

Resúmenes para el área de  
**MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA**

**Evaluación del riesgo de contaminación ambiental por *Staphylococcus aureus* multirresistente en clínicas veterinarias en Bogotá**

<sup>1</sup>Sandra Patricia Garzón, <sup>1</sup>Karen Martin, John Pachon, <sup>1</sup>Diana Rodríguez, <sup>1</sup>Adriana Pedraza-Toscano, Armando Hoet<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Antonio Nariño, sede circunvalar, Bogotá, Colombia. <sup>2</sup>Department of Veterinary Preventive Medicine, The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA.

**Resumen**

El objetivo del estudio es determinar el riesgo de contaminación nosocomial por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) basado en el nivel de conocimientos, las actitudes y las prácticas del personal hospitalario de algunas clínicas veterinarias para pequeños animales en la ciudad de Bogotá. El estudio se realiza mediante la aplicación de encuestas tipo CAP al personal hospitalario (médicos veterinarios, estudiantes de medicina veterinaria, técnicos veterinarios y auxiliares veterinarios) en 5 clínicas veterinarias de la ciudad de Bogotá, en las cuales se incluyen preguntas que evalúan el nivel de conocimientos con respecto a la infección por SARM, las actitudes del personal hospitalario con respecto a la prevención de la infección y las prácticas del personal para prevenir la infección en cada una de las clínicas veterinarias participantes. Se aplicaron 106 encuestas en las 5 clínicas que participaron, de las cuales hasta el momento se han analizado 60. En estas se puede observar que el 59% de la población corresponde a estudiantes, técnicos y auxiliares veterinarios y el 41% restante corresponde a médicos veterinarios. De la población encuestada, el 98% no ha recibido ningún tipo de capacitación con respecto al control y prevención de la infección por SARM, el 100% consideran que es muy importante la higiene y desinfección de manos para controlar la enfermedad; sin embargo, tan sólo el 50% utiliza el equipo de protección completo durante la atención de pacientes y el 35% está dispuesto a asistir a una capacitación sobre infecciones nosocomiales por SARM. De forma preliminar se puede concluir que en las clínicas participantes, el personal hospitalario no está capacitado

correctamente para el control y prevención de la infección por SARM.

**Palabras clave:** Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *S. aureus* resistente a la meticilina, *Staphylococcus* en medicina veterinaria, encuestas CAP

**Environmental risk assessment for multiresistant *Staphylococcus aureus* in veterinary clinics in Bogotá**

**Abstract**

The objective of the study is to determine the risk of nosocomial contamination due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), based on the level of knowledge, attitudes and practices of the hospital staff of some veterinary clinics for small animals in the city of Bogotá. The study is carried out by applying CAP-type surveys to hospital staff (veterinarians, veterinary medicine students, veterinary technicians and veterinary auxiliaries) in 5 veterinary clinics in the city of Bogotá, which include questions that assess the level of knowledge regarding infection by MRSA, the attitudes of hospital staff regarding the prevention of infection and the practices of personnel to prevent infection in each of the participating veterinary clinics. 106 surveys were applied in the 5 clinics that participated, of which 60 have been analysed so far. In these it can be seen that 59% of the population corresponds to veterinary students, technicians and assistants and the remaining 41% corresponds to doctors. veterinarians of the surveyed population, 98% have not received any type of training regarding the control and prevention of MRSA infection, 100% consider that hygiene and hand disinfection are very important to control the disease; however, only 50% use full protective equipment during patient care and 35% are willing to attend a training on nosocomial infections due to MRSA. In a preliminary way it can be concluded that in the participating clinics, the hospital staff is not properly trained for the control and prevention of MRSA infection.

**Keywords:** MRSA infection, methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* in veterinary medicine, KAP surveys.

## Diagnóstico de leptospirosis canina por medio de mat en perros con enfermedad renal en Tunja

Ana María Camargo Poveda<sup>1</sup>, Roy José Andrade Becerra<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Centro Veterinario RoyalPets. <sup>2</sup>Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.  
anamariacamargopoveda@gmail.com;  
roy.andrade@uptc.edu.co

### Resumen

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica, causada por especies del género *Leptospira*, de gran importancia mundial, debido a su amplia distribución y diversidad de serogrupos y serovares y a que las formas de transmisión hacia el hombre son variadas. El objetivo de este trabajo será determinar la presencia de los serovares *Leptospira canicola*, *L. icterohemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. grippotyphosa* y *L. copenhageni* en perros con enfermedad renal de las clínicas veterinarias que permitan la toma de muestras en la ciudad de Tunja. Se recolectarán muestras de 50 caninos de diferentes razas, sexo, edad y estado reproductivo que manifiesten síntomas de insuficiencia renal aguda o crónica y que este diagnóstico presuntivo haya sido confirmado mediante la medición de BUN y creatinina. De cada paciente se obtendrá la muestra por venopunción de la vena yugular, se centrifugará la muestra para obtener el suero que se depositará en tubos viales de 5 ml, y deberán mantenerse congelados a -25 °C hasta la realización de la prueba de MAT en un laboratorio privado de la ciudad de Bogotá. Se esperan encontrar títulos de anticuerpos de los diferentes serovares de *Leptospira* relacionados con enfermedad renal aguda o crónica.

**Palabras clave:** Leptospirosis, aglutinación, perros, serovar.

## Diagnosis of canine leptospira through mat technique in dogs with renal disease in Tunja

### Abstract

Leptospirosis is a zoonotic disease, caused by species of the genus *Leptospira*, of great global importance, due to its wide distribution and diversity of serogroups and serovars and to the ways of transmission to man are varied. The objective of this work will be to determine the presence of serovars *Leptospira canicola*, *L. icterohemorrhagiae*, *L. pomona*, *L. grippotyphosa* and *L. copenhageni* in dogs with kidney disease from veterinary clinics that allow sampling in the city of Tunja. Samples from 50 dogs of different breeds, sex, age and reproductive status showing symptoms of acute or chronic renal failure will be collected and this presumptive diagnosis confirmed by the measurement of BUN and creatinine. From each patient the sample will be obtained by vein puncture of the jugular vein, the sample will be centrifuged to obtain the serum that will be deposited in 5 ml vials, and they should be kept frozen at -25 °C until the MAT test is performed in a private laboratory in the city of Bogotá. Antibody titers of the different serovars of *Leptospira* related to acute or chronic kidney disease are expected.

**Keywords:** Leptospirosis, agglutination, dogs, serovar.



**Comparación teórica entre técnicas fenotípicas y genotípicas utilizadas en la identificación de *Listeria monocytogenes***

Giraldo Aristizábal Adriana; Urbano Cáceres Eliana Ximena; Pedraza Bernal Adriana María; Jaimes-Bernal Claudia Patricia; Aguilera Becerra, Astrid Maribel\*.

Grupo de investigación del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico (GRIBAC).  
 agiraldo@uniboyaca.edu.co, eliurbano@uniboyaca.edu.co, adrcardenas@uniboyaca.edu.co, cpjaimesb@uniboyaca.edu.co, amaguilera@uniboyaca.edu.co \*\*

**Resumen**

*Listeria monocytogenes* es un patógeno ubicuo intracelular, causante de la Listeriosis, la cual es considerada una enfermedad transmitida por alimentos (ETAs). Respecto a esta enfermedad, hay un subregistro epidemiológico, debido a que no se diagnostica con frecuencia y cuando se diagnostica no se registran reportes de la misma. A pesar de esto, se conoce una mortalidad de alrededor del 26%. En la última década, a nivel mundial, se ha convertido en un problema de salud pública y de seguridad alimentaria de difícil manejo. Por otra parte, hoy en día existe una creciente demanda de consumidores de productos alimenticios tratados mínimamente, que pueden permitir la proliferación de *L. monocytogenes*; considerando lo mencionado y el nivel de patogenicidad de la bacteria por ello es necesario contar con programas de vigilancia y métodos fiables para la detección de este patógeno en casos de brotes epidémicos, por eso se han identificado marcadores tanto fenotípicos como genotípicos para el estudio de diferentes microorganismos, entre ellos *Listeria*. Por lo anterior, esta revisión bibliográfica pretende comparar las ventajas y desventajas de las técnicas fenotípicas y genotípicas utilizadas en la determinación de *L. monocytogenes* para definir la técnica más adecuada y útil para su identificación, teniendo en cuenta características de especificidad y sensibilidad, que dé resultados confiables y en un menor tiempo. Para cumplir dicho objetivo, se realizará una búsqueda bibliográfica en bases de datos como: Pubmed, Science direct, Elsevier, Proquest y Ovid, utilizando los siguientes

descriptores: *L. monocytogenes*; molecular typing; diagnosis; polymerase chain reaction and Bacterial Typing Techniques los cuales se combinarán de diferentes maneras para finalmente seleccionar los artículos que cumplan con los siguientes criterios: publicaciones en revistas indexadas; publicaciones de los últimos diez años y publicaciones que incluyan métodos diagnósticos. Se espera presentar las técnicas de diagnóstico genotípico y fenotípico que representen una opción útil en el campo de los alimentos, que debido a su rapidez, alta sensibilidad y eficiencia para la detección temprana de microorganismos patógenos permitan realizar la identificación de género, especie, así como de serotipos y factores de virulencia, siendo posible establecer relaciones filogenéticas, que permitan definir nexos epidemiológicos.

**Palabras clave:** *L. monocytogenes*, técnicas moleculares diagnóstico Reacción en Cadena de la Polimerasa, técnicas de diagnóstico bacteriano.



**Theoretical comparison between phenotypic and genotypic techniques used in identification of *Listeria monocytogenes***

**Abstract**

*Listeria monocytogenes* is a ubiquitous intracellular pathogen, which causes Listeriosis, which is considered a foodborne disease (ETA). Regarding this disease, there is an epidemiological underreporting, because it is not diagnosed frequently and when it is diagnosed there are no reports of it. Despite this, a mortality of around 26% is known. In the last decade, worldwide, it has become a problem of public health and food security difficult to manage. On the other hand, there is now a growing consumer demand for minimally processed food products, which may allow the proliferation of *L. monocytogenes*; considering the aforementioned and the level of pathogenicity of the bacteria, it is therefore necessary to have surveillance programs and reliable methods for the detection of this pathogen in cases of epidemic outbreaks, which is why both phenotypic and genotypic markers have been identified for the study of different microorganisms, including *Listeria*. Therefore, this literature review aims to compare the advantages and disadvantages of the phenotypic and genotypic techniques used in the determination of *L. monocytogenes* to define the most appropriate and useful technique for its identification, considering characteristics of specificity and sensitivity, that give reliable results and in a shorter time. To fulfill this objective, a bibliographic search will be carried out in databases such as: Pubmed, Science direct, Elsevier, Proquest and Ovid, using the following descriptors: *L. monocytogenes*; molecular typing; diagnosis; polymerase chain reaction and Bacterial Typing Techniques which will be combined in different ways to finally select the articles that meet the following criteria: publications in indexed journals; publications of the last ten years and publications that include diagnostic methods. It is expected to present the genotypic and phenotypic diagnostic techniques that represent a useful option in the field of food, which due to its speed, high sensitivity and efficiency for the early detection of pathogenic microorganisms allow the identification of

gender, species, as well as of serotypes and virulence factors, being possible to establish phylogenetic relationships, which allow defining epidemiological links.

**Keywords:** *L. monocytogenes*, molecular diagnostic techniques. Polymerase Chain Reaction, bacterial diagnostic techniques.



