



## Microbiología e inmunología

### Adaptación de células madre mesenquimales caninas a medios de cultivo suplementados con suero autólogo

#### *Adjustment of mesenchymal stem cells from canine to culture media supplement with autologous serum*

Nancy Bibiana Riaño Gutiérrez, Bact Lab Clin MSc; Victor Julio Vera Alfonso, MV MSc PhD

*Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. nbrianog@gmail.com*

Células madre mesenquimales obtenidas a partir de tejido adiposo canino (ad-MSCs) previamente caracterizadas bajo criterios morfológicos, celulares y moleculares, se adaptaron a medios de cultivo sin suero fetal bovino (SFB), el cual es un suplemento necesario en cultivos celulares, que contribuye al crecimiento y proliferación celular. El SFB tiene inconvenientes relacionados con el trasplante de células a un organismo vivo, como la posibilidad de generar efectos secundarios relacionados con posibles contaminaciones (priones, virus, agentes zoonóticos), reacciones inmunológicas contra antígenos xenogénicos bovinos, y presentar variaciones de sus propiedades nutricionales y mitogénicas en los diferentes lotes de producción. El suero sanguíneo proveniente del mismo individuo o autólogo (SA) posee componentes que favorecen el crecimiento y la proliferación celular. Su uso como sustituto en cultivos celulares permitiría la aplicación de ad-MSCs en un organismo vivo. En el presente trabajo se cultivaron ad-MSCs de caninos, en medios de cultivo con SFB, que luego fue reemplazado con SA, como sustituto nutricional, hasta obtener cultivos suplementados únicamente con SA. Las células adaptadas tuvieron recuentos inferiores comparativamente con los cultivos mantenidos con SFB. Sin embargo, las ad-MSC cultivadas con 10% de SA, proliferaron y mantuvieron una viabilidad celular aceptable (96% de viabilidad).

**Palabras clave:** *células madre mesenquimales, curva de crecimiento, suero sanguíneo, suero fetal bovino.*

**Key words:** *blood serum, fetal bovine serum, growth curve, mesenchymal stem cell.*

### Adecuación de metodologías moleculares para la diferenciación de cepas vacunales y de campo en micoplasmosis aviar

#### *Adjustment of molecular methodologies for the differentiation of vaccination strain and field in avian micoplasmosis*

Luis José Carrión G, MV (c)MSc; Victor Julio Vera A, DMV MSc PhD; Jairo Jaime C, MV MSc PhD

*Grupo de investigación en Microbiología y Epidemiología, Posgrado en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Colombia, luisjcarrion@yahoo.es, vjveraa@unal.edu.co*

El *Mycoplasma gallisepticum* (Mg), afecta de forma drástica el sector avícola, por disminuir los parámetros productivos, con considerables pérdidas económicas. La presencia de la micoplasmosis aviar, pone en riesgo la supervivencia de la avicultura industrial y su efectivo control y/o erradicación, conlleva una alta inversión y el uso de adecuadas pruebas diagnósticas para su detección. Frente a las tradicionales técnicas serológicas y de aislamiento microbiológico, emergen las pruebas de carácter molecular, que mejoran la especificidad y sensibilidad de las anteriores. En la actualidad no existe un método molecular definitivo de caracterización de cepas de *M.gallisepticum*, que permita diferenciar cepas de campo vacunales. En el presente estudio se evaluó la prueba de PCR-RFLP empleando como sustrato de amplificación el gen de la lipoproteína Lp, del *M.gallisepticum*. Para lo anterior, se obtuvieron cepas de *M.gallisepticum* a partir de muestras (hisopos traqueales) de granjas con antecedentes de la presencia del agente y de vacunas comerciales correspondientes a las cepas f y Ts-11; se hizo extracción del ADN empleando el método de Moscoso (1993) y se amplificó el gen de interés a partir del empleo de primers seleccionados de acuerdo a una región conservada en el gen de elección que permitía la amplificación de un producto de 455 pb. Los productos del PCR fueron sometidos a proceso de restricción con la enzima Taq I. Para la cepa f, se obtuvieron fragmentos de 341 y 114 pb; para la cepa Ts-11, 3 fragmentos: 135, 217 y 103 pb y para las cepas de campo, fragmentos de 341 y 114 pb. Los resultados anteriores permiten establecer que en los sitios de toma de muestras de campo puede estar actuando una cepa f, que es la cepa vacunal con reversión de su patogenicidad o una cepa de campo aún no reportada, lo cual debe ser comprobado por secuenciación de los segmentos amplificados. Se espera al futuro incluir otros genes (GapA, Mgc2 y PvpA) para tener mayor certeza en la identificación de las cepas vacunales y de campo.

**Palabras clave:** *enzima TaqI, gen Lp, PCR, RFLP.*

**Key words:** *Lp gene, PCR, RFLP, TaqI enzyme.*

### Aislamiento y caracterización del herpesvirus bovino-1 (BHV-1) en hatos de Antioquia y el Valle del Cauca

#### *Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) isolation and characterization in herds from Antioquia and Valle del Cauca*

Julián Ruiz Sáenz, MV MSc (c)PhD; Jairo Jaime C, MV MSc PhD; Victor J Vera, MV MSc PhD.

*Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.*

El herpesvirus bovino-1 es un virus de genoma DNA perteneciente a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alfaherpesvirinae*, el cual afecta al bovino, en el que provoca un amplio espectro de manifestaciones clínicas, acarreado graves pérdidas económicas. En nuestro país, ha sido reportado desde los años 70's y aunque existe un plan de vacunación y prevención de la enfermedad, se sospecha que es uno de las principales limitantes de las explotaciones ganaderas. El objetivo del presente trabajo fue realizar aislamientos y caracterización *in vitro* del BHV-1 en dos sistemas de producción ganadera de leche y carne. Para ello, previo conocimiento del estatus serológico de los hatos, se escogió a los animales que tuvieran los mayores títulos seroneutralizantes, los cuales fueron sometidos a inmunosupresión terapéutica con dexametasona. Se inmunosuprimieron 15 animales del valle y 9 de Antioquia a los cuales se le tomó muestra respiratoria, ocular y reproductiva, para un total de 72 muestras, las cuales se llevaron a cultivo celular. Se logró aislar virus de los tres tipos de muestras; siendo posible recuperar virus tanto de toros como de vacas inmunosuprimidas. Se recuperaron un total de 13 cepas virales, 8 de ellas pertenecientes al departamento del valle y las 5 restantes al de Antioquia. De las cepas aisladas, 5 fueron recuperadas de tracto reproductivo y las restantes fueron recuperadas de tracto respiratorio (ocular y nasal). Los aislamientos se confirmaron utilizando PCR. Se titularon las cepas utilizando las técnicas de DICC<sub>50%</sub> y de Unidades Formadoras de Placa (PFU), encontrando títulos virales entre  $1 \times 10^{-4.5}$  y  $1 \times 10^{-8.13}$  DICC<sub>50%</sub> con un promedio de  $1 \times 10^{-5.84}$  DICC<sub>50%</sub> y entre 650 y  $2,4 \times 10^8$  PFU/ml, presentando una marcada diferencia en el fenotipo de placa en los aislamientos de Cali siendo estas más pequeñas (<1 mm) vs los demás aislamientos y las cepas de referencia (1-3 mm). Actualmente se está realizando la caracterización molecular de las diferentes cepas a fin de esclarecer el subtipo viral circulante. Los resultados confirman que el BHV-1 es uno de los agentes de mayor difusión en diferentes ámbitos ganaderos, y que ante una reactivación el virus puede excretarse tanto por vía respiratoria como reproductiva.

**Palabras clave:** corticoides, ganadería, latencia, rinotraqueítis, virus.  
**Key words:** corticoids, latency, livestock, rhinotracheitis, virus.

### Búsqueda de evidencia serológica y genética de agentes emergentes y re-emergentes en humanos y roedores urbanos y rurales en Antioquia, Colombia

#### *Search for serological and genetic evidence of emergent and re-emergent agents in humans and urban and rural rodents in Antioquia, Colombia*

Piedad Agudelo<sup>1</sup>, Biól PhD; Andrés Londoño<sup>2</sup>, MV (c)MSc; Víctor H Quiroz<sup>2</sup>, MV (c)MSc; Javier Díaz<sup>3</sup>, MD PhD; Margarita Arboleda<sup>1</sup>, MD Esp; Nataly Moreno<sup>1</sup>, MD (c)MSc; Juan D Rodas<sup>2</sup>, MV PhD.

<sup>1</sup>Instituto Colombiano de Medicina Tropical – CES.

<sup>2</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias, Centauro, Universidad de Antioquia.

<sup>3</sup>Grupo de Inmunovirología, Universidad de Antioquia.

La Leptospirosis y los robivirus (virus transmitidos por roedores), son zoonosis de distribución mundial. Para los seres humanos en zonas rurales y urbanas, los roedores son los principales reservorios de la infección. Este estudio pretende determinar la frecuencias de infección con *Leptospira spp* y robivirus en muestras de roedores domésticos y silvestres; y muestras humanas, de áreas urbanas y rurales de tres municipios del Urabá Antioqueño por medio de técnicas serológicas y moleculares. Se capturaron y muestrearon sangre y tejidos de un total de 354 roedores, entre *Rattus rattus* (Rr; 124), *Rattus norvegicus* (Rn, 24), *Mus musculus* (Mm, 71), *Zygodontomys sp* (Zyg, 109), *Proechimys sp* (Pro, 22), *Heteromys sp* (Het, 4), *Didelphis marsupiales* (Dm, 1) y *Sylvilagus brasiliensis* (Sb, 1). Simultáneamente se captaron 221 muestras, de suero sanguíneo de humanos febriles en fase aguda y en

fase convaleciente, negativos a la prueba de malaria por gota gruesa. Las pruebas de laboratorio empleadas fueron, **inmunofluorescencia indirecta (IFI)**, microaglutinación (MAT), ELISA, cultivo de riñón macerado en medio Fletcher, PCR y RT-PCR. Hasta la fecha hemos determinado un total de 23 cultivos positivos y 28 sospechosos para *Leptospira*. Todos, están siendo sometidos a extracción de DNA para confirmar por PCR. Adicionalmente 100 del total de las muestras humanas han sido probadas por IFI, de las cuales 12 son positivas para inmunoglobulinas G (IgG) y 15 son positivas para inmunoglobulinas M (IgM). 13% (14/109) de los roedores *Zygodontomys sp* resultaron positivos a una ELISA para virus Sin Nombre (VSN) y corroborados por un ELISA para virus Maciel (MacV) y los 71 *Mm* resultaron negativos para la presencia de anticuerpos contra el virus de la Coriomeningitis Linfocítica (LCMV). 11 de los 14 (79%) *Zygodontomys* seropositivos, fueron también positivos por RT-PCR a hantavirus en pulmón, y estas muestras están siendo secuenciadas con el fin de identificar los agentes. Aún debemos probar sueros de pacientes humanos para MacV, y sueros y tejidos de roedores silvestres para ELISA y RT-PCR respectivamente de arenavirus del nuevo mundo (virus Junin, JV). Hasta donde sabemos, estos resultados podrían representar la primera evidencia genética de Hantavirus en roedores de Colombia.

