

MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA E INMUNOLOGIA

PRIMER AISLAMIENTO DE HERPESVIRUS EQUINO EN COLOMBIA. *Ramírez, G.C., Chaparro, J.J., Vera, V.J., Villamil, L.C., Romero, J.R. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá Colombia -lcvillamil@veterinaria.unal.edu.co*

La Rinoneumonitis Viral Equina es en el mundo, la principal causa de enfermedad respiratoria en potros y de aborto en yeguas. Es causada por un Herpesvirus y es exótica en Colombia. A inicios del año 2001 se presentó un brote epidémico de abortos en una explotación equina con previa importación de ejemplares. De un feto abortado se tomaron muestras de pulmón, hígado, riñón y sangre coagulada de cavidad cardiaca. Luego de procesarlas, se tomó sobrenadante en diferentes diluciones y se inocularon en caja de 24 pozuelos en células MDBK a 37°C, con tensión del 5% de CO₂. Se realizaron pasajes ciegos, observándose para la muestra de pulmón, efecto citopático compatible con herpesvirus desde el primer pasaje a las 48 horas. Se hicieron ampliaciones del virus en frascos de cultivo T25 a partir del segundo pasaje, observándose efecto citopático desde de las 24 horas post-inoculación. Para confirmar la presencia de un agente viral, se realizó microscopía electrónica a partir de células MDBK inoculadas con la muestra sospechosa en su tercer pasaje. El resultado obtenido mostró partículas virales con simetría icosaédrica y diámetro de 95 nm, compatible con la morfología descrita para herpesvirus equino. El hallazgo de laboratorio y la demostración por microscopía electrónica, confirman la presencia de un herpesvirus, y la epidemiología y manifestaciones clínicas sugieren la participación del herpesvirus equino tipo 4. Con el fin de establecer el subtipo viral, se están realizando pruebas de caracterización molecular. Con este primer reporte se llama la atención de los asesores y de las autoridades sanitarias para manejar estos casos con criterios de eficiencia, para aplicar las correctas medidas de prevención y control, dado el impacto económico negativo de la enfermedad. Se sugiere adelantar, en forma inmediata, estudios epidemiológicos que permitan establecer la situación sanitaria del país con relación a esta enfermedad.

COMPARACION DE LA RESPUESTA INMUNE ENTRE LA CEPA VACUNAL VGGA Y LA CEPA LA SOTA EN LA ENFERMEDAD DE NEW CASTLE EN POLLOS DE ENGORDE. *Sánchez, L.M.* , Vera, V.J.* , Ramírez, G.C.* , Villamil, L.C. y Mossos, N.A.** *Universidad Nacional de Colombia. ** ICA. Bogotá-Colombia lcvillamil@veterinaria.unal.edu.co*

La enfermedad de Newcastle es una infección que se puede presentar en pollos de todas las edades y es producida por un virus de la familia *Paramyxoviridae*, género *Rubulavirus* y corresponde al paramixovirus aviar tipo 1. En la actualidad, existe el programa para el control y erradicación de la enfermedad. El uso de vacunas es el eje vertebral del programa; para ello se cuenta con vacunas vivas y vacunas inactivadas. La mayoría de las vacunas vivas se replican en tracto respiratorio, ocasionando algunas veces complicaciones por la reacción respiratoria post-vacunal. La cepa VGGA se replica en tracto digestivo, presumiéndose que su uso reduciría tales efectos indeseables de las vacunas vivas tradicionales. Se llevó a cabo un experimento para establecer una comparación en la protección conferida por la cepa VG/GA, con respecto a la cepa La Sota, frente al desafío con una cepa velogénica viscerotrópica de la enfermedad de Newcastle en pollos de engorde. Para lograr este objetivo, se realizó un monitoreo serológico para dichas cepas vacunales durante un ciclo convencional de 40 días y se evaluaron las lesiones histopatológicas producidas en diferentes órganos por la cepa de desafío que se aplicó el día 29. Se estudió un total de 150 pollos de engorde, machos, divididos en tres grupos. En el grupo control positivo hubo una mortalidad del 100%, mientras que en los grupos vacunados la mortalidad fue del 13% para la cepa VGGA y 20% para La Sota. Se observó un comportamiento serológico similar entre los grupos vacunados, teniendo al final del ciclo títulos más altos en el grupo vacunado con La Sota. Se observó desarrollo de inmunidad humoral por las pruebas de IH y ELISA en las aves desafiadas. Dado que el experimento se realizó bajo condiciones experimentales, sería conveniente llevar a cabo la evaluación de los biológicos bajo condiciones de campo.

DETECCION DEL VIRUS DE LA ESTOMATITIS VESICULAR INDIANA A PARTIR DE FLEBOTOMOS EN EL DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA. *Gómez, N.A., Ramírez, G.C, Vera, V.J. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá Colombia dvjvraal@veterinaria.unal.edu.co*

Con el fin de evaluar la participación de los flebotomos *Lutzomyia spp*, como reservorios del virus de la estomatitis vesicular en áreas endémicas de Cundinamarca, se realizaron capturas de estos insectos durante la noche con trampas CDC cada dos meses, durante un año, en el municipio de Silvana; posteriormente se intentó el aislamiento del virus en cultivos celulares Vero, la detección del antígeno viral mediante la técnica de fijación de complemento en los cultivos celulares infectados y la detección del genoma viral por la técnica de RT-PCR, tanto en los insectos capturados como en los cultivos celulares. De forma paralela, a los días de captura se realizó el sangrado de bovinos, lechones y aves para evaluar la actividad viral mediante la prueba microneutralización en placa. Se detectó el serotipo Indiana de los cultivos celulares Vero inoculados con *Lutzomyia spp*, y se confirmó por la amplificación de una secuencia de 227 pb del gen L del virus de la estomatitis vesicular. Al mismo tiempo la actividad viral por ambos serotipos estuvo presente en los animales evaluados durante el período de estudio; en los bovinos con títulos neutralizantes entre 0.45 – 2.25 para Indiana y New Jersey respectivamente. La detección del virus, tanto en la *Lutzomyia spp* como en los animales domésticos, sugiere el papel del insecto como posible vector del agente. Se recomienda continuar la investigación con el fin de establecer claramente el papel que como vectores (biológico o mecánico) puedan tener las especies de *Lutzomyias spp* en la transmisión del agente viral.

