

# Patología

## Alteraciones histopatológicas multiorgánicas en lechones postdestetos causadas por LPS de *Escherichia coli*\*

### *Histopathological multiorganic changes caused by Escherichia coli LPS in postweaning piglets*

Angélica María Zuluaga Cabrera<sup>1</sup>, Est MV; Laura Ortiz<sup>1</sup>, MV, MSc; Berardo Rodríguez<sup>2</sup>, MV, Esp Patol, PhD; María Consuelo Ramírez Rojas<sup>3</sup>, MV, MSc; Albeiro López Herrera<sup>3</sup>, Zoot, MV, MSc, DrSci; Jaime Eduardo Parra Suescún<sup>2</sup>, Zoot, MSc, (c)PhD.

\*Proyecto financiado por Dirección de Investigaciones Medellín (DIME), Código QUIPU 20301007862, Universidad Nacional de Colombia y por el Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) número 20096000 Universidad de Antioquia. <sup>1</sup>Grupo de investigación Quirón Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Colombia. <sup>2</sup>Profesor Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, AA 1226, Medellín. \*mariacon\_1@hotmail.com, teléfono: 2199124. <sup>3</sup>Profesor, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Animal, Grupo BIOGEM AA 1779, Colombia

El destete precoz de los cerdos es un proceso crítico, en el que los lechones son vulnerables a enfermedades infecciosas que afectan las mucosas digestivas y generan grandes pérdidas económicas a la industria porcina. El desbalance intestinal de microorganismos en este periodo y el incremento de *Escherichia coli* induce lisis bacteriana y liberación de Lipopolisacáridos (LPS). Aunque el potencial patogénico de los LPS es conocido, se han realizado escasos estudios que documenten de manera integrada las alteraciones anatomopatológicas sistémicas en lechones durante el periodo postdestete. Por esta razón se realizó este estudio con el objetivo de caracterizar y comparar las alteraciones histopatológicas en varios órganos en lechones postdestetos sometidos experimentalmente a diferentes dosis de LPS. El estudio se realizó con 52 lechones destetados a los 21 días de edad. Los animales fueron alimentados con una dieta basal adicionada con cuatro niveles de LPS (0.0, 0.3, 0.5 y 1.0 µg/mg de alimento) durante 10 días. Los cerdos se sacrificaron escalonadamente los días 1, 5, 7 y 10 postdestete y se tomaron muestras de intestino, riñón, nódulo linfático mesentérico, hígado, bazo y pulmón, para determinar las alteraciones histopatológicas asociadas. El procesamiento y evaluación de los tejidos fue se efectuó de la siguiente manera: 1. Tinción de rutina con Hematoxilina y eosina; 2. Numeración aleatorizada, (para análisis ciego); 3. Gradación de las lesiones según hallazgos histopatológicos en leve ( $\leq 30\%$  de compromiso de la muestra), moderado (entre 30% y 60%) y severo ( $\geq 60\%$ ). El diseño estadístico empleado fue bloques en un arreglo factorial 4 x 4. Las principales lesiones histopatológicas observadas fueron: nefrosis vacuolar, linfadenitis aguda, cambio graso hepático, esplenitis aguda, colitis aguda y neumonía intersticial, acompañadas en general por infiltración de neutrófilos. Se evidenció mayor severidad en las lesiones en los animales sometidos a LPS que en los que consumieron únicamente una dieta basal. Las lesiones observadas corresponden a un cuadro séptico con alteración multiorgánica, agravado por la acción del LPS.

