

DIAGNOSTICO DE LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES REPRODUCTIVAS EN TOROS DE LA SABANA DE BOGOTA. ENFASIS EN RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (RIB)*

Agustín Góngora O. **

Luis C. Villamil J. **

Víctor J. Vera A. **

Gloria C. Ramírez N. **

Jorge L. Parra A. **

RESUMEN

Con el objeto de evaluar el estado sanitario en reproductores, se utilizaron las pruebas de seroneutralización (SN) para el biotipo citopático del virus de diarrea viral bovina (VDVB-CP), doble inmunodifusión para leucosis, aglutinación microscópica (MAT) para leptospira (5 serovares), rosa de bengala para brucelosis. En el caso de IBR se utilizó SN, aislamiento viral (AV), microscopía electrónica (ME) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). Los animales provenían de la Sabana de Bogotá (Colombia) y fueron monitoreados por seis meses con muestras mensuales.

La tasa de reactivos a VDVB, VLB y *L. spp.* fueron de 83%, 42% y 92% respectivamente, individualmente las tasas de reactivos por serovar para leptospira fueron de 62% para pomona y canícola, 38% para hardjo, 23% para gryphotiphosa y 18% para icterohaemorrhagiae. No se detectaron reactivos a Brucelosis. Las tasas de incidencia y seroconversión para DVB fueron de 44 y 75% respectivamente, con una mayor incidencia en determinadas épocas del año. La tasa de reactivos a una o más enfermedades virales y/o bacterianas fue de 83% para DVB/*L. spp.*, DVB/VLB 42%, DVB/VLB/*L. spp.* 33% VLB/*L. spp.* 31% y DVB/IBR 17%.

En el diagnóstico de IBR la SN fue de mayor valor comparada con las otras pruebas, 2 toros

fueron reactivos (15.3%) con títulos presentes durante todo el monitoreo, no se observaron partículas virales por ME en muestras clínicas; el intento de aislamiento viral no tuvo éxito en condiciones naturales.

INTRODUCCION

La evaluación sanitaria del toro, requiere especial atención por diversas causas: la utilización de animales sin control sanitario previo y sistemático, la latencia y persistencia que inducen algunas infecciones, el efecto sobre la calidad del semen y la transmisión vía coital o a través de semen contaminado.

La diarrea viral bovina (DVB) es producida por un pestivirus clasificado dentro de la familia Flaviridae (Franeki, 1991; citado por Hooft et al., 1992). Se conocen dos biotipos citopático (CP) y no citopático (NCP) dependiendo del efecto que producen sobre los cultivos celulares (Bolin et al., 1987).

En Colombia, la enfermedad se introduce en 1975 por importación de animales desde Holanda (Borda, 1975). Los toros inmunotolerantes, excretan grandes cantidades de virus NCP a través del semen (Bielanski et al., 1991), el cual se ha atribuido a infecciones persistentes o agudas posnatales (Meyling et al., 1988; Paton et al., 1989).

Los efectos del virus en el semen de un toro infectado experimentalmente, consisten en baja densidad, motilidad y un marcado aumento en el número de anomalías primarias (Paton et al., 1989).

En el caso de la leucosis bovina, es causada por un retrovirus clasificado dentro de la familia retroviridae, subfamilia oncoviridae, subgrupo morfológico C. (Almansa y Mariño 1992). Los animales infectados permanecen como portadores convirtiéndose en la principal fuente de infección (Johson y Kaneene, 1991).

Diversas controversias ha generado la transmisión del virus por el semen (Monke, 1986; Straub, 1990), para Lucas et al., 1980 esta vía es importante, mientras que otros la limitan a la contaminación de los equipos con linfocitos infectados (Jhonson y Kaneene, 1991). El agente causal de la leptospirosis es una espiroqueta (*Spira* = espiral y *choete* = pelo) (Jawetz et al., 1987), clasificada dentro de la familia Leptospiridae de la cual se conocen las especies *interrogans* (patógena) y *biflexa* (saprofitica) (Howard y Timoney, 1981). De la *L. interrogans* se conocen actualmente 20 serogrupos y más de 200 serovares (Hathaway et al., 1986; Myers, 1986; Prescott y Nicholson, 1991).

Por análisis de endonucleasas de restricción del serovar hardjo se han identificado dos genotipos antígenicamente similares pero pa-

togénicamente diferentes: la *L. hardjo bovis* y la *L. hardjoprattino* (Marshall et al., 1991).

La leptospirosis puede producir orquitis durante la fase aguda y aunque las infecciones persistentes son frecuentes, no conlleva la eliminación a través del semen (Ellis et al., 1986).

Recientemente Díaz y col., (1993) aislaron la bacteria de riñones de bovinos a nivel de matadero, los aislamientos se correlacionaron por técnicas inmunohistoquímicas con la presencia en testículo y epidídimo.

La brucelosis bovina producida por la *B. abortus*, en los toros infectados puede ocasionar reducción de la libido y calidad espermática (Lambert et al., 1982). El semen contaminado puede transmitir la infección, siendo menor el riesgo de transmisión por monta natural (Hare, 1985).

La rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) es producida por el herpes virus bovino tipo-1 (HVb-1), clasificado dentro de la familia herpesviridae, subfamilia alfa herpesvirinae, posee cubierta lipídica, cápside icosaédrica y ácido nucleico DNA (Roizman y Batterson 1985). Múltiples copias del DNA viral pueden permanecer como episomas e integrados al genoma celular de las neuronas en donde establece infecciones latentes (Hammerschmith et al., 1990).