DETECCIÓN DE LA GLUTAMATO SINTASA EN EL *Plasmodium Falciparum* Y SUS PROYECCIONES EN ENFERMEDADES PARASITARIAS ANIMALES. Vera V.J., Wasserman M. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. djveraal@veterinaria.unal.edu.co

Dada la importancia demostrada que tienen el Ca^{2+} y la calmodulina (CaM) en el proceso de invasión al glóbulo rojo y desarrollo del *Plasmodium falciparum*, se planteó en el presente trabajo, establecer qué proteínas de unión a la CaM (PuCaM) están en el parásito, para una mejor comprensión de los diversos eventos celulares en los que ellas participan. Se identificaron y aislaron nueve PuCaMs del citoplasma del parásito, a través de diferentes estrategias: la primera, buscó directamente de extractos de esquizontes maduros, proteínas de unión a CaM por medio de columnas de afinidad con CaM, en presencia de Ca^{2+} ; la segunda, empleó inmuno-coprecipitación, utilizando extracto del parásito marcado metabólicamente y anticuerpos contra calmodulina; y la tercera, se realizó mediante transferencia de proteínas del parásito a membranas y detección con CaM biotinilada y un sistema de revelado enzimático para la biotina. Se seleccionó y aisló una de las PuCaMs, se hizo secuencia de su extremo N-terminal y pequeños segmentos internos, y se diseñaron primers degenerados, que se usaron en la técnica de PCR para amplificar el genoma del parásito, obteniéndose un fragmento del gen que presentó alta homología con la glutamato sintasa, de la cual, hasta el momento, no se ha determinado actividad en tejidos animales y no había sido reportada en miembros del filum Apicomplexa, pero que está presente en cloroplastos de algas primitivas, en bacterias gram-negativas y en plantas. Este hallazgo puede ayudar a dilucidar funciones especializadas del parásito que faciliten el conocimiento de nuevas vías metabólicas, con posibles aplicaciones para el desarrollo de nuevas drogas antiparasitarias, para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por el grupo de los Apicomplexa, que incluye patógenos de impacto económico en las especies domésticas como Babesia, Theileria y Eimeria, así como en salud humana con Plasmodium y Toxoplasma y también algunos Criptosporidium, que ocasionan enfermedad en pacientes inmunocomprometidos.

PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN *Bubalus bubalis* EN ANTIOQUIA Y CÓRDOBA. Sepúlveda F1, Vallejo, N. 1, Valencia, L. 1, Henao, J1, Restrepo, L. F1, Berdugo, J2. Grupo de estudio sobre búfalos. 1Facultad Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia, 2 Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Medellín, Colombia. Grupobufalos@hotmail.com

Este estudio serológico contribuye con la evaluación y estimación de la presencia de anticuerpos contra los agentes causantes de algunas de las enfermedades infecciosas en los búfalos de agua (*Bubalus bubalis*): Brucelosis, Leucosis Enzoótica Bovina (LB), Rinotraqueitis Bovina Infecciosa (IBR) y Leptospirosis. Para ello fueron evaluados en 4 haciendas de Antioquia y Córdoba, 145, 74, 20 y 13 animales para la detección de anticuerpos contra Brucella, LB, IBR y Leptospira respectivamente, la muestra fue tomada mediante la punción directa sobre la vena yugular externa. Los análisis para brucella fueron llevados a cabo mediante la prueba de aglutinación en placa, utilizando reactivo rosa de bengala, y las sospechosas fueron procesadas por medio de la técnica de aglutinación lenta en tubo utilizando reactivo de Bank. Para el análisis de las muestras de IBR, LB y leptospira se utilizó la técnica de Elisa. Los resultados para LB fueron 1.35% positivos, 2.75% sospechosos y 95.9% negativos; para Brucella 2.06% positivos, 97.93% negativos; para IBR 40% positivos, 10% sospechosos 50% negativos; y para leptospira 39% negativos y 61% presentan títulos entre 50 y 200 aunque estas cifras no sean representativas para la presentación clínica de la enfermedad. Se concluye que de las enfermedades evaluadas la que presenta mayor presencia de anticuerpos es la IBR por tanto es necesario aplicar un plan sanitario eficaz para su control y evaluar los efectos que pueda tener sobre la producción y reproducción de los hatos.; y para los demás casos seguir con planes sanitarios que controlen y prevengan de forma contundente las respectivas enfermedades, a fin de no aumentar la incidencia que actualmente no supera el 12% en general de las enfermedades infecciosas evaluadas.

PREVALENCIA Y CARACTERIZACION DEL TRIPANOSOMA EN EL BUFALO DE AGUA (*Bubalus bubalis*) EN COLOMBIA. 1 Valencia L, 1 Sierra J, 1 Rincón V, 2 Berdugo J, 1 Buitrago J., 1. Universidad de Antioquia. 2.Politecnico Jaime Isaza Cadavid. Grupo de Estudio sobre Búfalos. Medellín. Colombia, grupobufalos@yahoo.com

La tripanosomiasis es muy frecuente en áreas húmedas y pantanosas de climas tropicales y subtropicales (1000- 1500 m.s.n.m.) donde habitan sus vectores y el búfalo como hospedero. El búfalo a nivel mundial ha sido parasitado por varias especies de tripanosoma, el grupo se estudio sobre búfalos realizó un estudio serológico donde se encontró una prevalencia del 23 %, sin embargo esta entidad no se ha caracterizado y las evidencias clínicas y patogenia en el búfalo no se conocen, por esto queremos realizar un estudio para identificar animales positivos y observar si presentan signos de enfermedad, posteriormente se analizarán las muestras positivas con la prueba de PCR que caracteriza la especie de tripanosoma que más afecta al búfalo en Colombia, para esto se tomarán muestras de sangre en placa coloreada con reactivo de Write y otras en tubo con anticoagulante (EDTA). La población será escogida en varias zonas del país que posean hatos de diferentes edades y estados fisiológicos donde los animales serán escogidos al azar. Dentro de las haciendas hasta ahora se han tomado 15 muestras en el municipio de Fredonia (Antioquia) a una altura de 1750 - 1800 m.s.n.m. las cuales por análisis microscópico fueron negativas.