**Palabras clave:** bacteria Gram negativa, histopatología, inflamación, sepsis.

**Key words:** Gram-negative bacteria, histopathology, inflammation, sepsis.

## Análisis de la distribución intestinal de mucinas en lechones en el período postdestete

### *Analysis of intestinal mucins distribution on piglets during postweaning period*

María Consuelo Ramírez Rojas<sup>1</sup>; MV, MS; Jaime Eduardo Parra Suescún<sup>2</sup>, Zoot, MS, (c)PhD; Berardo de Jesús Rodríguez<sup>1</sup>, MV, Esp, PhD; Albeiro López Herrera<sup>2</sup>, Zoot, MV, MS, DrSci

<sup>1</sup>Grupo de investigación Quirón, Profesor Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia. \*mariacon\_1@hotmail.com teléfono 2199124. <sup>2</sup>Profesor, Producción Animal, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias Sede Medellín. AA 1779, Medellín, Colombia. Grupo BIOGEM

El destete precoz en los cerdos predispone al desarrollo de alteraciones estructurales y funcionales en el intestino y a enteritis causadas por bacterias como *Escherichia coli*; la cual utiliza el LPS de su pared como uno de sus principales factores patogénicos. Se desconocen los efectos del LPS sobre la cantidad de células caliciformes y sobre la distribución de las mucinas en las diferentes porciones del intestino; además se desconoce si esta distribución predispone a la infección por otros agentes bacterianos en el periodo postdestete. Debido a que ese conocimiento es necesario para comprender la patogenia de las enteritis postdestete y para diseñar estrategias terapéuticas, se formula este proyecto con el objetivo de determinar el efecto del LPS de *E. coli* sobre la cantidad de células caliciformes y sobre la distribución de las mucinas en las diferentes porciones del intestino en lechones recién destetados. Además se espera determinar si hay asociación entre el efecto combinado del LPS y el tipo de mucinas sobre la proliferación de bacterias durante el destete. Las muestras se obtuvieron de un estudio previo que se realizó con 52 lechones destetados a los 21 días de edad. Los animales fueron alimentados con una dieta basal adicionada con cuatro niveles de LPS (0.0, 0.3, 0.5 y 1.0 µg/mg de alimento) durante 10 días. Los cerdos se sacrificaron escalonadamente los días 1, 5, 7 y 10 postdestete y se tomaron muestras del intestino. En estas muestras se efectuarán cortes histológicos de 4 µm de espesor y se realizarán coloraciones histoquímicas para determinar la cantidad de células caliciformes, el área de coloración de las mucinas ácidas, neutras y sulfatadas, y su distribución en las porciones del intestino, mediante análisis computarizado de imágenes. Usando la coloración Gram modificado por sandiford y Warthin-Starry se determinará la cantidad de bacterias y su asociación con el tipo de mucina. Para el análisis estadístico se empleará el diseño bloques en un arreglo factorial 4 x 4. Este proyecto da continuidad al proyecto titulado "Efecto del lipopolisacárido de *E. coli* sobre la expresión de citoquinas séricas y alteraciones morfológicas tisulares asociadas, en lechones recién destetados".

**Palabras clave:** célula caliciforme, intestinos, lipopolisacárido (LPS), porcino destetado.

**Key words:** goblet cell, intestines, lipopolysaccharide (LPS), weaned pig.

## Análisis filogenético del genotipo 3 de VHE circulante en Antioquia y caracterización de lesiones hepáticas asociadas en porcinos\*

### *Phylogenetic analysis of genotype 3 HEV circulating in Antioquia and characterization of associated hepatic lesions in pigs\**

Jorge Eduardo Forero Duarte<sup>1</sup>, Bact, MSc; Daniel Ospina Vélez<sup>2</sup>, Zoot; Cristian Camilo Gutiérrez Vergara<sup>3</sup>, Zoot; Erica Tatiana Loaiza Echeverri<sup>4</sup>, MV, MSc; Guillermo Correa Londoño<sup>4</sup>, In g Fors, MSc, PhD; Jaime Eduardo Parra Suescún<sup>5</sup>, Zoot, MSc, PhD(C); Berardo Rodríguez<sup>6</sup>, MV, Esp, PhD; Albeiro López Herrera<sup>7</sup>, Zoot, MV, MSc, DSci.