* Este artículo representa parte de la tesis de maestría del primer autor, dirigido por el segundo. Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Maestría en Reproducción Animal. Línea de Investigación enfermedades de la Reproducción.

** Respectivamente: DMV., MSc. Unillanos; DMV., MSc., Ph.D.; DMV., MSc.; DMV., MSc. Profesores Universidad Nacional; DMV., MSc. Corpoica Villavicencio.

Dentro de las infecciones, se reconocen varias formas clínicas. La respiratoria (IBR) la de mayor presentación, produce infertilidad, mortalidad embrionaria y aborto (Miller, 1991). La genital conocida como vulvovaginitis-balano-postitis pustular infecciosa (IPV-IPB) es una infección venérea caracterizada por infertilidad temporal (Donkersgoed y Babuik, 1991; Miller, 1991).

La forma encefalítica se describe como una enfermedad altamente mortal en terneros (George, 1991). Otras formas reportadas incluyen dermatitis, mastitis y metritis (Bwagamo y Kaminjolo, 1971; Greig y Bannister, 1965; Lomba et. al., 1976).

Diversos autores han descrito cuadros respiratorios y genitales en toros de centros de inseminación artificial (IA) (Bitsch, 1973; Goffaux et. al., 1976; Jansen et. al., 1980). El aislamiento a partir de testículo también se ha reportado (Thiry et. al., 1981).

Este estudio, pretendió valorar algunas técnicas diagnósticas no convencionales, con el objeto de ofrecer alternativas orientadas a solucionar los vacíos existentes en este aspecto y a la vez que permitieran conocer el estado sanitario de los reproductores estudiados.

MATERIALES Y METODOS

Se examinaron 13 toros de las razas Holstein, Pardo Suizo, y Jersey con edades entre 2-5 años, utilizados por monta directa como alternativa a la inseminación artificial (IA).

Pruebas diagnósticas

Diarrea Viral bovina. Se empleó la prueba SN (Cortés, 1988) modificada por el Laboratorio de enfermedades del PRA (Parra, 1993).

Leucosis Bovina. Se utilizó la prueba de doble inmunodifusión en agar-gel, en agarosa al 0.7% en buffer borato pH 8.6, como antígeno la Glicoproteína 58 (Gp 58) obtenida a partir de la línea Fetal Lamb Kidney-Bovine Leukemia virus (FLK-BLV) (Niño, 1992).

Leptospirosis. Se empleó la MAT según técnica estandarizada por ICA-CEISA con algunas modi-

ficaciones, para 5 serovares: hardjo, pomona, canícola, icterohemorrágica y griptophosa.

Brucelosis. Se utilizó la prueba Rosa de Bengala (RB) a las sangrías 1,3 y 6. El control positivo fue un suero hiperinmune producido en conejo con título 1:200 a las pruebas de aglutinación lenta en tubo y 2-mercaptoetanol. El control negativo correspondió a un suero bovino negativo.

Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. Se usaron las pruebas de SN, IFI para detección de antígeno, AV y ME (tinción negativa) en improntas de tejidos y secreciones nasales y prepuciales.

En la SN se utilizó el método de suero variable-virus fijo, siguiendo la técnica descrita por el Laboratorio de Virología del ICA-CEISA (Cortés, 1988). Sueros con títulos 1:2 se consideraron positivos. En la detección de antígeno por IFI se utilizaron improntas de tejido fijadas en laminillas, el primer anticuerpo fue un suero bovino anti-IBR donado por la Universidad de IOWA (USA) y el conjugado un suero de conejo anti-gG bovina.

Se intentó el aislamiento viral de muestras nasales y prepuciales inoculando subcultivos de RFB en monocapa con 90% de confluencia, la adsorción de las muestras se realizó a 37°C por 1 hora.

La tinción negativa para microscopía electrónica se llevó a cabo según la técnica utilizada en el laboratorio de microscopía electrónica del Instituto Nacional de Salud (INS) (Rodríguez, 1983).

RESULTADOS Y DISCUSION

Diarrea viral bovina obtuvo el mayor porcentaje de reactivos (83%) entre las enfermedades estudiadas (Figura 1). Estos resultados coinciden con estudios realizados por Griffiths y col., 1982 donde esta entidad presentó la mayor reactividad en la población estudiada.

La tasa de incidencia (casos nuevos presentados durante el estudio) fue de 44% denotando una gran circulación viral en los predios donde se encontraban los animales, el 75% (6/8) de los animales seroconvirtieron (Figura 2).

La tasa de reactivos para *L. spp* fue de un 92%, para los diferentes serovares, la mayor tasa correspondió a *L. pomona* y *canícola* con un 62%, *L. hardjo-pratjino* 38%, *L. gryppotyphosa* 23% y *L. icterohaemorrhagiae* 18% (Figura 3).

La tasa de reactivos a más de 1 serovar fue de un 48% para canícola-pomona, 23% para hardjo-pomona y hardjo-canícola y 15% para hardjo-canícola pomona (Figura 4).

Para leucosis, el porcentaje de reactivos fue de (42%), lo cual reafirma la alta prevalencia en la Sabana de Bogotá, cuya incidencia cada año es mayor, en 1980 era de 36.4% (Almanza y Mariño 1992). Aunque el semen aparentemente no tiene importancia en la transmisión del virus, el valor genético y comercial del toro puede verse afectado en razón del resultado.

