínima del 62% y máxima de 74%. En el laboratorio la temperatura promedio mensual mínima y máxima fue de 22.8°C y la humedad relativa artificial de 80-85%

Por esta razón se discute que los factores climáticos, especialmente la temperatura y humedad relativa influyen en la duración de las fases no parasitarias de Boophilus microplus y deben ser consideradas en los planes o estrategias de control del parásito.

Rev. ICA, Vol 18 No. extraordinario (1983); p. 513-524

Parasitology today, Vol 9 No. 1 (1993); p. 13-17

Sust. J. of Agricultural Res. 17 (1996); p. 387-410

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

RESISTENCIA DE LA GARRAPATA *Boophilus microplus* A ACARICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y PIRETROIDES SINTÉTICOS EN EL DEPARTAMENTO DEL HUILLA . EVALUACION DE FACTORES DE RIESGO

Alvaro Romero Nasayó.¹; Efraín V. Benavides Ortiz.¹; Cándido Herrera González² & María Helena Parra Trujillo³

Resumen

En las zonas tropicales y subtropicales del mundo, una de las principales limitantes en la ganadería es la presencia de muchas especies de garrapatas y de los hemoparásitos que éstos artrópodos transmiten, causando importantes pérdidas en la productividad ganadera. En Colombia el control de garrapatas ha estado básicamente limitado a la utilización intensiva de productos pertenecientes a todos los grupos químicos disponibles y en diferentes regiones del país se ha reportado baja efectividad de los compuestos, debido tal vez a su inadecuado uso. Esta situación ha generado dificultades en el control de la garrapata, teniendo en cuenta que el uso de químicos es el método más importante en los planes integrados de control. De lo anterior se deduce la importancia de conocer el grado de sensibilidad de las poblaciones de parásitos a los acaricidas mediante técnicas validadas que sirvan como base para la selección del compuesto a utilizar. Con el propósito de conocer el estado de susceptibilidad de poblaciones de la garrapata *Boophilus microplus* en el departamento de Huila, se recolectaron teleoginas de 40 fincas y se utilizó la prueba de mortalidad larvaria en paquetes de papel filtro, desarrollada y recomendada por FAO, como prueba de referencia en estudios de resistencia a acaricidas. Se trabajaron compuestos del grupo de los organofosforados (OP), piretroides sintéticos (PS) y organoclorados (OC). Para la obtención de larvas se incubaron entre 30 y 40 garrapatas adultas en el laboratorio a 28 °C y 80% de humedad relativa. La prueba se realizó cuando las larvas tenían entre 14 a 21 días de edad. Los datos obtenidos a diversas dosis de cada compuesto se graficaron en papel log-próbit y se comparó la curva obtenida con los parámetros establecidos por la FAO. Simultáneamente se realizó una encuesta con el objetivo de establecer los posibles factores operativos que estén favoreciendo la aparición y desarrollo de resistencia. Los resultados de laboratorio indicaron la presencia de resistencia a piretroides sintéticos en 25 de las 40 fincas, mientras que en 4 fincas se presentó marcada resistencia hacia los organofosforados evaluados (coumafós, diazinón) y moderada susceptibilidad al organoclorado dietdrín. Al relacionar los resultados de laboratorio con los obtenidos en la encuesta se encontró asociación estadística significativa entre la presencia de resistencia al dietdrín y el pastoreo continuo ($p=0.04$), con un Riesgo Relativo de 2.3. Así mismo se encontró asociación estadística entre la presencia de resistencia hacia la cipermetrina y los factores de riesgo tipo explotación (leche y doble propósito, $p=0.01$ y R.R.=2.7) y la frecuencia de baño (más de 12 baños/año, $p=0.01$ y R.R.=1.7). Igual que en los Llanos Orientales y Córdoba, se confirman una vez más que parte de la baja efectividad de los compuestos es debida a la presencia de genotipos.

BENAVIDES O., E.; GONZALEZ L., R.; MARTINEZ R., H.; PARRA G., D.; & VILLAR C., C. (1989). Espectro de sensibilidad a acaricidas de una colonia de garrapatas *Boophilus microplus* establecida en el Piedemonte Llanero. Revista ICA, 24 (1), 24-31. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, FAO (1984). Tick and tick borne diseases control: A practical field manual. Roma. vol.2. 297 p. HERNANDEZ M., L. (1993). Resistencia a acaricidas en cepas de la garrapata *Boophilus microplus* recolectadas en municipios del Meta. Universidad Tecnológica de los Llanos. Villavicencio. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 173 p.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

² UMATA Municipio de La Plata. Huila.

³ CRECED Norte del Huila. CORPOICA.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**PATRONES DE MORTALIDAD LARVARIA EN LA PRUEBA DE KITS FAO DE UNA CEPA
SUSCEPTIBLE DE REFERENCIA**