DETECCION DE HUEVOS DE PARASITOS GASTROINTESTINALES EN BUFALO DE AGUA (BUBALUS BUBALIS) EN CINCO HACIENDAS DE ANTIOQUIA Y CORDOBA. Sepúlveda, F.1, Franco, F.1, Cárdenas, S.1, Buitrago, J.1, Montoya, C.1, Restrepo, L. F.1, Berdugo, J.2 Grupo de estudio sobre búfalos. 1Facultad Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad de Antioquia, 2 Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. Medellín, Colombia. Grupobufalos@hotmail.com

Se realizaron 226 análisis coprológicos en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en cinco haciendas, dos en el Departamento de Antioquia y tres en el Departamento de Córdoba. Para la detección de huevos de parásitos gastrointestinales, las muestras fueron clasificadas de acuerdo con la edad de los animales así: bucerros menores de cinco meses, bucerros mayores de cinco meses . y Adultos

mayores de dieciocho meses. Las muestras fueron procesadas por la técnica de Sloss. Se utilizó un análisis descriptivo exploratorio e inferencial. Se observó en las muestras un 42% de infección con huevos de parásitos gastrointestinales; de los cuales la infección mixta (98.94%) fue superior a la infección única (1.05%). Al evaluar la infestación en relación con la edad de los animales se encontró una alta poliparasitemia en los animales pertenecientes a los grupos de bucerros por el contrario los adultos mayores de dieciocho meses no mostraron infección mixta. El número de huevos por gramo (H*G) de materia fecal de parásitos gastrointestinales en los animales adultos fue de 149 lo que se considera insignificante. La infección mixta más frecuentemente observada fue la constituida por *Strongyloides papillosus* + *Neoscaris vitulorum* + *Coccidias* spp (62.54%) presente en el grupo de animales mayores de cinco meses seguida por la infección con huevos de *Strongyloides Papillosus* + *Neoscaris Vitulorum* + *Coccidias* spp + *Moniezia benedeni* (36.11%), presente en animales menores de cinco meses. Los oocistos de *Coccidias* spp fueron los más prevalentes en búfalos de todos los grupos: menores de cinco meses 23.66%, mayores de cinco meses 32.96% y mayores de dieciocho meses (0.2076%) para un total de 55.96% del total de huevos de parásitos gastrointestinales encontrados. Se observa la alta susceptibilidad de los bucerros a la infección lo que plantea la necesidad de proponer programas de control.

EVALUACIÓN DE DOS DESINFECTANTES EN EL AGUA DE ESCALDADO EN PLANTAS DE SACRIFICIO DE AVES. Romero H¹, Betancourt L² y Muñoz A². ¹Universidad de Antioquia, hugoaves@agronica.udea.edu.co, ²Universidad de la Salle. Medellín Colombia-hugoaves@agronica.udea.edu.co

El uso de desinfectantes en el agua de escaldado es una estrategia para mejorar la calidad microbiológica de la canal del ave. Con el objeto de disminuir la carga bacteriana en el agua de escaldado, se evaluaron dos desinfectantes comerciales, a base de cloro (Dioxychlor) y otro a base de ácido láctico (Galacid). En la primera fase experimental se hizo un recuento del número más probable de Coliformes Fecales (CF), Coliformes Totales (CT) y Unidades Formadoras de Colonia (UFC), sin adición de desinfectantes, posteriormente se determinó la dosis mínima letal de cada desinfectante, utilizando *Salmonella typhi* (ATCC 6539). Luego, se evaluó la eficacia de estos desinfectantes para controlar el crecimiento bacteriano a lo largo de una jornada de trabajo en una planta de beneficio de aves, después del segundo lote a sacrificar. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 5*3, donde se realizaron 5 tomas a lo largo de la jornada de trabajo (cada 5000 aves sacrificadas) y se utilizaron 3 tratamientos (Control, Dioxychlor y Galacid). Se determinó *in vitro* que Galacid fue efectivo para controlar el crecimiento de *Salmonella* a una concentración de 0.5%. Dioxychlor fue efectivo a 20 ppm. La adición de Dioxychlor disminuyó ($p < 0.05$) los CT, CF y UFC. Galacid presentó valores intermedios. Se observó aumento ($p < 0.05$) en las variables microbiológicas a medida que aumentó el número de aves, aunque hubo disminución ($p < 0.05$) en la tercera toma, después de adicionar desinfectante. Se presentó interacción ($p < 0.05$) entre el desinfectante y el número de toma de muestra, indicando que Galacid no disminuyó la carga bacteriana después de la cuarta toma. Se concluye que la adición de Dioxychlor en el agua de escaldado, después de iniciar este proceso, fue efectiva para disminuir CT, CF y UFC.