## **Caracterización de las lesiones de piel encontradas en equinos del municipio de Nunchía**

Aldair Estepa<sup>1</sup>, Anastasia Cruz Carrillo<sup>2</sup>,  
 Giovanni Moreno Figueredo<sup>3</sup>, Mauricio  
 Montoya Flórez<sup>4</sup>

<sup>1</sup>MV. Esp Práctica Veterinaria Particular, <sup>2</sup>MV. Esp. MSc. Docente Asociada Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. [anastasia.cruz@uptc.edu.co](mailto:anastasia.cruz@uptc.edu.co), <sup>3</sup>MV. MSc. PhD.

Decano Facultad Ciencias Agrarias, Fundación Universitaria Juan de Castellanos. [gmorenof@jdc.edu.co](mailto:gmorenof@jdc.edu.co).

<sup>4</sup>MVZ, MSc, PhD. Docente Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

### **Resumen**

En algunos equinos (de trabajo o de coleo) en Nunchía (Casanare), se encuentra con frecuencia la presencia de lesiones de la piel en zonas diferentes a los puntos de presión del arnés. En razón a que se desconoce la causa y posibles agentes infecciosos presentes, se hace difícil el tratamiento porque generalmente no muestran resultados favorables quedando los animales sin tratar. Por lo anterior el objetivo del trabajo fue caracterizar las lesiones y buscar agentes infecciosos en las mismas para ofrecer información útil en el manejo médico de las mismas. Se utilizaron 18 equinos que mostraban lesiones macroscópicas y con el consentimiento de los propietarios se tomaron muestras para cultivo microbiológico, raspado de piel y biopsia y se determinaron las características macroscópicas de las mismas. Los animales evaluados se mantienen en pastoreo durante todo el año y en épocas de invierno están en zonas inundadas y de rutina se hace control de ectoparásitos. Ningún animal mostró signos sistémicos, siendo las lesiones de piel la única alteración; hubo lesiones difusas y delimitadas una o varias en cada animal, en la mayoría de los casos la piel se observó engrosada, alopecía, hipotricosis, en algunas con costras y escoriaciones, de manera que no hubo un patrón morfológico único. Respecto a los aislamientos se encontró en todos los casos *Trichophyton spp* y en 94,4% de ellos *Microporum spp*; hubo aislamiento de *Gliocladium spp*, sin embargo es un hongo considerado contaminante ambiental que no se ha reportado en tejidos corporales. En

todas las muestras hubo *Staphylococcus spp* y en menor proporción bacilos (Gram + y Gram -); hubo levaduras en todas las muestras y en ningún caso ácaros. En cuanto a los hallazgos microscópicos, se encontraron alteraciones compatibles con dermatitis, de interfase, intersticial superficial, de patrón difuso, fibrosante, pustular epidérmica y con menor frecuencia dermatitis nodular y vesicular subepidérmica. Se concluye que no hubo relación entre las características de la lesión, los hallazgos microscópicos y los agentes infecciosos aislados, pero se afirma que en todos los casos hubo hongos y bacterias y al ser multi-infección, podría justificar el tratamiento tópico con antimicóticos y antibacterianos.

**Palabras clave:** Caballos, Dermatitis, dermatofitosis, dermatología, lesión dérmica.



**Characterization of skin lesions found in equines of the municipality of Nunchía**

**Keywords:** Horses, dermatitis, dermatophytosis, dermatology, dermal lesion.

**Abstract**

In some equines (working or coleus) in Nunchia (Casanare), there is often the presence of skin lesions in areas other than the pressure points of the harness. Because the cause and possible infectious agents present are unknown, treatment is difficult because they generally do not show favourable results, leaving the animals untreated. Therefore, the objective of the work was to characterize the lesions and look for infectious agents in them to offer useful information in the medical management of them. We used 18 equines that showed macroscopic lesions and with the consent of the owners, samples were taken for microbiological culture, skin scraping and biopsy and the macroscopic characteristics of the same were determined. The evaluated animals are kept in grazing throughout the year and in times of winter they are in flooded areas, and ectoparasites are controlled routinely. No animal showed systemic signs, with skin lesions the only alteration; There were diffuse and delimited lesions, one or more in each animal, in most cases the skin was thickened, alopecic, hypotrichosis, in some with crusts and abrasions, so that there was no unique morphological pattern. Regarding isolates, *Trichophyton* spp was found in all cases and *Micro Porum* spp. In 94.4% of them. There was isolation of *Gliocladium* spp, however it is a fungus considered environmental pollutant that has not been reported in body tissues. In all the samples there was *Staphylococcus* spp and in smaller proportion bacilli (Gram + and Gram -); There were yeasts in all the samples and in no case mites. Regarding the microscopic findings, alterations compatible with dermatitis, interphase, superficial interstitial, diffuse pattern, fibrosing, epidermal pustular and less frequently sub epidermal vesicular and nodular dermatitis were found. It is concluded that there was no relationship between the characteristics of the lesion, the microscopic findings and the isolated infectious agents, but it is stated that in all cases there were fungi and bacteria and being multi-infection, it could justify the topical treatment with antifungal and antibacterial agents.



**Asociación entre el cuadro clínico de leucosis enzoótica bovina y la genética viral\***

Neli Montero Machuca, Jorge Luis Tórtora Pérez,  
 Lucía Angélica García Camacho, Humberto  
 Alejandro Martínez Rodríguez, Hugo Ramírez  
 Álvarez.

Laboratorio de Virología, Genética y Biología Molecular de  
 la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.  
 Programa de posgrado en Ciencias de la Producción y de la  
 Salud Animal.

**Resumen**

La Leucosis Enzoótica Bovina es producida por el Virus de la Leucemia Bovina (VLB), en el 60% de los casos no genera signos clínicos. Un 30% del ganado infectado desarrolla linfocitosis persistente (LP, expansión de linfocitos B) y un 5-10% de los bovinos desarrollan linfosarcomas. El VLB pertenece a la familia *Retroviridae* y al género *Deltaretrovirus*. La región genética *pX* que incluye los genes *r3*, *g4*, *rex* y *tax* se ha asociado al desarrollo de tumores. El objetivo del presente trabajo fue identificar si la variabilidad genética del VLB se asocia con las diferentes presentaciones clínicas o asintomáticas de la infección. A partir de un tamizaje serológico de 724 muestras de sangre de bovinos de la raza Holstein Friesian de diferentes edades, provenientes de seis Estados de la República Mexicana, se separaron leucocitos de sangre periférica a partir de sangre con anticoagulante, de los leucocitos se extrajo el ADN genómico utilizando un kit comercial, se diseñaron iniciadores que hibridan en regiones conservadas de la región *pX* del VLB, lo que permitió la estandarización de las PCRs para la detección del ADN proviral en las células infectadas. Los amplicones positivos fueron secuenciados por el método Sanger. La población de análisis se conformó por 30 bovinos (12 con linfocitosis, 12 sin linfocitosis y 6 con tejidos tumorales), obteniendo el armado de 30 secuencias de 1156 nucleótidos que incluyen los cuatro genes de la región *pX*. Al construir el árbol filogenético se determinó que 23 de las secuencias se asociaron al genotipo 1 y 7 no correspondieron con secuencias de los genotipos de referencia. Se identificaron dos secuencias con una delección de 3 nucleótidos (vaca con linfocitosis) y 9

nucleótidos (vaca sin linfocitosis) en el gen *g4*. En los tejidos tumorales de 6 bovinos se identificó mediante histopatología, hibridación *in situ* y PCR la presencia del VLB. El análisis de las secuencias no permitió establecer una asociación entre la región *pX* y el cuadro clínico-patológico.

\* Proyecto financiado CONACyT No. 221285.

**Palabras clave:** VLB, región *pX*, filogenia, secuencias nucleotídicas.





**Association between the clinical signs of bovine enzootic leukosis and viral genetics**

**Keywords:** VLB, pX region, phylogeny, nucleotide sequences.

**Abstract**

Enzootic Bovine Leukosis is produced by the Bovine Leukemia Virus (VLB), in 60% of cases it does not generate clinical signs. 30% of infected cattle develop persistent lymphocytosis (LP, expansion of B lymphocytes) and 5-10% of cattle develop lymphosarcomas. The VLB belongs to the family Retroviridae and the genus Deltaretrovirus. The pX gene region that includes the r3, g4, rex and tax genes has been associated with the development of tumors. The objective of the present work was to identify if the genetic variability of the VLB is associated with the different clinical or asymptomatic presentations of the infection. From a serological screening of 724 blood samples from Holstein Friesian cattle of different ages coming from six States of the Mexican Republic, peripheral blood leukocytes were separated from blood with anticoagulant, from leukocytes Genomic DNA was extracted using a commercial kit, primers that hybridize in conserved regions of the pX region of the VLB were designed, which allowed the standardization of the PCRs for the detection of proviral DNA in the infected cells. The positive amplicons were sequenced by the Sanger method. The analysis population consisted of 30 bovines (12 with lymphocytosis, 12 without lymphocytosis and 6 with tumor tissues), obtaining the assembly of 30 sequences of 1156 nucleotides that include the four genes of the pX region. When constructing the phylogenetic tree it was determined that 23 of the sequences were associated with genotype 1 and 7 did not correspond with sequences of the reference genotypes. Two sequences were identified with a deletion of 3 nucleotides (cow with lymphocytosis) and 9 nucleotides (cow without lymphocytosis) in the g4 gene. In tumor tissues of 6 cattle it was identified by histopathology, in situ hybridization and PCR the presence of VLB. The analysis of the sequences did not allow to establish an association between the pX region and the clinical-pathological picture.

\* Project funded by CONACyT No. 221285.

### **Primera evidencia de la infección por el virus de inmunodeficiencia bovina en México\***

Víctor David González Fernández<sup>1\*</sup>, Jorge Luis Tórtora Pérez<sup>1</sup>, María M. García Flores<sup>2</sup>, José Álvaro Aguilar Setien<sup>2</sup>, Humberto A. Martínez Rodríguez<sup>1</sup>, Hugo Ramírez Álvarez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Virología, Genética y Biología Molecular. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México. <sup>2</sup>Departamento de investigación en inmunología, hospital pediátrico del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México. \*Autor de correspondencia: Víctor David González Fernández, [vd.glezz@gmail.com](mailto:vd.glezz@gmail.com). Programa de posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal.

### **Resumen**

El *Virus de la Inmunodeficiencia Bovina* (BIV) es un retrovirus aislado originalmente en los Estados Unidos en 1972 a partir de una vaca lechera con linfocitosis persistente, hiperplasia linfoide y encefalitis linfocítica. Muchos estudios indican que la infección por el BIV tiene distribución mundial, aunque se desconoce su presencia en México. En esta investigación se presenta la evidencia de infección por BIV en ganado mexicano. Un total de 1128 muestras de sangre fueron recolectadas de ganado bovino (*Bos taurus*) en los Estados de Aguascalientes, Chiapas, Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Puebla, Querétaro y Tlaxcala; el plasma y los leucocitos de sangre periférica fueron separados. Un antígeno sintético (FESCunam\_BIV1) derivado de la proteína TM del BIV fue diseñado utilizando herramientas bioinformáticas y se usó como revestimiento de microplacas para ensayos de ELISA indirecto con la finalidad de detectar anticuerpos específicos en las muestras de plasma. Por otra parte, con la finalidad de detectar directamente un fragmento (519pb) de ADN proviral del gen *env* del BIV, se diseñó un protocolo molecular basado en PCR. Finalmente, las muestras positivas se purificaron y se sometieron a secuenciación nucleotídica. Un total de 338 (28,94%) muestras de plasma evaluadas mostraron valores de OD > 0.3 (OD-450nm), esto sugiere la presencia de anticuerpos anti-BIV específicos en muestras de plasma de todos los estados estudiados. Además, los resultados del ensayo molecular mostraron seis

resultados positivos, la secuenciación nucleotídica y el análisis *in silico* de estas muestras confirmaron la identidad del BIV. Éste es el primer reporte de la presencia de BIV en ganado mexicano.