\*Proyecto financiado por Colciencias, Código 111851929088. <sup>1</sup>Estudiante de doctorado en Ciencias Animales. Universidad de Antioquia <sup>2</sup>Estudiante de Maestría en Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia. Grupo BIOGEM. <sup>3</sup>Profesor Asistente. Universidad Pontificia Bolivariana, Sede Medellín, Escuela de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Grupo de Investigación en Salud Pública. <sup>4</sup>Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Ingeniería Forestal. <sup>5</sup>Profesor Auxiliar. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Animal, Grupo BIOGEM, AA 1779, Colombia. <sup>6</sup>Profesor Asistente. Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo GRICA. Colombia. <sup>7</sup>Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Animal, Grupo BIOGEM, AA 1779, Colombia.

El HEV es un virus RNA, de sentido positivo, clasificado en la familia *Hepeviridae*. Se transmite por vía fecal-oral y su presentación clínica va desde asintomática hasta la falla hepática fulminante. Las tasas de mortalidad son bajas, pero en regiones endémicas puede alcanzar una mortalidad de 25% en mujeres embarazadas. Microscópicamente, los cerdos infectados presentan evidencias de inflamación hepática caracterizada por una linfoplasmositosis multifocal y periportal con signos de necrosis hepatocelular. Mediante RT-PCR se ha detectado RNA viral en el hígado intestino delgado, nódulos linfáticos y colon sin embargo se desconoce el sitio exacto de su replicación. A partir de las secuencias disponibles el VHE se ha clasificado en 4 genotipos principales. Los genotipos 1 y 2 están asociados a humanos los genotipos 3 y 4 se han recuperado de cerdos y otros animales, que podrían actuar de reservorio en zonas no endémicas en las cuales la zoonosis podría ser una vía de transmisión. En Colombia, se demostró la presencia del genotipo 3 en pacientes con hepatitis viral aguda sin marcadores para VHA, VHB y VHC, indicando la circulación del virus en el país; sin embargo, no se conoce la situación epidemiológica, las cepas circulantes y las características histológicas de la infección. Mediante pruebas moleculares se analizará filogenéticamente los genotipos presentes en humanos y cerdos en Antioquia y se caracterizarán las lesiones histopatológicas asociadas a los genotipos en los porcinos. Para ello se tomarán muestras de sangre y heces de 1000 cerdos y de 40 humanos en plantas de sacrificio y de 850 cerdos y 120 humanos en granjas de Antioquia. Se determinará la presencia de IgM mediante ELISA y RT-PCR y se secuenciará un fragmento del genoma viral de los virus hallados. A los animales con serología positiva y presencia del virus en granja, se seguirán hasta el faenado para tomar muestras de hígado con el fin de identificar las lesiones histopatológicas asociadas a la infección y demostrar la presencia de antígenos virales por inmunohistoquímica. Al finalizar, se espera obtener una caracterización filogenética de las cepas virales circulantes y su relación con las lesiones encontradas en hígados de cerdos.

**Palabras clave:** ELISA, filogenética, histopatología, RT-PCR  
**Key words:** ELISA, histopathology, phylogenetic, RT-PCR

## Apoptosis en la patogenia de la infección experimental con *Ehrlichia canis* en órganos linfohematopoyéticos de caninos domésticos\*

### *Apoptosis in the pathogenesis of experimental infection with Ehrlichia canis in lymphohematopoietic organs of domestic dogs*

Irma Ximena Barbosa Sánchez<sup>1,3</sup>, MVZ, MSc, PhD(c); Teresa de Jesús Oviedo Socarrás<sup>2,3</sup>, MVZ, MSc, PhD(c); Nubia Braga Pereira<sup>2</sup>, Biol, MSc, PhD(c); Miguel Ladino Silva<sup>4</sup>, MV, MSc, PhD(c); Rosangela Zacarias Machado<sup>5</sup>, MV, MSc, PhD; Anilton César Vasconcelos<sup>3</sup>, MV, MSc, PhD.

\*Entidades financiadoras: CNPq, FAPEMIG, FAPESP

<sup>1</sup>Universidad del Tolima, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Laboratorio de Patologías, <sup>2</sup>Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, <sup>3</sup>Universidad Federal de Minas Gerais, Departamento de Patología General, ICB, Laboratorio de Apoptosis, <sup>4</sup>Universidad Estadual Paulista, FCAV, Departamento de Clínica y Cirugía Veterinaria, <sup>5</sup>Universidad Estadual Paulista, FCAV, Departamento de Patología Veterinaria, Laboratorio de Inmunoparasitología.