**Palabras clave:** *Leptospirosis, Arenavirus, Hantavirus, Sigmodontinos, Rattus spp.*

### Caracterización microbiológica en poblaciones del caracol *Helix aspersa* del oriente Antioqueño

#### *Microbial characterization in snail populations Helix aspersa from eastern Antioquia*

Laura Patricia López Isaza, Micr Bioan; Erika Valencia Mejía, Microb Bioan; Juan Pablo Niño García, Microb MSc; Luz Elena Velásquez Trujillo, Biol MSc

Grupo de Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia. mjuanp@udea.edu.co

La situación demográfica y económica latinoamericana demanda alimentos alternativos como fuentes proteicas animales de bajo costo. La helicultiva es una excelente alternativa, ya que genera una buena fuente de proteína, que además puede aprovecharse para la producción de baba de caracol y productos asociados; esta industria utiliza principalmente el caracol *Helix aspersa*. Se ha especulado sobre la influencia negativa de las bacterias en la supervivencia de estos caracoles. Sin embargo, gran variedad de microorganismos pueden encontrarse asociados jugando un papel fundamental en la digestión y en la protección que brinda la microbiota normal a sus hospederos. Es fundamental establecer la variabilidad de la microbiota asociada a animales enfermos y sanos en diferentes helicultivos para la comprensión del efecto de los microorganismos en la producción helicultiva en Colombia. El objetivo del trabajo es caracterizar la microbiota bacteriana asociada a *Helix aspersa*, en seis helicultivos del oriente antioqueño, utilizando métodos de recuento y electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (PCR-DGGE). Se han muestreado cuatro helicultivos; se aplicó una encuesta para establecer las condiciones ambientales y de manejo. Se recolectaron 16 caracoles en cada finca. Tras disección, tanto en la muestra interna como en la superficial se cuantificaron las poblaciones bacterianas mediante Número Más Probable de mesófilos aerobios, *Pseudomonas* y coliformes, y se identificaron los morfotipos utilizando el sistema Vitek 2 (Biomerieux). La composición de la comunidad bacteriana y su variabilidad se analizará a partir de los perfiles de PCR-DGGE. Resultados parciales: el 90% de las bacterias son bacilos gram negativos, sin embargo se observó una gran variabilidad en las especies presentes en los diferentes helicultivos. Los recuentos por NMP han sido consistentemente mayores en los caracoles enfermos y existe una relación cualitativa entre las condiciones de manejo de los helicultivos y la distribución de las dichas bacterias.

Esta información se podrá corroborar mediante el análisis cuantitativo de los perfiles de PCR-DGGE. **Perspectivas del trabajo:** establecer las diferencias y similitudes existentes entre los helicultivos, utilizando técnicas de análisis multivariable a partir de los resultados obtenidos e identificar factores de riesgo a partir de los patrones de distribución de bacterias y las condiciones de manejo de los helicultivos.

**Palabras clave:** comunidades y poblaciones bacterianas, helicultura, PCR-DGGE, variabilidad espacial.

**Key words:** heliculture, bacterial communities and populations, PCR-DGGE, spatial variability

### Caracterización molecular de tres cepas de campo del virus de la enfermedad infecciosa de la bursa<sup>1</sup>

#### *Molecular characterization of three field strains of infectious bursal disease virus*

Javier Andrés Jaimes Olaya<sup>2,3</sup>, MV MSc; Diana Claudia Álvarez Espejo<sup>2,4</sup>, MV (c)MSc; Jairo Jaime Correa<sup>2,5</sup>, MV MSc PhD; Víctor Julio Vera Alfonso<sup>2,5</sup>, DMV MSc PhD.

<sup>1</sup>División de Investigación Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Proyecto número 8010025.

<sup>2</sup>Grupo de Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia.

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle. Coordinador, Programa BIOFARMA, Instituto La Salle de Investigaciones Avanzadas. jajaimeso@lasalle.edu.co

<sup>4</sup>Laboratorio de Medicina Aviar, Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario (CEISA), Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). diana.alvarez@ica.gov.co

<sup>5</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. jjaimec@unal.edu.co, vjveraa@unal.edu.co

El virus de la enfermedad de infecciosa de la bursa (IBDV) es el agente infeccioso causal de una patología inmunosupresiva severa en aves comerciales, conocida como enfermedad infecciosa de la bursa o enfermedad de Gumboro. EL IBDV es un virus icosaédrico cubierto, con genoma ARN de doble banda, perteneciente a la familia *Birnaviridae* y al género *Avibirnavirus*. En Colombia esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida y es causante grandes pérdidas económicas en las explotaciones avícolas. Durante el desarrollo de un estudio retrospectivo se obtuvieron tres muestras sospechosas al IBDV, las cuales se evaluaron mediante la técnica de RT – PCR para la detección del virus. Se encontró positividad en las tres muestras analizadas, por lo que se realizó secuenciación de nucleótidos del segmento VP2 hipervariable del genoma del virus y su posterior alineamiento y análisis filogenético. Se encontró alta similitud genética de dos de las cepas analizadas (Colombia08Unal01 y Colombia08Unal03), con cepas vacunales utilizadas en Colombia (Lukert y Winterfield 2512). Sin embargo, estas provienen de granjas con historia de enfermedad de forma endémica. En el caso de la tercera cepa (Colombia08Unal02), esta presentó alta similitud con otras cepas de campo reportadas en Colombia en el año 2008, las cuales se agrupan dentro de las llamadas cepas muy virulentas. No obstante, no se reporta el cuadro típico de enfermedad producida por las cepas de este grupo, lo cual podría ser indicativo de que los factores de virulencia del virus, no solo se encuentran asociados a la proteína VP2. Los hallazgos encontrados demuestran que el IBDV continúa circulando en las explotaciones avícolas, a pesar del uso de vacunas para prevenir la patología. Por otro, el hecho de que cepas vacunales se encuentren en recirculación en granjas con historia de enfermedad, podría ser un indicativo de reversión de patogenicidad por parte la cepa vacunal.

**Palabras clave:** cepa de campo, cepa vacunal, IBDV, secuenciación de nucleótidos.

**Key words:** field strain, IBDV, nucleotide sequence, vaccine strain.

### Composición de hongos anaerobios en el tracto digestivo de los rumiantes

#### *Composition of anaerobic fungi in the ruminant digestive tract*

Hugo Rodolfo Jiménez Sabogal<sup>1</sup>, Biol PhD; Joan Elizabeth Edwards<sup>2</sup>, BSc Bioch PhD; Neil Ross McEwan<sup>2</sup>, BSc Gen PhD; Mike Theodorou<sup>2</sup>, BSc Bioch PhD.

<sup>1</sup>Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA), Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup>Institute of Grassland and Environmental Research (IBERS), Aberystwyth University, UK.

Los hongos anaerobios (*Neocallimastigales*) pueden ser aislados a partir de muestras de digesta y de heces (frescas y/o secas al ambiente) obtenidas a lo largo del tracto gastrointestinal del rumiante, excepto en muestras secas al ambiente del contenido ruminal. A partir de estos hallazgos se sugirió que las poblaciones de hongos encontradas en el rumen podrían diferir de aquellas encontradas en la parte baja del tracto gastrointestinal. Debido a que la información que se dispone acerca de este aspecto es limitada, el propósito de este trabajo fue comparar las poblaciones de hongos anaerobios a lo largo del tracto gastrointestinal del rumiante. Se realizó la comparación de las poblaciones de hongos anaerobios a lo largo del tracto gastrointestinal utilizando muestras de digesta y heces obtenidas del rumen, duodeno y heces frescas. Las muestras fueron higiénicamente colectadas durante 3 días consecutivos de una vaca que poseía una fistula ruminal y duodenal. Este animal fue alimentado con heno de cebada, un suplemento mineral y agua a voluntad. Las muestras se secaron al ambiente (25 °C) por 8 días y a partir del material seco, se realizó una extracción de ADN. La composición de las poblaciones de hongos se determinó utilizando un análisis de la región intergénica del gen ribosomal denominada *Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis* (ARISA). Los resultados obtenidos del análisis ARISA fueron directamente comparados usando un análisis de cluster (*Pearson algorithms*). Los resultados del análisis de cluster mostraron que la composición de las poblaciones de hongos anaerobios fue consistente entre los segmentos del tracto gastrointestinal (86 %). Aunque, el análisis muestra que los perfiles de ARISA para el rumen y heces fueron más similares en comparación con el duodeno. Estos resultados sugieren que la composición de las poblaciones de hongos anaerobios es similar en el tracto. Por consiguiente se hipotetiza, que las diferencias en la habilidad de los hongos para sobrevivir en las heces secas pero no en el contenido ruminal seco; se deben a diferencias en la fisiología del hongo y no a diferencias en la composición de las poblaciones de estos en ambos segmentos del tracto gastrointestinal.

**Palabras clave:** ARISA, hongos anaerobios.

**Key words:** anaerobic fungi, ARISA.

### Desarrollo de un poxvirus recombinante que expresa la glicoproteína D del Herpesvirus bovino-1

#### *Development of a recombinant Poxvirus expressing Bovine herpesvirus-1 glycoprotein D*

Julián Ruiz Sáenz<sup>1</sup>, MV MSc (c)PhD; Víctor J Vera<sup>1</sup>, MV MSc PhD; Jorge E Osorio<sup>2</sup>, MV MSc PhD

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá julianruizsaenz@gmail.com.

<sup>2</sup>Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison.

El herpesvirus bovino-1 es un virus de genoma DNA perteneciente a la familia *Herpesviridae*, subfamilia *Alfaherpesvirinae*, el cual afecta al bovino, en el que provoca un amplio espectro de manifestaciones

clínicas, acarreado graves pérdidas económicas. El principal componente inmunogénico de su envoltura es la glicoproteína D (gD), la cual ha sido caracterizada y utilizada como inmunógeno en distintos sistemas de expresión. Diferentes estudios han demostrado la eficacia de los vectores poxvirales como un sistema eficiente para inmunizar animales contra diferentes antígenos. El objetivo de este trabajo es generar un poxvirus (Raccoonpox [RCN]) que exprese una versión truncada de la gD del BHV-1 para ser usado como inmunógeno. Para ello, con ayuda de cebadores específicos se amplificó el gen que codifica para la versión truncada de la gD la cual no posee el dominio de anclaje de membrana (1,089 pares de bases), el cual posteriormente se clonó usando las enzimas EcoRI y BamHI en el plásmido de transferencia pTK/IRES/tpa que posee sitios de homología a la timidina kinasa del poxvirus, un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) y una señal secretoria (tPA), generando el constructo pTK/gD/IRES/tpa. Para generar el RCN recombinante, se tomaron células de riñón de mono verde africano BSC-1, se infectaron con una cepa Silvestre del RCN (CDC/V71-I-85A) a un Índice de Multiplicidad de Infección (MOI) de 0,05, y se incubaron a 37°C por 90 minutos; luego, las células fueron transfectadas con el constructo pTK/gD/IRES/tpa usando el sistema de transfección FuGENE 6®; generándose a través del sistema celular de recombinación de homólogos diferentes poblaciones virales con y sin el gen de interés. Para seleccionar los virus recombinantes que expresaban el gen de interés, se realizó una selección de recombinantes negativos para timidina kinasa y positivos para la gD por tres rondas de purificación de placas en monocapas de células RAT-2 las cuales son mutantes para timidina kinasa y en presencia de bromodeoxiuridina. Los virus recombinantes se confirmaron por PCR y secuenciación de nucleótidos y se denominaron RCN-gD. Actualmente nos encontramos en proceso de evaluar la expresión e inmunogenicidad de la gD del RCN-gD.

**Palabras clave:** clonación, ganadería, rinotraqueitis, virus.

**Key words:** cattle, cloning, rhinotracheitis, virus.

### Descripción epidemiológica de la infección con agentes del género rickettsia en roedores, ectoparásitos y humanos en el Urabá antioqueño

#### *Epidemiological description of infection with agents of the rickettsia genus in rodents, ectoparasites and humans in Urabá antioqueño.*

Juan Carlos Quintero<sup>1</sup>, MV Zoot; Andrés F Londoño<sup>1</sup>, MV; Víctor H Quiroz<sup>1</sup>, MV; Francisco Javier Díaz<sup>2</sup>, MD PhD; Piedad Agudelo<sup>3</sup>, Biol PhD; Margarita Arboleda<sup>3</sup>, MD; Juan David Rodas<sup>1</sup>, MV PhD.

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias, Centauro, Universidad de Antioquia.

<sup>2</sup>Grupo de Inmunovirología, Universidad de Antioquia.

<sup>3</sup>Instituto Colombiano de Medicina Tropical – CES.