Efraín V. Benavides O.; Alvaro Romero N.; Dildo Márquez L. ¹

Resumen

La resistencia de los artrópodos a los pesticidas, definida como el desarrollo de la habilidad tolerar dosis de tóxicos que serían letales en poblaciones susceptibles, se constituye en una seria limitante en el desarrollo de esquemas de control de los ectoparásitos de ganado. Hoy se acepta que es necesario realizar un reconocimiento temprano de aparición de resistencia con el fin de implementar medidas adecuadas de control de este fenómeno basados principalmente en la elección del producto a ser utilizado, antes que la resistencia se desarrolle a unos niveles donde los compuestos se tornen totalmente inefectivos. Este trabajo describe el comportamiento biótico de una cepa susceptible de referencia y su patrón de mortalidad utilizando una prueba *in vitro* desarrollada y recomendada por FAO para estudios de resistencia en poblaciones de garrapatas. Se utilizó la cepa *Yeerongpilly*, de reconocida susceptibilidad, la cual es mantenida mediante infestaciones periódicas sobre terneros jóvenes utilizando larvas de garrapatas entre 6 a 8 semanas de edad. Los animales utilizados no habían tenido experiencia previa con garrapatas. Para la infestación se usó 1 gramo de larvas y durante las primeras 48 horas postinfestación se suministró una temperatura de 30°C mediante calentadores dispuestos cerca de la caseta de infestación con el fin de permitir la adherencia de las larvas sobre el animal. Se determinó duración del ciclo parasítico, producción promedio de teleoginas por infestación, peso promedio de teleogina e Índice de eficiencia de conversión (IEC). Una segunda parte del experimento consistió en el establecimiento de una curva patrón utilizando la prueba Kit FAO, con el fin de determinar la variabilidad que pueda presentarse en el laboratorio y que sirva de base para la evaluación de muestras de campo sospechosas de resistencia. La prueba se realizó cuando las larvas tuvieron entre 14 a 21 días y fueron expuestas durante 24 horas en paquetes de papel filtro impregnados de acaricidas a diferentes concentraciones de acaricidas disueltos en aceite de oliva. Se evaluaron los principios activos diazinón, coumafós y clorfenvinfós pertenecientes al grupo de los organofosforados (OP), los piretroides sintéticos (PS) deltametrina, cipermetrina y flumetrina y el organoclorado (OC) dieldrín. Para cada concentración se prepararon dos papeles y como testigo se utilizó papeles impregnados con aceite de oliva. Posteriormente se llevaron a incubar a una temperatura de 28 °C con una humedad relativa del 80%. Transcurrido este tiempo se hizo la lectura de larvas vivas y muertas. Las pruebas con una mortalidad de los testigos superior al 5% fueron rechazadas. Cuando las mortalidades eran menores al 5% los resultados fueron corregidos mediante la fórmula de Abbot. Las mortalidades se graficaron en papel log-probit. La duración promedio del ciclo parasítico fue de 22.5 días con un intervalo de 19-29. La producción promedio de garrapatas por infestación fue de 763, con un peso promedio de garrapata de 199 mg y un IEC de 49,4%. En cuanto a los resultados de la prueba de resistencia se encontró alta repetibilidad en 4 réplicas de los principios activos diazinón y coumafós, usando concentraciones entre 0,0031%-0,8% y 0,0062%-0,8%, respectivamente; en 4 réplicas con clorfenvinfós, con concentraciones entre 0,025 y 0,2%. En lo relacionado a PS, 6 réplicas con deltametrina, 0,00625% y 0,025%; 5 para cipermetrina, 0,0125% y 0,8%, con flumetrina 3, 0,0018 y 0,03; y 5 réplicas con dieldrín, 0,0125 y 0,8%.

BENAVIDES O., E. (1995). Resistencia de artrópodos a pesticidas. Factores que favorecen su desarrollo y estrategias para combatirla. Revista ACOVEZ, 20 (2), 26-33. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, FAO (1984). Acaricide Resistance Test Kit. Instructions for use. World Acaricide Resistance Reference Center, WARCC. 12p. GRILLO J., M. (1976). El problema de la resistencia a los acaricidas en los programas de control de la garrapata. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, 81 (3), 246-251.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**SUSCEPTIBILIDAD DE Boophilus microplus A VARIOS IXODICIDAS
EN 13 MUNICIPIOS DEL SUROESTE ANTIOQUEÑO**

G. Lòpez¹, J. Cardona², M. Manrique²

¹ M.V. ICA; ² M.V. U. de A.

La resistencia que las garrapatas han desarrollado a los diferentes grupos de ixodicidas es un fenómeno que tiene origen genético pero es ayudado por el mal manejo que el hombre ha hecho del control químico a través de la historia. La resistencia se ha ido extendiendo en el país a todos los grupos químicos.

En una encuesta realizada en el Departamento de Antioquia presenta al Suroeste como una zona de muy difícil control de garrapatas por la ineficacia de los productos. Por esta razón se realizó el presente estudio en 40 fincas de 13 municipios para determinar la susceptibilidad de Boophilus microplus a los compuestos Promecarb, Clorfenvinfos, Cypermetrina, Cumaphòs y Flumethrin con la técnica de inmersión de larvas y a los productos Clorfenvinfos, Cumaphòs, Flumethrin y Deltametrina con la técnica de Kits de la FAO.

Bajo las condiciones en que se realizó el estudio se encontró que la mayor susceptibilidad, empleando la técnica de inmersión de larvas, se presentó con el producto Promecarb siguiéndole en orden de importancia el Clorfenvinfos, Cumaphòs, Cypermetrina y Flumethrin; con los Kits de la FAO, el producto con mayor número de cepas de susceptibilidad total fue el Cumaphòs seguido del Flumethrin y con la Deltametrina se presentó la menor susceptibilidad en las pruebas realizadas. Los resultados sugieren la presencia de poblaciones de garrapatas susceptibles y resistentes a los diferentes productos utilizados, tanto en la técnica de inmersión de larvas como en los Kits de la FAO, exceptuando las cepas tratadas con el producto Promecarb, mediante la técnica de inmersión de larvas, las cuales resultaron altamente susceptibles.