\* Proyecto financiado CONACyT No. 221285.

**Palabras clave:** *Virus de Inmunodeficiencia Bovina*, ganado mexicano

## First evidence of *bovine immunodeficiency virus* infection in Mexico

### Abstract

The Bovine Immunodeficiency Virus (BIV) is a retrovirus originally isolated in the United States in 1972 from a dairy cow with persistent lymphocytosis, lymphoid hyperplasia, and lymphocytic encephalitis. Many studies indicate that BIV infection has a worldwide distribution, although its presence in Mexico is unknown. In this investigation, evidence of BIV infection in Mexican cattle is presented. A total of 1128 blood samples were collected from cattle (*Bos taurus*) in the States of Aguascalientes, Chiapas, Coahuila, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, State of Mexico, Puebla, Querétaro and Tlaxcala; plasma and peripheral blood leukocytes were separated. A synthetic antigen (FESCunam\_BIV1) derived from the BIV TM protein was designed using bioinformatics tools and used as a microplate coating for indirect ELISA assays in order to detect specific antibodies in the plasma samples. On the other hand, in order to directly detect a fragment (519bp) of proviral DNA from the BIV env gene, a molecular protocol based on PCR was designed. Finally, the positive samples were purified and subjected to nucleotide sequencing. A total of 338 (28.94%) plasma samples evaluated showed values of OD > 0.3 (OD-450nm), this suggests the presence of specific anti-BIV antibodies in plasma samples of all the studied states. In addition, the results of the molecular assay showed six positive results, nucleotide sequencing and in silico analysis of these samples confirmed the identity of the BIV. This is the first report of the presence of BIV in Mexican cattle.

\* Project funded by CONACyT No. 221285.

**Keywords:** Bovine Immunodeficiency Virus, Mexican cattle.

## DetECCIÓN MOLECULAR DE LOS RICKETTSIALES EN PERROS DE LA CIUDAD DE CHIHUAHUA, MÉXICO

Marcos Javier Sánchez Pérez\*, Jorge Roberto Benavides Durán, Susana Elvira García Vázquez, Hugo Ramírez Álvarez.

Laboratorio de Virología, Genética y Biología Molecular.  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM,  
Carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km. 2.5, San Sebastián  
Xhala, CP.54714, Cuautitlán Izcalli, México. Teléfono (55)  
56231920. \*msp\_mvz@yahoo.com.mx

### Resumen

Las *Rickettsias* se asocian con una extensa gama de enfermedades y están ampliamente distribuidas en diferentes zonas del mundo, representando un grave problema de salud pública. La Ehrlichiosis Monocítica Canina y la Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas están relacionadas con la infección por *Ehrlichia canis* y *Rickettsia rickettsii* las cuales pueden ser transmitidas por la garrapata café (*Rhipicephalus sanguineus*). El presente estudio tuvo como objetivo identificar por PCR anidada la presencia de *Ehrlichia canis* y *Rickettsia rickettsii* amplificando un fragmento de los genes *gp36* y *ompA* respectivamente. La PCR anidada se realizó en 123 muestras de sangre colectada de perros capturados y confinados en el centro de control de la ciudad de Chihuahua y en los que además se identificó la presencia de la garrapata. De las muestras de sangre se separaron los leucocitos de sangre periférica y se extrajo el ADN utilizando un kit comercial. El ADN fue cuantificado y utilizado para la prueba de PCR anidada. Los iniciadores de las PCRs se diseñaron considerando secuencias disponibles de *E canis* y *R rickettsii* del GenBank. Los resultados por PCR positivos obtenidos para *E. canis* fueron: 12 hembras y 8 machos, de diferentes edades y razas, y en el caso de muestras positivas para *R. rickettsii* solo se identificaron 4. Los amplicones positivos fueron purificados y secuenciados por el método Sanger. Las secuencias nucleotídicas obtenidas fueron comparadas en BLAST identificando un 99% de similitud con *E canis* y *R. rickettsii* en las muestras respectivas. Se identificó una co-infección en un perro. En conclusión, esta es la primera identificación

molecular y genética de *E canis* y *R. rickettsii* de caninos en la ciudad de Chihuahua, México.

**Palabras clave:** PCR, *E. canis*, *R. rickettsii*, *gp36*, *ompA*, *R. sanguineus*.

### Molecular detection of rickettsiales in dogs from Chihuahua city, Mexico

#### Abstract

Rickettsiae are associated with a wide range of diseases and are widely distributed in different areas of the world, representing a serious public health problem. Monocytic Canine Ehrlichiosis and Stained Rocky Mountain Fever are related to the infection by *Ehrlichia canis* and *Rickettsia rickettsii* which can be transmitted by the brown tick (*Rhipicephalus sanguineus*). The objective of the present study was to identify, by nested PCR, the presence of *Ehrlichia canis* and *Rickettsia rickettsii* by amplifying a fragment of the *gp36* and *ompA* genes, respectively. The nested PCR was performed on 123 blood samples collected from dogs captured and confined in the control centre of the city of Chihuahua and in which the presence of the tick was also identified. From the blood samples the leukocytes were separated from peripheral blood and the DNA was extracted using a commercial kit. The DNA was quantified and used for the nested PCR test. The PCR primers were designed considering available sequences of *E canis* and *R rickettsii* from GenBank. The positive PCR results obtained for *E. canis* were: 12 females and 8 males, of different ages and races, and in the case of positive samples for *R. rickettsii* only 4 were identified. The positive amplicons were purified and sequenced by the Sanger method. The nucleotide sequences obtained were compared in BLAST identifying a 99% similarity with *E canis* and *R. rickettsii* in the respective samples. A co-infection was identified in a dog. In conclusion, this is the first molecular and genetic identification of *E canis* and *R. rickettsii* of canines in the city of Chihuahua, Mexico.

**Keywords:** PCR, *E. canis*, *R. rickettsii*, *gp36*, *ompA*, *R. sanguineus*.

## Co-circulación de dos linajes del virus del distemper canino en Colombia

July Duque-Valencia<sup>1¶</sup>, Norma R Forero-Muñoz<sup>2¶</sup>, Francisco J Díaz<sup>3</sup>, Elisabete Martins<sup>2,4</sup>, Paola Barato<sup>2</sup>, Julián Ruíz-Sáenz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Animales - GRICA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Bucaramanga. <sup>2</sup>Corporación Patología Veterinaria (Corpavet), Bogotá, Colombia.

<sup>3</sup>Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia. <sup>4</sup>Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal. \*E-Mail: julian.ruizs@campusucc.edu.co

### Resumen

El virus del distemper canino (CDV), causa enfermedad multisistémica en perros domésticos y animales silvestres de al menos 5 Ordenes y más de 20 familias; incluso infecta a células humanas en condiciones *in vitro*. Para clasificar filogenéticamente al CDV se utiliza el gen de la Hemaglutinina, el cual es 10% más variable comparado con los otros genes, obteniendo una clasificación de las cepas en 16 linajes con un patrón de distribución geográfico. En Medellín, circula el linaje Suramérica 3, el cual es endémico. Otros estudios filogenéticos realizados en Bogotá y Ecuador usando otro gen, caracterizaron cepas pertenecientes a dos linajes diferentes. El objetivo fue caracterizar el CDV de cepas circulantes en Colombia por medio de secuencia extendida. En 2017 se recolectaron 27 muestras de perros sospechosos y positivos a CDV en Medellín y una muestra en Bucaramanga, se realizó extracción de RNA. Se realizó RT-PCR de los genes F, H y genoma, los fragmentos obtenidos se secuenciaron por el método de SANGER. Las secuencias obtenidas se analizaron utilizando los programas bioinformáticos MEGA 7, ClustalW, Mr. Bayes; adicionalmente se obtuvieron 15 secuencias del gen F de las cepas de Bogotá; la base de datos se completó con las secuencias disponibles en el GENBANK. De 19 muestras positivas a CDV, sólo 7 muestras amplificaron el gen H, 10 muestras el gen F y se amplificaron 2 genomas completos. Análisis filogenéticos preliminares de los genes F, H y genoma por los métodos de Neighbor Joining, Maximum Likelihood y

análisis bayesiano evidencian la circulación en Colombia de dos linajes: uno reportado en 2012: Suramérica 3 circulando en Medellín, Bucaramanga y Bogotá y un nuevo linaje no descrito en el país, circulando en Medellín, el cual está evolutivamente relacionado con cepas reportadas en Ecuador y fauna silvestre en los Estados Unidos, el cual se denominó Norte/Suramérica 4. El CDV en Colombia posee una de las mayores diversidades genéticas reportadas en el mundo; este agente puede convertirse en un problema de salud animal para poblaciones domésticas y silvestres y podría ser un potencial problema de salud pública para poblaciones humanas.

Financiación: COLCIENCIAS - PROYECTO 123171249669

**Palabras clave:** Virus del distemper canino, diversidad genética, *Morbillivirus*, zoonosis emergente, genoma, evolución molecular.



**Co-circulation of two lineages of canine distemper virus in Colombia**

**Abstract**

Canine distemper virus (CDV) causes multisystem disease in domestic dogs and wild animals of at least 5 orders and more than 20 families; it even infects human cells under in vitro conditions. To classify the CDV phylogenetically, the Hemagglutinin gene is used, which is 10% more variable compared to the other genes, obtaining a classification of the strains in 16 lineages with a geographic distribution pattern. In Medellín, the South America 3 lineage circulates, which is endemic. Other phylogenetic studies conducted in Bogotá and Ecuador using another gene, characterized strains belonging to two different lineages. The objective was to characterize the CDV of circulating strains in Colombia by means of extended sequence. In 2017, 27 samples of suspicious and CDV positive dogs were collected in Medellín and one sample in Bucaramanga, RNA extraction was performed. RT-PCR was performed for F, H and genome gene fragments obtained were sequenced by the Sanger method. The obtained sequences were analyzed using the bioinformatics programs MEGA 7, ClustalW, Mr. Bayes; additionally, 15 sequences of the F gene of the Bogota strains were obtained; the database was completed with the sequences available in the GENBANK. Of 19 CDV-positive samples, only 7 samples amplified the H gene, 10 samples the F gene and 2 complete genomes were amplified. Preliminary phylogenetic analyzes of F, H and genome genes by Neighbor Joining, Maximum Likelihood and Bayesian analysis methods show the circulation in Colombia of two lineages: one reported in 2012: South America 3 circulating in Medellín, Bucaramanga and Bogotá and a new lineage not described in the country, circulating in Medellín, which is evolutionarily related to strains reported in Ecuador and wildlife in the United States, which was named North / South America 4. The CDV in Colombia has one of the greatest genetic diversity reported in the world; This agent can become an animal health problem for domestic and wild populations and could be a potential public health problem for human populations.

Financing: COLCIENCIAS - PROJECT 123171249669

**Keywords:** Canine distemper virus, genetic diversity, *Morbillivirus*, emerging zoonoses, genome, molecular evolution.