Los resultados obtenidos para los diferentes serovares de leptospira reflejan infecciones activas que deben ser valorados con mayor cuidado sobre los diferentes parámetros productivos y reproductivos a nivel del hato.

En el diagnóstico de brucelosis a pesar de utilizar una prueba más sensible y específica frente a la prueba tamiz (aglutinación lenta en placa), no se detectaron reactivos. Estos resultados pueden ser atribuidos al manejo individualizado de los toros, a la muestra tan pequeña, o una baja carga infecciosa producto de los programas de control en estas fincas, resultados que contrastan con los obtenidos por Villalobos y col., 1986 sobre una mayor población.

Solo dos toros fueron reactivos a IBR (15.3%). La presencia de animales seronegativos en el diagnóstico de IBR puede tener dos significados, que el animal sea verdaderamente libre es decir que nunca estuvo expuesto al virus, o contrariamente reflejar una infección latente sin títulos serológicos demostrables; en este caso se sugiere que los animales sean inmunosuprimidos para reactivar el estado latente, comprobándose que mediante este procedimiento el virus ha podido aislarse (Dennett et. al., 1973).

La prueba de SN a pesar de su costo, tiempo requerido y dificultad, fue de mayor valor comparada con las otras pruebas hecho que permite seguir recomendando su uso. La estandarización de otras técnicas (inmunoenzimáticas, histoquímicas o PCR etc.) sería de singular importancia principalmente en la detección de animales con infecciones latentes.

El exceso de fluorescencia inespecífica en muestras clínicas fue el mayor limitante en la lectura de la prueba IFI, el intento de aislamiento viral tampoco fue factible y su uso solo puede recomendarse durante la reactivación de la latencia o la fase de viremia en infecciones primarias, en donde se eliminan un mayor número de partículas al medio.

El uso de la ME en la detección de estado latentes, en secreciones naturales no fue significativo, sin embargo su uso en medicina veterinaria debe continuarse principalmente en la identificación de aislamientos virales sobre muestras muy purificadas.

La presencia de animales reactivos a una o más enfermedades virales (Figura 5) pone en evidencia la existencia de coinfecciones activas sin que hasta el momento se conozca su importancia.

Recientemente Everman et. al, 1991 sugiere un sinergismo patológico entre herpesvirus-retrovirus. La coinfección DVB/ VLB también podría favorecer la superinfección con otros virus y bacterias en razón del efecto inmunosupresor de ambos virus.

Parra, 1994 analizando el efecto de la coinfección DVB/IBR/*L. hardjo* considera que la coinfección IBR/DVB puede favorecer el efecto de *L. hardjo* sobre el intervalo parto-concepción. Se podría pensar que dicho efecto puede presentarse en el macho, con la eliminación de la bacteria en orina y semen.

Los resultados obtenidos en este estudio reflejan una preocupante reactividad serológica para las enfermedades estudiadas y pone en evidencia el riesgo que representan estos animales a fincas libres.

