



## Inmunología y microbiología

**Revista**  
Colombiana de  
Ciencias  
Pecuarias

### Aislamiento, identificación y antibiograma de las bacterias presentes en el centro médico quirúrgico veterinario Universidad Cooperativa de Colombia

Chaparro JL, Hernández YK, Castellanos V, Arcila VH. Grupo de Investigaciones en Ciencias Animales, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, AA 2019 cica01\_mvz\_bga@correoucc.edu.co

Las enfermedades nosocomiales son infecciones de origen bacteriano adquiridas dentro de un recinto hospitalario, caracterizadas por crear resistencia a los antibióticos, lo que dificulta el tratamiento y control de las mismas; por lo cual se decidió realizar un estudio aplicando técnicas de muestreo, siembra, aislamiento e identificación de las bacterias aeróbicas mesófilas encontradas con más frecuencia (flora residente) en las superficies y objetos que tienen contacto con los animales, que acuden a Clínicas Veterinarias y determinar la resistencia o susceptibilidad a los antibióticos mediante antibiogramas con el fin de aportar herramientas para la implantación de planes de contingencia. Se colectaron 64 muestras. La identificación de colonias Gram negativas se realizó por medio de batería bioquímica (TSI, Citrato, Urea, LIA, SIM, MRVP) y las Gram positivas a través del Sistema BBL Crystal, para luego determinar su resistencia o susceptibilidad por el método de antibiograma Kirby Bauer (Agar Mueller Hilton). Los antibióticos usados fueron: Gentamicina, Penicilina, Amoxicilina, Metronidazol, Oxitetraciclina, Cloramfenicol, Ciprofloxacina, Trimetoprim Sulfametazol, Eritromicina, por ser los más utilizados en el centro. En los resultados se encontró 109 bacterias identificadas, de las cuales 35 correspondieron a Gram positivas y 74 Gram negativas; además se determinó que en las áreas de mayor flujo de pacientes (Consultorio 1, 2, 3, Mesón Infecciosos y Laboratorio) la población bacteriana dominante fue Gram negativa entre las cuales se pueden mencionar: *Klebsiella ozaenae* con mayor susceptibilidad a gentamicina, trimetoprim sulfametazol; resistencia a amoxicilina, oxitetraciclina; *Enterobacter agglomerans*: susceptibilidad a gentamicina, cloramfenicol, resistencia a amoxicilina, oxitetraciclina, y trimetoprim sulfametazol; *E. coli*: susceptibilidad a cloramfenicol y ciprofloxacina, resistencia a oxitetraciclina, amoxicilina, gentamicina; y las bacterias Gram positivas como *Staphylococcus schleiferi*: susceptibilidad a amoxicilina, ciprofloxacina, oxitetraciclina y gentamicina, resistencia a trimetoprim sulfametazol y cloramfenicol; *Micrococcus sedentarius*, susceptibilidad a gentamicina, amoxicilina, ciprofloxacina, resistencia a oxitetraciclina y trimetoprim sulfametazol.

### Extracción del lipopolisacárido de *Salmonella* serovariedad enteritidis para la obtención de bioproductos de uso en diagnóstico

Monsalve JG, Calle J, Suárez MC. Grupo de Investigación Ecoepidemiología y Control biológico, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

La salmonelosis no tifoidea en humanos es un importante problema de salud pública que se asocia primariamente con el consumo