Rev. ICA 24 (1) 1989, p. 24-31

Bol - Of. Sant. Pan. 81 (3) 1976, p. 246-251

Bull. Ent. Res. 56 (4) 1996, p. 389-405

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**NIVELES DE EXCRECION DE HUEVOS DE ENDOPARASITOS EN GANADO DE DOBLE PROPOSITO
EN LA REGION DEL TEQUENDAMA, CUNDINAMARCA.**

Dildo Márquez L.¹; Armando Coy R.²; Efraín Benavides O.¹ & Fredy García C.¹

Resumen

El parasitismo gastrointestinal en los bovinos de clima tropical es producido por distintas clases de parásitos como protozoos, nemátodos y céstodos, siendo conocidos los efectos adversos que éstos producen en los animales, limitando su capacidad productiva. Debido a que la erradicación de las infecciones por helmintos no es práctica, es necesario buscar alternativas de control que permitan que las poblaciones parasitarias en los hatos no excedan los niveles compatibles con la producción económica, para lo que se requiere conocer la epidemiología de los nemátodos, que permita la implementación de programas preventivos de control. Se realizó un estudio longitudinal, durante 14 meses en seis fincas de ganado de doble propósito de la provincia del Tequendama, departamento Cundinamarca, ubicadas en los municipios de El Colegio, Tena y Viotá, con el objeto de conocer los niveles de excreción de huevos fecales y el sistema de control parasitario practicado en las fincas. El muestreo y tamaño de la muestra fue de tipo no probabilístico, habiéndose seleccionado el 20% de animales (todos los terneros) de cada predio a partir del primer mes de edad, más cuatro o cinco madres de los terneros involucrados en el estudio (n=141), los cuales fueron debidamente identificados. A cada finca se le practicó una visita mensual para la toma de muestras fecales de los animales, sangre y pesaje para conocer los niveles de excreción de huevos, el hematocrito y la ganancia diaria de peso. Las muestras fecales fueron procesadas mediante la técnica de McMaster, y los registros meteorológicos fueron obtenidos de las estaciones meteorológicas de El Colegio y Viotá, de la Corporación Autónoma Regional de Cundinamarca. Los datos, fueron digitados en el Programa Panacea y sometidos a análisis de varianza y regresiones lineales. Los resultados encontrados son diferentes en cada una de las fincas, debido posiblemente a los diferentes tipos de manejo dados a los animales. Se encontraron mayores niveles de infestación en las fincas donde predominaba el cruce Cebú x Pardo Suizo que en los cruce cebú por criollo o cebú. En cinco fincas se hallaron mayores niveles de excreción de huevos de helmintos en las épocas de mayor precipitación pluvial, mientras que en tres el incremento de la precipitación coincidió con mayores niveles de excreción de ooquistes de *Eimeria spp.* En sólo una finca se observó una marcada asociación estadística entre la ganancia diaria de peso de los animales y la precipitación, mientras que en otras dos la asociación se relacionó entre esta última variable y el hematocrito. La edad crítica de máximos niveles de excreción de huevos de helmintos fueron los seis meses de edad en una de las fincas, y tres meses en relación con los ooquistes, en otra. Además, solamente en una de las fincas se encontraron asociaciones significativas ($P < 0.05$) entre la ganancia diaria de peso y los niveles de excreción de ooquistes, mientras que en ninguna finca se halló asociación entre esta variable y los niveles de excreción de huevos de helmintos.

BARGER, Y. A., LEWIS, R.J. and BROWN, G.F. (1984). Survival of infective larvae of nematode parasites of cattle during rought. *Veterinary Parasitology*, 14, 143-152. DOMINGUEZ, J.L., RODRIGUEZ, R.I. & YHONHOLD, N. (1993). Epizootiología de los parásitos gastrointestinales en bovinos del estado de Yucatán. *Vet. Méx.*, 24, (3), 189-193. STROMBERG, B.E., SCHLOTTHAUER, C., HAGGARD, D.L., VATTTHAUER, R.J., HANKE, H. and MYERS, G.H. (1991). Epizootiology of helminth parasitism in a beef cow/calf herd in Minnesota. *American Journal Veterinary Research*, 52, (10), 1712-1716.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

² Laboratorios LIFE. Quito, Ecuador.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**RESULTADOS PRELIMINARES DE LA EVALUACION DE UNA CEPA DE CAMPO *Boophilus*
microplus MULTI-RESISTENTE A DIFERENTES ACARICIDAS**

Efraín Benavides O.; Alvaro Romero N. & Clara Inés Sánchez¹

Resumen

El estudio del fenómeno de resistencia de las garrapatas a los acaricidas y el diseño de estrategias para el control de cepas resistentes, requiere el mantenimiento en condiciones de laboratorio de cepas de garrapatas resistentes a los diferentes principios activos con el fin de caracterizar el espectro y mecanismo de resistencia involucrados. El fenómeno de multi-resistencia, es decir la presencia conjunta de resistencia hacia compuestos con diferentes modos de acción, aún no se ha documentado apropiadamente para la garrapata *B. microplus*. Con el fin de generar conocimientos sobre este fenómeno, se aisló una cepa de la garrapata *Boophilus microplus* de un predio del Municipio de Socorro, Santander, Colombia, en la cual el propietario había reportado baja efectividad a la aplicación de baños con distintos grupos de garrapaticidas. Se recolectaron teleoginas y se llevaron al laboratorio para obtener la progenie larvaria y utilizando la prueba Kit de la FAO se procedió a determinar la frecuencia de genes resistentes hacia los compuestos organofosforados y piretroides sintéticos, y para amitraz mediante la prueba de inmersión de adultos (técnica de Drummond). Los resultados demostraron que las garrapatas evaluadas presentan resistencia a los organofosforados, situación que fue más evidente en el producto coumafós, donde a las máximas concentraciones evaluadas (0,02%) se obtuvieron mortalidades larvarias inferiores al 50%. La curva para piretroides sintéticos deltametrina y flumetrina demostró que la situación de resistencia era más intensa para estos productos, detectándose que más del 50% de la población contenía genes resistentes. En cuanto a amitraz los resultados de la prueba demostraron un PCOER de 46,68% a una concentración 10 veces mayor a la recomendada (1040 p.p.m). La cepa se ha mantenido mediante ciclos de alimentación sobre terneros estabulados al tiempo que se ha iniciado la selección de linajes resistentes hacia cada uno de los productos enfrentando larvas a las DL50 estimada para cada tipo de compuesto. De otro lado, el mantenimiento de esta cepa ha sido la base para el inicio de estudios para la evaluación y ajuste de la prueba de inmersión de larvas (Técnica de Shaw) en el laboratorio y para determinar la aparición de resistencia hacia compuestos inhibidores de quitina y endectocidas, demostrándose para este último compuesto la presencia de genes resistentes. Con base en estos estudios será posible determinar si los alelos seleccionados por resistencia hacia un solo tipo de compuesto conservan sus rasgos de resistencia hacia compuestos de distinta base química. DRUMMOND, R. O; GLANDEY, W.; WHETSTONE, T. & ERNEST, S. (1971). Laboratory testing of insecticides for control of the winter tick. Journal of Economic Entomology, 64, 686-688. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, FAO (1984). Acaricide Resistance Test Kit. Instructions for use. World Acaricide Resistance Reference Center, WARCC. 12p. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, FAO (1984). Tick and tick borne diseases control: A practical field manual. Roma. vol.2. 297 p.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