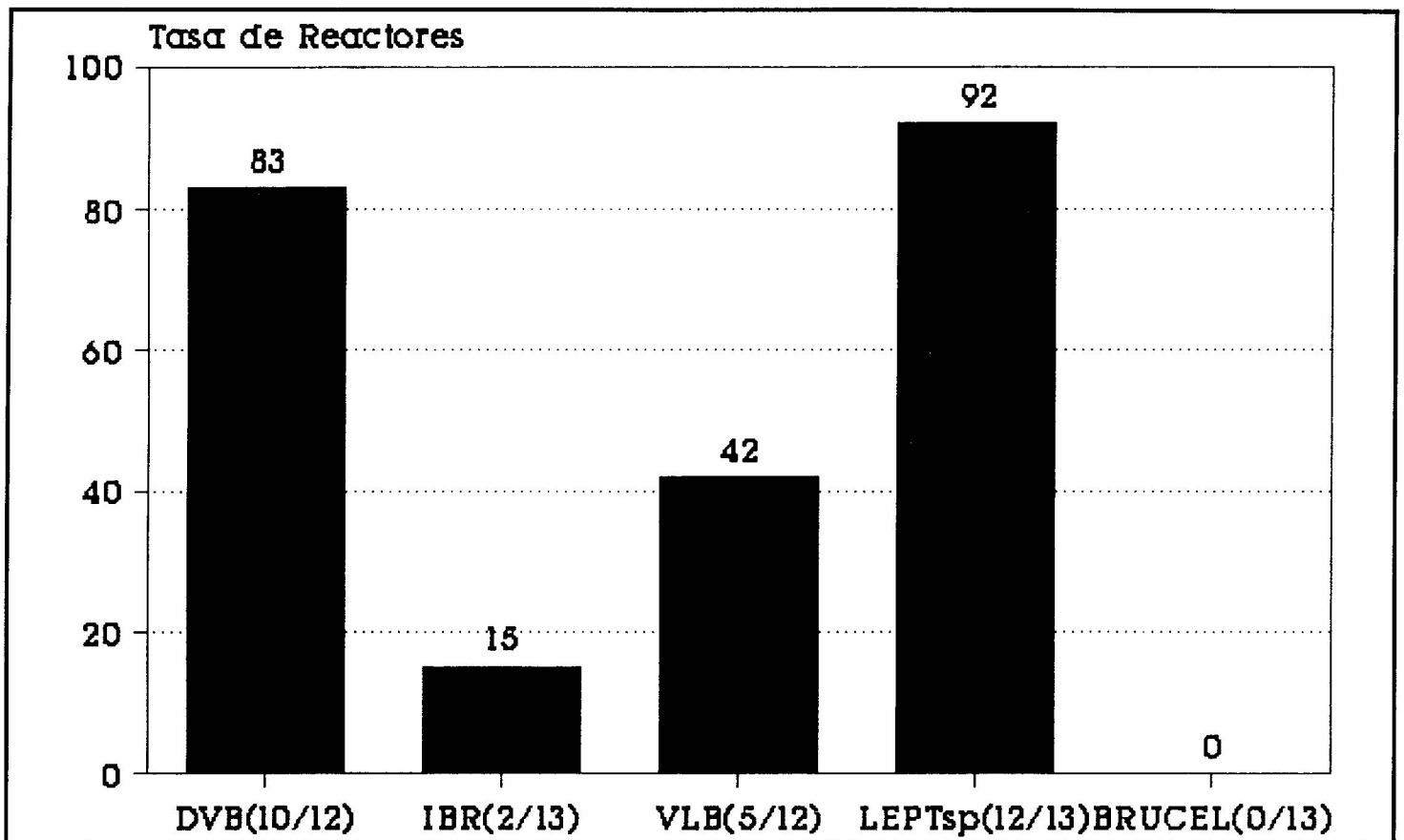


FIGURA 1. Tasa de toros reactivos para las diferentes enfermedades estudiadas.

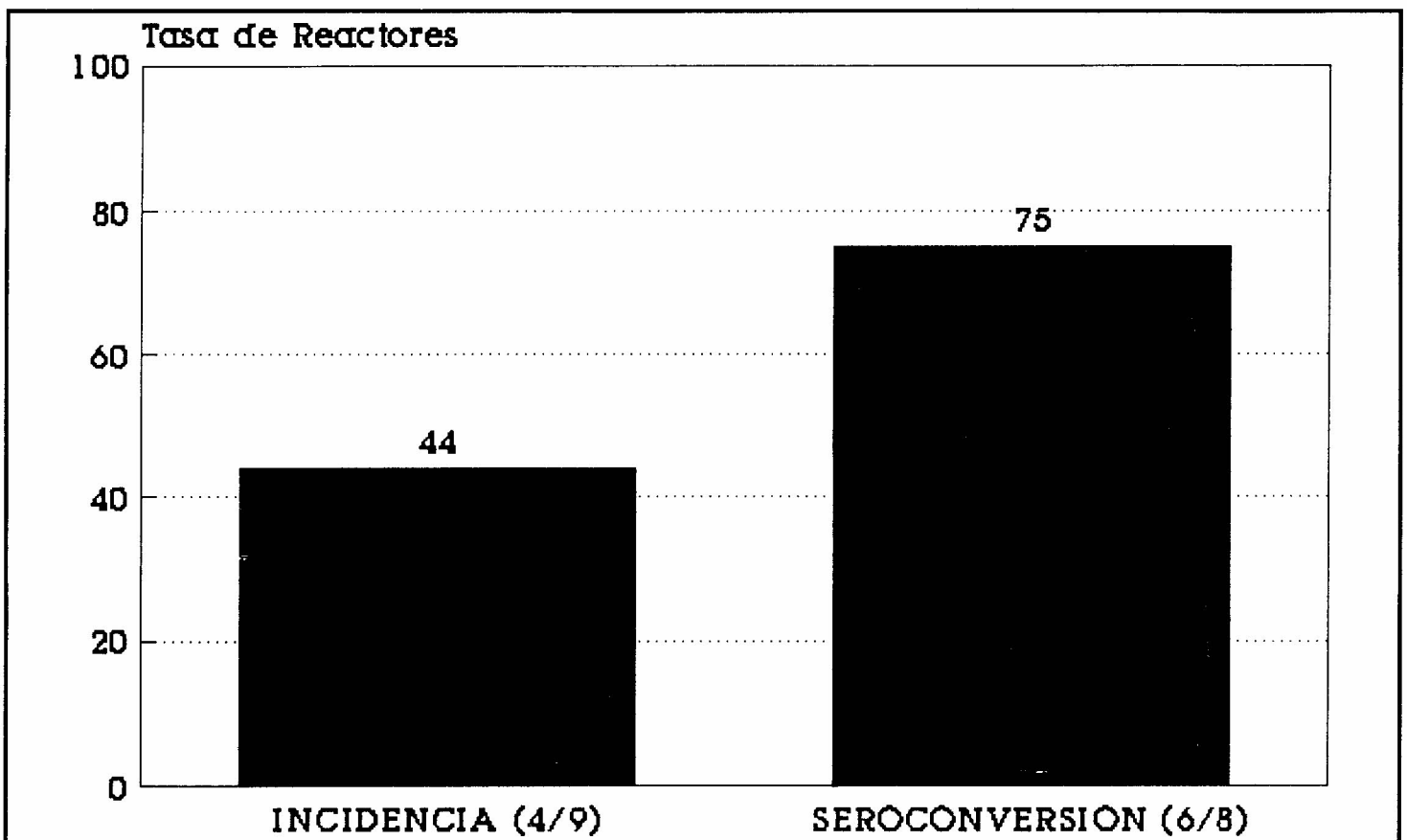


FIGURA 2. Tasa de incidencia y seroconversión a DVB.