Las Rickettsia son un género de bacterias mejor conocidas por ser transmitidas por ectoparásitos hematófagos. En Colombia las Rickettsiosis se han estudiado poco, el primer reporte data de la década de los 30, encontrándose una enfermedad febril con brote eruptivo en piel, en la población de Tobia Cundinamarca. Los últimos brotes fueron diagnosticados en los municipios de Necoclí (Antioquia), Los Córdoba (Córdoba) y Turbo (Antioquia), en los años 2006, 2007 y 2008 respectivamente. Este proyecto es un estudio descriptivo mixto, que tiene como objetivo general realizar una descripción eco-epidemiológica de la infección con *Rickettsia* en roedores, ectoparásitos y humanos en el Urabá. Los muestreos fueron realizados en los municipios de Apartadó, Turbo y Necoclí, donde se capturaron 355 roedores y fueron colectados ectoparásitos en 108 de ellos. Se obtuvieron además, 220 muestras dobles (fase aguda y convalescente), de sangre de pacientes humanos con síntomas febriles, negativos a gota gruesa por malaria. La muestras de laboratorio fueron procesadas en el laboratorio CENTAURO/Grica de la SIU (Universidad de Antioquia) y en el Instituto Nacional de Salud (INS). Se utilizaron pruebas inmunológicas (IFI) y

moleculares (PCR), para detectar la reactividad a la infección bacteriana y amplificar secuencias genéticas específicas de género y de rickettsias patógenas, a partir de muestras de sangre sin anticoagulante y tejidos macerados de humanos y roedores o ectoparásitos respectivamente. De los DNA de 142 roedores probados hasta la fecha, hemos obtenido 16 positivos para el gen gltA (Citrato Sintetasa) género específico para Rickettsia y 6 positivos para el gen OmpB (específico para Rickettsias patógenas del hombre). A un individuo positivo para el gen gltA, se le secuenció el producto de PCR y mostró una similitud del 98 % con la especie *Rickettsia prowazakii*. En los pacientes humanos se probaron 89 muestras de suero por IFI y 11 fueron positivas en una dilución 1:64 (10 de las muestras fueron positivas en el periodo de convalecencia, M2 y una en el periodo agudo, M1). Hasta donde sabemos, éste podría ser el primer reporte de *Rickettsia prowazakii* en roedores de Colombia.

**Palabras clave:** diagnóstico, fiebres manchadas, reservorios, vectores, tífus.

**Key words:** diagnostic, reservoirs, spotted fever, vectors, typhus.

### Detección de contaminación bacteriana en plasma rico en plaquetas (PRP) de caballos

#### *Detection of bacteriological contamination in equine platelet rich plasma (PRP)*

María Elena Álvarez, BSc MSc; Carlos Eduardo Giraldo, MVZ MSc; Jorge U Carmona, MVZ Esp MSc PhD

Grupo de Investigación Terapia Regenerativa, Departamento de Salud Animal, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

Existe un uso creciente de terapias (biofármacos) autólogas basadas en células o factores de crecimiento como tratamiento de afecciones crónicas degenerativas del aparato locomotor equino. Dado que la contaminación bacteriana constituye un grave riesgo de transmisión a través de los componentes sanguíneos, como el plasma rico en plaquetas, se planteó el presente estudio cuyos objetivos fueron: evaluar el riesgo de contaminación bacteriana del plasma rico en plaquetas (PRP) de caballos, obtenido mediante el método del tubo en tres condiciones técnicas diferentes a) cámara de flujo laminar, b) en ambiente de laboratorio limpio con mechero de Bunsen y c) sin mechero de Bunsen, identificar los puntos críticos del proceso de preparación de PRP con posibilidad de contaminación bacteriana, e identificar las bacterias potencialmente contaminantes en el proceso y conocer su susceptibilidad antimicrobiana. Se tomaron muestras bacteriológicas de la piel (rasurada o no) del sitio de venopunción de 15 caballos, antes y después de ser desinfectados manos y garganta del operario, tapones de los tubos donde se procesó la sangre, medio ambiente donde se tomaron las muestras de sangre, ambiente de laboratorio, cámara de flujo laminar, estufa bacteriológica y de PRP obtenido bajo condiciones técnicas. Se aislaron bacterias de la piel equina sin desinfectar manos y garganta del operario y del lugar donde se tomaron las muestras de sangre. No se aislaron bacterias de los tapones de los tubos, medio ambiente del laboratorio, cámara de flujo laminar, ni de los plasmas ricos en plaquetas. Las bacterias aisladas fueron biota normal de la piel equina, de la piel y garganta humana, y contaminantes medioambientales. De las bacterias aisladas, el 23% fue resistente a penicilina, el 19% a ampicilina, el 2,1% a ceftiofur, el 3,2% a sulfametoxazol/trimetoprim y el 1,1% a enrofloxacin. No se observó resistencia bacteriana frente a amikacina y gentamicina. En conclusión, el PRP puede ser obtenido mediante el método del tubo en un ambiente limpio sin necesidad de usar cámara de flujo laminar o un mechero de Bunsen. Es necesario realizar el procedimiento mediante una estricta técnica aséptica.

**Palabras clave:** control de calidad bacteriológico, plasma rico en plaquetas equinas, terapia regenerativa.

**Key words:** bacteriological control quality, equine platelet rich plasma, regenerative therapy.

## Determinación de la seroprevalencia de la leptospirosis porcina por medio de la prueba de MAT en los municipios de Chiquinquirá y Garagoa (Boyacá)

### *Determination of the seroprevalence of leptospirosis in pigs using the MAT in the municipalities of Chiquinquirá and Garagoa (Boyacá)*

Orlando Pulido Medellín<sup>1</sup>, MV Esp; Roy José Andrade Becerra<sup>2</sup>, MV MSc; Adriana María Díaz Anaya<sup>3</sup>, Est MVZ; Jenny Soledad Bermúdez Castro<sup>4</sup>, MVZ; Javier Lopez Cifuentes<sup>5</sup>, Est MVZ.

<sup>1</sup>Coordinador, Investigador, Grupo de Investigación en Medicina Veterinaria y Zootecnia GIDIMEVETZ, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja, Boyacá, Colombia. Tel: 310 3375929. Mopml@hotmail.com

<sup>2</sup>Investigador principal Grupo de Investigación en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja, Boyacá, Colombia. royjoseandrade@yahoo.com

<sup>3</sup>Semillero Grupo de Investigación GIDIMEVETZ, UPTC. adriana10\_90@hotmail.com

<sup>4</sup>Joven investigador Colciencias 2009 UPTC. Sunshine2805@hotmail.com

<sup>5</sup>Semillero Grupo de Investigación GIDIMEVETZ, UPTC. javierloo@hotmail.es

La Leptospirosis es una de las enfermedades infecciosas bacteriana más relevantes de los animales de importancia económica, en particular bovinos y porcinos en Colombia y prácticamente en todo el mundo; es una zoonosis de importancia que aun no es bien reconocida por la medicina humana y a la que el hombre se encuentra en un alto grado de exposición debido a las múltiples actividades que se realizan a diario con los animales. La investigación consistió en realizar un muestreo en los municipios de Chiquinquirá y Garagoa (Boyacá) para determinar a través de la prueba MAT la presencia de leptospira y verificar su potencial como enfermedad zoonótica. Se eligió un grupo de 600 cerdos de diferente edad y sexo, pertenecientes a piaras en las cuales había una cantidad importante de personas y cuyas condiciones higiénico-sanitarias eran desfavorables. Sabiendo que los porcinos, roedores, y perros son los principales agentes transmisores de la leptospira a los humanos ya que a través de la orina y la leche de estos animales enfermos, se liberan las bacterias que van a contaminar principalmente agua, siendo este último un factor determinante para la diseminación de la enfermedad en la zona. Las muestras se tomaron en la vena marginal de la oreja por vacutainer o jeringa estéril, luego de ser refrigeradas se procedió a llevarlas al laboratorio para su posterior análisis; los sueros fueron sometidos a la técnica estándar conocida como MAT, que se refiere a la prueba de microaglutinación lisis, observándose la reacción de lisis de las bacterias al entrar en contacto con anticuerpos, en el microscopio de campo oscuro. Se obtuvo así, una seropositividad para cada serovar, dándose de la siguiente forma: L. canícola: 25,6%; L. pomona: 54 %; L. icterohaemorrhagiae: 49,6%; L. hardjo: 28,8%; L. grippityphosa 55,6%.

**Palabras clave:** cerdos, leptospira, municipios, serovares.

**Key words:** leptospira, municipalities, pigs, serovars.

## Determinación de la expresión de los genes de enzimas digestivas a nivel de enterocito de lechones que presentan inflamación por lipopolisacáridos de *E. coli*<sup>1</sup>

### *Determination of gene expression of digestive enzymes in enterocytes of weaned piglets with inflammation by E. Coli lipopolysaccharide*

Carolina Montoya Ruiz<sup>2</sup>, Est Ing Biol; Jorge Agudelo<sup>3</sup>, Zoot PhD; Albeiro López Herrera<sup>4</sup>, Zoot MV MSc DrSci; Jaime Parra Suescún<sup>4</sup>, Zoot MSc (c)PhD.

<sup>1</sup>Proyecto financiado por Dirección de Investigaciones Medellín (DIME), Código QUIPU 20301007862, Universidad Nacional de Colombia.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Facultad de Ciencias.

<sup>3</sup>Grupo GRICA, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia.

<sup>4</sup>Grupo BIOGEM, Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, AA 1779, Colombia. jeparrasu@unal.edu.co

El sistema de producción de cerdos no sólo ha avanzado en la obtención de líneas genéticas precoces con mejores índices de conversión de alimento, sino también hacia la obtención de animales destetados a edades más tempranas. Sin embargo, el destete súbito en lechones provoca la desaparición de la población predominante en estómago e intestino, los lactobacilos y favorece el aumento de la población de *E. coli*, la cual libera desde sus paredes productos proinflamatorios como los lipopolisacáridos (LPS). Los LPS inducen producción de citoquinas proinflamatorias, que provocan cambios importantes en la estructura y capacidad funcional del intestino. Debido a lo anterior, se puede presentar una disminución en la actividad total y específica de las enzimas intestinales, observándose diarreas. El objetivo de este proyecto en ejecución es determinar la expresión de los genes de enzimas a nivel de enterocito de lechones que presentan inflamación con LPS de *E. coli*. Este trabajo se realizó en el Centro de Producción San Pablo, de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, con 64 lechones destetados a los 21 días, de 6 kg de peso vivo aproximadamente. Para inducir diferentes grados de inflamación intestinal, los animales fueron alimentados con una dieta basal adicionada con cuatro niveles de LPS (0, 0.3, 0.5 y 1.0 µg/ml de alimento). La dieta fue ofrecida desde el día 1-15 posdestete. Los cerdos se sacrificaron escalonadamente los días 0, 5, 10 y 15 posdestete, y se les extirpó el intestino para la determinación del mRNA en enterocitos mediante una RT-PCR semicuantitativa de los genes de las enzimas intestinales (Lactasa (EC3.2.1.23), Sacarasa (EC3.2.1.48), Maltasa (EC3.2.1.20) Aminopeptidasa A, (EC3.4.11.1), Aminopeptidasa N (EC3.4.11.2) y Dipeptidilpeptidasa IV (EC3.4.14.5)). El diseño estadístico es de bloques al azar en arreglo factorial de 4X4, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS. Con este trabajo se pretende adelantar estudios sobre los diferentes mecanismos de acción de LPS sobre la expresión de los genes y los patrones de secreción de las enzimas en intestino de lechones.

**Palabras clave:** citoquinas, destete, intestino delgado, RT-PCR, secreción enzimática, vellosidades intestinales.

**Key words:** cytokines, diet, enzymatic secretion, intestinal villi, RT-PCR, small intestine weaning.

## Determinación de la presencia de *Listeria monocitogenes* en hatos lecheros del altiplano boyacense

### *Determination of the presence of listeria monocitogenes in dairy herds of the altiple boyacense*

Rolando Alfonso Sánchez Parada, Est MVZ; Roy José Andrade Becerra, MV MSc; Martín Orlando Pulido Medellín, MV Esp.

Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja, Boyacá. rolos29@hotmail.com, royjandrade@yahoo.com, mopml@hotmail.com

La Listeriosis es una enfermedad infecciosa considerada como una importante zoonosis de etiología bacteriana, es de distribución mundial y el agente causal esta difundido ampliamente en la naturaleza, suelo, vegetación y agua, siendo transportada como un comensal en el tracto intestinal de muchos animales, así como en los tejidos de una amplia variedad de especies de vertebrados y es secretada entre otras a través de la leche. El objetivo del presente trabajo será determinar la presencia de *Listeria monocitogenes* en leches crudas de hatos lecheros del Altiplano Boyacense, situado a 72° 59' de longitud oeste de Greenwich. El estudio se realizará en centros de acopio de los municipios del

altiplano boyacense entre el 18 de mayo al 18 de septiembre de 2009. La población bajo estudio estará constituida por 100 muestras de cantina de leche de centros de acopio ubicados en dicha zona y las muestras serán analizadas utilizando la técnica específica para *Listeria monocytogenes*. Se toma la muestra, luego se coloca en el caldo medio fraser a 30°C por 24 horas, luego en el agar cromogénico para *Listeria* a 37°C por 24 horas, el resultado positivo nos arroja una tinción de color azul (*Listeria monocytogenes*) para confirmación se realiza en agar sangre (beta hemólisis), carbohidratos (xilosa-, ramnosa+). Se harán aislamientos con ayuda de Api y el diagnóstico definitivo de la cepa con Elisa. La estadística será un estudio analítico descriptivo de corte transversal con muestreo aleatorio de distribución proporcional al tamaño de la muestra. Hasta el momento se tienen reportes de prevalencia de 2% en apenas un centro de acopio. Se espera poder determinar la presencia de *Listeria* en muestras de leche cruda y acudir al productor para asesorarlo y ayudarlo a prevenir la presencia de la bacteria.

**Palabras clave:** caldo fraser, elisa, leches crudas, zoonosis.  
**Key words:** broth fraser, elisa, raw milk, zoonosis.

### Diagnóstico por PCR de *Mycoplasma gallisepticum* en sistemas de producción de huevo de mesa en el departamento de Antioquia

#### *Diagnosis of Mycoplasma gallisepticum by PCR in the systems of production of eggs in the department of Antioquia*

José Vicente Isaza Borja<sup>1</sup>, Est Zoot; Martha Olivera Ángel<sup>2</sup>, MV Dr Sci; Flor Ángela Montoya<sup>3</sup>, Zoot; Silvia Rico<sup>4</sup>, MV Esp; Carlos Augusto González Sepulveda<sup>5</sup>, Zoot Esp (c)MSc; Albeiro López Herrera<sup>6</sup>, Zoot MV MSc DrSci

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

<sup>2</sup>Profesor Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo Biogénesis.

<sup>3</sup>Comité Departamental de Sanidad Aviar.

<sup>4</sup>ICA Regional Antioquia-Choco.

<sup>5</sup>Profesor, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Animal, Grupo BIOGEM, AA 1779, Colombia. alherrera@unal.edu.co

Se ha descrito que varios micoplasmas pueden afectar la producción avícola, dentro de estos está el *Mycoplasma gallisepticum*. Las pérdidas que induce este agente infeccioso en los sistemas de producción de huevo de mesa son disminución en la producción de huevos. En muchas granjas se utiliza vacunación contra este agente (sin conocer si circula o no el *M. gallisepticum*) y se acostumbra frecuentemente el uso de choques antimicoplásmicos en alimento aumentando los costos de producción, estas prácticas se llevan a cabo sin conocer la verdadera situación epidemiológica del agente. El presente proyecto abarcó las producciones avícolas del departamento de Antioquia, para huevo de mesa. El muestreo en el departamento se realizó de la siguiente manera: se tomaron muestras de hisopos traqueales en el 74 % de las granjas de postura, en las que a su vez se realizó una encuesta epidemiológica. Las muestras que se tomaron fueron una por cada 5.000 aves, cada muestra fue un pool de hisopos traqueales de 5 aves. Se extrajo DNA por la técnica de salting out de dichas muestras, que se verificaron por medio de electroforesis en geles de agarosa para un total de 116 extracciones positivas, se procedió a la estandarización de la PCR para la cepa *Mycoplasma gallisepticum*. Posteriormente se corrieron muestras de las extracciones de DNA de granjas de postura equivalente al 42 % de las muestras de este sistema productivo en Antioquia, concluyendo que en el 17,4 % de los sistemas de producción de huevo de mesa analizados se detectó la presencia de *M. gallisepticum*, en algunas de ellas positivas con vacunación puede ser la cepa vacunal la que está circulando, pero en las no vacunadas positivas (dos granjas) la circulación es de micoplasma silvestre. Este proyecto es de gran impacto para la industria avícola del departamento pues se da a conocer la verdadera situación de una

enfermedad, que representa altos costos de producción en los sistemas avícolas, pudiendo contrarrestar el impacto en la industria por medio de nuevos planes sanitarios y sentar precedentes en el diagnóstico de enfermedades en el departamento de Antioquia.

**Palabras clave:** choques antimicoplásmicos, epidemiológica, micoplasmosis, positividad, vacunación.

**Key words:** antimycoplasmal shocks, epidemiological, mycoplasmosis, positivity, vaccination.

### Dinámica serológica del virus de bronquitis infecciosa en una granja de pollo de engorde del departamento de Cundinamarca<sup>1</sup>

#### *Serologic dynamic of infectious bronchitis virus in a broiler farm in Cundinamarca*

Diana Claudia Álvarez Espejo<sup>2,3</sup>, MV (c)MSc; Javier Andrés JaimesOlaya<sup>2,4</sup>, MV MSc; Jairo Jaime Correa<sup>2,5</sup>, MV MSc PhD; Víctor Julio Vera Alfonso<sup>2,6</sup>, DMV MSc PhD.

<sup>1</sup>División de Investigación Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, proyecto número 8010026.

<sup>2</sup>Grupo de Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia.

<sup>3</sup>Laboratorio de Medicina Aviar, Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario (CEISA), Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) diana.alvarez@ica.gov.co

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Coordinador, Programa BIOFARMA, Instituto La Salle de Investigaciones Avanzadas. jajaimeso@lasalle.edu.co

<sup>5</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. jjaimec@unal.edu.co

<sup>6</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. vjveraa@unal.edu.co

El virus de bronquitis infecciosa aviar (*IBV*) causa una enfermedad altamente contagiosa, distribuida mundialmente, que conlleva a graves pérdidas económicas en sistemas de producción de pollo de engorde y ponedora comercial. En algunas oportunidades se asocia a otras entidades como el virus de la enfermedad de Gumboro y enfermedad de Newcastle, *Mycoplasma gallisepticum* y *Escherichia coli*. La alta variabilidad genética del virus ha generado una gran cantidad de cepas virales con diferentes cuadros clínicos. El objetivo del trabajo fue evaluar la dinámica de anticuerpos del *IBV* por la prueba de ELISA en aves vacunadas contra *IBV* con una vacuna viva atenuada Massachusetts H120 y no vacunadas contra *IBV* alojadas en una explotación de pollo de engorde ubicada en Fusagasuga, (Cundinamarca) donde se detectó previamente el agente por RT-PCR y en aves vacunadas mantenidas en condiciones de semi aislamiento en Bogotá. Desde el primer día hasta el día 24 de edad se observó una disminución progresiva de los títulos de anticuerpos en los tres grupos, aunque en las aves vacunadas y no vacunadas mantenidas en granja se observaron niveles de anticuerpos superiores al grupo en condición de semi-aislamiento. A partir del día 28 hasta final de ciclo en las aves alojadas en campo se incrementaron levemente los títulos, aunque no se observó en las aves sintomatología clínica ni lesiones compatibles con la enfermedad. El leve aumento en el nivel de anticuerpos puede ser consecuencia de la exposición al virus vacunal generando persistencia viral o debido a una exposición tardía al virus de campo sin efecto patógeno en las aves probablemente por un adecuado estatus inmune de las aves. La ausencia de sintomatología y lesiones compatibles con *IBV* en las aves durante el experimento en campo, generan interrogantes sobre la persistencia del virus en la granja. Los resultados presentados permiten postular que aunque la vacunación está generando una eficiente respuesta inmune, es posible que el virus esté persistiendo en la población causando efectos que aún se desconocen.

**Palabras clave:** Cundinamarca, prueba de ELISA, seropositividad.  
**Key words:** Cundinamarca, ELISA test, seropositivity.

## Efecto de cepa inactiva de lipopolisacáridos proveniente de *E. coli* apatógena sobre la mortalidad e índices de producción de pollos de engorde

### *Effect of strain inactiva cepa lipopolysaccharides of apathogenic E. coli on mortality and production of broilers*

Laura Alejandra Atehortúa Mateus, Est MVZ; Roy José Andrade Becerra, MV Esp Msc

*Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja, Boyacá, Colombia.  
lalita123314@hotmail.com, royjandrade@yahoo.com.*

La salmonelosis es una enfermedad que afecta a las aves, cuyo control y erradicación se realiza en muchos países, tanto por ser una zoonosis como por las enormes pérdidas económicas que acarrea en las explotaciones avícolas, debido a la disminución en las ganancias de peso, bajas conversiones alimenticias, muertes, e incluso decomisos a nivel de los mataderos. El objetivo de este estudio será evaluar el efecto que tiene la cepa inactiva de lipopolisacáridos proveniente de *E. coli* apatógena y células inactivas de *Propionibacterium granulosum* de *E. coli* sobre la mortalidad (M), peso vivo (PV), consumo de alimento (CA) y conversión alimenticia (CN) en pollos de engorde bajo condiciones comerciales durante las 3 primeras semanas de vida. El suministro de lipopolisacáridos de *E. coli* apatógena ha demostrado acelerar la maduración del sistema inmunológico de las aves e incrementar la resistencia a la colonización por *Salmonellas* en los pollitos tratados. Este concepto conocido como inmunomodulador está basado en el hecho de que esta sustancia mejora las defensas a ciertos patógenos entéricos, tales como *Salmonella*, de establecerse en el tracto digestivo. Para evaluar este principio a nivel de campo y su efecto sobre M, PV, CA y CN, se evaluarán 3.500 pollitos de un día de edad (Avian Farm x Peterson) que serán divididos en dos grupos: Grupo tratado (GT), el cual recibirá en la incubadora un producto de Inmunoir comercial, inespecífico en su composición y asociado a lipopolisacáridos de *E. coli* y grupo control (GC), al cual no se le aplicará producto alguno. Al día 14 de edad de los pollos, se evaluará la incidencia del patógeno a través de hisopados cloacales, donde se espera que el porcentaje de animales infectados sea menor en el GT vs el GC. El efecto de Inmunoir sobre M, PV, CA y CN, será analizado a través del paquete estadístico SAS.

**Palabras clave:** *Elisa, Hisopados cloacales, Salmonella ssp.*  
**Key words:** *cloacal swabs, Elisa, Salmonella ssp.*

## Estado clínico de bovinos leucocicos estimulados con lipopolisacárido (LPS) de *E. coli* y células de *Propionibacterium granulosum* (PBG)

### *Clinical status leucocicos cattle stimulated with lipopolysaccharide (LPS) from E. coli and Propionibacterium granulosum cells (PBG)*

Roy José Andrade Becerra, MV MSc; Martín Orlando Pulido Medellín, MV Esp; Carlos Estupiñán Pinzon, Est MVZ; Hector Julio Sierra, Est MVZ.

*Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja, Boyacá, Colombia.  
royjoseandrade@yahoo.com, Mopm1@hotmail.com,  
mendoza266@hotmail.com*

El virus de la leucemia bovina (BLV) presenta distribución universal, actualmente no existe vacuna ni tratamiento alguno para esta enfermedad. En explotaciones con presencia del BLV la opción elegida dependerá en un principio de la prevalencia de la infección en el rebaño, del valor de los animales y si existen indemnizaciones oficiales para las vacas seropositivas sacrificadas. El objetivo de

este trabajo es diagnosticar leucocis enzootica bovina en un grupo de hembras y definir el grado de afectación inmunológica para evaluar su respuesta a la aplicación del inmunomodulador a base de LPS proveniente de *E. coli* apatógena y células inactivas de PBG. El trabajo se realizó en hembras, raza Holstein, pertenecientes al hato lechero de la granja Tinguavita propiedad de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Mediante ELISA indirecta se determinó una prevalencia de 0,8%, se practicaron cuadros hemáticos a los animales en producción, buscando individuos que presentaran leucocitosis y linfocitosis persistente. Se seleccionaron 20 animales seropositivos con linfocitosis persistente los cuales fueron divididos en dos grupos denominados A y B. Al grupo A se le practicó terapia inmunomoduladora consistente en cuatro aplicaciones del fármaco a dosis de 10ml por animal con intervalos de 8 días; el grupo B recibió tratamiento placebo a las mismas fechas que fue tratado el grupo A. Los días de aplicación del fármaco se realizaron los siguientes procedimientos: toma de muestra para cuadro hemático, recuento de células somáticas (RCS) y toma de una muestra de leche por grupo para siembra de mesófilos. Se demostró correlación entre la infección por el BLV y persistencia de infecciones por otros patógenos, lo que indica que el sistema inmunológico está alterado. La inmunoterapia de vacas lecheras leucocicas busca mantener dentro de los estándares de calidad, parámetros productivos tan importantes en la industria lechera como son el RCS y las unidades formadoras de colonias de mesófilos.