ESTUDIO DE CASO: EFECTO DE LA LEPTOSPIROSIS BOVINA EN LA PRODUCTIVIDAD DE UN HATO DE DOBLE PROPOSITO EN EL PIEDEMONTE DEL META. ANALISIS RETROSPECTIVO.

Gabriel Jiménez P.¹; Efrain Benavides O.¹; Claudia Brito A.¹; Edilberto Brito S.²; Inés López de H.²

RESUMEN

La *Leptospiriosis bovina* se considera una enfermedad endémica en la ganadería de los Llanos Orientales de Colombia, manifestándose mediante la producción de abortos, algunos casos de agalactia, mortinatos y terneros débiles. En una finca ganadera del área agroecológica del Piedemonte del Meta, sometida al proceso de monitoreo de hatos con el paquete PANACEA-MONTY y contando con registros de cerca de una década, en junio de 1996 se presentó un brote de enfermedad de los animales, el cual fue diagnosticado como un caso de Leptospiriosis con la respectiva confirmación por el laboratorio. Consecuentemente, el Programa de Epidemiología Veterinaria inicia un análisis retrospectivo de los parámetros productivos del hato y un seguimiento prospectivo serológico y del efecto de la infección, con el fin de determinar el impacto causado por la *Leptospiriosis bovina* en la economía de la empresa. En este reporte se presenta un avance de lo analizado en el estudio retrospectivo. Para ello se cotejaron los parámetros productivos del hato basados en cortes anuales (1 junio a 31 de mayo), comprendiendo el período 1991-1997, considerándose el año 1996-1997 como el año del brote. El análisis epidemiológico de las probables causas del brote indicó como posibles determinantes, la introducción al hato de ganado proveniente de otra región geográfica (posiblemente susceptible) y el inicio del pastoreo en áreas inundables, antes destinados al cultivo de arroz. El análisis retrospectivo de los registros evidenció que los efectos adversos de la leptospiriosis en el hato se venían causando desde varios años antes de presentarse en forma de brote; desde 1993 se presentaban casos de abortos (fluctuando entre 1 y 5 por año) llegando los abortos en vacas al 10% en 1995, mientras los abortos en novillas se reportan a partir de 1993. Similar situación ocurre con los nacidos muertos (fluctuando entre 0 y 2 por año); sin embargo en su presentación insidiosa, la enfermedad no llamó la atención del ganadero, sino cuando se presentó asociada con enfermedad y mortalidad de bovinos adultos. Al observar el comportamiento temporal de la mortalidad en animales jóvenes, se destaca que desde 1995 una gran proporción de la mortalidad corresponde a terneros menores de un mes de edad. Por otra parte se observa un incremento en el despaje de hembras en los años 1995 a 1997, lo cual el ganadero asocia con problemas de baja productividad. En la evaluación reproductiva del hato se determinó que el intervalo entre partos en el período de 12 años corresponde a 409,5 días; pero resalta el incremento en este parámetro en los últimos 3 años de evaluación, con mediana de 458 días; en cuanto a la tasa de natalidad está se vio artificialmente incrementada por el ingreso de novillas al hato, pero al excluir estos animales de los análisis se evidenció que la tasa de natalidad anual fue de 54% en el período 94-95, de 75% para el período 95-96 y de 83% para el período 96-97. En cuanto a la producción de leche se observa que la proporción de vacas ordeñadas del total del hato tiende a disminuir, especialmente en los últimos 3 años que corresponden a: 22,2%; 15,8% y 17,8% del total del hato. La longitud de lactancia tiende a incrementarse en el tiempo, iniciando en 248 días hasta 342 días en el último año; la duración media en el período evaluado es de 269 días. En el último año de análisis se destaca una marcada reducción en la producción por lactancia (30% con base al promedio de los últimos 5 años), lo cual no es claro si esta asociado con leptospiriosis o en un cambio en la genética de las vacas.