de alimentos de origen animal especialmente aves. La diseminación de la enfermedad se ha relacionado con la propagación del microorganismo a través de las cadenas productivas animales. Las aves se consideran la mayor fuente de infección de *Salmonella* spp, por tal razón el monitoreo de este microorganismo en explotaciones avícolas es esencial para el control de la enfermedad. El diagnóstico puede basarse en técnicas bacteriológicas, moleculares o serológicas. Una técnica serológica que permite obtener resultados rápidos y económicos es la técnica de ELISA indirecta que se basa en la utilización del lipopolisacárido purificado de *Salmonella* spp como antígeno. El objetivo de este trabajo es extraer y purificar el lipopolisacárido (LPS) de *Salmonella* Enteritidis para su uso posterior como antígeno en una prueba de ELISA indirecta que permita monitorear la presencia de serovariedades de *Salmonella* en granjas avícolas. La extracción se realizó con el método modificado de fenol-agua descrito por Westphal & Jann (1965), cultivando una cepa de *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 en caldo BHI (brain Heart Infusion) e inactivándola con timerosal. Posterior a la extracción el LPS crudo fue dializado para remover trazas de fenol y almacenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Se determinó la concentración de proteínas por la técnica de Bradford para evaluar el grado de pureza. El *Limulus Amebocyte Lysate* (LAL), permitirá verificar la presencia del LPS y una electroforesis en gel de poliacrilamida se recomienda para su visualización. Se presentarán los resultados preliminares de la extracción los cuales serán analizados descriptivamente. El LPS de *Salmonella* Enteritidis es un bioproducto que puede utilizarse no solo como antígeno para la prueba de ELISA indirecta, sino para la elaboración de sueros policlonales, anticuerpos monoclonales, inmunoprolifáticos, y para el serodiagnóstico entre otros.

### Diagnóstico de brucelosis canina mediante aglutinación en placa en caninos de Medellín, Colombia

Jara S<sup>1</sup>, Pérez OD<sup>1</sup>, Di-Lorenzo C<sup>2</sup>, Olivera M<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Grupo de Fisiología y Biotecnología de la Reproducción, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. molivera@catios.udea.edu.co

La brucelosis canina es una enfermedad con manifestaciones reproductivas principalmente. En nuestro medio existe una queja grande de problemas reproductivos en caninos, pero por falta de un diagnóstico exacto no se ha podido implicar a la *Brucella canis* directamente. El laboratorio de reproducción de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia ha implementado una prueba diagnóstica específica para *B. canis* que emplea el antígeno de una cepa menos mucoide (M-), se trata de una Aglutinación rápida en placa con 2 – mecaptoetanol (2-ME RSAT). Desde el establecimiento de esta prueba hasta el presente se han muestreado 157 perros, de los cuales 27 (17.20 %) resultaron seropositivos y de 4 (2.55 %) se logró aislar la bacteria (bacterias Gram negativas con patrón bioquímico correspondiente al de *B.*

*canis*; además de la certificación del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" de Buenos Aires - Argentina). No se encontró relación entre el resultado de la prueba y el sexo mediante la prueba de Chi – cuadrado ( $p > 0.05$ ). Hay una asociación altamente significativa entre la ausencia de signos clínicos y el resultado negativo de la RSAT ( $p < 0.01$ ). Respecto a la procedencia del ejemplar se encontró lo siguiente: 9.52 % (2/21) de seropositividad para los perros callejeros, 10.26 % (8/78) para los perros con hogar y 29.31 % (17/58) para los ejemplares de criadero; el análisis estadístico arrojó una diferencia significativa ( $p < 0.01$ ), correlacionando la esta variable con el resultado. De lo anterior se puede concluir que al hacer esta prueba de rutina para el diagnóstico de brucelosis canina, lo más probable es encontrar un resultado negativo, sin embargo en perros relacionados estrechamente entre sí y con una actividad sexual alta, como los perros de criadero, la prevalencia será más alta, especialmente si se da la presencia problemas reproductivos.

### Estudio de prevalencia de anticuerpos contra el virus de la Peste Porcina Clásica (PPC) en el norte del departamento de el Chocó y en dos municipios de Antioquia

Loaiza E, Porras H. Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, CES; ICA, Sede Medellín. eloiza@ces.edu.co. hectorl@epm.net.co.