**Palabras clave:** *células somáticas, ELISA, inmunoterapia, leucosis bovina, mesofilos.*

**Key words:** *bovine leucosis, ELISA, immunotherapy, mesophyll, somatic cells.*

## Estandarización de un test de ELISA para la detección de anticuerpos anti-Fasciola hepática en leche de bovinos

### *Standardization of an ELISA test for detecting Fasciola hepatica antibodies in bovine milk*

Mónica Uruburu Gómez<sup>1,2</sup>, Microb Bioan; Luz Elena Velásquez<sup>1,2</sup>, Biol MSc; Juan Carlos Bedoya<sup>1</sup>, Bact MSc

<sup>1</sup>*Grupo de Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia*

<sup>2</sup>*Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales – PECET, Universidad de Antioquia*

La fasciolosis, es la trematodosis de mayor importancia veterinaria en Colombia; afecta principalmente hatos lecheros de la zona andina y genera pérdidas cercanas al 29% en el sector pecuario nacional. El diagnóstico de esta infección se realiza de manera rutinaria por detección de huevos del parásito en las heces del vertebrado, a pesar de que este método tiene una sensibilidad moderada (35-70%). Otros métodos diagnósticos como las pruebas inmunológicas, como el ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), son altamente sensibles y específicas, y permiten el diagnóstico desde la segunda semana post-infección. Recientemente, se ha incrementado de manera notable, la detección de anticuerpos en leche como herramienta diagnóstica en diferentes enfermedades que afectan el ganado bovino, pues se ha demostrado buena correlación entre títulos de anticuerpos en suero y en leche. Además, esta última es una muestra idónea y económica, pues es fácil de obtener mediante procesos no invasivos. Pese al impacto negativo generado por la fasciolosis, en Colombia no se encuentran disponibles técnicas que permitan su diagnóstico de manera temprana y eficiente. El objetivo de este trabajo fue estandarizar bajo condiciones de laboratorio un test de ELISA para la detección de anticuerpos anti *F. hepatica* en leche de bovinos y así disponer de una técnica alternativa para el diagnóstico de la fasciolosis. Se utilizaron 80 muestras, de las cuales 44 se usaron como control positivo y 36 como control negativo. Como control de reactividad cruzada se utilizaron muestras de bovinos

que presentaron en las heces huevos de un paramphistomido. Para el desarrollo de la ELISA se utilizó el protocolo propuesto por Cahuvín (1995). El 80% (35/44) de las muestras positivas y el 72,2% (26/36) de las negativas fueron correctamente clasificadas por el test. En mezclas de leche se obtiene un resultado positivo cuando el 40% o más de las muestras provienen de animales infectados. Teniendo en cuenta los parámetros diagnósticos obtenidos y la baja sensibilidad de las pruebas coparásitológicas empleadas de manera rutinaria para el diagnóstico de la fasciolosis en Colombia, proponemos el uso del test de ELISA estandarizado en leche como herramienta diagnóstica alternativa y de tamizaje en estudios epidemiológicos.

**Palabras clave:** fasciolosis bovina, hatos lecheros, inmunodiagnóstico.  
**Key words:** bovine fasciolosis, dairy herds, immunodiagnosis.

### Estudio de la actividad de cepas nativas de Frankia en *Alnus acuminata* HBK

#### *Study of the activity of native stocks of Frankia in Alnus acuminata HBK*

Ana M Rey Obando<sup>1</sup>, Microb Ind MSc (c)PhD; Diego Chamorro Viveros<sup>2</sup>, Zoot MSc.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, Doctorado en Biotecnología.  
<sup>2</sup>Fundación Universitaria Agraria de Colombiana, UNIAGRARIA.

*Alnus acuminata*, es una arbórea promisoría para ser incorporada en sistemas silvopastoriles, por su efecto benéfico en la recuperación de praderas y mejoramiento de suelos efecto asociado principalmente a la fijación de nitrógeno atmosférico por la simbiosis con Frankia. Por lo anterior, esta investigación estuvo orientada al estudio de la simbiosis actinorrítica, aislando, identificando y evaluando cepas nativas de Frankia en los Departamentos de Nariño y Cundinamarca. Se aislaron 25 cepas de Nariño (CN) y 26 de Cundinamarca (CC), las cuales presentaron crecimiento microaerofílico, micelio ramificado no aéreo de colores contrastantes, esporangios inter y finales y producción de vesículas. Bajo un diseño completamente al azar, mediante la prueba de Tukey y el programa SAS. Se evaluó el crecimiento de las cepas en ácido cítrico, ácido pirúvico, almidón, celulosa, fructosa, galactosa, glucosa, manitol, sacarosa y xilosa en el medio Benzil Amina Purina. Todas las fuentes fueron evaluadas a tres pH 4.5, 6.5 y 8. Las cepas obtuvieron mayor crecimiento con el ácido pirúvico y pH de 6.5, que permitió clasificarlas dentro del Grupo B. Adicionalmente, se logró estimular la producción de biomasa celular con la adición del 10% del extracto de raíz. En fase de vivero bajo un diseño BCA, la información se recolectó a los 45, 90 y 125 días después de la inoculación evaluando variables microbiológicas, agronómicas y químicas las cuales fueron analizadas con el paquete SAS. Los tratamientos de mayores respuestas fueron las procedente de Pasto (T16:CN49) y de Usme (T4:CC17) y pesaron de 450 y 500 pb, respectivamente de los productos de la región variable V2-V3 subunidades de rRNA amplificadas por PCR, presentando un 90% de identidad con el grupo de las proteobacterias-Cyanobacterias y una identidad de 80% con bacterias no cultivables de comunidades microbiales de la rizósfera de bosques, una homología del 64% y 60% frente a Frankiaalni Acn14 (M8846), con identidad del 23% y 31% para CC17 y NC49 y 41% entre cepas. Los resultados demuestran la gran diversidad de las cepas nativas de Frankia, influidas por el genotipo y la oferta ambiental del Bosque Alto Andino Colombiano.

**Palabras clave:** Betulaceae, fijación biológica nitrógeno, Frankiaceae, microorganismo.

**Key words:** Betulaceae, biological nitrogen fixation, Frankiaceae, microorganism.

### Evaluación de la actividad bactericida y la carga microbiológica de mieles de *Tetragonisca angustula* y *Melipona* sp<sup>1</sup>

#### *Assesment of bactericidal activity and microbiological load of honeys from Tetragonisca angustula and Melipona sp*

Divian Ivonne Hernández Moren<sup>2</sup>, Zoot; Magda Viviana Gamboa Abril<sup>2</sup>, Est Zoot; Judith Figueroa Ramírez<sup>2</sup>, Microb MSc

<sup>1</sup>Financiado por Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y Universidad Nacional de Colombia,

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia. dihernandezm@unal.edu.co, mvgamboa@unal.edu.co, jfigueroaa@unal.edu.co

Con el interés de conocer la naturaleza de mieles de algunas especies de abejas nativas colombianas, durante el II semestre de 2008 y el I semestre del 2009, se estimó para 21 muestras de *Tetragonisca angustula* y 17 muestras de *Melipona* sp, la flora microbiana presente y la actividad bactericida de estas mieles. A partir de la metodología recomendada por ICMSF para alimentos se valoró la flora presente mediante los grupos indicadores, mesófilos aerobios, coliformes, hongos, levaduras y patógenos específicos *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus* sp. El poder antibacterial se evaluó por medio de la concentración mínima inhibitoria frente a *Escherichia coli*, ATCC 31617, *Salmonella enterica enterica serovar Typhimurium*, ATCC 14028 y *Klebsiella pneumoniae pneumoniae*, ATCC 700603 del grupo Gram negativo y *Bacillus subtilis spizizenii*, ATCC 6633 *Micrococcus luteus Kocuria rhizophila*, ATCC 9341 y *Staphylococcus aureus*, ATCC 6538, del grupo Gram positivo. Para *T. angustula*, se observaron recuentos de mesófilos entre 20 y 10 x 10<sup>3</sup> UFC/gr, para hongos y levaduras entre 20 y 16 x 10<sup>4</sup> UFC/gr. Para mieles de *Melipona* sp, mesófilos entre 40 y 11x10<sup>4</sup> UFC/gr y hongos y levaduras entre 20 y 93x10<sup>3</sup> UFC/gr. En el caso de los patógenos, *C. perfringens* se aisló en una muestra de *Melipona* sp. 10 UFC/gr y *Staphylococcus* sp. en dos muestras de *T. angustula* con recuentos de 20 y 40 UFC/gr. Las mieles de *T. angustula* mostraron buena actividad antibacterial con probabilidades de efectividad hasta de p(x) = 1 para *E. coli*, *Salmonella* y *Micrococcus*, en diluciones hasta del 45 %, sin actividad para *S. aureus*. Las mieles de *Melipona* sp. presentaron menor actividad y fueron inactivas frente a *B. subtilis*, y *S. aureus*. Para *Salmonella*, *Micrococcus* y *E. coli* las mieles se comportaron con actividades cercanas a las de *T. angustula*. La flora microbiana presente evaluada por recuentos y el poder antibacterial a los seis microorganismos probados, fueron mejores en las mieles de *T. angustula* que en mieles de *Melipona* sp.

**Palabras clave:** concentración mínima inhibitoria, miel, recuento microbiológico.

**Key words:** honey, microbiological count, minimum inhibitory concentration.

### Evaluación de la actividad citotóxica y proliferativa de extractos de *Beta vulgaris* L. var cicla (acelga) sobre islotes pancreáticos de cerdo

#### *Evaluation of proliferative and cytotoxic activity of extracts of Beta vulgaris L. var cicla (chard) on pig pancreatic islet*

Jorge Eduardo Forero Duarte<sup>1</sup>, Bact MSc; Albeiro López Herrera<sup>2</sup>, Zoot MV MSc DrSci; Victoria Bedoya<sup>3</sup>, MD Esp DrSci.

<sup>1</sup>Grupo Biodiversidad y Genética Molecular BIOGEM.

<sup>2</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Grupo BIOGEM.

<sup>3</sup>Banco de tejidos, Hospital Universitario San Vicente de Paul.

Aunque el trasplante de islotes pancreáticos es una alternativa para el tratamiento de pacientes de Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM-



1), limitantes tanto en el número de páncreas disponibles como en la viabilidad islotes en el momento del trasplante, hacen que sólo una proporción mínima de pacientes con DM-1 puedan beneficiarse de este tratamiento. Poco se ha indagado sobre el potencial de extractos de plantas en aumentar la cantidad y la calidad de islotes pancreáticos. Recientemente estudios realizados en Turquía, sugieren que extractos de *Beta vulgaris* L. variedad cicla (acelga), pueden inducir la regeneración de células pancreáticas aún con disponibilidades bajas del órgano. Este estudio pretende utilizar el cerdo como modelo para evaluar la citotoxicidad y potencial regeneradora de la acelga. Inicialmente se hará la evaluación sobre líneas celulares e islotes pancreáticos de cerdo como primera aproximación a su evaluación para páncreas humanos. La citotoxicidad de extractos de acelga obtenidos con solventes de polaridad selectiva, se evaluará cuantificando la viabilidad de una línea celular establecida mediante la técnica del MTT. Una vez obtenida la máxima concentración no tóxica, se evaluará la capacidad 5 diluciones dobles a partir de la concentración no tóxica de cada uno de los extractos para inducir proliferación celular tanto en las líneas celulares como en los islotes pancreáticos de cerdo. La viabilidad de los islotes se determinará utilizando la combinación de Diacetato de Fluoresceína (FDA)/Yoduro de Propidio (PI) para calcular el índice de regeneración y mediante una prueba de ELISA para insulina de cerdo, se calculará el índice de estimulación para evaluar el efecto de los extractos sobre la función endocrina de los islotes. Los resultados de este trabajo proporcionarán bases sólidas para el uso de extracto de acelga en la construcción de un protocolo de regeneración de islotes pancreáticos en cultivos *in vitro* en páncreas de cerdo, para posteriormente hacer los estudios en páncreas de cadáveres humanos y así lograr obtener un protocolo para mejorar la viabilidad de los islotes pancreáticos antes de hacer el trasplante al paciente receptor.