GRIFFITHS I.; GALLEGU, M.; VILLAMIL, L., 1982. Factores de infertilidad y pérdidas económicas en ganado de leche en Colombia. Publicación ICA ANALAC. Bogotá, Colombia. OTTE, E.; OTTE, J.; NAVARRETE, M.; ORJUELA, L. 1991. La Leptospiriosis bovina en el departamento de Córdoba. Proyecto Colombo Alemán ICA- GTZ. Publicación técnica No. 9. Bogotá, Colombia.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

² Instituto Colombiano Agropecuario, ICA.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

CARACTERIZACION EPIDEMIOLOGICA DE LA LEISHMANIOSIS CUTANEA EN LA
VEREDA MARACAIBO DEL MUNICIPIO DE YOLOMBO. G. Isaza. J. Gallego. I.D. Vélez

La leishmaniosis cutánea es una enfermedad parasitaria de distribución mundial originada por diferentes especies de *Leishmania* y que es transmitida por el díptero de la especie *Lutzomyia*. En Yolombó (Ant.) la enfermedad se encuentra distribuida en los límites con Amalfi, Cisneros, San Roque y Puerto Berrío. El sufrimiento que genera sus manifestaciones indeseables caracterizadas por pápulas que se ulceran y destruyen el tejido epitelial y que pueden llegar a destruir el tabique nasal ocasionando deformaciones lamentables, indujo a los investigadores del PECETA realizar este estudio.

Los OBJETIVOS que se fijaron fueron: Identificar los factores epidemiológicos que en la zona mencionada influyen para que la enfermedad se presente identificando las especies de animales silvestres que actúan como reservorios; determinando las especies de flebotomíneos que transmiten el parásito; e identificando la especie de *Leishmania* responsable de la enfermedad en Yolombó a fin de diseñar un programa de control que reduzca su incidencia.

Se practicó la prueba de Intradermorreacción de Montenegro a fin de conocer el porcentaje de personas que habían tenido contacto con la *Leishmania*. Esto se hizo a través de la aplicación de 0.1 cc de Leishmanina en la región deltoidea derecha de cada persona encuestada y se leyó el resultado a las 48 horas dando como positivas las pruebas cuya reacción nodular fuese mayor de 5 mm de diámetro. Para esta prueba se utilizó una jeringa dermoyet y una regla milimétrica.

Se identificaron las especies de *Lutzomyias* por medio de capturas nocturnas, para lo cual se utilizaron trampas tipo Shanonn y capturadores manuales.

El estudio de reservorios se hizo por medio de capturas de mamíferos silvestres (chuchas y ratas domésticas y de monte). Para este fin se utilizaron trampas tipo national.

Durante el estudio se comprobaron dos casos nuevos de leishmaniosis; una en un niño de nueve años y otro en un adulto de 54 años. Se encontró una moderada presión parasitaria en toda la población. Se halló que las mujeres han sido infectadas con mayor incidencia que los varones, cuya diferencia fue estadísticamente significativa.

Se capturaron 176 especies de *Lutzomyias* con antecedentes de ser vectores de *Leishmania*, entre cuyas especies se identificaron la *Lu. hartmanni* y *Lu. trapidoi* de reconocida capacidad vectorial y hábitos antropofílicos e incriminadas como vectores de *Leishmania (v) panamensis*.

Se capturaron 11 animales silvestres identificados como: *Zigodontomys sp* (rata de monte), *rattus rattus* (rata doméstica) y dos ejemplares *Didelphis marsupiales* (chucha). Un *Zigodontomys* resultó sospechoso de estar infectado naturalmente con *Leishmania* al hallarse en tejido esplénico estructuras que hacen pensar en amastigotes de *Leishmania*.

Se comprobó que las personas que sufren la enfermedad acuden al curandero o a la farmacia y se aplican tratamientos empíricos lo cual ocasiona indeseables secuelas en la piel y sobre todo en el rostro.

La leishmaniosis se presenta en forma endémica en las veredas Maracaibo y Cordillera de Yolombó. La presencia de infección por *Leishmania* es del 49 %. Hay antecedentes de la enfermedad en un 5.3. Se reporta a la *Leishmania (v) panamensis* como la especie responsable de la enfermedad y se responsabilizó a la *Lu. trapidoi* y *Lu. hartmanni* como los posibles vectores de la leishmaniosis cutánea en las veredas Maracaibo y Cordillera de Yolombó.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

**EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO LEISHMANICIDA DEL CLORHIDRATO DE
VERAPAMILO EN *Leishmania (Viannia) panamensis*.**

J. F. SALAZAR ; I. D. VÉLEZ

Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET), Facultad de Medicina,
Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

RESUMEN

El Verapamilo, un bloqueador de los canales de calcio, se evaluó *in vitro* como agente quimioterápico sobre los parásitos de *Leishmania (V) panamensis*, cepas (UA-140, LS-94), principal especie productora de Leishmaniosis cutánea en Colombia. Se encontró un efecto leishmanicida tanto sobre los promastigotes como sobre los amastigotes. Sobre los promastigotes se observó además, que el efecto se incrementa con el tiempo de incubación.

La Dosis letal 50 (DL₅₀) calculada por el método del Reed and Muench fue de 0.017 mg/ml y 0.32 mg/ml. para los promastigotes y amastigotes respectivamente. Se determinó también, que la toxicidad (DL₅₀) del Verapamilo sobre las células huésped (macrófagos peritoneales murinos, J774 A.1) se presenta a una concentración de 0.016 mg/ml.

A fin de determinar la participación del ion calcio en los procesos de adhesión e infección de los parásitos a las células, se opsonizaron los macrófagos con el Verapamilo; encontrándose una disminución en el porcentaje de infección y en el número promedio de amastigotes intracelulares (P<0.05); La cantidad de amastigotes dentro de la célula, influye directamente en la respuesta inmune del organismo ante la infección por parásitos del género *Leishmania*. Cuando el número de parásitos intracelulares es bajo se produce una respuesta de tipo TH1, mediada por la producción de interferon- γ (INF- γ) e interleuquina 2 (IL-2); que estarían controlando la progresión de la infección.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**ENCUESTA SEROLOGICA DE TOXOPLASMA GONDII EN ALGUNAS
EXPLORACIONES CAPRINAS DE SANTANDER. COLOMBIA**

E.Espitia, L.D.Guzmán, S.Molina, L. Cañas.
Instituto Universitario de la Paz. Facultad de
Ciencias Agropecuarias. Programa de Medicina
Veterinaria y Zootecnia. Barrancabermeja Sant.
Univérsidad de Antioquia Fac. de Medicina Veterinaria
y Zootecnia Medellín Ant.