Dentro del marco del programa de erradicación de la PPC en el continente americano, que se basa en las políticas del libre intercambio comercial entre los países, sin barreras arancelarias, sólo sanitarias, se pretende demarcar en Colombia zonas libres de esa enfermedad, para lo cual se va a determinar la presencia de anticuerpos contra la PPC mediante un estudio serológico de prevalencia, en los municipios de Acandí, Bahía Solano, Bojayá, El Carmen del Darién, Juradó, Riosucio y Unguía (Norte de El Chocó) y Vigía del Fuerte y Murindó (Antioquia). Se eligió esta zona porque fue declarada como libre de Fiebre Afosa sin vacunación en 1980 y desde ese año no se vacuna contra esta enfermedad, ni contra PPC, así que se puede partir de la base de que no deben encontrarse anticuerpos vacunales o infecciosos contra esta enfermedad en los porcinos, ya que además se ha restringido la movilización de animales con pezuña hendida y de sus productos que procedan de otras regiones del país. De tal manera, si no se encuentran anticuerpos contra esta enfermedad y si este hecho se acompaña con todas las condiciones medioambientales y de control que se han venido ejerciendo durante todo este tiempo, la zona puede ser declarada como libre de esta patología sin vacunación por la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), y se podrían realizar, como consecuencia, otra serie de actividades que mejoren la calidad de vida de estos municipios y por ende del país. Si se llegaran a encontrar anticuerpos, entonces se procedería a realizar otro tipo de estudios para determinar qué factores de riesgo podrían estar implicados en este evento, para posteriormente elaborar un protocolo de vigilancia epidemiológica con el fin de controlarlos y así lograr declarar esta zona como libre en un futuro.

### Evidencia serológica del herpesvirus equino tipos 1 y 4 (EHV-1 / EHV-4) en el valle de aburrá y oriente cercano

Ruiz J<sup>1</sup>, Góez Y<sup>1</sup>, Urcuqui-Inchima S<sup>1</sup>, López-Herrera A<sup>1,2</sup>. <sup>1</sup>Grupo de Inmunovirología-Biogénesis. Universidad de Antioquia, <sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. jruiz@virologia.udea.edu.co

El EHV es un virus de distribución mundial, causante de graves pérdidas económicas, reportado por primera vez en Colombia en 2001. Se caracteriza por una infección primaria del tracto respiratorio conocida como rinoneumonitis viral equina,

presentación de abortos en yeguas en el último tercio de la gestación, muerte perinatal de potros; y síndromes neurológicos poco específicos; además, la mayoría de animales que se recuperan de la enfermedad permanecen infectados de por vida. A pesar de existir un primer aislamiento del virus en el país, no se conoce ningún estudio que demuestre la presencia de éste en una población de equinos. Por tanto, el objetivo de este trabajo es demostrar la presencia de serología positiva para los EHV-1 y EHV-4, en animales clínicamente sanos procedentes del Valle de Aburrá y Oriente cercano, área de fuerte influencia en la cría y tenencia de caballos en el país. *Metodología:* Se realizó un muestreo serológico aleatorio, para luego evaluar, por medio de un test de ELISA indirecto, anticuerpos positivos para EHV-1 y EHV-4 y se leyó en un espectrofotómetro a una densidad óptica de 450 nm. *Resultados parciales y discusión:* Los resultados nos muestran una seropositividad del 96% para EHV-4, resultados comparables con la prevalencia de este virus en zonas enzoóticas en países como Australia y Argentina. Por otro lado para EHV-1, la seropositividad es del 27% similar a la reportada por ciudades como Sao Pablo, Brasil, en las cuales el virus ha establecido ciclos de infección. Es necesario resaltar que los porcentajes de positividad podrían variar debido a que el estudio no ha concluido, pero se resalta su importancia epidemiológica pues es el primer estudio que reporta seropositividad en animales clínicamente sanos en Colombia, lo cual habla de la presencia del virus y de su establecimiento en la población equina del país.