EVALUACION DE LA VIRULENCIA IN VITRO DE CEPAS DE *Salmonella enteritidis* MEDIANTE LA SOBREVIVENCIA EN MACROFAGOS. Suárez, M.C., Mantilla, R., y Toro R. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia – CORPOICA-CEISA Bogotá, Colombia. mcesvarez@agronica.udea.edu.co

Los macrófagos son una de las más importantes líneas de defensa del hospedero frente a la infección por microorganismos, ha sido un dogma para la microbiología médica la habilidad de la *Salmonella* para invadir, sobrevivir, y replicarse en macrófagos y otras células eucarióticas. La supervivencia de *Salmonella* en el interior de macrófagos se considera un aspecto esencial de la patogénesis y de la virulencia, estos microorganismos no solo resisten el ambiente ácido del fagosoma, las defensinas y los derivados del oxígeno, sino también, las limitaciones nutricionales intramacrófago. En el presente estudio se evaluó la capacidad de supervivencia de treinta cepas de *Salmonella enterica*, subespecie *enterica* serotipo enteritidis (*Salmonella enteritidis*), en macrófagos de la línea celular murina J774A.1. Los microorganismos fueron opzonizados con suero homólogo, después de la ingestión se determinó el índice de fagocitosis y la habilidad de supervivencia de las cepas bacterianas en el interior de macrófagos valorando la viabilidad de estas 24 horas después de la ingestión. La totalidad de las cepas sobrevivieron en el interior de los macrófagos de línea J774A.1 y fueron viables 24 horas después de la ingestión. Con base en los resultados de este estudio se verificó la virulencia de cepas de *Salmonella enteritidis* de origen aviar, confirmando esta especie como fuente potencial de infección para humanos. Esta técnica permitió caracterizar cepas de campo y puede constituirse en una herramienta útil para estudios biológicos y en combinación con otras técnicas moleculares y fenotípicas contribuir a estudios epidemiológicos, dada la importancia de este patógeno, agente causal de diarrea por intoxicación de origen alimentario en humanos y de otros síndromes en especies animales.

FENOTIPIFICACIÓN DE CULTIVOS DE FIBROBLASTOS DE GANADO BLANCO OREJINEGRO PARA RESISTENCIA/SUSCEPTIBILIDAD Y PRODUCCIÓN DE INTERFERÓN a/b ANTE LA INFECCIÓN CON EL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA López A¹, Zuluaga FN¹, Barrera J², Arango AE¹, Arboleda JJ¹, Mejía GM¹, Martínez M¹, Balsero P¹, Mogollón M¹, Adams G³ y Ossa JE¹. ¹Grupo de Inmunovirología, Universidad de Antioquia; ²Laboratorio de Biotecnología animal Corpoica-CEISA; ³Universidad de Texas A & M.

El objetivo de esta investigación fue poner a prueba la hipótesis de que la raza de ganado criollo colombiano Blanco orejinegro (BON) presenta polimorfismo fenotípico para la resistencia/susceptibilidad, *in vitro*, a la infección con el virus de fiebre aftosa (VFA) subtipos A24 cruzeiro (A24) y O1 campos (O1). Para el efecto inicialmente se estableció un banco de cultivos primarios de fibroblastos de piel de 150 ejemplares BON. Los cultivos primarios de fibroblastos retados con VFA presentaron diferentes patrones de resistencia/susceptibilidad, el 93% fueron clasificados como muy resistentes o resistentes al subtipo A24 y el 60% presentó esta misma clasificación al subtipo O1; además se determinó que la cantidad de interferón a/b inducida en estos cultivos de fibroblastos, por la infección con VFA, presenta una correlación estadísticamente significativa con el patrón de resistencia/susceptibilidad *in vitro* así fibroblastos

BON altos productores de interferón (> 32 UI IFN/ml) fueron muy resistentes a la infección con el subtipo A24 y resistentes o muy resistentes al subtipo O1, mientras que todos los cultivos de fibroblastos que produjeron bajas cantidades de interferón (2 UI/ml) fueron susceptibles; esto es, ellos replicaron ambos virus en altos títulos. Este trabajo hace parte de una serie de proyectos encaminados a la caracterización del ganado criollo colombiano, con énfasis en el ganado BON para aportar elementos para la preservación, recuperación y propagación de este ganado que según los parámetros de la FAO (Food and Agriculture Organisation) para especies en vía de extinción, se clasifica como vulnerable; específicamente, nuestro trabajo se inscribe en la línea de investigación de resistencia natural a infecciones virales y bacterianas. Este estudio de resistencia/susceptibilidad al VFA es pionero en su género en ganado a nivel mundial y es la primera demostración de polimorfismo *in vitro* de resistencia/susceptibilidad del ganado BON a una infección viral.

DIAGNÓSTICO DEL MOQUILLO CANINO POR HISTOQUÍMICA E INMUNOFLORESCENCIA DIRECTA (IFD). Rico S, Molina S, Casas A, Orozco J. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Con el propósito de contribuir al diagnóstico del Moquillo canino (MC) en Colombia, se tomaron frotis de Mucosa y sangre periférica a treinta y nueve perros con diagnóstico presuntivo de MC. Las muestras se sometieron a Histoquímica - coloración de Shorr (detección de cuerpos de inclusión), y a IFD (con anticuerpos Ig G policlonal antiMC conjugados con isotiocianato de fluoresceína). Los casos se analizaron teniendo en cuenta variables de edad, formas clínicas e historia de las inmunizaciones. Adicionalmente, se determinó la significancia de las diferencias entre los métodos por la prueba Z y la concordancia entre estos se evaluó por la prueba Kappa. Se obtuvo 61.54% (24/39) de positividad por IFD, éstos tenían edades entre 2 meses a 7 años, el 86% de los casos eran menores de un año, el 100% tenían una historia de inmunización de menos de tres vacunaciones. Las formas clínicas presentadas fueron respiratoria y digestiva el 37.5% (9/24), respiratoria y nerviosa 4.16% (1/24), exclusivamente respiratoria 29.16% (7/24), digestiva y nerviosa 12.5% (3/24), solo digestiva 8.33% (2/24), y multisintomático 8.33%. Se observó 28.20% (11/39) de positividad con la tinción de Shorr, y diferencia significativa por ambos métodos (prueba Z, $p=0.003$). La sensibilidad de la coloración de Shorr para el diagnóstico del MC, usando la IFD como prueba de referencia, fue de 41.6% y la especificidad de 93.3%. la concordancia entre las pruebas fue de 61.54% (coeficiente Kappa=0.30, $p=0.009$). Se concluye que los perros menores de un año son altamente susceptibles a la enfermedad, la principal forma clínica es respiratoria y digestiva, seguido de la exclusivamente respiratoria. Además, la histoquímica tiene una sensibilidad moderada y alta especificidad para el diagnóstico del MC.