La Toxoplasmosis es una infección zoonótica de amplia distribución mundial, su agente causal el **Toxoplasma gondii** provoca fracasos reproductivos : aborto e infertilidad en cabras. Debido a la importancia de ésta infección y la carencia de estudios de la misma en la región de Santander, el objetivo del presente estudio, fué demostrar la prevalencia de la infección toxoplásmica en diferentes explotaciones caprinas de Santander. Entre los objetivos específicos se relacionó la reactividad y títulos de anticuerpos antitoxoplásmicos IgG con las variables de sexo, edad, localización geográfica de los apriscos etc.

La metodología aplicada para una muestra representativa de 213 cabras, se hizo por selección aleatoria estratificada en los tres municipios : Los Santos, Zapatoca y Barichara. De cada cabra se tomó una muestra sanguínea, para la determinación de anticuerpos serológicos por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). Los resultados demostraron la infección en el 35.2% de las cabras. El municipio de mayor reactividad fué el de Los Santos en un 17%, seguido por Zapatoca 14% y Barichara 4%. Las hembras tuvieron mayor reactividad y los títulos más altos se presentaron en las cabras adultas.

Los resultados ponen en evidencia el mantenimiento de factores de riesgo para la adquisición de la infección por las cabras y otros hospederos. Es importante además la implicación que tendría el consumo de carne, leche y otros subproductos de caprinos por el humano.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**LA TOXOPLASMOSIS EN CERDOS SACRIFICADOS EN EL MATADERO DEL
MUNICIPIO DE ANDES ANTIOQUIA**

R. R. Cifuentes, P. Gual, S. Molina, L. Cañas

Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Fac. De Med.

Medellín Colombia, A.A.1226

INTRODUCCION

La toxoplasmosis en el cerdo fue señalada por primera vez por Farrel y Cols en 1952. En diferentes estudios se ha demostrado que el 25 al 50% de los cerdos están parasitados. Además en la población humana se ha reportado una prevalencia del 40 al 50%. El propósito de este estudio fue determinar la inmunoglobulina G antitoxoplasma por la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), en cerdos faenados en el matadero del municipio de Andes.

MATERIALES Y METODOS

A 95 animales se les realizó la prueba de IFI descrita por Camargo, modificada por Ishizuka. El estudio fue descriptivo, de corte transversal, con un límite de confianza del 95% y un error del 10%.

RESULTADOS

La prevalencia obtenida fue del 27.3%, los títulos de anticuerpos fluctuaron entre 1:16 y 1:8192.

DISCUSION

1. Este resultado concuerda con los obtenidos en otras investigaciones realizadas en este departamento donde se hallaron prevalencias del 30 y 35.57%. Estos datos a su vez coinciden con investigaciones realizadas en Costa Rica donde hallaron una reactividad del 26% (31) y a las realizadas en Chile por Tamayo y Col. quienes por las técnicas de RSF y HI obtuvieron resultados del 28.1 y 30.1% respectivamente. La prevalencia que se obtuvo (27.38%) y la distribución similar de los títulos entre bajos, medios y altos; puede tener su fundamentación en la confluencia de varios factores de riesgo relacionados directamente con la integridad sanitaria de las granjas ubicadas en el área de estudio, las cuales en su mayoría son explotaciones artesanales o semi-intensivas con inadecuadas medidas de aseo o desinfección, donde los gatos forman parte del control biológico de roedores, esto sumado a condiciones medioambientales propicias para la supervivencia y desarrollo de los ooquistes, fácilmente él origina contaminación de los alimentos destinados para consumo por parte de los cerdos. De los reactores positivos, algunos mostraron títulos muy elevados (1:1024; 1:2048; 1:4096 y 1:8192), los cuales pueden ser indicativos de reinfecciones agudas y a su vez el hallazgo de títulos tan elevados podrían influir al causar disfunciones reproductivas (abortos, mortinatos, momias, defectos congénitos). Adicionalmente, ésta reactividad tan marcada puede estar relacionada con una grave contaminación de la canal, ya que en trabajos de índole experimental se ha determinado una relación directa entre el título de anticuerpos y el aislamiento del parásito esto reafirma la importancia del consumo de carne de cerdo como fuente potencial de contaminación, en especial si es ingerida cruda o mal cocida y por consiguiente convirtiéndose en un grave problema de salud pública. Se deben realizar estudios futuros que involucren el diagnóstico serológico seriado, el aislamiento del parásito y las explotaciones de donde provienen los animales que resulten reactores positivos, lo que permite obtener un conocimiento más global de esta zoonosis de tan amplia distribución.

IV ENCUESTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS

IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

**COMPARACIÓN DEL COMPORTAMIENTO FISIOLÓGICO Y HEMATOLÓGICO DE OVINOS
INOCULADOS CON *Trypanosoma vivax*.**

Efrain Benavides O.¹; Claudia M. Britto A.¹; Jennifer González A.²; Clara Rios L.² & Clara Garzón A.¹.