La erliquiosis monocítica canina es una enfermedad zoonótica que afecta caninos domésticos, es causada por *Ehrlichia canis*, bacteria Gram negativa, intracitoplasmática obligada. Algunos perros desarrollan un estado portador y otros desarrollan una infección aguda que puede complicarse y llegar a causar la muerte rápidamente. Por otro lado, la apoptosis es un importante mecanismo para eliminar patógenos intracelulares, géneros como *Ehrlichia* y *Anaplasma* modulan mecanismos apoptóticos para prolongar su sobrevivencia. Con el fin de estudiar la dinámica inflamatoria y evaluar el papel de la apoptosis en la infección experimental con *E. canis*, se estudiaron dos grupos de caninos, en el primer grupo (infectados) fueron inoculados vía intravenosa tres mililitros de sangre completa infectada con *Ehrlichia canis* aislado Jaboticabal a cuatro caninos machos clínicamente sanos mestizos, con edades entre los 6 y 8 meses. En el segundo grupo (control) se inoculó tres mililitros de solución salina estéril a tres animales con características similares. Semanalmente y hasta 35 días pos-inoculación fueron tomadas muestras de sangre para realización de frotis, hemogramas, nPCR e inmunofluorescencia. Diariamente se tomó la temperatura rectal y se realizó examen clínico. 36 días pos-inoculación los animales fueron tranquilizados con acepromacina y sacrificados por sobredosis de pentotal sódico. Necropsias fueron realizadas, muestras de médula ósea, bazo, nódulo linfático, riñón e hígado fueron tomadas para realización de técnica de TUNEL, inmunohistoquímica (Bcl-2, Bax, caspasas tres y ocho) y qRT-PCR para INF- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . Los animales inoculados fueron positivos para *E. canis* por inmunofluorescencia desde la tercera semana pos-inoculación y por nPCR a partir de la segunda semana pos-inoculación. Los frotis sanguíneos no fueron una buena alternativa para el diagnóstico, ya que en pocos animales se encontraron mórulas. El grupo control mostró negatividad para *E. canis* en todas las pruebas realizadas. La Técnica de túnel mostró diferencias entre los grupos y los tejidos colectados cuando sometidos a análisis de contingencia, test de chi-cuadrado con  $p < 0.05$ . Los órganos que mostraron mayor marcación fueron bazo y nódulo linfático. Será realizada inmunohistoquímica para Bcl-2, Bax, caspasa tres y ocho, qRT-PCRs para INF- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . Los resultados serán analizados y correlacionados entre sí.

**Palabras clave:** erliquiosis monocítica canina, inmunofluorescencia, muerte celular programada, nPCR.

**Key words:** canine monocytic ehrlichiosis, cell death program, immunofluorescence, nPCR.

## Cambios histológicos del duodeno proximal en pollos alimentados con *Morus alba* y concentrado comercial

### *Histological changes of the duodenum proximal in chickens fed with Morus alba and commercial concentrate*

Juan Carlos Tarazona Calderón<sup>1</sup>, Est MV; Sandra Paola Rodríguez González<sup>1</sup>, MVZ, Esp; Elías Carvajal Gómez<sup>1</sup>, MV, Esp

<sup>1</sup>Grupo IRABI Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Tunja