**Hemaglutinina del virus del distemper canino: modelamiento y evaluación del potencial zoonótico *in silico*.**

Santiago Rendón-Marín<sup>1,2</sup>, Carolina Quintero-Gil<sup>1</sup>, Julián Ruíz-Sáenz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Animales - GRICA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia. <sup>2</sup>Corporación Ciencias Básicas Biomédicas, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. \*Correo electrónico: julian.ruizs@campusucc.edu.co

**Resumen**

El virus del distemper canino (CDV) es el agente etiológico de una enfermedad altamente contagiosa que afecta perros domésticos, y es un patógeno con tropismo celular múltiple y un amplio rango de especies hospederas. Su genoma es de ARN de cadena sencilla con polaridad negativa que codifica para 8 proteínas, entre ellas la glicoproteína H, la cual es esencial para la adhesión a receptores celulares. Se han descrito diferentes receptores, tales como la Nectina-4 en células epiteliales y SLAM en células mononucleares. La similitud estructural entre los receptores de células humanas y de canino puede delimitar el potencial de salto en barrera de especie del CDV en humanos. Actualmente, no se cuenta con estructuras cristalográficas que permitan estudiar la proteína H del CDV. El objetivo fue modelar la glicoproteína H del CDV de una cepa de referencia y otra colombiana y evaluar, *in silico*, su potencial zoonótico. Se compararon las secuencias de la glicoproteína H mediante construcción filogenética utilizando MEGA7.0 y se seleccionaron, basado en su similitud, para la construcción de los modelos. La modelación por homología se realizó utilizando el software Modeller©, con base en la estructura cristalizada para la hemaglutinina de Sarampión (PDB: 2RKC) y la herramienta I-TASSER; los modelos se validaron usando varias herramientas computacionales. Finalmente, se determinó la interacción de los receptores celulares con un dominio de las proteínas H de CDV usando Autodock Vina. Tanto los modelos obtenidos mediante Modeller© como por I-TASSER, fueron similares a la estructura cristalográfica 2RKC, con valores de RMSD menores a 1Å.

Todos los modelos obtuvieron un porcentaje de aminoácidos mayor al 95% en regiones energéticamente favorables, además, tienen similitud con estructuras resueltas por cristalografía de rayos-X. La cepa de referencia y la cepa colombiana obtuvieron puntajes que sugieren interacción con los receptores humanos, así: H-Ref-SLAM -6.0, H-Ref-nectina-4 -7.8, H-Col-SLAM -5.9 y H-Col-nectina-4 -6.6, en Kcal/mol. Mediante el uso de herramientas computacionales se modeló la proteína H de CDV y se evidenció su posible unión con receptores humanos, sugiriendo su potencial zoonótico. Estudios *in vitro* se están llevando a cabo para confirmar estos resultados.

Financiación: COLCIENCIAS - PROYECTO 123171249669

**Palabras clave:** Virus del Distemper Canino, Hemaglutinina, Nectina-4, *docking* molecular, RMSD, SLAM, enfermedad zoonótica.



**Hemagglutinin of the canine distemper virus:  
 modeling and evaluation of the zoonotic  
 potential in silico**

**Abstract**

Canine distemper virus (CDV) is the etiological agent of a highly contagious disease that affects domestic dogs, and is a pathogen with multiple cellular tropism and a wide range of host species. Its genome is single-stranded RNA with negative polarity that codes for 8 proteins, including glycoprotein H, which is essential for adhesion to cellular receptors. Different receptors have been described, such as Nectin-4 in epithelial cells and SLAM in mononuclear cells. The structural similarity between human and canine cell receptors can delimit the barrier jump potential of CDV species in humans. Currently, there are no crystallographic structures that allow studying the H protein of CDV. The objective was to model the H glycoprotein of the CDV of a reference strain and another Colombian one and evaluate, in silico, its zoonotic potential. The H glycoprotein sequences were compared by phylogenetic construction using MEGA7.0 and selected, based on their similarity, for the construction of the models. The homology modeling was performed using the software Modeller ©, based on the crystallized structure for Measles haemagglutinin (PDB: 2RKC) and the I-TASSER tool; the models were validated using several computational tools. Finally, the interaction of the cellular receptors with a domain of the CDV H proteins was determined using Autodock Vina. Both the models obtained by Modeller © and by I-TASSER were similar to the 2RKC crystallographic structure, with RMSD values less than 1Å. All the models obtained a percentage of amino acids higher than 95% in energetically favorable regions, in addition, they have similarity with structures solved by X-ray crystallography. The reference strain and the Colombian strain obtained scores that suggest interaction with human receptors, as follows: H-Ref-SLAM -6.0, H-Ref-nectin-4 -7.8, H-Col-SLAM -5.9 and H-Col- Nectin-4 -6.6, in Kcal / mol. Through the use of computational tools, the H protein of CDV was modeled and its possible union with human receptors was evidenced,

suggesting its zoonotic potential. In vitro studies are being carried out to confirm these results.

Financing: COLCIENCIAS - PROJECT 123171249669

**Keywords:** Canine Distemper Virus, Hemagglutinin, Nectin-4, molecular *docking*, RMSD, SLAM, zoonotic disease.



## Prevalencia y caracterización molecular de coronavirus felino en la ciudad de Bucaramanga

Karen Delgado-Villamizar<sup>1,2</sup>, Joly Duque-Valencia<sup>1</sup>, Julián Ruiz-Sáenz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Ciencias Animales - GRICA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, sede Medellín. <sup>2</sup>Docente Universidad de Pamplona, Norte de Santander, Colombia.

\*E-Mail: julian.ruizs@campusucc.edu.co

### Resumen

El coronavirus felino (FCoV), es un virus endémico de distribución mundial, con alta tasa de contagio por contacto directo, causando una infección sistémica mortal FIP. Sin embargo, la FIP se desarrollará en aproximadamente el 10% de gatos seropositivos a FCoV. El FCoV es un virus ARN de cadena positiva, de la subfamilia *Coronavirinae*, género *Alphacoronavirus*. El objetivo fue caracterizar serológica y molecularmente la infección por FCoV en gatos de la ciudad de Bucaramanga. A través de un estudio descriptivo, de corte transversal, se tomó muestra (Suero y heces fecales) de 96 felinos. Se utilizó una técnica de ELISA (ImmunoComb®) para el análisis serológico y se realizó extracción de RNA y RT-PCR del gen nps14 para confirmación molecular. Los amplicones obtenidos se secuenciaron por el método de SANGER. Las secuencias obtenidas se analizaron en los programas Lasergene, MEGA 7, ClustalW. Se obtuvo una prevalencia real en la población evaluada de 84.6% ([CI]= 77.43% y 91.85%). De las variables evaluadas se encontró seropositividad en el 76% de los machos y 24% de las hembras, el 66% del grupo <1 año, 77% entre 1 y 3 años, el 61% del grupo > 3 años, el 69% del grupo mestizos, el 100% del grupo raza. El 74%, de individuos esterilizados y el 62% de los no esterilizados. Solo el rango etario de 1-3 años mostro significancia estadística P=0.04. La RT-PCR mostro el virus en 66 de las 96 muestras evaluadas, evidenciando 13 falsos positivos y 12 falsos negativos. El análisis filogenético mostro la circulación de FCoV tipo I en la población evaluada, con la presencia de tres clústers evolutivamente relacionado con cepas reportadas en Japón, Holanda e Indonesia. El FCoV es un

virus endémico en la población felina de Bucaramanga, lo que sugiere el alto riesgo de FIP. Los FCoV aislados muestran alta variabilidad genética, lo que dificulta generar estrategias de control.

Financiación: CONADI Proyecto 1881 – Universidad Cooperativa de Colombia.

**Palabras clave:** Coronavirus felino, peritonitis infecciosa felina, diversidad genética, endémico.



**Prevalence and molecular characterization of feline coronavirus in Bucaramanga city**

**Abstract**

The feline coronavirus (FCoV), is an endemic virus of worldwide distribution, with a high rate of infection through direct contact, causing a fatal systemic infection FIP. However, the FIP will be developed in approximately 10% of cats seropositive to FCoV. FCoV is a positive strand RNA virus, from the Coronavirinae subfamily, genus Alphacoronavirus. The objective was to serologically and molecularly characterize FCoV infection in cats from the city of Bucaramanga. Through a descriptive, cross-sectional study, 96 cats were sampled (serum and faeces). An ELISA technique (ImmunoComb®) was used for the serological analysis and RNA extraction and RT-PCR of the nps14 gene was performed for molecular confirmation. The obtained amplicons were sequenced by the SANGER method. The sequences obtained were analyzed in the programs Lasergene, MEGA 7, ClustalW. A real prevalence was obtained in the evaluated population of 84.6% ([CI] = 77.43% and 91.85%). Of the evaluated variables, seropositivity was found in 76% of the males and 24% of the females, 66% of the group <1 year, 77% between 1 and 3 years, 61% of the group > 3 years, 69% of the mestizo group, 100% of the race group. 74% of individuals sterilized and 62% of those not sterilized. Only the age range of 1-3 years showed statistical significance  $P = 0.04$ . The RT-PCR showed the virus in 66 of the 96 samples evaluated, evidencing 13 false positives and 12 false negatives. The phylogenetic analysis showed the circulation of FCoV type I in the evaluated population, with the presence of three clusters evolutionarily related to strains reported in Japan, Holland and Indonesia. FCoV is an endemic virus in the feline population of Bucaramanga, which suggests the high risk of FIP. Isolated FCoVs show high genetic variability, which makes it difficult to generate control strategies.

Financing: CONADI Project 1881 - Universidad Cooperativa de Colombia.

**Keywords:** Feline Coronavirus, feline infectious peritonitis, genetic diversity, endemic.



**Virus de leucemia felina en gatos del área metropolitana del Valle de Aburrá (Antioquia)**

Carolina Ortega, July Duque-Valencia, Julián Ruiz Sáenz\*

Grupo de Investigación en Ciencias Animales - GRICA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia. \*Correo electrónico: julian.ruizs@campusucc.edu.co

**Resumen**

El virus de la Leucemia Felina (FeLV) es perteneciente a la familia Retroviridae, fue el primer retrovirus felino descubierto y es uno de los agentes de mayor repercusión en la salud de los gatos y la ecología de las poblaciones felinas del mundo, está asociado a la presentación de múltiples síndromes de enfermedad fatal, incluso el desarrollo de linfoma. En Colombia los estudios del FeLV son pocos, y la mayoría de ellos tienen un enfoque clínico. Sin embargo, nunca se han realizado estudios que esclarezcan qué variante o subgrupo viral del FeLV se encuentra circulando en el país, dado que no todos tienen la capacidad de transmitirse eficientemente entre gatos y son responsables de la sintomatología clínica variada. Se realizó la caracterización antigénica y molecular del FeLV presente en gatos del área metropolitana del Valle de Aburrá, contribuyendo a un mejor entendimiento del agente viral, sus subgrupos, sus asociaciones clínicas, entre otros, lo cual redundará en un mejor manejo clínico y epidemiológico de los pacientes. Se realizó un estudio de corte transversal, muestreando felinos domésticos y de albergues; se tomó 1 ml de sangre de hembras (54) y machos (47) en su mayoría aparentemente sanos, y quienes presentaban sintomatología clínica variada e inespecífica; las muestras fueron evaluadas por inmunocromatografía, RT-PCR y secuenciación. El 60% (60/100) de felinos fueron seropositivos a Ag P27 FeLV por medio de la prueba SNAP combo FeLV Ag/ FIV/Ac.; la confirmación molecular de felinos positivos se hizo por RT-PCR para fragmento U3LTR de 707 nucleótidos, encontrando el 50% (30/60) positivos, demostrándose la presencia de viremia en el momento de la toma de la muestra. Los resultados

de la secuenciación permitieron confirmar el subtipo viral circulante en la región evaluada. La frecuencia reportada de virus de leucemia felina es alta en la población felina del Valle de Aburrá, se confirmó que la mitad de los animales clínicamente inespecíficos tienen capacidad para excretar virus infecciosos y ser fuente de infección para otros animales, se confirmó por primera vez el subtipo viral circulante del FeLV en Colombia.

Financiación: CONADI Proyecto 1883 – Universidad Cooperativa de Colombia.