**Palabras clave:** *Diabetes Mellitus tipo 1, índice regeneración, trasplante de páncreas.*

**Key words:** *Diabetes Mellitus type 1, pancreas transplantation, regeneration Index.*

### Identificación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones

#### *Identification of the bacterial microflora in uterine embryo donor cows*

Diana C Méndez<sup>1</sup>, Microb Agric MV; Agustín Góngora O<sup>2</sup>, MV MSc Dr Sci; Luz A Gómez<sup>3</sup>, Bact Esp.

<sup>1</sup>Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup>Grupo de Investigación en Reproducción y Genética Animal GIRGA, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. agongora@unillanos.edu.co

<sup>3</sup>Escuela de Ciencias Animales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

La transferencia de embriones es una de las biotecnologías reproductivas de mayor aplicación, en la actualidad se transfieren a nivel mundial más de 600.000 embriones al año. Los resultados exitosos de un programa de transferencia de embriones se ven afectados por múltiples variables, entre ellas el estado reproductivo y sanitario de las donantes. Aunque se conoce que el riesgo de transmisión de agentes infecciosos a través de la TE es menor que el que podría ocurrir por el semen, no se descarta que la presencia de agentes infecciosos en el útero de la donante puede ser transmitido a la receptora, causando subsecuentes infecciones que llevan a la muerte del embrión y por consiguiente la transmisión a la receptora. El objetivo de este estudio fue identificar la microflora bacteriana de vacas donantes de embriones. Se obtuvieron muestras del lavado uterino al día 7 al momento de la colecta de embriones de 21 vacas en 6 fincas del Piedemonte del Meta y Cundinamarca que fueron cultivadas en agar nutritivo, agar sangre, agar mac conkey y en

medios diferenciales EMB, S.S. manitol salado, XLD. Las bacterias identificadas fueron *Proteus spp.* 4.8%, *Archanobacterium spp.* 4.8%, *Klebsiella* 9.5%, *E. coli* 14.2%, *Shigella spp.* 23.8%, *Bacillus spp.* 33.3%, *Pseudomona spp.* 52.3% y *Staphylococcus spp.* 47.6%. En 28.6% de las vacas se identificó solo una bacteria, 52.4% dos bacterias y 19% tres o más bacterias. A pesar que el mayor porcentaje de bacterias aisladas fueron saprofiticas, la identificación de bacterias patógenas sugiere nuevos estudios para conocer sus efectos sobre la respuesta superovulatoria y la tasa de preñez, posible transmisión a las receptoras y dosis infectiva, además de los efectos sobre la implantación embrionaria.

**Palabras clave:** *infección uterina, microbiología, transferencia de embriones.*

**Key words:** *embryo transfer, microbiology, uterine infection.*

### Identificación, caracterización y valoración de sensibilidad a antimicrobianos de cepas de *Brachyspira* spp en granjas de ponedoras comerciales en Colombia

#### *Identification, characterization and antimicrobial susceptibility of Brachyspira spp strains on commercial laying hen farms in Colombia*

Diana Marcela Álvarez Mira, MV (c)MSc; Martha Pulido Landínez, MV MSc; Judith Figueroa Ramírez, Microb MSc.

Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia.

La Espiroquetosis Intestinal Aviar (EIA) es una enfermedad ocasionada por espiroquetas intestinales anaerobias del género *Brachyspira* y es reconocida como un problema productivo en ponedoras comerciales y reproductoras pesadas desde 1986. En Colombia no ha sido reportado este microorganismo en aves de corral, sin embargo es común la presentación de cuadros clínicos compatibles con EIA. En este estudio se evaluó la presencia de *Brachyspira* en granjas de ponedoras comerciales con signos de disminución de la postura y o diarrea o gallinaza húmeda. Se procesaron un total de 306 muestras de hisopados cloacales y raspados de mucosa cecal, provenientes de 34 granjas ubicadas en varias regiones geográficas, incluyendo diferentes estirpes, edades (17-74 semanas), sistemas de encasamiento (piso, jaula y semipastoreo) y capacidad de alojamiento (5.000-251.000 aves). Se realizaron cultivos microbiológicos selectivos, pruebas bioquímicas (producción de indol, hidrólisis de hipurato y actividad  $\alpha$ -galactosidasa,  $\alpha$ -glucosidasa y  $\beta$ -glucosidasa) y de Reacción en Cadena por la Polimerasa (PCR) género-específica basada en la amplificación del gen de la NADH oxidasa (*nox*) y especie-específica para *Brachyspira intermedia* y *Brachyspira pilosicoli* basadas en la amplificación de los genes *nox* y 16S ARNr respectivamente. Se realizaron pruebas de sensibilidad de doce aislamientos de *Brachyspira pilosicoli* a los agentes antimicrobianos tiamulina, tilosina y lincomicina evaluando la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de dilución en agar. El 6.2% (19/306) de las muestras y el 20.6% (7/34) de las granjas analizadas fueron positivas. El 79% (15/19) de los aislamientos se identificaron como *B. pilosicoli* con la prueba de PCR. No se identificó *Brachyspira intermedia*. En contraste, el 68.4% (13/19) de los aislamientos no pudo ser clasificado a nivel de especie con base en las pruebas bioquímicas. El 85% de los casos positivos se encontraron otros agentes patógenos asociados lo que sugiere que esta bacteria actúa más como un patógeno oportunista que como uno primario. Todos los aislamientos analizados mostraron sensibilidad a tiamulina (CMI  $\leq$  0.1  $\mu$ g/ml) y lincomicina (CMI = 1  $\mu$ g/ml) y resistencia a tilosina (CMI = 5  $\mu$ g/ml). Este es el primer reporte de *Brachyspira pilosicoli* en granjas de ponedoras comerciales en Colombia.

**Palabras clave:** *espiroquetosis intestinal aviar, PCR, perfil bioquímico.*

**Key words:** *avian intestinal spirochaetosis, biochemical profile, PCR.*

## Inoculación de rizobios y micorrizas y su efecto en la producción y calidad de *Acacia decurrens* Willd

### *Inoculation of rizobios and micorrhizal in the production and quality of *Acacia decurrens* Willd*

Ana María Rey Obando<sup>1</sup>, Microb Ind MSc (c)PhD; Diego Chamorro Viveros<sup>2</sup>, Zoot MSc; Gina Saboya López<sup>3</sup>, Microb Ind; Carolina Múnera Camacho<sup>3</sup>, Microb Ind.

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Colombia, Doctorado en Biotecnología.

<sup>2</sup>Fundación Universitaria Agraria de Colombiana UNIAGRARIA

<sup>3</sup>Pontificia Universidad Javeriana.

Con el fin de evaluar la doble inoculación en el crecimiento de *Acacia decurrens* Willd, se realizaron 18 aislamientos de rizobios de *A. decurrens* de Cundinamarca, caracterizándose morfológica y fenotípicamente mediante pruebas microbiológicas. Se seleccionaron cinco cepas representativas y fueron evaluadas individualmente y en mezclas con un inoculo mixto de micorrizas (*Acaulospora* spp., *Entrophospora* spp., *Glomus* spp., *Gigaspora rosea* y *Scutellospora heterogama*). Los tratamientos que incluía la inoculación con la cepa del municipio de Funza (O2R) y Facatativa (I1R) tanto individual como con el inoculo de micorrizas, presentaron las mejores respuestas agronómicas y microbiológicas, reflejadas en una mejor producción y calidad nutricional del forraje principalmente en proteína cruda y fósforo. En el análisis de las variables agronómicas a los 90 días se observó diferencias ( $P < 0.001$ ) para las variables de longitud total, longitud foliar, longitud radicular, diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para peso seco foliar. A los tres meses de edad, *A. decurrens* mostró su dependencia a la inoculación con cepas de rizobios asociadas con el inoculo mixto de micorrizas lo cual incidió marcadamente en una mayor respuesta en el rendimiento de forraje seco, longitud total y radicular, porcentaje de colonización y número de nódulos. La doble inoculación con la cepas nativas asociadas con en el inoculo mixto de micorrizas permitió incrementar la calidad nutricional de *A. decurrens* en cantidad de proteína cruda (101%), gramos de fósforo por planta (121,3%), digestibilidad *in situ* (53,53%), lo que favorece la utilización de nutrientes por el rumiante. La biodiversidad microbiana y los consorcios naturales son un reflejo de los trabajos de investigación que se deben realizar para mejorar la respuesta en vivero y en campo de leñosas perennes.

**Palabras clave:** fijación biológica nitrógeno, Glomales, microbiología, Rhizobiaceas.

**Key words:** biological nitrogen fixation, Glomales, microbiology, Rhizobiaceas.

## La inmunosupresión terapéutica, una alternativa óptima para el aislamiento del herpesvirus bovino-1 (BHV-1)

### *Therapeutic immunosuppression: an optimal alternative for bovine herpesvirus-1 (BHV-1) isolation*

Julián Ruiz Sáenz, MV MSc (c)PhD; Jairo Jaime C, MV MSc PhD; Víctor J Vera, MV MSc PhD.

Grupo de Investigación en Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. julianruizsaenz@gmail.com

El BHV-1 es un virus de genoma DNA perteneciente a la familia *Herpesviridae*, que afecta al bovino, provocando un amplio espectro de manifestaciones clínicas. Establece latencia durante la vida del hospedero evadiendo la respuesta inmune. Durante eventos de estrés, inmunosupresión o uso de corticoides, el virus puede reactivarse, dispersándose a animales susceptibles. Durante los años 90's se evidenció una gran dificultad para aislar virus de animales naturalmente infectados, aun cuando estos presentaban signos compatibles con

los causados por el BHV-1. Sin embargo, el Grupo Microbiología y Epidemiología de la Universidad Nacional con conocimiento del estatus serológico y mediante el uso de inmunosupresión terapéutica ha logrado más de 15 aislamientos del BHV-1. Para éstos, se realizaron muestreos poblacionales en diferentes ganaderías, tanto de carne como de leche. Los animales fueron sangrados dos veces con un intervalo de 20-30 días a fin de evaluar los títulos de anticuerpos neutralizantes, mediante la técnica de seroneutralización. Con base en la serología, se escogió un grupo de individuos positivos y seroconvertores (2-5 individuos por hato), los cuales se sometieron a inmunosupresión terapéutica, usando uno de dos protocolos: 1) dos dosis: 100 mg de dexametasona por vía intravenosa y 100 mg a los dos días siguientes vía intramuscular, 2) una dosis única de 200 mg de dexametasona por vía intravenosa. En ambos protocolos se tomaron hisopados (nasales, conjuntivales, vaginales) y lavados prepucciales a los 4 días postinmunosupresión. A la toma de la muestra, los animales se encontraban en óptimas condiciones de salud. Algunas hembras presentaron leve vulvovaginitis, ninguno de los toros mostró balanopostitis y ninguno de los animales mostró signos de enfermedad respiratoria. Se encontró una disminución de la producción láctea de cerca del 80% a las 24 horas postinmunosupresión, la cual se recuperó totalmente al 5 día. No fue posible registrar el peso de los animales; sin embargo no hubo disminución en los índices de condición corporal. Se aislaron virus tanto de muestras respiratorias, conjuntivales como reproductivas y tanto de toros como de vacas tratadas, demostrando la eficiencia de la técnica para realizar aislamientos del BHV-1 con mínimo deterioro de la salud de los animales.

**Palabras clave:** corticoides, ganadería, latencia, rinotraqueitis, virus.

**Key words:** cattle, corticoids, latency, rhinotracheitis, virus.

## Métodos y Estrategias para la detección de bovinos persistentemente infectados con el virus de diarrea viral bovina (DVB)

### *Methods and strategies for the detection of bovines persistently infected by the bovine viral diarrhoea virus (BVDV)*

Chiara Piancastelli<sup>1</sup>, MV PhD; Sandro Cavirani<sup>1</sup>, MV MSc PhD; Giovanni Moreno Figueredo<sup>1,2</sup>, MV (c)PhD.