### Evidencia serológica del virus de la rinoneumonitis viral equina y caracterización viral en equinos del departamento del Meta

Ruiz J<sup>1</sup>, Góez Y<sup>1</sup>, López-Herrera A<sup>1,2</sup>, Cumaco I<sup>3</sup>, Góngora A<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Grupo de Inmunovirología-Biogénesis. Universidad de Antioquia, <sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, <sup>3</sup>Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal (GIRGA)-Universidad de los Llanos. jruiz@virologia.udea.edu.co

La rinoneumonitis viral equina es una enfermedad infecciosa causada por los herpesvirus equinos tipos 1 y 4 (EHV-1/EHV-4). Los países que la han reportado dan cuenta de altas pérdidas económicas debidas a problemas respiratorios, neurológicos, abortos y muerte en potros neonatos. A pesar que la enfermedad ha sido reportada en otras zonas del país, no se conocen reportes de la enfermedad en la región de los Llanos Orientales y desde luego, se desconoce su comportamiento epidemiológico. Por tanto, el presente trabajo pretende demostrar la presencia de EHV-1 y EHV-4 en caballos del departamento del Meta e intentar su aislamiento y caracterización molecular. Para tal fin, se realizará una encuesta serológica exploratoria transversal para determinar la presencia de equinos reactores dedicados al deporte del coleo, a los cuales, luego de la toma de la muestra de suero se aplicará una encuesta que permitirá obtener información como: síntomas respiratorios en los últimos meses, antecedentes de aborto, vacunaciones y procedencia. Luego, a las muestras de suero se les aplicará un test de ELISA indirecto, el cual reconoce anticuerpos contra EHV-1 y EHV-4. Ante la falta de un censo poblacional equino, usaremos una muestra inicial de 50 sueros equinos para demostrar la evidencia serológica. Paralelo a esto, se tomaran muestras de exudados nasales de animales con sintomatología compatible con la infección por EHV-1/EHV-4 y muestras de fetos abortados durante el estudio para realizar aislamiento viral en células MDBK y RK-13 para su posterior caracterización mediante las técnicas de RFLP y PRC. Los resultados obtenidos se correlacionaron con la presentación clínica y con los resultados de la serología. Con este estudio esperamos demostrar la presencia de animales positivos al EHV, aislar este virus y con su caracterización contribuir al mejoramiento de la calidad zoonosanitaria de la población equina del departamento del meta y del país.

### Utilización de anticuerpos monoclonales para el diagnóstico de Herpes Virus Bovino tipo 5 (HVB-5) en casos naturales de encefalitis bovina en Colombia

Pedraza FJ<sup>1,2</sup>, Alessi AC<sup>2</sup>, Rivera JF<sup>1</sup>, Sánchez JA<sup>1</sup>, Flores E.<sup>3</sup> <sup>1</sup>Grupo de Neuropatología Animal, Universidad de Caldas, Manizales Colombia, <sup>2</sup>Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal Sao Paulo, SP Brasil, <sup>3</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS Brasil. fpedraza@ucaldas.edu.co

La encefalitis por herpes virus bovino tipo 5 es una enfermedad ampliamente distribuida en Estados Unidos, Europa, Australia, Argentina y Brasil, sin embargo, todavía no ha sido reportada en Colombia. En el presente estudio fueron obtenidos del Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA - CEISA) en Bogotá, 110 bloques de cerebro de bovinos que murieron por enfermedad neurológica y que fueron diagnosticados por anticuerpos fluorescentes como negativos para rabia. De estos casos fueron seleccionados doce que presentaron hallazgos histopatológicos compatibles con meningoencefalitis por HVB-5 tal como, manguitos perivascularales, células gitter y algunas áreas de malacia. Los bloques fueron trasladados hasta el Sector de Virología, Departamento de Medicina Veterinaria Preventiva de la Universidad Federal de Santa Maria, en Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, y fueron probados con anticuerpos monoclonales dirigidos contra glicoproteínas de la cápsula del virus. Ninguno de los casos resultó positivo, sin embargo, uno de ellos mostró una débil coloración sugiriendo la posible presencia de antígeno viral. Lo anterior puede ser explicado porque algunos anticuerpos monoclonales reaccionan con epítomos que son desnaturalizados cuando se someten a una fijación superior a 24 horas en formol no tamponado, siendo esto, altamente probable en los casos aquí reportados. La necesidad de implementar medidas epidemiológicas que permitan dilucidar la presencia de la enfermedad en Colombia así como la importancia del entrenamiento del clínico veterinario para sospechar la enfermedad y el establecimiento de pruebas confiables para el diagnóstico de la infección por HVB-5 en el país, son discutidas.