**Palabras clave:** Clasificación de subgrupos, leucemia viral felina, retrovirus, RT-PCR.



**Feline leukemia virus in cats of the metropolitan area of the Aburrá Valley (Antioquia)**

**Keywords:** Feline leukaemia virus, retrovirus, RT-PCR, subgroup classification.

**Abstract**

The Feline Leukaemia Virus (FeLV) belongs to the Retroviridae family, It was the first feline retrovirus discovered and is one of the agents with the greatest impact on the health of cats and the ecology of the feline populations of the world. the presentation of multiple syndromes of fatal disease, including the development of lymphoma. In Colombia FeLV studies are scarce, and most of them have a clinical focus. However, studies have never been carried out to clarify which variant or viral subgroup of FeLV is circulating in the country, given that not all have the ability to transmit efficiently between cats and are responsible for the varied clinical symptoms. The antigenic and molecular characterization of FeLV present in cats of the metropolitan area of Valle de Aburrá was carried out, contributing to a better understanding of the viral agent, its subgroups, its clinical associations, among others, which will result in a better clinical and epidemiological management of the patients. 1 ml of blood was taken from females (54) and males (47), mostly apparently healthy, and those who presented varied and nonspecific clinical symptoms; Samples were evaluated by immunochromatography, RT-PCR and sequencing. 60% (60/100) of felines were seropositive to Ag P27 FeLV by means of the SNAP combo FeLV Ag / FIV / Ac test; Molecular confirmation of positive felines was done by RT-PCR for U3LTR fragment of 707 nucleotides, finding 50% (30/60) positive, demonstrating the presence of viremia at the time of sampling. The results of the sequencing allowed to confirm the circulating viral subtype in the evaluated region. The reported frequency of feline leukaemia virus is high in the feline population of Valle de Aburrá, it was confirmed that half of the clinically nonspecific animals have the capacity to excrete infectious virus and be a source of infection for other animals, it was confirmed for the first time circulating viral subtype of FeLV in Colombia.

Financing: CONADI Project 1883 - Universidad Cooperativa de Colombia.

## **Caracterización molecular del parvovirus canino 2 en perros con gastroenteritis en dos regiones de Colombia**

Sebastián Giraldo-Ramírez, Manuela Echeverry Zuluaga, Julián Ruiz Sáenz\*

Grupo de Investigación en Ciencias Animales - GRICA,  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad  
Cooperativa de Colombia, sede Bucaramanga. E-Mail:  
julian.ruizs@campusucc.edu.co

### **Resumen**

El Parvovirus Canino tipo 2 (CPV-2) ha sido considerado un patógeno de gran importancia en la población canina debido a que está relacionado con procesos de enteritis severa con elevada mortalidad principalmente en cachorros. Actualmente se han descrito tres variantes antigénicas: CPV-2a, CPV-2b, CPV-2c. En Colombia, desde su registro en los años 80, se tiene muy poca información de los subtipos virales circulantes. Se realizó la caracterización molecular y filogenética de los CPV presentes en los pacientes con gastroenteritis hemorrágica y diagnóstico presuntivo de parvovirus en dos regiones de Colombia: Antioquia y Santander. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal con recolección de muestras de materia fecal de pacientes con gastroenteritis hemorrágica y diagnóstico presuntivo de parvovirus, se analizaron sus historias clínicas. Se realizó extracción de ADN y PCR-RFLP de materia fecal, adicionalmente para confirmar la variante viral circulante se realizó secuenciación de ADN. La etiología de las gastroenteritis de los casos estuvo relacionada con el CPV-2a/2b, se confirmó molecularmente la circulación del CPV y como hallazgo muy relevante se demostró la circulación del virus en pacientes mayores de un año. Los análisis filogenéticos confirmaron la presencia de las variantes antigénicas CPV-2a/2b, además, se encontró la presencia de dos sustituciones conservadas en la proteína VP2 sugiriendo la presencia de una posible nueva variante de CPV-2a en Colombia. Los resultados demuestran que el Parvovirus Canino sigue siendo un patógeno de alta relevancia en la presentación clínica de cuadros entéricos en caninos, demostrándose la importancia del CPV 2a/2b en las regiones y resaltando la importancia de realizar estudios

moleculares para la detección temprana de nuevas variantes antigénicas del CPV-2.

*Financiación: CONADI. Universidad Cooperativa de Colombia.*

**Palabras clave:** CPV-2a, secuenciación, variante antigénica.



**Molecular characterization of canine parvovirus 2 in dogs with gastroenteritis in two regions of Colombia**

**Abstract**

Canine Parvovirus type 2 (CPV-2) has been considered a pathogen of great importance in the canine population because it is related to processes of severe enteritis with high mortality mainly in puppies. Currently three antigenic variants have been described: CPV-2a, CPV-2b, CPV-2c. In Colombia, since its registration in the 1980s, there is very little information about circulating viral subtypes. The molecular and phylogenetic characterization of the CPV present in patients with hemorrhagic gastroenteritis and presumptive diagnosis of parvovirus was performed in two regions of Colombia: Antioquia and Santander. A descriptive cross-sectional study was carried out with the collection of fecal samples from patients with hemorrhagic gastroenteritis and presumptive diagnosis of parvovirus. Their clinical histories were analyzed. We performed DNA extraction and PCR-RFLP of fecal matter, additionally to confirm the circulating viral variant was performed DNA sequencing. The etiology of the gastroenteritis of the cases was related to the CPV-2a / 2b, the circulation of the CPV was molecularly confirmed and as a very relevant finding the circulation of the virus in patients older than one year was demonstrated. The phylogenetic analyzes confirmed the presence of the antigenic variants CPV-2a / 2b, in addition, the presence of two conserved substitutions in the VP2 protein was found, suggesting the presence of a possible new variant of CPV-2a in Colombia. The results demonstrate that Canine Parvovirus remains a pathogen of high relevance in the clinical presentation of enteric cadres in canines, demonstrating the importance of CPV 2a / 2b in the regions and highlighting the importance of performing molecular studies for the early detection of new variants. antigenic of CPV-2.

Financing: CONADI. Universidad Cooperativa de Colombia.

**Keywords:** CPV-2a, sequencing, antigenic variant.

## **Presencia de hongos y levaduras en tanques de enfriamiento de leche en Boyacá**

Luis Edgar Tarazona Manrique<sup>1</sup>, Julián Ricardo Villate Hernández<sup>1</sup>, Elkin Josué Forero Rojas<sup>1</sup>, Roy José Andrade Becerra<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Jóvenes investigadores GIPATRACOL.

[luistarazonamanrique@gmail.com](mailto:luistarazonamanrique@gmail.com);

[elkin.forero@uptc.edu.co](mailto:elkin.forero@uptc.edu.co); [julian.villate@uptc.edu.co](mailto:julian.villate@uptc.edu.co).

<sup>2</sup>Profesor Titular. PhD. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Director del grupo de investigación en producciones agropecuarias del trópico alto colombiano-GIPATRACOL. Correo electrónico: [roy.andrade@uptc.edu.co](mailto:roy.andrade@uptc.edu.co)

### **Resumen**

Las levaduras y los hongos son gérmenes que no se deben encontrar en muestras de leche porque son patógenas tanto para el animal como para el ser humano. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de hongos y levaduras en tanques de enfriamiento de leche en el altiplano boyacense. El estudio se realizó en las instalaciones del laboratorio de Calidad de leche y Mastitis, de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, sede Tunja. Se tomaron muestras de 20 tanques de enfriamiento de leche cruda ubicados en 20 diferentes municipios lecheros del departamento de Boyacá con el fin de determinar la presencia de hongos y levaduras a través de la técnica Compact Dry YM®. Las colonias crecen sobre un sustrato cromógeno el cual confiere una tonalidad amarilla a los hongos y una azul a las levaduras, además, contiene un inhibidor de crecimiento bacteriano para evitar resultados errados. El 35% de las muestras de leche no presentó crecimiento de hongos ni de levaduras, por su parte, en el 25% se encontró crecimiento de colonias de color amarillo y sus tonalidades, lo que correspondería con colonias de hongos, en el 5% se determinó el crecimiento únicamente de colonias azules, correspondiente a crecimiento de levaduras. En el 35% restante se detalló un crecimiento de colonias azules y amarillas. Esto demuestra que existen en alto grado la presencia de hongos y levaduras en muestras de leche cruda refrigerada,

situación que podría desencadenar un problema de salud pública.

**Palabras clave:** Agentes micóticos, microbiología, Compact Dry YM®, leche cruda.

## **Presence of fungi and yeast in milk cooling tanks in Boyacá**

### **Abstract**

Yeasts and fungi are germs that should not be found in milk samples because they are pathogenic for both animals and humans. The objective of this study was to determine the presence of fungi and yeasts in milk cooling tanks in the Boyacá highlands. The study was carried out in the facilities of the Laboratory of Milk Quality and Mastitis, of the Pedagogical and Technological University of Colombia, Tunja. Samples were taken from 20 raw milk cooling tanks located in 20 different dairy municipalities of the department of Boyacá in order to determine the presence of fungi and yeasts through the Compact Dry YM® technique. The colonies grow on a chromogenic substrate which gives a yellow hue to the fungi and a blue to the yeast, in addition, it contains a bacterial growth inhibitor to avoid erroneous results. 35% of the milk samples showed no growth of fungi or yeasts, meanwhile, in 25% yellow colony growth and its tonalities were found, which would correspond with fungal colonies, in 5% determined the growth only of blue colonies, corresponding to yeast growth. In the remaining 35%, a growth of blue and yellow colonies was detailed. This shows that there is a high degree of presence of fungi and yeasts in samples of refrigerated raw milk, a situation that could trigger a public health problem.

**Keywords:** Mycotic agents, microbiology, Compact Dry YM®, raw milk.

## Reacción en cadena de la polimerasa para genes nucleasa y coagulasa en *Staphylococcus aureus*

Carlos Alexander Huertas Caro<sup>1</sup>, María Inés Tórres Caycedo<sup>2</sup>, Maritza Angarita Merchán<sup>3\*</sup>

Grupo de investigación del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico –GRIBAC-, Universidad de Boyacá.

Email: <sup>1</sup>[cahuertas@uniboyaca.edu.co](mailto:cahuertas@uniboyaca.edu.co),

<sup>2</sup>[mariaaitorres@uniboyaca.edu.co](mailto:mariaaitorres@uniboyaca.edu.co),

<sup>3\*</sup>[mangarita@uniboyaca.edu.co](mailto:mangarita@uniboyaca.edu.co)

### Resumen

*Staphylococcus aureus* es un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, inmóvil, no esporulado, catalasa positiva y capaz de crecer en un medio con elevada concentración de sal (NaCl al 10%); esta bacteria es un versátil patógeno humano y animal, en el ganado bovino, es el agente causal más importante de infección en glándulas mamarias (mastitis). La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), es una técnica usada en biología molecular, siendo en los últimos años la principal herramienta para diagnóstico de patologías tóxico infecciones e identificación genética de microorganismos, gracias a su alta especificidad, sensibilidad, adaptabilidad y aplicabilidad. El objetivo de este trabajo fue estandarizar la técnica de PCR para los genes nucleasa y coagulasa en cepas de *S. aureus* aislados de bovinos positivos a la prueba de mastitis California. Se emplearon como Iniciadores, gen *coa*: F- 5'ATAGAGATGCTGGTACAGC3' y R - 5'GCTTCCGATTGTTTCGATGC3', y gen *nuc*: F- 5'GCGATTGATGGTGATACGGTT3' y R- 5'AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC3'.