<sup>1</sup>Universidad de Parma (Italia), Departamento de Salud Animal, sección de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina Veterinaria

<sup>2</sup>Fundación Universitaria Juan de Castellanos (Tunja), Facultad de Ciencias Agrarias, Programa de Medicina Veterinaria, Grupo de Investigación IRABI

La diarrea viral bovina es una enfermedad causada por un pestivirus que produce sintomatología respiratoria y reproductiva, de acuerdo con el biotipo involucrado (citopático o no citopático). El virus no citopático infecta hembras gestantes durante los primeros cuatro meses de preñez, pasando a un estado de inmunotolerancia, en el que el feto no es capaz de reconocer el virus y por ello no produce anticuerpos, convirtiéndose en un paciente infectado persistente y difusor del virus. El presente trabajo se realizó con el fin de evaluar la difusión del virus de DVB en fincas lecheras de algunas regiones de Italia, utilizando diferentes estrategias y técnicas diagnósticas. La técnica para la detección de animales persistentemente infectados así como la identificación del virus, se hizo por PCR en sangre completa, en biopsia y en pool de sangre (constituido por 20 muestras). La identificación de anticuerpos contra NS2-3, en animales seronegativos, se hizo por el método de ELISA. De manera complementaria, se hizo PCR tiempo real en terneros. En las fincas lecheras se encontró una seroprevalencia de 87% considerada muy alta debido a terneros infectados durante la etapa de gestación. Con relación a la mejor prueba diagnóstica, considerando balance costo beneficio, en este estudio se encontró que PCR tiempo real tuvo una alta sensibilidad y confiabilidad comparado con la PCR en sangre completa y biopsia individual, permitiendo identificar los animales infectados en

pool de sangre sin tener que evaluarlos uno a uno. En consecuencia, en un proceso diagnóstico, la PCR tiempo real en pool de sangre permite analizar simultáneamente varios animales y solo en aquellos casos en que se obtenga un resultado positivo se procede a realizar el análisis individual. Por su parte la prueba de ELISA mostró baja confiabilidad y limitada sensibilidad, porque muestra interferencia con anticuerpos maternos, además de limitaciones en el tiempo en el que las muestras deben ser procesadas. A pesar de haber sido este estudio realizado en Italia, la aplicación de las pruebas diagnósticas y los resultados obtenidos, constituyen experiencia útil para la creación y puesta en marcha de programas de control de la enfermedad en cualquier región.

**Palabras clave:** citopático, DVB, ELISA, enfermedades infecciosas, no citopático, PCR tiempo real.

**Key words:** BVD, citopatic, ELISA, infection disease, not citopatic, PCR real time.

### Potencial utilidad de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en el diagnóstico molecular de la brucelosis bovina

#### Potential usefulness of the Polymerase Chain Reaction (PCR) in the diagnosis of bovine brucellosis

Xiomara Mosquera<sup>1</sup>, Ing Biot (c)MSc; Carlos Muskus<sup>1</sup>, Bact MSc PhD; Iván Ruiz<sup>2</sup>, MV; Francisco Pabón<sup>2</sup>, MV; Héctor Porras<sup>3</sup>, MV; Jesús Alfredo Berdugo Gutiérrez<sup>4</sup>, DMV MSc.

<sup>1</sup>Programa de Erradicación y Control de las Enfermedades Tropicales PECET, Universidad de Antioquia.

<sup>2</sup>Secretaría de Agricultura, Gobernación de Antioquia.

<sup>3</sup>Instituto Colombiano Agropecuario, ICA.

<sup>4</sup>Grupo de Estudio sobre Búfalos, Universidad de Antioquia.

La Brucelosis es una zoonosis de impacto económico negativo en los hatos afectados. En Colombia, se informaron pérdidas en el sector ganadero por \$44 mil millones de pesos durante el 2002. Esta zoonosis afecta principalmente bovinos, ovinos, caprinos y porcinos y según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), esta enfermedad afecta además 500.000 personas anualmente. La brucelosis es causada por microorganismos del género *Brucella spp.* Este patógeno intracelular, facultativo, no forma esporas y morfológicamente es un cocobacilo inmóvil. En la actualidad se conocen 7 especies clasificadas según el huésped: *Brucella abortus* (Bovinos), *Brucella melitensis* (Caprinos), *Brucella suis* (Porcinos), *Brucella ovis* (Ovinos), *Brucella canis* (Caninos), *Brucella neotomae* (Roedores), *Brucella maris* (Mamíferos marinos). Es fundamental que se busquen nuevas formas de diagnóstico más rápidas y específicas para acelerar los programas de erradicación y control. El objetivo fue evaluar la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de *Brucella abortus* en vacunos. Se seleccionó una población de 100 hembras, provenientes de 18 hatos antioqueños, mayores de 24 meses vacunadas contra brucelosis a edad reglamentaria y sin revacunación. Los animales fueron evaluados por ELISA competitivo para brucelosis de los cuales 50 resultaron positivos y 50 negativos. De cada animal se tomó una muestra de sangre anticoagulada, para la extracción de ADN y amplificación de una secuencia de 223 pb del gen BCSP31 que codifica para una proteína de membrana de 31 kDa de *Brucella abortus*, empleando los oligonucleótidos B4 y B5. De las 50 muestras de sangre de vacunos con ELISA Competitivo positivo, se obtuvieron 28 (56%) resultados positivos y 22 (44%) resultados negativos por PCR. De las 50 muestras con ELISA Competitivo negativo, se obtuvieron 22(44%) resultados positivos y 28(56%) resultados negativos por PCR. De los 18 hatos, se presentaron resultados positivos por PCR en 17, tanto en las que pertenecen a zonas con antecedentes de brucelosis como en las pertenecientes al programa de hatos libres. Fue posible detectar el ADN de la bacteria en muestras de sangre de bovinos que presentaron síntomas clínicos de la enfermedad. Lo anterior permite considerar que la técnica

de PCR podría contribuir al fortalecimiento del diagnóstico confirmatorio de la brucelosis.

**Palabras clave:** *Brucella abortus*, diagnóstico, ELISA competitiva, PCR.

**Key words:** *Brucella abortus*, Competitive ELISA, diagnosis, PCR.

### Presencia de mycoplasma synoviae en granjas de aves comerciales del departamento de Cundinamarca (Colombia)

#### Presence of mycoplasma synoviae in commercial farms in the Cundinamarca department (Colombia)

Luis José Carrión G, MV (c)MSc; Victor Julio Vera A, DMV MSc PhD; Jairo Jaime C, MV MSc PhD.

Grupo de investigación en Microbiología y Epidemiología, Posgrado en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Colombia.

El *Mycoplasma synoviae* es considerado después del *Mycoplasma gallisepticum* el segundo *Mycoplasma sp* en afectar las aves domésticas, especialmente en explotaciones intensivas, donde ocasiona infección subclínica de vías respiratorias superiores, generando enfermedad respiratoria y sinovitis. La presencia de la micoplasmosis aviar, pone en riesgo la supervivencia de la avicultura industrial y su efectivo control y/o erradicación, conlleva una alta inversión y el uso de adecuadas pruebas diagnósticas para su detección. Frente a las tradicionales técnicas serológicas y de aislamiento microbiológico, emergen las pruebas de carácter molecular, que mejoran la especificidad y sensibilidad de las anteriores. En el presente trabajo se evaluaron en el departamento de Cundinamarca, 20 granjas de ponedoras comerciales y reproductoras de 15.000 animales/ granja, con antecedentes de presentación de micoplasmosis aviar. Las muestras fueron tomadas de hisopos traqueales de 5 animales, con 30 muestras por granja. Se hizo PCR convencional a partir de primers diseñados sobre regiones conservadas de los genes 16S y VlhA, que generan fragmentos de 214 y 446 pb respectivamente. Las granjas positivas al PCR del gen 16S, también lo fueron para el gen VlhA, estableciéndose una positividad del 35%/ granja. Los resultados indican que se pueden amplificar cualquiera de los dos genes para el diagnóstico de *M. synoviae*, aunque el gen VlhA por tener dos regiones: una conservada y otra variable, da la posibilidad que sobre el N terminal de la región conservada, se puedan identificar las diferentes cepas de campo de *Mycoplasma sinoviae*, mientras que el gen 16S, aunque hasta el momento es el más utilizado, no permite la tipificación de cepas. El resultado poblacional con respecto a la presencia de *M. synoviae*, establece la presencia de la enfermedad en granjas de aves ponedoras, siendo preocupante, pues los diagnósticos de campo están enfocados en la mayoría de los casos a *M. gallisepticum*, existiendo para éste medidas preventivas de actual empleo. Lo anterior implica un mejor conocimiento del estado de la enfermedad a nivel de otras regiones del país y de los diferentes tipos de explotación.

**Palabras clave:** gen 16s, gen VlhA, PCR, ponedoras comerciales.

**Key words:** commercial laying, PCR, VlhA gene, 16s gene.

### Presencia del virus vacunal de bronquitis infecciosa en granjas de pollo de engorde del departamento de Cundinamarca<sup>1</sup>

#### Presence of infectious bronchitis vaccine virus in broiler farms in Cundinamarca

Diana Claudia Álvarez Espejo<sup>2,3</sup>, MV (c)MSc; Javier Andrés Jaimes Olaya<sup>2,4</sup>, MV MSc; Jairo Jaime Correa<sup>2,5</sup>, MV MSc PhD; Victor Julio Vera Alfonso<sup>2,6</sup>, DMV MSc PhD.

<sup>1</sup>División de Investigación Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, proyecto número 8010026.

<sup>2</sup>Grupo de Microbiología y Epidemiología, Universidad Nacional de Colombia.

<sup>3</sup>Laboratorio de Medicina Aviar, Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario (CEISA), Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). [diana.alvarez@ica.gov.co](mailto:diana.alvarez@ica.gov.co)

<sup>4</sup>Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de La Salle, Coordinador, Programa BIOFARMA, Instituto La Salle de Investigaciones Avanzadas. [jajaimeso@lasalle.edu.co](mailto:jajaimeso@lasalle.edu.co)

<sup>5</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. [jjaimec@unal.edu.co](mailto:jjaimec@unal.edu.co)

<sup>6</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. [vjveraa@unal.edu.co](mailto:vjveraa@unal.edu.co)

El virus de la bronquitis infecciosa (IBV) es una entidad causante de grandes pérdidas económicas en granjas de pollo de engorde representadas por la disminución en la ganancia de peso, eficiencia alimenticia, altas tasas de morbilidad, decomisos en planta de beneficio y costos por vacunaciones. En el presente trabajo se identificó y caracterizó el genoma del IBV a partir de aves provenientes de cinco granjas de pollo de engorde ubicadas en Cundinamarca con historia, resultados serológicos y lesiones histopatológicas compatibles con la enfermedad. Adicionalmente se realizó el intento de aislamiento viral en huevos embrionados libres de patógenos específicos. Las explotaciones avícolas presentaron similares condiciones de manejo, alimentación y una sola vacuna por aspersión contra IBV al primer día de edad, en planta de incubación. Se realizó examen clínico de cinco aves de cada granja al día siete, catorce, veintiocho y al final del ciclo de engorde (días 39 – 45), tomando a la necropsia pulmón, tráquea, riñón y tonsila cecal. Se evaluaron los tejidos por RT-PCR del gen de la espícula uno y las muestras positivas se caracterizaron por medio de la secuenciación de nucleótidos. Se detectó el genoma viral en cuatro granjas en tráquea y pulmón de los días siete, catorce y veintiocho. No se logró el aislamiento del agente viral. Las cepas identificadas corresponden a la cepa vacunal Massachusetts y Connecticut que probablemente pueden estar presentando un efecto patógeno subclínico en las granjas. Este hallazgo puede confirmar el papel que juegan las vacunas vivas atenuadas en campo, las cuales pueden producir subpoblaciones o variantes vacunales de campo, causando replicación e infección en el huésped y conllevando a deficiencias en los programas de vacunación utilizados actualmente. Este trabajo brinda un acercamiento a la situación del IBV en el departamento de Cundinamarca donde se demostró la presencia del agente por pruebas moleculares, indicando la necesidad de realizar un estudio que integre diferentes zonas avícolas del país, permitiendo caracterizar y agrupar las cepas detectadas en nuevos grupos genotípicos.