### Estudio "In vitro" de la apoptosis inducida vía TCR en linfocitos T de ratones (BALB/c) inmunizados con el péptido sintético SBm7462

Barbosa IX, Vargas MI, González CZ, Patarroyo JH. FMVZ, Universidad del Tolima. Colombia. DVT. Universidad Federal de Viçosa. Brasil. isanchez@mail.ut.edu.co

Linfocitos T SBm7462-reactivos provenientes de ratones BALB/c de 12 semanas de edad, que recibieron por vía subcutánea, dos inmunizaciones alternas a cada 21 días, con el péptido sintético SBm7462, fueron evaluados en cuanto al desarrollo de muerte celular inducida por activación (AICD) después de la presentación y

reconocimiento del péptido. Para esto fueron realizados cultivos de linfocitos del bazo, colectados 9 y 15 días después de la primera y segunda inmunización, y re-estimulados con el péptido en presencia de cuatro drogas diferentes: cicloheximida, benzamida ribósido, ciclosporina A e mitramicina. La identificación de células apoptóticas se realizó a través del método de coloración con acridina naranja y el método inmunohistoquímico de TUNEL. La naturaleza específica de los linfocitos T fue confirmada por conteo después de la re-estimulación "in vitro" con el péptido sintético, a cada 48 horas durante diez días de cultivo. Diferencias fueron observadas al comparar los valores de viabilidad obtenidos por el método de exclusión del colorante azul tripan con aquellos que fueron constatados con los métodos de detección de la fragmentación del DNA, técnica de TUNEL y acridina naranja cuando fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA) seguido de una comparación entre medias por medio del Test de Tukey, con un nivel de 5% de probabilidad. Aunque la técnica de TUNEL sea un método inmunohistoquímico, se debe considerar que su especificidad es mayor cuando aún no ha ocurrido la completa degradación del DNA. Los resultados encontrados demostraron que los linfocitos T SBm7462-reactivos utilizados expresan constitutivamente la maquinaria necesaria para inducción de apoptosis después de la activación con el péptido sintético. Todos los hallazgos sugieren que el proceso de síntesis *de novo* de proteínas no está involucrado en la apoptosis después de la señalización del TCR, y que la apoptosis fue mediada por una vía independiente de la calcineurina.

### Identification of peptides from sow milk with chemoattractant activity from B lymphocytes

Rodríguez B<sup>1</sup>, Henry G<sup>2</sup>, Mollé D<sup>2</sup>, Chevalyere C<sup>2</sup>, Bourges D<sup>3</sup>, Léonil J<sup>2</sup>, Salmon H<sup>3</sup>. <sup>1</sup>Grupo Centauro, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. <sup>2</sup>UMR-INRA Science et Technologie du Lait et de l'Œuf2 1252, Rue de Saint Brieu, 35042, Rennes, France. <sup>3</sup>Centre de Recherche INRA, Tours, Laboratoire de Pathologie Infectieuse et Immunologie, France. birdo@agronica.udea.edu.co

Lactogenic immunity protects the mucous membranes of the newborn, notably thanks to the wealth in IgA of the mammary secretions. We looked to cleanse by ultrafiltration and RP-HPLC the chemoattractant factor in the milk of sow for the mammary plasma cells. Several chemoattractants factors were found, among which, we characterized by mass spectrometry a peptide from SAA protein (Serum Amyloid A) produced by mammary epithelial cells, and having a chemoattractant activity for B cells, suggesting that SAA participates in the recruitment of these cells during the lactation, indicating a new function of this protein. The kinetics of expression of the mRNA of SAA was superior in lactation than during gestation, suggesting a hormonal regulation. Our results also suggest that molecules VCAM-1, a4b1 and MEC (Mucosal epithelial Chemokine) are involved in the recruitment of IgA plasma cells in the mammary gland.