Para la evaluación de la reproducibilidad de la PCR se emplearon dos cepas ATCC de *S. aureus* como control positivo (ATCC 43300 y ATCC 29213) y 31 cepas de *Staphylococcus* spp obtenidos en un estudio previo de mastitis bovina del departamento de Boyacá (Colombia). Se determinó que las condiciones del reactivo usado para la PCR (*2X PCR Taq MasterMix with dye*) para los genes *nuc* y *coa*, está listo para usar generando buenos resultados con ambos genes; se ajustaron temperaturas y tiempos en fase de hibridación para obtener óptimos resultados, en el caso del gen *nuc* a 56,7°C y 40 segundos, y para

el caso del gen *coa* a 60,4°C y 30 segundos. Por su parte, la evaluación de la reproducibilidad de la PCR usando cepas bacterianas aisladas a partir de muestras bovinas presentó una sensibilidad de 100% para el gen *nuc* y 90,32% para el gen *coa*. La técnica de PCR para los genes *nuc* y *coa* establece un método para la detección temprana de cepas de *S. aureus* y otras cepas de SCP, a partir de muestras de diferentes orígenes (humano y animal) y los cuales son causantes de enfermedades, infecciones e intoxicaciones.

**Palabras clave:** Reacción en Cadena de la Polimerasa, *Staphylococcus aureus*, Coagulasa, Nucleasa, Mastitis bovina.

### Agradecimientos

A la Universidad de Boyacá, Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico y su grupo de investigación.





**Polymerase chain reaction for nuclease and coagulase genes in *Staphylococcus aureus***

**Keywords:** Polymerase Chain Reaction, *Staphylococcus aureus*, Coagulase, Nuclease, Bovine mastitis.

**Abstract**

*Staphylococcus aureus* is a Gram-positive coccus, facultatively anaerobic, immobile, not sporulated, catalase positive and able to grow in medium with high salt concentration (10% NaCl); This bacterium is a versatile human and animal pathogen, in cattle, it is the most important causal agent of infection in mammary glands (mastitis). The Polymerase Chain Reaction (PCR), is a technique used in molecular biology, being in recent years the main tool for diagnosis of pathologies toxic infections and genetic identification of microorganisms, thanks to its high specificity, sensitivity, adaptability and applicability. The objective of this work was to standardize the PCR technique for the nuclease and coagulase genes in strains of *S. aureus* isolated from bovine positive to the California mastitis test. They were used as Initiators coa gene: F- 5'ATAGAGATGCTGGTACAGC3' and R -5'GCTTCCGATTGTTCGATGC3', and nuc gene: F- 5'GCGATTGATGGTGATACGGTT3' and R- 5'AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC3'. For the evaluation of PCR reproducibility, two ATCC strains of *S. aureus* were used as positive control (ATCC 43300 and ATCC 29213) and 31 *Staphylococcus* spp strains obtained in a previous study of bovine mastitis in the department of Boyacá (Colombia). It was determined that the conditions of the reagent used for the PCR (2X PCR Taq MasterMix with dye) for the genes nuc and coa, is ready to use, generating good results with both genes; temperatures and times in the hybridization phase were adjusted to obtain optimal results, in the case of the nuc gene at 56.7 ° C and 40 seconds, and for the case of the coa gene at 60.4 ° C and 30 seconds. On the other hand, the evaluation of PCR reproducibility using bacterial strains isolated from bovine samples showed a sensitivity of 100% for the nuc gene and 90.32% for the coa gene. The PCR technique for the nuc and coa genes establishes a method for the early detection of strains of *S. aureus* and other strains of SCP, from samples of different origins (human and animal) and which are the cause of diseases, infections and poisonings.

**Diversidad molecular de *Alphacoronavirus* en perros y gatos de Bogotá, Colombia durante 2014-2017**

<sup>1</sup>Nelson F Santana C, <sup>2</sup>Diana P Reyes R, <sup>2</sup>David F Arango F, <sup>2</sup>Alejandro Velandia M, <sup>1</sup>Paulo E Brandão.

<sup>1</sup>Universidade de São Paulo, FMVZ, VPS, <sup>2</sup>Clinivet Clínica Veterinária, Bogotá-Colombia. nfsantanac@usp.br

**Resumen**

Alphacoronavirus 1 (Nidovirales: Coronaviridae: Coronavirinae: Alphacoronavirus) es la especie de virus para los virus de tipo huésped Gastroenteritis transmisible Virus (TGEV), Coronavirus felino (FCoV) y Coronavirus canino. CCoV ocurre como genotipos CCoV-I y CCoV-II, que se divide en CCoV-IIa y CCoV-IIb, siendo el primer tipo pantrópico. Durante los años 2014-2016, se recogieron muestras fecales de 33 cachorros con enteritis hemorrágica y 5 gatos con ascitis o derrame torácico en una clínica privada en el noroeste de Bogotá, Colombia. Las muestras de perros y gatos se analizaron para detectar el gen M de Alphacoronavirus 1 y las muestras positivas se analizaron con los genes S, N, 3b. Las muestras de perros también se probaron para el Parvovirus canino (CPV) con una PCR dirigida a la VP2. Los amplicones se secuenciaron con Sanger y las secuencias se usaron para construir árboles filogenéticos de máxima verosimilitud con (1,000 réplicas de arranque) usando el software MEGA 7. Todas las muestras fueron negativas al CPV. Seis muestras fueron positivas al gen M (una de un gato y cinco de perros). El árbol de genes M mostró dos grupos, uno con 5 secuencias de perros y otro con la secuencia de un gato. Para el gen N, se encontraron dos grupos. Finalmente, el análisis S mostró un subtipo CCoV IIa con un perro y dos muestras, una de perro y otra de gato, en el subtipo CCoV IIb. Estos hallazgos sugieren la recombinación homóloga entre FCoV y CCoV IIb. El CCoV pantrópico ha sido reportado en muchos países como Grecia, Italia, Japón, Francia, Bélgica y Brasil, pero esta es la primera detección molecular en Colombia.

**Palabras clave:** Coronavirus canino, Coronavirus felino, tipo pantropico, árbol filogenético, recombinación homóloga.

**Molecular diversity of *Alphacoronavirus* from dogs and cats of Bogotá, Colombia during 2014-2017**

**Abstract**

*Alphacoronavirus 1* (Nidovirales: Coronaviridae: Coronavirinae: Alphacoronavirus) is the virus species for the host-type viruses Transmissible Gastroenteritis Virus (TGEV), Feline Coronavirus (FCoV) and Canine Coronavirus. CCoV occurs as genotypes CCoV-I and CCoV-II, that is divided in CCoV-IIa and CCoV-IIb, being the first pantropic type. During the years 2014-2016, fecal samples were collected from 33 puppies with hemorrhagic enteritis and 5 cats with ascites or thoracic effusion in a private clinic in the north west of Bogotá, Colombia. Samples from dogs and cats were tested for *Alphacoronavirus 1* gene M and the positive samples were then tested to genes S, N, 3b. Dog samples were also tested for Canine Parvovirus (CPV) with a PCR targeted to the VP2. Amplicons were Sanger-sequenced and sequences used to build maximum likelihood phylogenetic trees with (1,000 bootstrap replicates) using software MEGA 7. All samples were negative to CPV. Six samples were positive to gene M (one from a cat and five from dogs). The gene M tree showed two clusters, one with 5 sequences of dogs and another with the sequence of one cat. For the gene N, two clusters were found. Finally, S analysis showed a subtype CCoV IIa with one dog and two samples one of dog and one of cat, in the subtype CCoV IIb. These findings suggest homologous recombination between the FCoV and CCoV IIb. The pantropic CCoV has been reported in many countries like Greece, Italy, Japan, France, Belgium and Brazil, but this is the first molecular detection in Colombia.

**Keywords:** Canine Coronavirus, feline Coronavirus, pantropic type, phylogenetic tree, homologous recombination.

## **Resistencia fenotípica y genotípica de *Salmonella* spp aisladas de granjas avícolas de Santander**

Rafael Castro-Vargas<sup>1,2</sup>, Est. MVZ; Luz Clemencia Fandiño de Rubio<sup>2</sup>, Lic Bacteriología. MSc, Andrea Vega<sup>2</sup> MVZ, Iang Rondón-Barragán<sup>1,2\*</sup>, MVZ, MSc, PhD.

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en Inmunología y Biología Molecular, <sup>2</sup>Grupo de Investigación en Avicultura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad del Tolima. \*e-mail: [isrondon@ut.edu.co](mailto:isrondon@ut.edu.co)

### **Resumen**

La salmonelosis es una enfermedad prevalente en salud pública, y considerada una de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) de difícil control a nivel mundial. En Colombia se han reportado casos de salmonelosis tanto en animales como en humanos, siendo estos últimos infectados principalmente por el consumo de alimentos de origen animal, especialmente de origen aviar. Aunado a este problema sanitario se ha reportado multirresistencia de las cepas aisladas lo cual dificulta el tratamiento. El presente trabajo tiene como objetivo caracterizar serotípicamente cepas de *Salmonella* spp (n=15), provenientes de muestras de pollos de engorde de granjas avícolas del departamento de Santander, así como determinar la resistencia fenotípica y genotípica a antibióticos de los aislamientos. Adicionalmente, se busca establecer el origen plasmídico de dicha resistencia y la presencia de integrones de clase I asociada a las cepas multirresistentes. Dentro de los resultados del estudio, se ha determinado mediante el sistema automatizado de MicroScan que las 15 cepas de *Salmonella* spp. presentan resistencia a 10 de los 18 antibióticos contemplados tales como ampicilina, ciprofloxacina, tetraciclina y trimetoprim/ sulfametoxazol. Por otro lado, la evaluación de la resistencia genotípica mostró que todas las cepas presentan genes que confieren resistencia a antibióticos como ceftriaxona, ceftiofur, estreptomina, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, sulfametoxazol, entre otros. Estos resultados parciales demuestran una alta tasa de resistencia a antibióticos de los aislamientos de *Salmonella* spp. provenientes de producciones avícolas, lo cual puede deberse al uso inadecuado

de antibióticos en las producciones, generando la necesidad de evaluar el uso de los diferentes principios activos antibióticos en las producciones avícolas, así como a buscar estrategias que disminuyan la aparición de cepas multirresistentes y reduzcan su posible impacto en la salud pública.

**Palabras clave:** *Salmonella*, resistencia, antibióticos, avicultura.



**Phenotypic and genotypic resistance of  
*Salmonella* spp isolated from poultry farms in  
 Santander**

**Abstract**

Salmonellosis is a prevalent disease in public health, and considered one of the diseases transmitted by food (ETAs) difficult to control worldwide. In Colombia, cases of salmonellosis have been reported in both animals and humans, the latter being infected mainly by the consumption of foods of animal origin, especially of avian origin. In addition to this health problem, multiresistance of the isolated strains has been reported, which makes treatment difficult. The present work aims to serotypically characterize *Salmonella* spp strains (n = 15). from samples of broilers of poultry farms of the department of Santander, as well as to determine the phenotypic and genotypic resistance to antibiotics of the isolations. Additionally, it is sought to establish the plasmid origin of said resistance and the presence of class I integrons associated with multiresistant strains. Within the results of the study, it has been determined through the automated MicroScan system that the 15 strains of *Salmonella* spp. present resistance to 10 of the 18 antibiotics contemplated such as ampicillin, ciprofloxacin, tetracycline and trimethoprim / sulfamethoxazole. On the other hand, the evaluation of genotypic resistance showed that all strains have genes that confer resistance to antibiotics such as ceftriaxone, ceftiofur, streptomycin, nalidixic acid, ciprofloxacin, sulfamethoxazole, among others. These partial results demonstrate a high rate of resistance to antibiotics from the *Salmonella* spp. isolates, coming from poultry production, which may be due to the inappropriate use of antibiotics in production, generating the need to evaluate the use of different antibiotic active ingredients in poultry production, as well as to look for strategies that reduce the appearance of multiresistant strains and reduce its possible impact on public health.