**Palabras clave:** aislamiento viral, RT-PCR, secuenciación de nucleótidos.

**Key words:** nucleotide sequence, RT-PCR, viral isolation.

## Reactividad serológica a los virus H3N2 y H1N1 de la influenza porcina en explotaciones intensivas de Colombia

### *Serologic survey of swine influenza virus H3N2 and H1N1 in farms of Colombia*

César Augusto Díaz Rojas, MV MSc (c)PhD; Víctor Vera Alfonso, DVM MSc PhD; Jairo Jaime Correa, DVM MSc PhD; José Darío Mogollón Galvis, DVM MSc PhD; Adriana Corredor Figueroa, Bact.

Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Grupo de investigación en Microbiología y Epidemiología.

El virus de la Influenza porcina es un virus ARN de cadena sencilla, polaridad negativa, con 8 segmentos que codifican para 11 proteínas virales, causante de pérdidas económicas porque potencia la respuesta frente a otros patógenos primarios o secundarios en el complejo respiratorio porcino, conlleva a disminución en parámetros productivos,

aumento de la morbilidad y la mortalidad en las épocas de precebo y levante. En Colombia se ha reportado la reactividad serológica a los virus de la influenza porcina H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> y H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> desde los años 70 con reactividades serológicas que oscilan entre el 10% hasta el 35% para el H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> y de solo el 0,8% para el H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>. En el presente estudio se tomaron 66 explotaciones intensivas de la región Occidental (Valle del Cauca, Caldas, Quindío y Risaralda); 10 explotaciones de la región central (Cundinamarca y Tolima) y 30 de Antioquia. De cada explotación se tomaron 43 muestras serológicas así: madres de reemplazo (n=6), madres primerizas (n=3), madres múltiparas (n=9), lechones lactantes (n=5), en Precebo (n=10) y Ceba (n=10), y la aplicación de una encuesta epidemiológica con 103 preguntas referentes a identificación del predio, características de la explotación, grupo productivo, inventario de animales, parámetros reproductivos – productivos, presencia de otras especies en la explotación o en inmediaciones, condiciones de bioseguridad, densidad poblacional por M<sup>2</sup>, programa sanitario e indicadores sanitarios. La reactividad serológica al subtipo H<sub>3</sub>N<sub>2</sub> fue del 18,85%, 5,75% y 14,3% para la región Occidental, Central y Antioquia respectivamente. Para el subtipo H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> la reactividad fue del 0,34%, 0,3% y 1,2% para las tres regiones. Las variaciones observadas por región pueden ser un indicativo de las diferentes condiciones ambientales y de explotación así como de los sistemas de explotación. La reactividad serológica se evidenció en madres de reemplazo, primerizas y múltiparas. La presencia de anticuerpos en lechones lactantes puede ser indicativa de transmisión materna mientras la permanencia de anticuerpos en animales de crecimiento (precebo y ceba) se puede explicar solo por un contacto con el virus. Las diferencias en la reactividad serológica por regiones y por grupos etáreos puede ser indicativo de diferencias en la carga viral o la presión de infección lo cual podrá resultar en variantes virales.

**Palabras clave:** enfermedad respiratoria, epidemiología veterinaria, investigaciones serológicas, porcinos, virus Influenza A.

**Key words:** flu, influenza A viruses, serologic investigations, swine, veterinary epidemiology.

## Relación entre inflamación intestinal, activación de las proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAPK) y absorción intestinal de L-lisina en lechones recién destetados<sup>1</sup>

### *Relationship between intestinal inflammation, activation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) and intestinal absorption of L-lysine in weaned pigs*

David Esteban Sanín Peña<sup>2</sup>, Est Ing Biol; Jorge Agudelo<sup>3</sup>, Zoot PhD; Jaime Parra Suescún<sup>4</sup>, Zoot MSc PhD; Albeiro López Herrera<sup>4</sup>, Zoot MV MSc DrSci.

<sup>1</sup>Proyecto financiado por Vicerrectoría Nacional de Investigación, Código QUIPU 20101007950, Universidad Nacional de Colombia.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.

<sup>3</sup>Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo GRICA.

<sup>4</sup>Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Animal, Grupo BIOGEM, AA 1779, Colombia. [alherrera@unal.edu.co](mailto:alherrera@unal.edu.co)

En un lechón en lactancia las bacterias dominantes en el TGI son lactobacilos y estreptococos, con el destete brusco y cambio de alimentación se induce la mortalidad de dichas bacterias, y aumento de población de *E. coli*, liberando productos proinflamatorios como lipopolisacáridos (LPS) de la pared de éstas e iniciando una cascada de reacciones que conducen a un estado séptico y sobreviene una respuesta sistémica no regulada que puede progresar a fallo orgánico múltiple. Uno de los aminoácidos esenciales para el desarrollo del lechón es lisina; sin embargo, la presencia de enfermedades infecciosas e inflamatorias afectan la absorción de lisina, disminuyendo síntesis de proteína

corporal, y por ende, el crecimiento. Por otro lado la activación del sistema inmune implica mayores requerimientos de lisina. El objetivo de este trabajo en ejecución es evaluar si la ruta de señalización de MPAK es inducida por LPS de *E. coli* y el efecto de esta señalización sobre el transporte y absorción de lisina en lechones recién destetados. Se realizó en el Centro de Producción San Pablo, de la Universidad Nacional de Colombia, con 12 lechones destetados a los 21 días, aproximadamente de 6 kg de peso vivo. Los animales fueron alojados en jaulas independientes y sacrificados los días 0, 5 y 7 posdestete para extraerle el yeyuno. Las sustancias en estudio se adicionaron directamente en el medio de incubación, con fragmentos de anillos de yeyuno, a las concentraciones deseadas. Las sustancias ensayadas fueron: LPS de *E. coli* (0.3 µg/ml de alimento) que induce inflamación *ex vivo* del fragmento de intestino; e inhibidores de MAPK: a) SB-203580 (10, 20 y 30Mm), b) U-0126 (10, 20 y 30Mm). La determinación de acumulación tisular de lisina es está realizando por electroforesis capilar, se analiza también la inhibición de la ruta de señalización MAPK y su papel en la absorción de lisina. El diseño experimental es bloques al azar en un arreglo factorial de 7X3 (siete tratamientos por tres mediciones en el tiempo), utilizando el paquete estadístico SAS. Con la publicación de esta información se pretende conformar y publicar una base de datos sobre los factores patógenos que afectan la absorción de aminoácidos y sus mecanismos de señalización molecular.

**Palabras claves:** *lactobacilos, mecanismos de transporte intestinal, productos proinflamatorios.*

**Key words:** *intestinal transport mechanism, Lactobacillus, proinflammatory products.*

### Uso de cultivo de macrófagos como sistema de multiplicación para el aislamiento y tipificación de *Mycobacterium avium* sub especie paratuberculosis

#### *Infected macrophages as enhancing tool for isolation and tipification of Mycobacterium avium sub especie paratuberculosis (Map)*

René Ramírez García, MV; Juan Guillermo Maldonado, MVZ MsC PhD.

*Grupo de Investigación en Ciencias Veterinarias, Centauro, Universidad de Antioquia.*

El *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis (Map) es el microorganismo causante de la paratuberculosis bovina, enfermedad que afecta a todos los ruminantes caracterizada por una enteritis crónica, este bacilo intracelular presenta un comportamiento particular en su respuesta inmune, en especial en su relación con los macrófagos, células presentadoras de antígenos encargadas de iniciar la respuesta inmune. El objetivo general de este estudio fue determinar la utilidad de los macrófagos bovinos cultivados *in vitro* como sistema para la infección, amplificación, detección, y aislamiento del *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis (Map). El cultivo *in vitro* de macrófagos se probó como mecanismo de replicación y multiplicación del *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis, este sistema de multiplicación sirve como principio para la tipificación del agente en individuos con la enfermedad. En este estudio se tienen como resultados preliminares en bovinos raza de raza Holstein, cruces BON x Holstein y BON, la estandarización del cultivo *in vitro* de macrófagos, probados con citometría de flujo, al igual que el diagnóstico molecular de la paratuberculosis bovina mediante PCR convencional y PCR en tiempo real como método diagnóstico confiable. Las cepas de *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis (Map) que fueron aisladas en animales sospechosos fueron secuenciadas e identificadas. Los macrófagos bovinos fueron inoculados con una cepa pura del *Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis en condiciones

de incubación controladas para evaluar la proliferación del agente en diferentes medios estimulados con citoquinas tipo Th1 (inhibición de la proliferación) y Th2 (estímulo de la proliferación). Los resultados obtenidos contribuyen de manera importante para la realización de estudios epidemiológicos futuros de la enfermedad en Colombia y la posibilidad de aplicar el modelo de infección como aproximación a la investigación de la paratuberculosis bovina y la enfermedad de Crohn en humanos.

**Palabras clave:** *bovinos, inmunidad, micobacterias, paratuberculosis.*

**Key words:** *bovine, Jonhe diseases, immunity, mycobacterias.*

### Valoración de la situación actual de explotaciones de ponedoras comerciales con cuadros compatibles con tifoidea aviar en Colombia

#### *Assessment of the current situation of commercial laying hen farms with symptoms compatible with fowl typhoid in Colombia*

Jazmín Mercedes Mantilla Pulido, MV (c)MSc; Martha Pulido Landínez, MV MSc; Jairo Jaime, MV MSc PhD.

*Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.  
jmmantillap@unal.edu.co, mpulidola@unal.edu.co, jjaimec@unal.edu.co*

La Tifoidea Aviar es causada por bacterias del género *Salmonella*, biovariedad *Salmonella gallinarum*, perteneciente al grupo D según la clasificación de sus antígenos somáticos. En Colombia esta enfermedad se relaciona con problemas sanitarios en explotaciones de ponedoras comerciales caracterizados por elevada morbilidad y mortalidad, la cual puede alcanzar hasta un 80%. Las aves presentan bajo consumo y cuadros diarreicos. En este estudio se evaluó la presencia de este microorganismo en explotaciones de ponedoras comerciales con cuadros compatibles con tifoidea aviar de las cuales se procesaron muestras como hígado, bazo, folículos ováricos hisopos de médula ósea, tonsilas cecales y contenido de ciegos. De estas muestras se obtuvieron un total de 20 aislamientos de *Salmonella sp* grupo D, mediante técnicas microbiológicas y pruebas de tipificación, utilizando antisueros polivalentes para *Salmonella* (Poly A-I y Vi) y *Salmonella* factor 9, grupo D. Se les realizaron pruebas de motilidad utilizando los medios Sulfuro Indol Motilidad (SIM) y para la prueba de motilidad (Motility Test Medium) dando como resultados 13 cepas inmóviles y 7 móviles. El departamento con mayor número de casos positivos fue Cundinamarca con el 60%. El principal órgano en el que se aisló fue el hígado con 90%, seguido de folículos ováricos (40%), bazo (20%) y por último médula ósea (5%). También se determinó la respuesta frente a diferentes antimicrobianos; los resultados revelaron una resistencia total hacia estreptomocina, mientras que para tetraciclina y florfenicol se registró una resistencia de 90 y 65% respectivamente. Todas las cepas fueron sensibles a Fosfomicina, Trimetoprim sulfá y Cloranfenicol. Las 20 cepas fueron positivas mediante PCR utilizando el gen *invA*. También se les realizaron pruebas utilizando Secuencias Repetitivas Intragénicas de Enterobacterias (ERIC), mediante esta técnica se tipificaron 6 cepas de *Salmonella gallinarum* y las 14 restantes serán sometidas a pruebas posteriores mediante el uso de los iniciadores para el gen *rfbS* en sentido 5'-3' denominado *rfbSF* y que contiene las secuencias 5'GTA TGG TTA TTA GAC GTT GTT-3', complementario de los iniciadores reversos para *Salmonella gallinarum* *rfbSG* (5'TAT TCA CGA ATT GAT ATA CTC-3') y para *Salmonella pullorum*, el reverso *rfbSP* (5-TAT TCA CGA ATT GAT ATA TCC-3).

**Palabras clave:** *Salmonella gallinarum, salmonella pullorum, tifoidea aviar.*

**Key words:** *fowl typhoid, Salmonella gallinarum, Salmonella pullorum.*