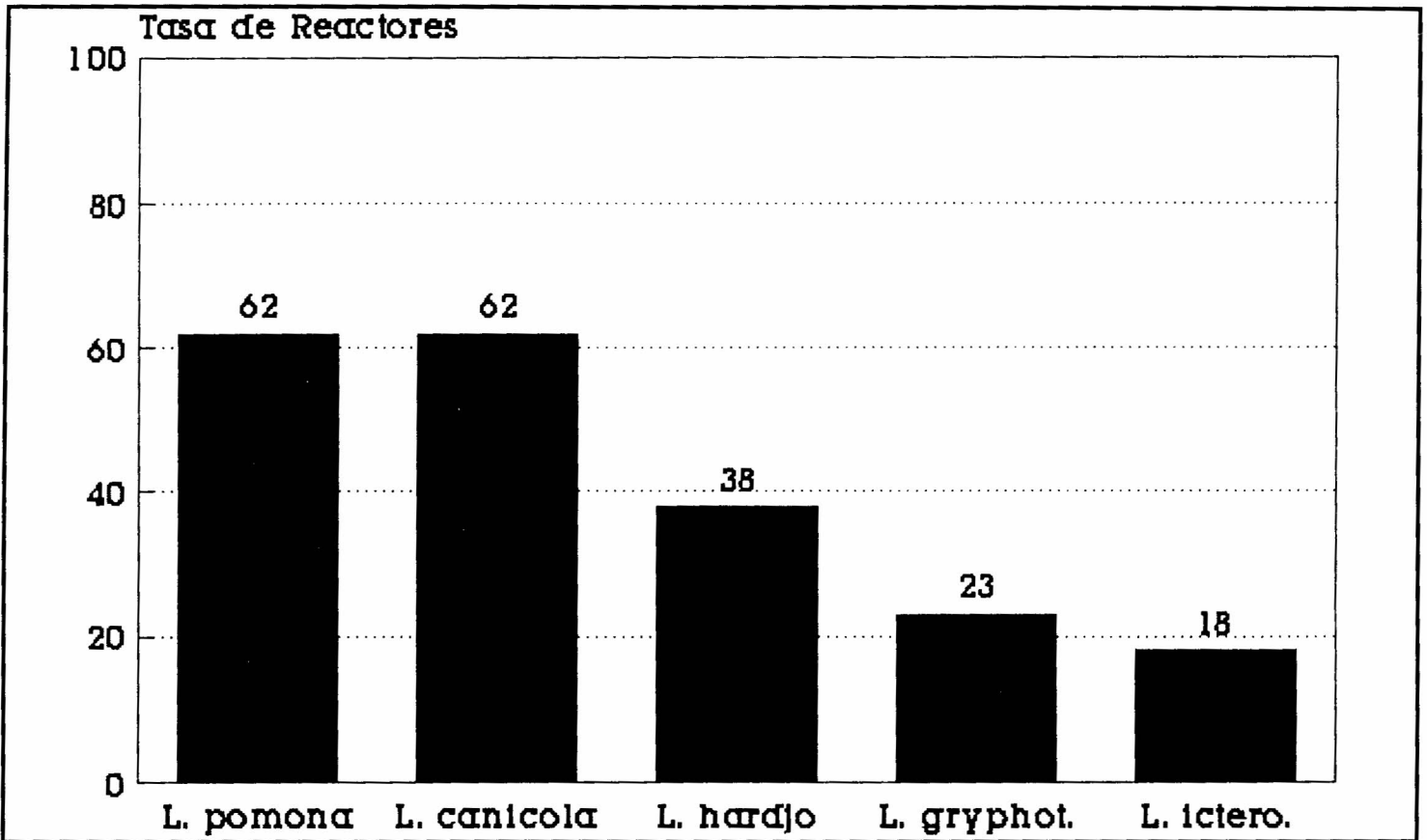


FIGURA 3. Tasa de reactores para los diferentes serovares de *L. spp.*

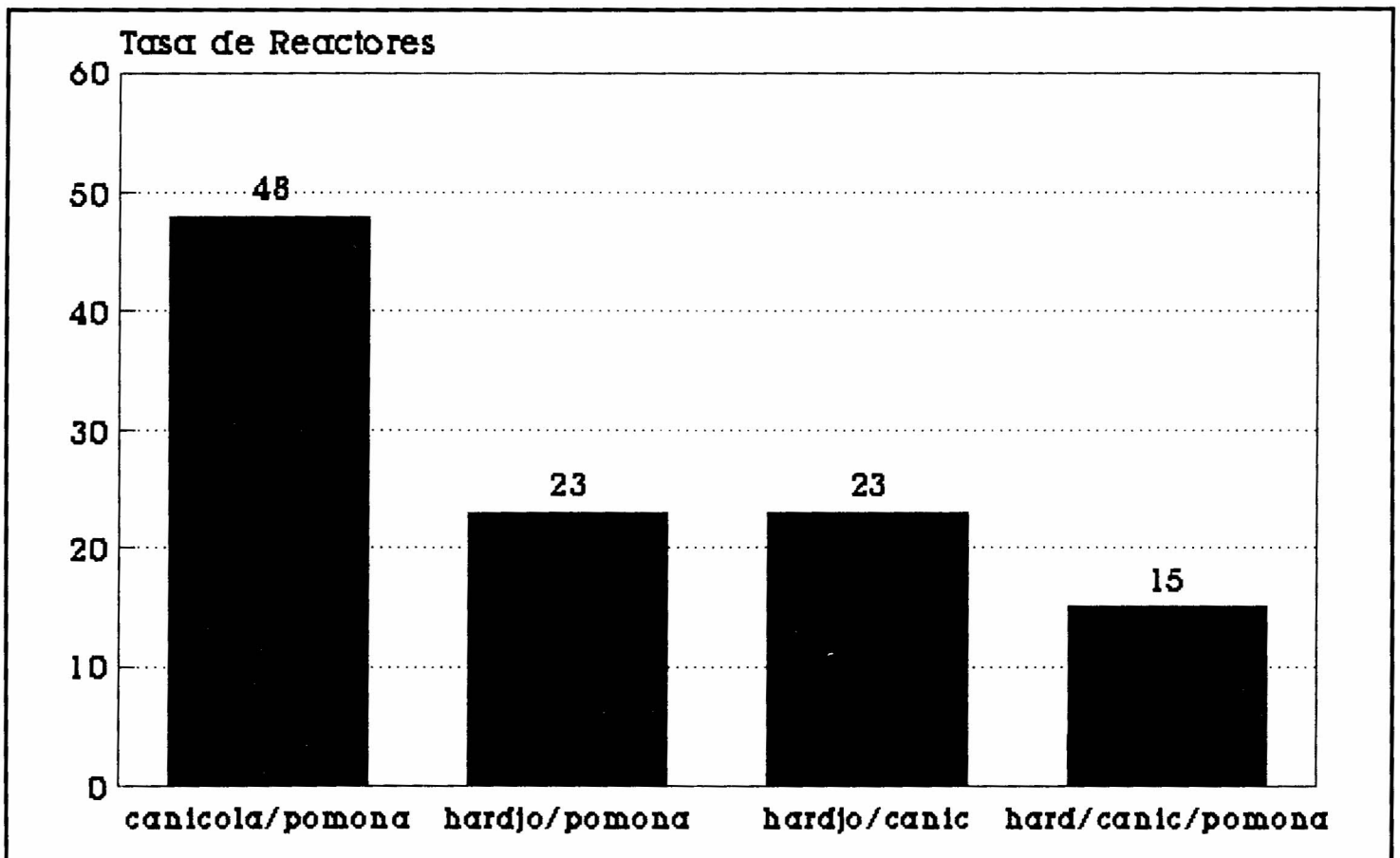


FIGURA 4. Tasa de toros reactores a más de 1 serovar de leptospira *spp.*

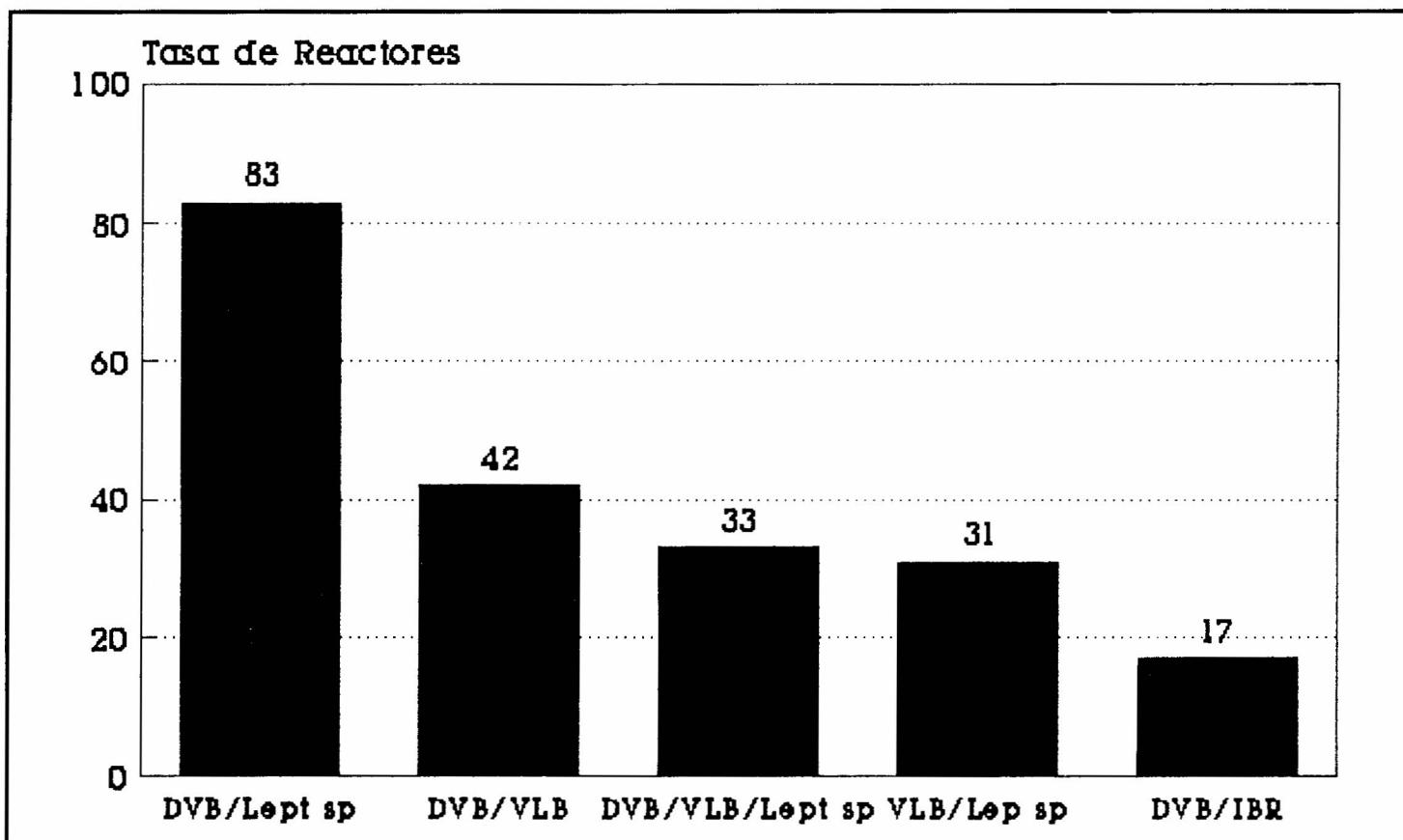


FIGURA 5. Tasa de toros reactivos a una o más enfermedades virales y/o bacterianas.

BIBLIOGRAFIA

- ALMANSA, J. E. y MARIÑO, O. C. Leucosis bovina enzootica (Revisión). *Revista Acovez* Vol. 16, 2:23-30, 1992.
- BRACEWELL, C. D.; CORBELL, M. H. An association between arthritis and persistent serological reactions to *Brucella abortus* in cattle from apparently brucellosis free herds. *Vet. Rec.* 106:99-101, 1980.
- BIELANSKI, A.; DUBUC, C.; HARE, W. C. D. Attempts to remove bovine virus diarrhoea virus (BVDV) from the semen of persistently infected bull prepared for in vitro fertilization (IVF). *Theriogenology*, 35, 1:185 Jan., 1991.
- BITSCH, V. Infectious bovine rhinotracheitis virus infection in bulls, with special reference to preputial infection. *Applied Microbiol* 26, 3:337-343, 1973.