**Keywords:** *Salmonella*, resistance, antibiotics, poultry.



## **Efecto de dos productos inmunomoduladores sobre la línea leucocitaria en lechones destetados**

Ricci Terraza Martínez<sup>1</sup>, Bacteriólogo; Hermes Ordoñez Olivares<sup>1</sup>, MVZ Esp.; Jorge Humberto Contreras Castro<sup>1</sup>, Biol. MSc; Gustavo Adolfo Ardila Pinto<sup>1</sup>, MVZ.

Instituto Universitario de la Paz. <sup>1</sup>Grupo de Investigación en Producción y Ciencia Animal (PROCA), Docente Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Instituto Universitario de la Paz, Barrancabermeja, Colombia. e-mail: ricci.terraza@unipaz.edu.co

### **Resumen**

La producción porcina avanza cada día en proporcionar lechones destetados en menor tiempo con óptima ganancia de peso y excelente salud. El destete es una de las etapas más críticas en la vida productiva del cerdo, ya que el lechón sufre estrés por los cambios sociales, ambientales y nutricionales que experimenta, como separación física de la madre y variación súbita de la dieta, generando un deterioro del sistema inmune e inmunosupresión y exponiéndolo a cualquier agente patógeno e incluso a la muerte. El objetivo fue determinar el efecto de dos productos Inmunomoduladores sobre la línea leucocitaria (Total de Glóbulos Blancos, %Granulocitos, %Linfocitos y %Monocitos) en lechones destetados. Trabajándose en el núcleo de producción porcina del Instituto Universitario de la Paz, se utilizaron 24 lechones de 21 días de nacidos de raza Large White/Landrace, distribuidos en tres tratamientos al azar donde el (T1), fue el grupo control, (T2) con aplicación de Inmunocel®, (T3) se suministró Inmul-V© LHA. Se tomaron muestras en tres momentos día 0, 15 y 30. Para los glóbulos blancos se procesaron las muestras en el equipo automatizado de hematología Mindray BC-2800Vet y para el recuento diferencial de granulocitos, linfocitos y monocitos la coloración de Hemacolor© con lectura en 100x al microscopio óptico. Para el tratamiento de datos se estableció el uso de estadística no paramétrica, aplicando la prueba de Kruskal-Wallis, y se demostraron diferencias significativas mediante la prueba de Bonferroni, utilizando el software estadístico SPSS Statistics

21.0. En los resultados para las variables glóbulos blancos y monocitos no se encontraron diferencias entre tratamientos y momentos, ( $p > 0,05$ ), para linfocitos se encontraron diferencias en el momento dos ( $p < 0,05$ ) entre el T1 y T2, no con el resto de tratamientos; para granulocitos se encontraron diferencias entre T1 y T2 y T1 y T3. Se pudo concluir que la aplicación de los inmunomoduladores para los glóbulos blancos y monocitos mantiene un equilibrio del comportamiento celular en los lechones. Para los linfocitos y granulocitos en el momento 2 y 3, refleja acción inmunomoduladora positiva frente al testigo en estas poblaciones celulares, lo cual sugiere una acción protectora, de activación, de control y prevención de afecciones del sistema inmune.

**Palabras clave:** Homeopáticos, inmunomoduladores, alopatócos, leucocitos, granulocitos, destete.



## **Effect of two immunomodulatory products on the leukocitary line in weaned piglets**

### **Abstract**

Swine production advances every day to provide weaned piglets in less time with optimal weight gain and excellent health. Weaning is one of the most critical stages in the productive life of the pig, since the piglet suffers stress due to the social, environmental and nutritional changes that it undergoes, such as physical separation of the mother and sudden variation of the diet, generating a deterioration of the immune system and immunosuppression and exposing it to any pathogen and even to death. The objective was to determine the effect of two Immunomodulatory products on the leukocyte line (Total White Blood Cells, % Granulocytes, % Lymphocytes and % Monocytes) in weaned piglets. Working in the swine production nucleus of the University Institute of La Paz, 24 piglets of 21 days of births of Large White / Landrace breed were used, distributed in three random treatments where the (T1), was the control group, (T2) with Inmunocel © application, (T3) Inmul-V © LHA was delivered. Samples were taken in three moments day 0, 15 and 30. For the white blood cells, the samples were processed in the automated Mindray BC-2800Vet haematology equipment and for the differential count of granulocytes, lymphocytes and monocytes the colour of Hemacolor © with 100x reading under an optical microscope. For the treatment of data, the use of non-parametric statistics was established, applying the Kruskal-Wallis test, and significant differences were demonstrated by the Bonferroni test, using the statistical software SPSS Statistics 21.0. In the results for the variables white blood cells and monocytes no differences were found between treatments and moments, ( $p > 0.05$ ), for lymphocytes differences were found at time two ( $p < 0.05$ ) between T1 and T2, not with the rest of treatments; for granulocytes differences were found between T1 and T2 and T1 and T3. It was possible to conclude that the application of the immunomodulators for the white blood cells and monocytes maintains a balance of the cellular behaviour in the piglets. For lymphocytes and granulocytes at time 2 and 3, it reflects positive immunomodulatory action against the control in

these cell populations, which suggests a protective action, activation, control and prevention of immune system conditions.

**Keywords:** Homeopathic, immunomodulatory, allopathic, leukocytes, granulocytes, weaning.

## **Evaluación de la calidad microbiológica de leche cruda bovina procedente de 10 municipios de Nariño**

Rocío Esperanza Patiño Burbano<sup>1</sup>, Henry David Mogollón García<sup>1</sup>, Edwin Castro Rincón<sup>1</sup>, Sabrina del Carmen Jiménez Velásquez<sup>1</sup>, Eliana Maritza Guerrero Narváez<sup>1</sup>, Saida Lorena Cabrera Cabrera<sup>1</sup> y José Luis Rodríguez Bautista<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Corporación colombiana de investigación agropecuaria (AGROSAVIA). rpatino@corpoica.org.co; mogollongarcia@hotmail.com; ecastro@corpoica.org.co; sjimenez@corpoica.org.co; emguerreron@corpoica.org.co; slcabrera@corpoica.org.co <sup>2</sup>Universidad Federal de Rio.jlrodriguez@yahoo.com

### **Resumen**

La cuenca lechera de Nariño se ha fortalecido en los últimos años, la producción de leche es de 327.6 millones de litros de leche lo que representa una participación del 5,7% en Colombia, el volumen de acopio es de 800 a 900 mil litros diarios, de tal forma que es importante establecer la calidad sanitaria de la leche que se produce en el departamento de Nariño. El objetivo de este trabajo fue detectar microorganismos patógenos de importancia en salud pública en la leche cruda bovina del departamento de Nariño. Para este estudio, se colectaron 397 muestras provenientes de 18 asociaciones, de 10 municipios del departamento de Nariño. La evaluación microbiológica se realizó mediante detección por el sistema Molecular Detection Assay de 3M para *Salmonella spp*, *Escherichia coli* O157, *Listeria spp* y *L. monocytogenes*, y por técnicas convencionales para *Yersinia spp* y *Staphylococcus aureus*, los porcentajes de patógenos fueron determinados empleando el procedimiento PROC FREQ, del paquete estadístico SAS versión 9.4. Se encontró *Listeria spp* en 9,57% (38/397), *L. monocytogenes* en un 5,54% (22/397), *Yersinia spp* 2,77% (11/397) y *S. aureus* 10,08%, no hubo detección de *Salmonella spp* y *E. coli* O157 en las muestras analizadas. No se encontró asociación estadística entre la presencia del microorganismo y el municipio de origen de la muestra ( $p > 0.05$ ). Estos hallazgos muestran la presencia de microorganismos patógenos en leche, un indicador de la calidad

higiénica, que puede influir sobre la producción láctea de origen bovino. Estos resultados reflejan la necesidad de continuar con la evaluación de la calidad de la leche y el desarrollo de estrategias de capacitación en buenas prácticas de producción de intervención sanitaria, para disminuir la presencia de microorganismos patógenos en la leche que faciliten la implementación de medidas de manejo tendientes a disminuir el riesgo de transmisión de enfermedades en humanos por la ingesta de alimentos contaminados.

**Palabras clave:** Bovino, infección alimentaria, microorganismos patógenos.



## **Evaluation of the microbiological quality of raw milk from 10 municipalities of Nariño**

### **Abstract**

The dairy basin of Nariño has been strengthened in recent years, milk production is 327.6 million litres of milk which represents a share of 5.7% in Colombia, the volume of storage is 800 to 900 thousand litres per day, in such a way that it is important to establish the sanitary quality of the milk produced in the department of Nariño. The objective of this work was to detect pathogenic microorganisms of importance in public health in raw bovine milk from the department of Nariño. For this study, 397 samples were collected from 18 associations, from 10 municipalities of the department of Nariño. The microbiological evaluation was performed by detection by the Molecular Detection Assay system of 3M for *Salmonella* spp, *Escherichia coli* O157, *Listeria* spp and *L. monocytogenes*, and by conventional techniques for *Yersinia* spp and *Staphylococcus aureus*, the percentages of pathogens were determined using the procedure PROC FREQ, from the statistical package SAS version 9.4. *Listeria* spp was found in 9.57% (38/397), *L. monocytogenes* in 5.54% (22/397), *Yersinia* spp 2.77% (11/397) and *S. aureus* 10.08%, there was no detection of *Salmonella* spp and *E. coli* O157 in the analysed samples. No statistical association was found between the presence of the microorganism and the municipality of origin of the sample ( $p > 0.05$ ). These findings show the presence of pathogenic microorganisms in milk, an indicator of hygienic quality, which can influence the dairy production of bovine origin. These results reflect the need to continue with the evaluation of the quality of milk and the development of training strategies in good practices of health intervention production, to reduce the presence of pathogenic microorganisms in milk that facilitate the implementation of management measures tending to decrease the risk of transmission of diseases in humans by the intake of contaminated food.

**Keywords:** Cattle, foodborne diseases, pathogenic microorganisms.



## **Diagnóstico molecular y susceptibilidad a antibióticos de clostridios aislados de bovinos muertos súbitamente**

Steven Rosas<sup>1</sup>; Julián Martínez<sup>1</sup>, Rubén Toro-Ortíz<sup>1</sup>; Cesar Jiménez<sup>2</sup>; Mauricio Estrada<sup>2</sup>; Julio Tobón<sup>2</sup>; Verónica Rincón<sup>1</sup>; Zulma Suarez-Moreno<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Investigación y Desarrollo. Empresa Colombiana de Productos veterinarios, VECOL S.A.

<sup>2</sup>Proyecto Piloto de excelencia sanitaria. Empresa Colombiana de Productos veterinarios, VECOL S.A

### **Resumen**

En Colombia el diagnóstico del síndrome de muerte súbita de los bovinos causado por bacterias del género *Clostridium*, se realiza principalmente mediante técnicas microbiológicas, las cuales no siempre responden a las necesidades de sensibilidad y especificidad que tiene el sector pecuario para este tipo de patologías. Por ello, en este estudio, se diseñó y estandarizó una técnica de PCR en tiempo real (qPCR) para la detección de *Clostridium septicum*, *C. chauvoei*, *C. perfringens*, *C. sordellii*, *C. novyi* tipo B y D. Se realizó el diagnóstico en muestras impregnadas con fluidos de animales muertos súbitamente y se emplearon como controles positivos plásmidos quiméricos con secuencias correspondientes a cada especie de *Clostridium* y cepas de referencia de la American Type Cell Culture (ATCC) para la estandarización de la técnica. Las muestras positivas por qPCR, fueron cultivadas en diferentes medios bacteriológicos hasta lograr aislamiento de colonias individuales correspondientes al fenotipo descrito para varias especies de clostridios, posteriormente se realizó la caracterización bioquímica (lecitinasa-lipasa, Swarming, indol y ureasa). La caracterización molecular se realizó por PCR convencional, amplificando y secuenciando la región correspondiente al gen 16S rRNA. El análisis de las secuencias se realizó con el software Geneious 10.2.4, y las secuencias ensambladas se compararon con las bases de datos EZ taxón y GenBank, para confirmar su identidad. Finalmente, se obtuvo el perfil de susceptibilidad a los antibióticos: azitromicina, bacitracina, ceftriaxona, cloranfenicol, enrofloxacina,

lincomicina, oxitetraciclina, penicilina, y tetraciclina, y se observó una tendencia de resistencia a la asociación de los antibióticos sulfametacina/trimetropin dato importante para la indicación del uso de diferentes antibióticos en la terapia para la clostridiosis. Los resultados evidenciaron la utilidad del qPCR en el diagnóstico de especies del género *Clostridium*, y en estudios de seguimiento epidemiológico.