En pollos de engorde la mucosa del tracto gastrointestinal sufre un proceso de maduración hasta los quince días post eclosión para alcanzar y desarrollar adecuadamente la superficie de absorción, lo que implica el crecimiento y

maduración de las vellosidades intestinales y glándulas de Lieberküng, por lo cual es necesario buscar alternativas nutricionales para satisfacer los requerimientos de los animales y que representen una disminución de los costos de producción. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los cambios histológicos del duodeno proximal suministrando porcentajes de morella (*morus alba*) y concentrado comercial. Se utilizaron 36 pollos Ross de un día de edad, se seleccionaron por un método al azar para establecer tres grupos así: T1: concentrado comercial iniciación, T2: 50% de Morella y 50% de concentrado comercial, T3: 25% de Morera y 75% de concentrado comercial. Las aves se sacrificaron a los días 1, 7, 15, tomándose 3 cm de duodeno proximal, las muestras se procesaron bajo la tinción de hematoxilina – eosina previa inclusión en parafina, los datos obtenidos de cada variable (cantidad, longitud y ancho de la vellosidad), se analizaron con el método estadístico *Shapiro-Wilk*. El análisis histológico de la porción duodenal de las aves con inclusión de morera en un 25% en su dieta, evidenció una mayor integridad de las vellosidades intestinales en menor tiempo, los parámetros que mejor se desarrollaron fueron la longitud y la cantidad de vellosidades, las que alcanzaron su desarrollo máximo al día 7 frente al grupo control. El mayor de los beneficios que se puede encontrar al incluir *Morus alba* en las dietas, es el obtener un desarrollo de las vellosidades con buenas características morfométricas y alométricas en un menor tiempo para los pollos en su etapa de iniciación y de esta forma mejorará el desarrollo post eclosión del duodeno y se optimizará la capacidad de absorción de los nutrientes.

**Palabras clave:** duodeno, morfología, post eclosión, vellosidad.

**Key words:** duodenum, morphology, post hatching, villus.

### Cambios morfológicos de las vellosidades intestinales de pollos de engorde al adicionar ácido cítrico y prokura probiotic paste® en el agua de bebida

#### *Morphological changes of intestinal villi of broiler chickens by adding citric acid and probiotic paste Prokura® in drinking water*

Helena María Barrera<sup>1</sup>, Est MVZ; Sandra Paola Rodríguez González<sup>2</sup>, MVZ

<sup>1</sup> Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. UPTC Tunja. <sup>2</sup>Docente Fundación Universitaria Juan de Castellanos. Tunja.

El proceso de maduración de la mucosa duodenal de pollos de engorde alcanza su máximo desarrollo entre el 10 y 15 día pos eclosión y la longitud del intestino aumenta durante la primera semana de vida, por lo que las empresas avícolas buscan nuevas fuentes de aditivos de origen natural que sean inofensivos pero que tengan efecto similares a los antibióticos promotores de crecimiento, el objetivo del estudio fue evaluar histológicamente y alométricamente la porción proximal duodenal de pollos de engorde al adicionar ácido cítrico y Prokura Probiotic Paste® en el agua de bebida. Para ello se utilizaron 102 pollos machos Ross de un día de edad distribuidos por un método al azar en 34 individuos por grupo así, A: agua + 2.5 gr de ácido cítrico, B: agua + 0.3 ml de Prokura® Probiotic Paste, C: agua; se sacrificaron a los días 1, 7, 15, 35 tomándose 3 cm de duodeno proximal, las muestras se procesaron bajo la tinción de hematoxilina - eosina previa inclusión en parafina, las observaciones y mediciones se realizaron utilizando un microscopio de luz Model dmwb1 – 223 digital biological microscopi®. La longitud se midió desde la base de la vellosidad hasta el ápice que se encuentra hacia el lumen del órgano y la amplitud se tomó de su parte basal; la escala que se utilizó fue milímetros (mm) siendo analizadas en objetivo de 10x y tomando en promedio 10 vellosidades por campo de microscopio. Se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos y las variable (cantidad, longitud, ancho), por lo que se realizó la comparación por la prueba de Fisher, las diferencias ( $p < 0.05$ ) se presentaron en la cantidad y longitud de las vellosidades a favor de la presencia de Prokura® Probiotic Paste en el agua de bebida al día 7 de edad, con la adición de ácido cítrico se obtuvo mayor amplitud de la vellosidad ( $p < 0.05$ ) al mismo día de edad. El uso de sustancias orgánicas como probióticos y ácido cítrico ayuda a desarrollar en el día 7 de edad un mejor comportamiento para las vellosidades en cuanto a su cantidad, longitud y amplitud favoreciendo el proceso de la mucosa intestinal post eclosión.