- BOLIN, S. R.; SACKS, J. M. and CROWDER, S. V. Frequency of association of noncytotoxic bovine viral diarrhoea virus with mononuclear leukocytes from persistently infected cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 48, 10:1441-1445, Oct., 1987.
- BORDA, A. R. Diarrea Viral Bovina en terneros y terneras procedentes de Holanda. Trabajo dirigido, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. (Bogotá), Sep., 1975.
- BWANGAMOI, O.; KAMINJOLO, J. S. Isolation of IBR/IPV virus from semen and skin lesions of bulls at Kabete, Kenya. *Zentralb Veterinarmed [B]* 18:262-269, 1971.
- CORTES, E. C. Seroneutralización para Diarrea Viral Bovina In: Curso Latinoamericano Teórico-práctico de actualización en Inmunología Veterinaria. Organización Panamericana de la Salud, OPS., Instituto Nacional de Investigaciones, forestales y agropecuarias de México, Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Bogotá, (Colombia), agosto 1-12, 1988.
- DENNETT, D. P.; ALLAN, J. P. and JHONSON, R. H. The use of corticosteroids to aid detection of bulls carrying infectious bovine rhinotracheitis virus. *Austr. Vet. Jour.* 49:594-595, 1973.
- DIAZ, C. A.; VILLAMIL, L. C. Evaluación de procedimientos serológicos se es inmunohistoquímicos en el diagnóstico de la Leptospirosis bovina. En prensa. Posgrado en Reproducción animal. U. Nacional de Colombia, 1993.
- DONKERSGOED, J. V. and BABIUK, L. A. Diagnosing and managing the respiratory form of infectious bovine rhinotracheitis. In: Symposium on IBR virus. *Vet. Med.*, 1991.
- ELLIS, W. A.; CASSELS, J. A. and DOYLE, J. Genital leptospirosis in bulls. *Veterinary Record.* 118:333, 1986b.
- EVERMAN, J. F.; DERSE, D. and DORN, P. L. Interactions between herpesvirus and retrovirus: Implications in the initiation of disease. *Micr. Path.* 10:1-9, 1991.
- GEORGE, L. W. Understanding the encephalitic form of infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Med.* 335-337, 1991.
- GOFFAUX, M.; HARLAY, T. and ALLIETA, M. Occurrence of IBR/IPV virus in semen of A.I. bulls. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 83:544-547, 1976.
- GREIG, A. S. and BANNISTER, G. L. Infection of the bovine udder with bovine herpesviruses. *Can J. Comp. Med.* 29:57-62, 1965.
- HAMMERSCHMIDT, W.; LURZ, R.; LUDWIG, H. and BUHK, HANS-JORG. Recombination of genomic terminus of bovine