**Palabras clave:** *Clostridium* spp, antibiograma, biología molecular, muerte súbita.



**Molecular diagnosis and susceptibility to clostridium antibiotics isolated from suddenly dead cattle**

**Keywords:** *Clostridium* spp, antibiogram, molecular biology, syndrome of sudden death.

**Abstract**

In Colombia, the diagnosis of the syndrome of sudden death of bovines caused by bacteria of the genus *Clostridium*, is mainly made by microbiological techniques, which do not always respond to the needs of sensitivity and specificity that the livestock sector has for this type of pathologies. Therefore, in this study, a real-time PCR technique (qPCR) was designed and standardized for the detection of *Clostridium septicum*, *C. chauvoei*, *C. perfringens*, *C. sordellii*, *C. novyi* type B and D. The diagnosis was made in samples impregnated with fluids from suddenly killed animals and chimeric plasmids with sequences corresponding to each *Clostridium* species and reference strains of the American Type Cell Culture (ATCC) were used as standard controls for the standardization of the technique. The qPCR-positive samples were cultured in different bacteriological media until isolation of individual colonies corresponding to the phenotype described for several *Clostridium* species was obtained, followed by biochemical characterization (lecithinase-lipase, Swarming, indole and urease). The molecular characterization was carried out by conventional PCR, amplifying and sequencing the region corresponding to the 16S rRNA gene. The analysis of the sequences was performed with the Geneious 10.2.4 software, and the assembled sequences were compared with the EZ taxon and GenBank databases, to confirm their identity. Finally, the profile of susceptibility to antibiotics was obtained: azithromycin, bacitracin, ceftriaxone, chloramphenicol, enrofloxacin, lincomycin, oxytetracycline, penicillin, and tetracycline, and a tendency of resistance to the combination of antibiotics sulfamethacin / trimethoprin was observed, important information for the indication of the use of different antibiotics in the therapy for clostridiosis. The results showed the usefulness of qPCR in the diagnosis of *Clostridium* species, and in epidemiological follow-up studies.



**Perfiles electroforéticos de las proteínas del virus de la fiebre aftosa en las suspensiones vacunales**

Tatiana Garces, Luis Fernando Arbelaez.

Grupo de investigación en química, Facultad de Ciencias Básicas; Universidad de Pamplona. [tatygarces@gmail.com](mailto:tatygarces@gmail.com); [luisfernandoarbelaezramirez@gmail.com](mailto:luisfernandoarbelaezramirez@gmail.com).

**Resumen**

La fiebre aftosa, es una infección altamente contagiosa en mamíferos de pezuña hendida, donde el método mas efectivo para lograr su erradicación ha sido la vacunación preventiva, la cual obliga cada vez más a tener vacunas de mejor calidad y por ende se deben buscar métodos que puedan verificar estos productos. Las proteínas no capsidales y capsidales pertenecientes al virus son utilizadas para la determinación de la pureza y la potencia de la vacuna respectivamente, por ende, es muy importante conocerlas. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es monitorear estas proteínas en las diferentes suspensiones de la elaboración de la vacuna anti aftosa. Usando el método de electroforesis de poliacrilamida SDS-PAGE y un marcador de peso molecular de bajo rango, se evaluaron las proteínas presentes en las suspensiones de la elaboración de la vacuna anti aftosa, las cuales fueron secuenciadas por la técnica de MALDI-TOF. Los resultados permitieron observar en el cultivo de virus, varias proteínas provenientes de hospedador de orden Rodentia, debido a que el virus es cultivado en una línea celular BHK (riñón de hámster lactante); en la misma suspensión se identifico una banda proveniente de una proteína no capsidal con un peso molecular de 51 KDa, llamada 3D, es una polimerasa fundamental en el proceso de replicación del virus, igualmente se identificó una proteína capsidal del virus la proteína VP3, la cual es una de las mas inmunogénicas de la cápside del virus. En cuanto a la suspensión del sobrenadante se identifico solo la albumina bovina y en la solución concentrada, se encontró nuevamente la proteína VP3 y un fragmento de una proteína no capsidal, la 3A. Se logro evidenciar algunas de las proteínas pertenecientes a este virus, su peso molecular, información importante para buscar la mejor

manera de purificación, con proyección a producir anticuerpos de estas, útiles para la fabricación de un kit de Elisa directo que mida en la vacuna la cantidad de remanente de las proteínas no capsidales.

**Palabras clave:** Virus de fiebre aftosa, electroforesis, proteína capsidales y no capsidales, MALDI-TOF.



## **Electrophoretic profile of aphthosa fever virus proteins in vaccine suspensions**

### **Abstract**

Foot-and-mouth disease (FMD) is a highly contagious infection in cloven-hoofed mammals, where the most effective method to achieve its eradication has been preventive vaccination, which increasingly requires having better quality vaccines and therefore must seek methods that can verify these products. The non-capsid and capsid proteins belonging to the virus are used to determine the purity and potency of the vaccine respectively, therefore, it is very important to know them. Therefore, the objective of the present work is to monitor these proteins in the different suspensions of the preparation of the anti-aphthous vaccine. Using the SDS-PAGE polyacrylamide electrophoresis method and a low molecular weight marker, the proteins present in the suspensions of the preparation of the FMD vaccine were evaluated, which were sequenced by the MALDI-TOF technique. The results allowed to observe in the culture of virus, several proteins coming from host of order Rodentia, because the virus is cultivated in a cell line BHK (lactating hamster kidney); In the same suspension, a band from a non-capsid protein with a molecular weight of 51 KDa, called 3D, was identified. It is a fundamental polymerase in the virus replication process, and a VP3 protein capsid protein was identified. which is one of the most immunogenic of the virus capsid. Regarding the suspension of the supernatant, only bovine albumin was identified and in the concentrated solution, the VP3 protein and a fragment of a non-capsid protein, 3A, were again found. It was possible to demonstrate some of the proteins belonging to this virus, its molecular weight, important information to find the best way of purification, with projection to produce antibodies of these, useful for the manufacture of a direct Elisa kit that measures in the vaccine the remnant amount of non-capsular proteins.

**Keywords:** Foot-and-mouth disease virus, electrophoresis, capsid and non-capsid protein, MALDI-TOF.



**Identificación bacteriana en superficies de la clínica de pequeños animales Francisco de Asís**

Leidy Jasmín Cucaita Peña<sup>1</sup>, Ángela Cristina Ariza Suárez<sup>2</sup>, Viviana Gómez- Carrillo<sup>3</sup>, Luz Andrea Sierra Sánchez<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Estudiante X semestre M.V. Grupo IRABI, Fundación Universitaria Juan de Castellanos, [lcucaita@jdc.edu.co](mailto:lcucaita@jdc.edu.co).

<sup>2</sup>MV, PhD. Grupo IRABI, Docente Fundación Universitaria Juan de Castellanos, [aariza@jdc.edu.co](mailto:aariza@jdc.edu.co). <sup>3</sup>MV, MSc., Grupo IRABI, Docente Fundación Universitaria Juan de Castellanos, [rgomez@jdc.edu.co](mailto:rgomez@jdc.edu.co). <sup>4</sup>MV, MSc, Docente Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. [luzand24@gmail.com](mailto:luzand24@gmail.com)

*aureus* se halló en la mesa de infecciosas, *Salmonella* spp en la báscula de consultorio y *Escherichia coli* en la mesa de hospitalización. Los resultados permitieron establecer la presencia de bacterias de interés por su riesgo nosocomial, obteniendo un primer análisis microbiológico, que se convierte en una guía para la evaluación futura y refuerzo de los protocolos de limpieza y desinfección en la clínica.

**Palabras clave:** Bacterias, zoonosis, análisis microbiológico.

**Resumen**

La flora bacteriana presente en las clínicas veterinarias puede ser una fuente de infección para otros pacientes hospitalizados e inmunocomprometidos, además de ser una fuente potencial para el desarrollo de zoonosis en el personal que labora en ellas. En términos de bioseguridad esta situación es preocupante, ya que las tasas de morbilidad y mortalidad pueden aumentar. El riesgo puede ser mayor al existir patógenos en superficies con alto nivel de manipulación, consideradas zonas de alta sensibilidad de contaminación. El objetivo de este estudio fue identificar las bacterias presentes en las superficies de quirófano, consultorio, hospitalización e infecciosas de la clínica de pequeños animales Francisco de Asís, mediante la técnica de hisopado de superficie. El diseño metodológico se basó en un muestreo de detección/no detección de bacterias Gram positivas y Gram negativas, siendo un diseño no probabilístico a conveniencia. Los resultados fueron analizados por estadística descriptiva y las proporciones expresadas en porcentajes de aislamiento, para su comparación se usó una prueba de bondad de Chi-cuadrado. Se obtuvieron en total 20 muestras y se realizaron 10 cultivos (dos muestras por área) de las cinco áreas de la clínica. Las bacterias encontradas en su mayoría fueron Gram positivas (93,75%), de las cuales *Staphylococcus* spp fueron las de mayor proporción (50%) seguido de *Streptococcus* spp (37.5%). Las bacterias Gram negativas se aislaron en menor proporción (6.25%) De otro lado, *S.*



**Bacterial identification present on surfaces from small animals clinic Francisco de Asís**

**Abstract**

The bacterial flora present in veterinary clinics can be a source of infection for other hospitalized and immunocompromised patients, as well as being a potential source for the development of zoonoses in the personnel that work in them. In terms of biosecurity, this situation is worrisome, since morbidity and mortality rates may increase. The risk may be higher when there are pathogens on surfaces with a high level of handling, considered to be highly sensitive areas of contamination. The objective of this study was to identify the bacteria present on the surfaces of the operating room, clinic, hospitalization and infectious diseases of the clinic of small animals Francisco de Asís, using the technique of surface swab. The methodological design was based on a sampling of detection / non-detection of Gram-positive and Gram-negative bacteria, being a non-probabilistic design at convenience. The results were analyzed by descriptive statistics and the proportions expressed in isolation percentages. For comparison, a chi-square test was used. A total of 20 samples were obtained and 10 cultures were carried out (two samples per area) of the five clinic areas. The bacteria found mostly were Gram positive (93.75%), of which *Staphylococcus* spp were the highest proportion (50%) followed by *Streptococcus* spp (37.5%). Gram-negative bacteria were isolated in a smaller proportion (6.25%). On the other hand, *S. aureus* was found in the infectious table, *Salmonella* spp in the office scale and *Escherichia coli* in the hospitalization table. The results allowed establishing the presence of bacteria of interest due to their nosocomial risk, obtaining a first microbiological analysis, which becomes a guide for the future evaluation and reinforcement of the cleaning and disinfection protocols in the clinic.

**Keywords:** Bacteria, zoonoses, microbiological analysis.