**Palabras clave:** altura, histología, longitud, pos eclosión, vellosidad.

**Key words:** after hatching, height, histology, length, villus.

### Descripción histológica de los cérvix con alteraciones morfológicas macroscópicas en piezas de hembras bovinas post-mortem

#### *Histological description of the cervix with morphologic macroscopic alterations of female bovine in post-mortem pieces*

Luis Arturo Cárdenas Pinto<sup>1</sup>, MVZ, Esp; Luz Zoraya Duarte Rodríguez<sup>2</sup>, MVZ Esp; Hugo Alexander Calderón Niño<sup>3</sup> MVZ; Samuel Enrique Jaimes Meneses<sup>4</sup> MVZ

*Docente, Grupo de Investigación en Ciencias Animales (GRICA), Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,<sup>2</sup> Docente patología, Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,<sup>3</sup>Estudiante, Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,<sup>4</sup>Estudiante, Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.*

El éxito reproductivo de un hato es el mayor factor económico en una empresa ganadera, lo que genera alta exigencia en la selección de hembras para programas reproductivos, ya que la mayoría de biotecnologías utilizadas involucran el paso del catéter por el cérvix. El presente trabajo buscaba identificar las posibles alteraciones histológicas que puedan explicar las desviaciones cervicales macroscópicamente. Se requirió tinción de rutina hematoxilina-eosina, tinción de Masson y de PAS (ácido peryódico de Schiff). Se seleccionaron 36 cérvix, 2 cérvix normal (control) y 34 cérvix con alteraciones morfológicas en forma de C, espiral, L, S, U, T, Y, Z, en el frigorífico Vijagual. Se consideró la longitud y puntos de desviación para cada muestra; para el análisis microscópico en cada una las capas del cérvix, se observaron por campo el número de infiltrados, presencia de vasos sanguíneos, la proporción del tejido conectivo de la sub mucosa, de la túnica muscular, y la presencia o ausencia de la hiperplasia de la mucosa. Se realizó estadística descriptiva de las lesiones macroscópicas y microscópicas utilizando tablas de contingencia de frecuencias y porcentajes, en forma univariada y bivariada, y adicionalmente se utilizaron las pruebas de  $X^2$  y Fisher. Por medio del análisis estadístico se encontró asociación de la hiperplasia de la mucosa y las diferentes alteraciones cervicales, explicando porque se presentaba la evidencia de la banda blanquecina observada en las diferentes desviaciones. De acuerdo a los resultados obtenidos a nivel histológico se encontró que 48.7% del total de las muestras presentó hiperplasia a nivel de la mucosa. Se encontraron 2 muestras correspondientes a L4 y S4 las cuales presentaban en su morfología un quinto anillo de Burdi. El número de parto en hembras multiparas genera adaptaciones celulares que ocasionan la pérdida de la normalidad anatómica uterina; microscópicamente se puede sugerir que el puerperio y los mecanismos inflamatorios asociados influyen respectivamente en la densidad del tejido conectivo y en el número de células de la mucosa, encontrando que posiblemente se puedan atribuir estos cambios por eventos de remplazo celular, generado por muerte celular programada por el cortisol fetal o sustancias pro inflamatorias facilitando el recambio celular y el efecto hiperplásico que se acompaña con el incremento de tejido conectivo.

**Palabras clave:** biotecnología, bovino, hiperplasia, histopatología, úteros.

**Key words:** biotechnology, bovine, uterus, histopathology, hyperplasia.

### Diagnóstico inmunohistoquímico de rabia bovina en casos archivados como encefalitis inespecíficas

#### *Immunohistochemical diagnoses of bovine rabies in cases filed as non-specific encephalitis*

Luis M Montoya-Flórez<sup>1</sup>, MVZ, MSc; César Betancurt<sup>2</sup>, MVZ, MSc; Francisco Pedraza-Ordoñez<sup>3</sup>, MV, MSc, (c)PhD.