- herpesvirus type-1 with cellular DNA. *Jour of Gen Virol.* 71:2043-2051, 1990.
- HARE, W. C. D. Infectious diseases transmission by semen, In: *Disease transmissible by semen and embryo transfer techniques.* Technical series #4 Office International Epizooties, 1982.
- HATHAWAY, S. C.; LITTLE, W. A. and PRITCHARD, D. G. Problems associated with the serological of leptospira interrogans serovar hardjo infection in bovine populations. *Vet. Rec.* 119:84-86, 1986.
- HOOFT, B. J. L.; WAMEL, J. L. B.; GENNIP, H. G. P. and MOORMANN, R. J. M. Application of the polymerase chain reaction to detection of bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Vet. Microbiol.* (30):21-34, 1992.
- HOWARD, G. J. & TIMONEY, J. F.; HAGANS AND BRUNER'S Infectious diseases of domestic animals. 7th edition. COM-STOCK publishers associated ed., 1981.
- JANSEN, E. D.; SMART, J. N. and NICHOLSON, H. H. Observations on an outbreak of infectious bovine rinotracheitis in a bull test station. *Can. Vet. J.* 21:24-27, 1980.
- JAWETZ, E.; MELNICK, J. & ADELBERG, E. Review of Medical Microbiology. 17th Edition. Appleton and Lange Ed. Los Altos, California. USA. 1987.
- JHONSON, R. and KANEENE, J. B. Bovine leukemia virus. Part II. Risk factors of transmission. *The Compendium.* 13, 4:681-691, 1991.
- LOBO, C. A. Salud animal y economía pecuaria del país. Acovez. Memorias del primer simposio nacional e internacional de clínica y medicina bovina. Bogotá, 1982.
- LOMBA, F.; BIENFET, V.; WELLEMANS, G. IBR virus and occurrence of metritis at parturition in the bovine belgian blue white breed. *Br. Vet. J.* 132:178-181, 1976.
- LUCAS, M. H.; DAWSON, M.; CHASEY, D.; WIBBERLEY, G.; ROBERTS, D. H.; SAUNDERS, R. Enzootic bovine leucosis virus in semen. *Vet. Rec.* 106:128, 1980.
- MARSHALL, R. B. and BROUGHTON, E. S. Identification of leptospira serovars by restriction endonuclease analysis. *Med. Microbiol.* 14:163-168, 1981.
- MEYLING, A. and MIKEL-JENSEN, A. Transmission of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) by artificial insemination (AI) with semen from a persistently-infected bull. *Vet. Microbiol.* 17:97-105, 1988.
- MILLER, J. M. the effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. In: Symposium on IBR virus. *Vet. Med.* 95-98, 1991.
- MONKE, DR: Noninfectivity of semen from bulls infected with bovine leucosis virus. *JAVMA* 188:823-826, 1986.
- MORIYON, I. and BERMAN, D. T. Isolation, purification and partial characterization of brucella abortus matrix protein. *Infect. Immun.* 394-402, 1983.
- MYERS DONALD, M. Manual of laboratory methods for the diagnosis of leptospirosis. Technical Note No. 30. Panamerican Zoonosis Center, 1986.
- NICOLETI, P. The epidemiology of bovine brucellosis. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 24:69-98 1980.
- NIÑO, F. J. Leucosis bovina y sus posibles repercusiones sobre la producción y reproducción de vacas afectadas en fincas del valle de Ubaté. Tesis Msc. Universidad Nacional. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, 1992.
- PARRA, J. L. Influencia de la infección por Diarrea viral bovina en el comportamiento productivo de cuatro hatos lecheros de la Sabana de Bogotá. Tesis Msc. Universidad Nacional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1993.
- PATON, D. J.; GOODEY, R.; BROCKMAN, S.; WOOD, L. Evaluation of the quality and virological status of semen from bulls acutely infected with BVDV. *Vet. Rec.* 124, 63, 1989.
- PRESCOTT, J. F. and NICHOLSON, V. M. Curso corto en leptospirosis. U. de Guelph, Ontario, Canadá. Traducido por L. Mendoza. Universidad Nacional, 1991.
- RODRIGUEZ, T. G. Microscopía electrónica de la infección viral. Instituto Nacional de Salud. Bogotá, Colombia, 1983.
- ROIZMAN, B. and BATTERSON, W. Herpesvirus and their replication. *Virology*, Edited by B.N. Fields et al. Raven Press, New York, 1985.
- SIMARD, C.; LABOISSIERE, S.; SEGUIN, C.; TRUDEL, M. Genomic heterogeneities in bovine herpesvirus type 1 viral isolates: A major variant select from a field isolate. *Intervirology* 32:117-126, 1991.
- STRAUB, O. C. Descubrimiento, transmisión y diagnóstico de la IBR/IPV. In: Simposio sobre leucosis viral bovina y rinotraqueitis infecciosa bovina. Proyecto "Mejoramiento genético y nutrición del ganado bovino" Convenio MAG-UNA-GTZ. Costa Rica, 1990.
- THIRY, E.; PASTORET, P. P.; DESSY-DOIZE, C.; HANSEN, C. Herpesvirus in infertile bull's testicle. *Vet. Rec.* 420, 1981.

GRADOS COLECTIVOS

La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia informa a los estudiantes de Pre-grado que habiendo terminado sus asignaturas antes del primer semestre de 1993, no han presentado trabajo de grado, que por autorización del Consejo Académico de la universidad podrán realizar un trabajo monográfico, el cual debe ser inscrito en la Secretaría de la Facultad y una vez aprobado y evaluado recibir su respectivo título, en ceremonia especial hacia fines del segundo semestre de 1995.

Informes: Secretaría Académica FMVZ ☎ 368 1627