DINAMICA DE LOS ANTICUERPOS CONTRA LA ENFERMEDAD DE NEWCASTLE Y BRONQUITIS INFECCIOSA EN UN LOTE DE PONEDORAS DURANTE TODO EL CICLO DE PRODUCCION. Rico S., Estrada M., Molina S. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Con el objetivo de contribuir al estudio serológico de La Enfermedad de Newcastle (EN) y la Bronquitis Infecciosa (BI), se midieron los niveles de anticuerpos por la técnica de Inhibición de la Hemaglutinación (IH) y ELISA, para la EN y BI, respectivamente. Se tomaron sueros cada 15 días en las etapas de cría y levante y cada 30 días en postura. Se analizaron los Promedios Geométricos de los Títulos (PGT) y el porcentaje de aves protegidas. El PGT para la EN fue 15 y menor de 1000 para BI durante los dos meses de edad, con una protección < 50%, en este periodo las aves recibieron una vacuna via ocular contra éstas entidades, éste PGT se explica por la interferencia de los anticuerpos maternos y por que la respuesta a ésta es principalmente local ; posterior a la segunda vacunación el PGT fue 75.32 para la EN y 1248 para BI con una protección del 100% hasta el final de la producción. Luego de la vacunación oleosa en la semana 17, el PGT para la EN fue 352 y para BI 8436, con un valor final de 5939 a las 62 semanas de edad para BI, sin revacunaciones; y para la EN variaciones entre 160 y 540, con revacunaciones periódicas. Se concluye que el aumento del PGT por vacunación se observa a las dos semanas de aplicada ésta.. El aumento del PGT posterior se debió a las revacunaciones y es fue más notable y persistente luego de la oleosa. La variación en el nivel de anticuerpos se asoció fuertemente con el cronograma del programa de vacunación empleado.

DETECCIÓN DEL VIRUS DE DISTEMPER CANINO EN FROTIS SANGUÍNEO EN PERROS CON DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE DISTEMPER CANINO EN MEDELLÍN. Alzate G, Correa C, Jaramillo L, Pérez P, Yepes J, Acevedo S, Gómez A, Pabón J, Arboleda J. Universidad de Antioquia, Secretaría de Agricultura, Medellín, Colombia.

El Distemper Canino (DC) es una enfermedad viral que afecta principalmente a los cánidos salvajes y domésticos del mundo. En la Ciudad de Medellín se han realizado estudios para la detección del virus en cuerpos de inclusión en frotis de células epiteliales mediante la tinción de Shorr y detección de antígenos específicos del moquillo en sangre periférica por IFD. En estos estudios se han obtenido datos que revelan una alta presentación de la enfermedad en los animales que llegan al consultorio de la FMV y de Z. de la U de A y a otros consultorios importantes de la ciudad. Además de sospechar de un alto subregistro debido a que no se lleva un control adecuado de las historias clínicas en cuanto al diagnóstico. El director del consultorio veterinario de FMV y de Z. de la U de A. estima que un 30% de los casos de infecciones respiratorias se asocian con DC. Las manifestaciones clínicas que presenta el DC son inespecíficas, impidiendo establecer un diagnóstico definitivo, es por esto, que no todas las historias clínicas de este consultorio tienen un diagnóstico presuntivo, requiriéndose entonces de la ayuda del laboratorio para confirmar la enfermedad. A demás en nuestro medio no se dispone de una técnica de laboratorio apropiada, impidiendo así el diagnóstico correcto, el establecimiento de medidas de prevención y control adecuadas y la instauración rápida de una terapia de sostén. El propósito de este trabajo es estandarizar la técnica de inmunofluorescencia directa (IFD) en frotis de sangre de perros con diagnóstico clínico presuntivo para DC.

ASSESSMENT OF THE LEVEL OF HUMORAL PROTECTION IN SOWS AGAINST PORCINE PARVOVIRUS IN SIX COMMERCIAL FARMS OF COLOMBIA. Aristizabal M, Velásquez F, Velásquez J. Molina S. University of Antioquia. Faculty of Agrarian Sciences. School of Veterinary Medicine. Medellín, Colombia.

A serological study by hemagglutination inhibition-HI test was performed in 248 sows from six commercial farrow to finish herds from Antioquia, Colombia. It was found that these farms did not required vaccination, because 99% of the vaccinated and none vaccinated sows had titers between 1:16 and 1:128 by chi-square ($p<0.10$). Only one sow was considered susceptible because it had 1:8.

The replacement gilts arrive to the sow herds with titers that reveal protection against Porcine Parvovirus. There were no sows with titers over 1:240, which shows that there were no recent infection and also that, replacement and adult sows were exposed before and after the arrival to the sow herd. There were no effect of number of farrowings on titers by ANOVA; Additionally, there was an effect on born alive by type of farm ($p < 0.05$). To ensure that the enzootic stability is established on each farm, it is important to monitor the serological profiles in order to evaluate the process of sow's acclimation applied world wide to the replacement gilts.

ESTANDARIZACIÓN DE MONOCAPAS DE MACRÓFAGOS BOVINOS Y AISLAMIENTO Y CULTIVO DE TRYPANOSOMAS Saldarriaga OA, Velásquez JI, Ossa JE y Rugeles MT Grupo de Inmunovirología-BIOGÉNESIS, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín Colombia.