<sup>1</sup>Grupo Patología Veterinaria, Manizales-Colombia. maomontoya53@yahoo.es. <sup>2</sup>Universidad de Córdoba, Montería Colombia. <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil

Las encefalitis en bovinos comprenden un grupo de enfermedades importantes por el peligro potencial que representan para la salud humana y las pérdidas económicas que ocasionan. Se realizó un estudio inmunohistoquímico que tuvo como fin recuperar diagnósticos de encefalitis viral en muestras de encéfalo de bovino fijados en formalina ácida y conservada en bloques de parafina. Se colectaron trece muestras, ocho procedentes del laboratorio del Instituto Colombiano Agropecuario en Montería y cinco del laboratorio del ICA-CEISA en

Bogotá, todas con diagnóstico de encefalitis inespecífica por histopatología. Los tejidos procedían de bovinos de la raza cebú y sus cruces, con edades diversas, 11 casos pertenecían a animales procedentes de la Costa Atlántica, uno de Tuluá (Valle) y otro de La Dorada (Caldas). En todos los animales fueron descritos síntomas de enfermedad neurológica y se desconoce si se realizó la prueba de inmunofluorescencia para rabia. En el laboratorio, fragmentos de los tejidos fueron procesados por la técnica inmunoperoxidada indirecta utilizando un anticuerpo policlonal DFA Chemicon® a una dilución de 1:200. El análisis estadístico utilizado fue de tipo descriptivo. La detección de antígenos del virus de la rabia pudo demostrarse en 3 de las 13 muestras analizadas (23%), la distribución de los antígenos fue vista en agregados pequeños en el citoplasma de las neuronas con un patrón de forma redonda u oval y un número variable de corpúsculos de inclusión viral. Se discute sobre la importancia de la técnica para la recuperación de casos de rabia en cortes histológicos de cerebro, fijados en formol y archivados sin diagnóstico definitivo, así mismo, sobre cual debe ser la interpretación de los casos negativos. En conclusión, es importante el uso de la IHQ para la demostración de antígenos del virus en cortes histológicos de sistema nervioso central, especialmente aquellos casos que no puedan ser sometidos a las pruebas obligatorias, además de la practicidad en la colecta de muestras teniendo en cuenta las difíciles condiciones geográficas de algunas zonas ganaderas del país. Se recomiendan futuras investigaciones en las que se haga un muestreo mayor incluyendo regiones anatómicas del SNC por las que el virus tiene tropismo.

**Palabras clave:** bovinos, inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, *lyssavirus*, *meningoencefalitis*.

**Key words:** bovine, immunofluorescence, immunohistochemistry, *lyssavirus*, *meningoencephalitis*.

## Efeito do veneno bruto da *Loxosceles similis* no modelo de implante subcutâneo de esponjas em camundongos swiss

### The effect of the crude venom of *Loxosceles similis* on the subcutaneous sponge implant model in swiss mice

Núbia Braga Pereira, Bióloga<sup>1</sup>, MSc; Paula Peixoto Campos<sup>2</sup>, Bióloga, MSc, PhD, PPHD; Teresa de Jesús Oviedo Socarrás<sup>3</sup>, MV, Zoot, MSc, FMVZ, PhD; Thaiane Salgado Pimenta<sup>4</sup>, Est Biol; Soraia Silvéria Silva<sup>5</sup>, Bióloga, MSc, PhD, Sílvia Passos Andrade<sup>6</sup>, Fisioterapeuta, PhD, PPHD; Evanguedes Kalapothakis<sup>5</sup>, Biólogo, PhD; Luciana Moro<sup>6</sup>, MV, PhD, PPHD

<sup>1</sup>Universidade Federal de Minas Gerais; <sup>2</sup>Universidade Federal de Minas Gerais; <sup>3</sup>Universidad de Córdoba, Montería, Colombia; <sup>4</sup>Universidade Federal de Minas Gerais; <sup>5</sup>University of Manchester; <sup>6</sup>Universidade Federal de Minas Gerais