Resumen

Dos ovinos de raza criolla fueron inoculados con dos cepas de campo de *Trypanosoma vivax* (cepa EPIVET 40 "La Dorada", y cepa EPIVET 02). Los parámetros considerados para medir el comportamiento del animal frente a la enfermedad fueron: Parasitemia capilar, parasitemia venosa, recuento total de glóbulos blancos, recuento diferencial de glóbulos blancos, hematocrito y temperatura. Con base en los datos obtenidos diariamente de los animales inoculados, se puede afirmar que para estos casos en particular, existen variaciones de los patrones hematológicos y fisiológicos, teniendo una relación directa con la parasitemia. La parasitemia capilar y venosa se encuentran relacionadas entre sí, demostrando aumentos y descensos simultáneos. El primer pico parasitémico ocurrió el día 10 (p.i.) en uno de los animales, y el día 9 en el otro, con un valor de 720 parásitos por cada 100 glóbulos blancos (p/100 GB) (parasitemia venosa), en el primer animal y de 469 p /100 GB, en el segundo. El primer pico parasitémico se tomó como referencia para medir el comportamiento de los siguientes picos; alcanzando un valor de 31590 p/mm³, en el primer animal y de 21600 p/mm³ en el segundo. El intervalo promedio de tiempo entre cada pico parasitémico fue de 7 días en el primer animal y de 9 en el segundo. La temperatura de los animales varió directamente con el grado de parasitemia notándose un aumento del número de parásitos en sangre, al incrementarse la temperatura; en el único momento en que se encontró parasitemia alta y baja temperatura fue unas horas antes de la muerte del animal número dos. El hematocrito de los animales desde su inoculación demostró una disminución moderada con el transcurso de la enfermedad; el valor inicial fue de 25% en el primer animal y del 24% en el segundo; luego del primer pico descendió a 23% en el primer animal y a 15% en el segundo. Después del séptimo pico parasitémico descendió a un valor de 13%; con la consiguiente muerte del animal. El recuento total de glóbulos blancos demostró una disminución coincidente con cada uno de los picos parasitémicos, en los dos animales. El recuento absoluto de glóbulos blancos demostró dos patrones: el porcentaje de neutrófilos aumentó al incrementarse el número de parásitos en sangre y el porcentaje de linfocitos descendió en cada uno de los picos parasitémicos, en ambos animales. Los eosinófilos demostraron un descenso marcado del día 0 al 16, en el primer animal, mientras que en el segundo no se encontraron. El aumento del número de eosinófilos parece coincidir con los inicios de picos parasitémicos importantes; desapareciendo el día del pico y volviendo a aumentar si hay indicios de protección; esto sólo ocurre en el primer animal, ya que el segundo no demostró ningún tipo de variación.

BARRY, J. D. (1986). Antigenic Variation during *Trypanosoma vivax* Infections of Different Host Species Parasitology 89, 51-65. MASAKE, R. A. (1980). The Pathogenesis of Infection with *Trypanosoma vivax* in Goats and Cattle. Veterinary Record. 107.551-557. SANDOVAL, E ; ESPINOSA, E & VALLE, A. (1993). Valoraciones Hematológicas en Ovejas Inyectadas Experimentalmente con *Trypanosoma vivax*. Revista Científica. 5(3),147-159.

¹Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Centro de Investigación en Salud y Producción Animal (CEISA).

²Estudiantes Universidad de la Salle.

IV ENCUESTO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP

Noviembre 6 y 7 de 1997

PRUEBA DE SEGURIDAD EN TERNEROS DE UN INMUNÓGENO TRIVALENTE ELABORADO A PARTIR DE CEPAS NATIVAS COLOMBIANAS DE *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*.

Efraín Benavides O.¹; Otoniel Vizcaino G.²; Claudia M. Britto A.¹; Clara Garzón A.¹; Dikdo Marquéz L.¹; Alvaro Romero N.¹; Diego Ortiz O.¹ & Clara I. Sánchez S.¹.

Resumen

Acorde a los criterios definidos por la FAO, en la evaluación de vacunas experimentales para el control de las pérdidas económicas asociadas con los hemoparásitos del ganado, se requiere de la culminación de una serie de pruebas: Prueba de Inocuidad, Prueba de Seguridad y Prueba de Potencia. En este trabajo se presentan los resultados de la Prueba de Seguridad de un inmunógeno experimental trivalente (*Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*), elaborado con cepas nativas atenuadas por pasaje (en el caso de *Babesia*) o de aislamiento de campo de una cepa de baja patogenicidad (en el caso de *A. marginale*). La prueba consistió en la inoculación experimental de terneros *Bos taurus*, intactos de 10 a 12 meses de edad, evaluando la evolución de los parámetros de temperatura, hematocrito, cuadro hemático y estado clínico de los animales; estando dividida en dos fases de trabajo. En la primera etapa se inocularon terneros individuales de modo monovalente con cada organismo, siendo para *Babesia spp.* 1×10^8 parásitos (correspondientes a 10 veces la dosis vacunal) y para el caso de anaplasma con 5×10^7 organismos (5 veces la dosis vacunal); en la segunda fase, dos terneros se inocularon de modo trivalente a la dosis de 3×10^7 para cada organismo (lo que corresponde a 3 veces la dosis vacunal para cada parásito). Los resultados de la prueba demostraron la bondad del antígeno de *B. bigemina*, el cual produjo una parasitemia que alcanzó su máximo el día 8 post-inoculación (p.i), causando leve reducción del hematocrito. Similar aspecto ocurrió con el ternero inoculado con *B. bovis* que presentó parasitemia el día 16 p.i. con una reducción en el porcentaje del hematocrito cercano al 8%. En el caso de *A. marginale* se presentó una parasitemia máxima el día 36 p.i.; lo que coincidió con una drástica baja del hematocrito a niveles inferiores a 15%, lo que determinó el tratamiento del animal. Los tres animales de la prueba monovalente presentaron adecuada seroconversión en la prueba de Inmunofluorescencia Indirecta. En el caso de la prueba usando inmunógeno trivalente se observó un comportamiento benigno para los inóculos de *Babesia spp.* que causaron la reducción del hematocrito a niveles cercanos al 23% para el día 14 p.i.; no fue factible detectar *B. bovis* en los frotis pero la infección se confirmó serológicamente. En ambos animales se observó una drástica baja del hematocrito asociada con la parasitemia de anaplasma. En conclusión los inmunógenos de *Babesia spp.* están adecuadamente atenuados, mientras el de anaplasma al ser aplicado a concentraciones correspondientes a 3 y 5 veces la dosis vacunal, produce infecciones con características de patogenicidad que implican la necesidad de tratar profilácticamente los animales que se encuentran en el proceso de inmunización.