Los macrófagos son una población celular que, al menos en organismos superiores, expresan una amplia variedad de funciones adicionales a la fagocitosis, como producción de citoquinas, destrucción de patógenos y células tumorales, procesamiento y presentación de antígeno. No todos los macrófagos tienen las mismas capacidades, pues ellos exhiben gran diversidad funcional, morfológica y metabólica dependiendo del sitio de origen y estado de diferenciación o activación en que se encuentren. Interesados en el fenómeno de resistencia natural contra patógenos intracelulares, asociada al gen Nramp1, y con el objetivo de determinar variaciones genotípicas en el rasgo de Resistencia/susceptibilidad, *in vitro*, a *Brucella abortus* y *Salmonella dublin*, en ganado BON, estandarizamos un protocolo para el cultivo de macrófagos derivados de monocitos de sangre periférica. Después del día 12 de cultivo se determinó la pureza de las monocapas mediante la técnica de esterases y citometría de flujo, utilizando un anticuerpo anti-CD14 (marcador específico de macrófagos). De esta manera se determinó 95% de actividad esterasa y 94.7% de positividad al anti-CD14. Este procedimiento permite obtener una población de macrófagos puros y asegura un adecuado número de células para los diferentes ensayos inmunológicos. Durante estos experimentos, en forma inesperada, a los 11 días de cultivo, observamos la presencia de lo que resultó ser trypomastigotes de Trypanosoma. Estos parásitos fueron observados en 11 (64.7%) de los 17 animales utilizados. El análisis morfométrico, la inhabilidad para detectar parásitos en extendidos de sangre, las buenas condiciones de salud de los animales y la inminente presencia del vector (*Tabanus*) sugieren la infección por *Trypanosoma theileri*. Estos protozoos sobreviven y se replican sólo si el medio es reemplazado continuamente (cada 3-5 días) y las monocapas de macrófagos se degeneran si el exceso de flagelados no es removido. Este reporte resultó ser el primero sobre Trypanosomas en bovinos en el departamento de Antioquia (Colombia).

ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN EL LOCUS 1908STR1934 LOCALIZADO EN EL 3' UTR DEL GEN NRAMP1 BOVINO EN TRES RAZAS DE GANADO Saldarriaga OA, Bedoya G, Velásquez JI, Ossa JE y Rugeles MT Grupo de Inmunovirología-BIOGÉNESIS, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín Colombia.

El gen Nramp1, que codifica para la proteína del macrófago asociada con resistencia natural, ha sido asociado con resistencia natural a microorganismos intracelulares en varias especies, incluyendo la bovina. Evidencia reciente sugiere asociación entre polimorfismos en el 3' UTR de este gen con resistencia/susceptibilidad a *Brucella abortus*, determinada mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*. El objetivo de este estudio fue determinar la variabilidad del STR dentro del 3' UTR del Nramp1 en la raza Blanco Orejinegro "BON", que es una de las siete razas de ganado criollo derivada de los animales traídos por Colón. Además, este estudio hace una comparación con genotipos encontrados en otras razas foráneas como Holstein y Brahman. Se tomaron muestras de sangre de 131 bovinos: *Bos taurus* (BON y Holstein) y *Bos indicus* (Brahman). A partir de estas se extrajo ADN y se amplificó el segmento de interés utilizando PCR. Los productos de esta reacción fueron desnaturalizados y utilizados en la técnica de polimorfismos conformacionales de cadena sencilla (SSCP) para determinar el patrón de migración. El tamaño alélico fue determinado solamente en aquellas muestras que exhibían un patrón de migración diferente al control, utilizando un analizador genético ABIPRISM 310. Los valores de Fis y Fit (estadística de Wright's) y el software GENEPOP fueron utilizados para determinar la neutralidad alélica y la independencia de la población. En BON y Holstein, encontramos fijado el alelo 175 (previamente asociado con resistencia). En Brahman, el alelo 175 tuvo una frecuencia de 0.467; además, en esta raza aparecieron otros cinco alelos, dos de los cuales no habían sido reportados hasta ahora: 183 y 185. Estos resultados sugieren que el alelo 175 en el 3' UTR del gen Nramp puede ser una alelo ancestral en ganado y si esto es cierto, la asociación con la característica de resistencia/susceptibilidad queda por definirse.

RESISTENCIA NATURAL, IN VITRO, A LOS VIRUS DE ESTOMATITIS VESICULAR Y DE RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA EN GANADO BLANCO OREJINEGRO López-Herrera A, Salazar A, Restrepo G, Zuluaga FN, Ossa JE Grupo de Inmunovirología-BIOGÉNESIS, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Este informe hace parte de la línea de investigación sobre resistencia natural del ganado criollo colombiano a las enfermedades infecciosas. Se presentan los resultados de un proyecto encaminado a determinar la posible diversidad fenotípica de la resistencia/susceptibilidad *in vitro*, del ganado Blanco Orejinegro (BON) a la infección por virus de estomatitis vesicular (EV) y de rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB). Se probaron 47 muestras de fibroblastos primarios pertenecientes a igual número de animales, mediante titulación viral, y se determinó la dosis infecciosa mínima 50% por ml ($DIM_{50\%}$ /ml) por el método de Sperman Karber. Luego se obtuvo el Índice de Resistencia/susceptibilidad (IRS) comparando el $DIM_{50\%}$ de cada cultivo primario con el $DIM_{50\%}$ en células MDBK como control susceptible, y se agruparon los cultivos primarios de fibroblastos en resistentes y susceptibles con los siguientes resultados: Para EV serotipo Indiana, 37 (79%) fueron susceptibles y 10 (21%) resistentes, y para EV serotipo New Jersey, se encontraron 41 (87%) susceptibles y 6 (13%) resistentes; es decir, los cultivos primarios de fibroblastos de ganado BON presentan polimorfismo fenotípico en resistencia/susceptibilidad, *in vitro*, ante la infección con estos virus, un polimorfismo fenotípico semejante se había demostrado previamente para el virus de la fiebre aftosa. Para RIB el 100% de los cultivos primarios de fibroblastos probados resultaron susceptibles; más aún, el 62% presentó mayor susceptibilidad, *in vitro*, que el control de células MDBK. Los resultados indican que, en principio, es posible la selección de líneas de ganado BON más resistentes a estas infecciones, lo cual sería importante para la fundación de una industria pecuaria nacional.

MÉTODOS Y HERRAMIENTAS NO CONVENCIONALES, ALTERNATIVAS PARA EL CONTROL SOSTENIBLE DE PARÁSITOS DEL GANADO. Efraín Benavides O.¹ & Alvaro Romero N.¹ Corpoica. Bogotá-Colombia ebenavides@corpoica.org.co

El control parasitario basado en uso exclusivo de químicos es insostenible a largo plazo, por el desarrollo de resistencia y la presencia de residuos en los productos de origen animal y en el ambiente, además del alto costo de desarrollo de nuevos compuestos. Se requiere de alternativas de control que puedan ser insertadas en los esquemas de Manejo Integrado de Plagas, para las que se requiere de una cuidadosa evaluación tanto en el laboratorio como en campo. Se presenta aquí una propuesta metodológica y conceptual sobre para abordar la investigación sobre el tema y se relacionan algunos avances de investigación. Se destacan tres mayores alternativas: Hongos Entomopatógenos; Extractos Vegetales y Establecimiento de Manejos Culturales que contrarresten el desarrollo de formas libres de los parásitos. Con Hongos se iniciaron evaluaciones (Cooperativas con el Programa MIP de CORPOICA) para conocer el efecto de acepciones de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Verticillium lecanii* sobre la garrapata *Boophilus microplus*, mediante pruebas de inmersión en el laboratorio (Tesis de Grado Francisco Hernández y Ricardo Moreno, UniSalle). Se han seleccionado dos cepas candidatas y se inicia un experimento de activación de cepas y otro de evaluación en praderas. Con extractos el énfasis, radica en conocer la flora con principios antiparasitarios, para utilizarla dentro de un concepto orgánico, siendo la planta parte de la flora de la finca. En un experimento preliminar con el árbol del Neem, *Azadirachta indica* (cooperativo con el CRECED Frontera de Oriente, Cúcuta) se evaluó su actividad sobre la garrapata *Bo. microplus* usando extracto acuoso aplicado por aspersión en animales en pastoreo, el cual produjo similar control que la aplicación de acaricida comercial. El conocimiento de la bioecología de las fases parasitarias que ocurren en la pradera, permite diseñar estrategias culturales de control. Hemos desarrollado y validando trampas, que ayudan, tanto a determinar las fluctuaciones poblacionales de las moscas, como a reducir su densidad.

INVESTIGACIÓN SOBRE EL PROBLEMA DE RESISTENCIA A ACARICIDAS EN POBLACIONES DE GARRAPATAS EN COLOMBIA. Efraín Benavides O.¹ & Alvaro Romero N. Corpoica. Bogotá-Colombia. ebenavides@corpoica.org.co

El control de garrapatas y enfermedades transmitidas basado en el uso continuo de pesticidas ha traído consigo la aparición de resistencia a acaricidas. Esta se define como la habilidad de una cepa o de una población de parásitos, para tolerar dosis de tóxicos que serían letales para la mayoría de individuos en una población susceptible de la misma especie; fenómeno que es una habilidad fundamental de los seres vivos, para evolucionar en condiciones ambientales cambiantes con el fin de sobrevivir bajo nuevas circunstancias. Se desarrolló un proyecto financiado por PRONATTA, cuyo objetivo fue contribuir a la comprensión del fenómeno de la aparición de resistencia a los insecticidas y acaricidas en el seno de las poblaciones de ectoparásitos del ganado. El proyecto se dividió en tres frentes de trabajo con experimentos específicos: Validación de pruebas para el diagnóstico de resistencia, Mantenimiento de cepas de referencia y Desarrollo de estudios poblacionales en algunas regiones del país. Dentro de las pruebas de validadas se destacan: la prueba de Kits FAO; la prueba de inmersión larvaria (Técnica de Shaw), la prueba de inmersión de adultos (Técnica de Drummond), una prueba de diagnóstico de resistencia para Avermectinas y pruebas para el diagnóstico de resistencia a Amitraz. Se mantiene en el laboratorio una cepas de referencia susceptibles (Yeerongpilly) y resistentes a acaricidas de origen colombiano destacándose la cepa Montecitos, multi-resistente a Organofosforados (OP) Piretroides Sintéticos (PS) y Amitraz; y la Cepa Palma de Vino, con resistencia a PS, OP, y Avermectinas. Estudios poblacionales (con técnicas estandarizadas) en tres zonas del país, Meta, Santander y Huila, demuestran que el fenómeno de resistencia se expande rápidamente. Las pruebas desarrolladas se ofrecen actualmente como servicio tarifado para el público. Para el futuro se plantea el desarrollo de una Encuesta Nacional para conocer el grado y extensión del fenómeno en diferentes zonas del país, utilizando las pruebas validadas y la caracterización molecular de cepas resistentes.

PRODUCCIÓN DE UNA VACUNA TRIVALENTE ATENUADA CONTRA LOS HEMOPARÁSITOS DE LOS BOVINOS *BABESIA BIGEMINA*, *BABESIA BOVIS* Y *ANAPLASMA MARGINALE*. Efraín Benavides O.¹; Otoniel Vizcaíno G.²; Claudia Britto A; Alvaro Romero N¹ & Alfonso Rubio B.² ebenavidez@corpoica.org.co. CORPOICA, ANABASAL, LIMOR, Bogotá, Colombia.