ALONSO M.; MENDOZA E.; RODRIGUEZ R.; BLANDINO T.; PÉREZ M. & FUSTES E., (1992). Evaluación de una Cepa de *Babesia bigemina* con fines Immunoprofilácticos. Rev. Salud Animal. 14, 111-115. GUGLIELMONE A.A.; ABDALA A.A.; PIPANO E.; MANGOLD A.J.; ZURBRIGGEN M.A.; ANZIANI O.S.; AGUIRRE D.H.; GAIDO A.B. & DE RIOS L.G. (1988). Evaluación de la Infectividad de una Vacuna contra la Anaplasmosis Bovina Elaborada en base a *Anaplasma centrale* Congelado en Nitrógeno Líquido. Rev. Médica Veterinaria. 69(6), 298-303. MANGOLD A.J.; AGUIRRE D.H. & GUGLIELMONE A.A. (1990). Post-thawing Viability of Vaccines for Bovine Babesiosis and Anaplasmosis cryopreserved with Glycerol. Veterinary Parasitology 37, 301-306.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

² Laboratorios LIMOR de Colombia Ltda.

IV ENCUENTRO NACIONAL DE INVESTIGADORES
DE LAS CIENCIAS PECUARIAS
IV ENICIP
Noviembre 6 y 7 de 1997

BOTULISMO BOVINO EN COLOMBIA: AVANCES DE INVESTIGACION CON RELACION AL BROTE DE MORTALIDAD DE BOVINOS EN LA ORINOQUIA COLOMBIANA, 1996-1998

Efraín Benavides O.¹; Johanna Benavides A.¹; Rocío Altuzarra B.¹; Diego Ortiz O.¹; Monica Londoño B.²; Delvy Ortiz P.² & Hernán Cortez G.³

Resumen

Desde 1994 la Orinoquia colombiana, en especial la altillanura, se ha visto afectada por un brote de mortalidad de bovinos adultos asociado con un síndrome neuromuscular, que ha sido tentativamente diagnosticado como Botulismo bovino, enfermedad causada por la ingestión de toxinas generadas del metabolismo de la bacteria anaerobia *Clostridium botulinum* y liberadas en el proceso de conversión de bacteria a espora; en la naturaleza se reconocen siete tipos de toxinas diferentes antigénicamente, diferenciadas de la A a G, siendo las que se han reportado como causantes de mortalidad en ruminantes en pastoreo la C y la D. La ingestión de las toxinas ocurre debido a la osteofagia que presentan los animales por las deficiencias minerales que caracterizan los suelos y pastos de la región. Con el objeto de confirmar el diagnóstico presuntivo de botulismo bovino y tipificar los tipos de toxinas actuantes, el Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria, inició investigaciones, validando bajo nuestras condiciones, metodologías para la identificación de toxinas botulínicas utilizando la prueba biológica en ratón y neutralización de extractos con anti-toxinas específicas. Se trabajó con muestras de tejido de bovinos muertos con sintomatología acorde a botulismo y sometidas a procesos de maceración con diluyentes para la extracción de toxinas. Dichos extractos se sometieron a inoculación intraperitoneal en ratón bajo tres tratamientos: 1). Inoculación de extracto puro, 2). Tripsinización del extracto, 3). Calentamiento del extracto a 100°C; los ratones inoculados se observaron por 72 horas post inoculación para verificar la aparición de sintomatología neuromuscular (abdomen encintado). Una vez determinadas las propiedades tóxicas de los extractos y titulada la cantidad de toxina presente dentro del extracto se procede a la realización de pruebas de seroneutralización usando anti-toxinas específicas, con el fin de identificar el tipo de toxina actuante. Los resultados han indicado la presencia de toxicidad en hígado, contenido intestinal y contenido ruminal. Entre 1996 a 1997 se ha analizado un total de 37 casos, correspondientes a 70 muestras: 22 contenidos ruminales, 30 hígados y 18 contenidos intestinales. Los resultados indican la presencia de extractos tóxicos con características de termolabilidad y sintomatología en ratón acorde con botulismo para 19 casos pertenecientes a municipios localizados al sur del río Meta en los departamentos de Meta y Vichada. Las pruebas de seroneutralización han confirmado la presencia de toxinas botulínicas C y D para un caso perteneciente al municipio de Puerto Gaitán. Actualmente se están repletando los procesos de las muestras para optimizar la confiabilidad de los resultados.

HATHEWAY, C. (1980). Toxigenic Clostridia. *Clinical Microbiology Reviews*. 3(1), 70-74. OGUMA, K. 1995. Structure and function of *Clostridium botulinum* toxins. *Microbiology and Immunology*. 39(3), 161-168. SUGIYAMA, H. (1980). *Clostridium botulinum* neurotoxin. *Microbiological Reviews*. 44(3), 422-423. SOUSA, A., LANGENEGGER, J. (1987). Esporos de *Clostridium botulinum* em torno de cadáveres decompostos de bovinos em pastagens no sul de Goiás. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 7(1), 17-22.

¹ Programa Nacional de Epidemiología Veterinaria. CORPOICA - CEISA.

² Bacteriólogos. Práctica particular.

³ Programa de Recursos Genéticos Animales. CORPOICA - Carimagua.