Los hemoparásitos de los bovinos se consideran dentro de las principales limitantes para el desarrollo de la ganadería en el trópico colombiano. El convenio CORPOICA - LIMOR se firmó en abril de 1995, para desarrollar biológicos para la protección de enfermedades que afectan la ganadería Colombiana; su primer fruto la producción de una vacuna trivalente atenuada para la prevención de la Anaplasmosis y Babesiosis. El proyecto recogió la experiencia de ICA y CORPOICA en investigación sobre hemoparásitos, utilizando algunas cepas que estaban parcialmente caracterizadas. La vacuna contiene cepas nativas colombianas, cuyo grado de patogenicidad es conocido y algunas han recibido un proceso de atenuación en el laboratorio: *Babesia bovis*, originalmente aislada de Montería en 1971 y atenuada por 18 pasajes rápidos de terneros esplenectomizados. *Babesia bigemina*, aislada en 1982 en Villavicencio y atenuada por 5 pasajes lentos en terneros intactos. *Anaplasma marginale*, cepa de patogenicidad moderada, aislada de campo en 1995 en Villavicencio. El desarrollo de la vacuna, atendiendo las recomendaciones FAO para este tipo de inmunógenos, se realizó en cinco fases de trabajo, a saber: 1. Multiplicación y Caracterización de ceparios (1995); 2. Formulación de la Vacuna (1995); 3. Prueba de Seguridad en Terneros (1996-1997), 4. Prueba de Potencia (1997-1998); y 5. Prueba de Seguridad en campo (1998-1999). Prueba de Seguridad en Terneros. Consistió en la inoculación experimental de terneros intactos con 10 Veces la Dosis Vacunal (V.D.V) para Babesias y 5 V.D.V para Anaplasma. Se monitorearon los parámetros clínicos, hematológicos y serológicos. El inóculo de Babesias fue inocuo, pero el de Anaplasma redujo el hematocrito y requirió tratamiento a 5 VDV. Se debe ser cauto en el uso de este inóculo. Prueba de Potencia. Se comparó el efecto de un inóculo patógeno de los tres organismos sobre 40 animales (10-18 meses), 20 vacunados y 20 controles. El desafío se realizó el día 77 Post vacunación. Como controles se usaron 4 grupos (de 5 animales cada uno): tres fueron retados con inóculos patógenos monovalentes y un cuarto grupo se enfrentó con un inóculo patógeno trivalente. Se obtuvo una protección de 100% del grupo vacunado, mientras que todos los controles requirieron ser tratados. Prueba de Seguridad en Campo. Se vacunaron grupos de animales con diferentes edades,

razas y sexo, localizados en dos regiones del país: Sabana de Bogotá (dos grupos de animales) y Magdalena Medio (un grupo). Las observaciones de los animales para detectar reacciones post - inmunización, se realizaron durante un periodo de ocho semanas post-vacunación. En las prueba de seguridad en campo los animales no presentaron reacciones clínicas adversas a la vacunación, tan sólo ligera disminución del hematocrito en animales particularmente susceptibles, particularmente aquellos ubicados en la Sabana de Bogotá. La Vacunación contra babesiosis y anaplasmosis con organismos vivos atenuados es un procedimiento útil que induce total protección del ganado. En algunos casos puede requerirse de tratamiento de animales susceptibles, por lo que se recomienda supervisión y seguimiento post-vacunal por parte de un Médico Veterinario. La vacuna ANABASAN ® fue aprobada por el ICA en julio de 2000, para ser comercializada en Colombia y está indicada para inmunizar bovinos de edades entre 3 - 12 meses de edad.

EL CONTROL SOSTENIBLE Y RACIONAL DE ENFERMEDADES PARASITARIAS DEL GANADO EN COLOMBIA BASADO EN ESQUEMAS DE MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS: UTOPIA O REALIDAD.

*Efraín Benavides Ortiz*¹. ¹Médico Veterinario, MSc., PhD., Investigador Principal. Programa Nacional de Salud Animal. Centro de Investigación en Salud y Producción Animal - CEISA. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - CORPOICA. Dirección para Correspondencia: Apartado Aéreo 39144, Bogotá, Colombia. Email: ebenavid@hemeroteca.icfes.gov.co

En Colombia el control parasitario se ha basado en la extensa aplicación de parasiticidas; abordaje que no es sostenible a mediano y largo plazo debido al desarrollo de resistencia a los parasiticidas y al riesgo de presencia de residuos en los productos de origen animal y en el ambiente, además del alto costo del desarrollo de nuevos compuestos. Como alternativa de solución, desde hace más de una década, en los círculos académicos se ha venido proponiendo el establecimiento de esquemas de control basados en el Manejo Integrado de Plagas (MIP). De acuerdo al Grupo de Trabajo en Resistencia Parasitaria de la FAO la definición del MIP sería: "Combinación de diferentes medios de control de manera que se reduzcan efectivamente las poblaciones parasitarias y se minimice el desarrollo de resistencia parasitaria, aplicable: a) El control de una especie de parásito; b) El control de dos o más especies de parásitos que coexisten en el huésped; c) El control de una o más especies de parásitos, integrando aspectos socioeconómicos de las prácticas de manejo y las particularidades del sistema de producción". Se realiza una discusión conceptual acerca del avance en el desarrollo de este paradigma en el país, desde tres ámbitos de acción, la investigación, la academia y el sector productivo. El diseño de Esquemas MIP, requiere investigación sobre dinámica poblacional de la especie objeto de ataque (fases parasíticas y de vida libre), en diversos agroecosistemas; existe una grave crisis en el aseguramiento de apropiada financiación; no se vislumbra una clara interacción entre institutos de investigación y universidades. Integrar al neoprofesional en el enfoque MIP, implica reducir el énfasis de la cátedra basada en la taxonomía e incluir conceptos poblacionales y de genética de poblaciones, con bases de agroecología y epidemiología. Se requiere propiciar un cambio en la mentalidad y abordaje hacia el problema por parte de los diversos actores (sector productivo, academia, industria farmacéutica e instituciones de investigación, además de los entes reguladores del estado); lo más sensato sea iniciar por los cambios en la academia, esto se constituye en urgente prioridad para la Medicina Veterinaria del país.