O envenenamento por aranhas *Loxosceles* conduz a um conjunto de sinais e sintomas, denominado loxoscelismo, que na maioria dos casos se manifesta sob o quadro dermonecrotico. No coelho, 2 h após a inoculação intradérmica de 0.5 µg de veneno bruto de *Loxosceles similis* já se observam trombose e células endoteliais apoptóticas, inclusive na interface trombo/vaso. Porém, para realizar o estudo da apoptose de células endoteliais *in vivo*, tornou-se necessário utilizar um modelo animal de menor porte. Considerando que o modelo de implante de esponjas em camundongo funciona como um cultivo de células endoteliais *in vivo*, decidiu-se observar a ação do veneno sobre essas células. Verificar a viabilidade do modelo para o estudo do Loxoscelismo e a indução de apoptose em células endoteliais de implantes subcutâneos com 14 dias inoculados com veneno bruto de *L. similis*. O projeto foi aprovado pelo CETEA (229/09). Foram utilizados 18 camundongos Swiss (8 semanas), implantados subcutaneamente com esponjas de poliéster poliuretano e divididos em 2 grupos: controle – 9 animais cujos implantes foram inoculados com 25 µl de PBS; tratados – 9 animais cujos implantes foram inoculados com 0,5 µg de veneno em 25µl de PBS. Os animais foram eutanasiados com Xilazina/ Ketamina após 1 e 4h. Fragmentos de esponja foram fixados em formol 10% tamponado (para inclusão em parafina) ou pesados para dosagens bioquímicas de hemoglobina, citocinas e microscopia eletrônica. As alterações microscópicas observadas foram: edema, infiltrado inflamatório predominantemente neutrófilo, hemorragia intensa e trombose (características de loxoscelismo). Além disso, o teste de permeabilidade vascular indicou maior difusão da fluoresceína sódica no grupo tratado (10 min.) em relação ao controle (18 min.). Estudos morfométricos da área de vasos do grupo controle (718,7 µm<sup>2</sup> a 1075 µm<sup>2</sup>) e tratados (1181 µm<sup>2</sup> a 2496 µm<sup>2</sup>) apresentaram diferença estatística (p<0.0001), indicando a ação vasodilatadora do veneno. O modelo poderá ser utilizado para o estudo do efeito do veneno de *L. similis* em células endoteliais.

**Palabras-chave:** apoptose, endotélio, loxoscelismo.

**Key words:** apoptosis, endothelium, loxoscelism.

## Evaluación histopatológica de órganos y lesiones en hicoetas (*Trachemys callirostris*) en condiciones *ex situ*, Departamento de Córdoba

### Histopathology evaluation bodies and injuries in *Trachemys callirostris* in *ex situ* conditions, Departament of Cordoba

Juan C Carrascal<sup>1</sup>, MSc; Julio Chacón<sup>1</sup>, Biól; Juan C Linares<sup>1</sup>, MSc.

<sup>1</sup>Universidad de Córdoba Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. [jcvelasque@yahoo.es](mailto:jcvelasque@yahoo.es)

Colombia como uno de los países con mayor biodiversidad en el mundo, posee un alto potencial para el comercio de bienes y servicios provenientes de la vida silvestre a partir de estrategias de aprovechamiento sostenible. Sin embargo, la extracción ilegal de fauna silvestre se considera en el país como uno de los aspectos que genera más problemáticas en la conservación de fauna. De esta forma, la hicoeta (*Trachemys callirostris*) se considera como una de las especies más traficadas, generando un impacto en las poblaciones naturales, situación que se refleja en la cantidad de especímenes de hicoeta que llegan al Centro de Atención y Valoración de fauna silvestre (CAV – CVS) de Montería en condiciones desfavorables, donde existe un desconocimiento acerca de distintos aspectos de la medicina de la conservación para la especie, es por esto que este estudio buscó evaluar postmortem la histopatología de los órganos y lesiones externas de 30 hicoetas que ingresaron producto del tráfico ilegal al CAV durante los años 2009 y 2010, a los datos obtenidos se les aplicó un análisis de frecuencias y estadística descriptiva, siendo el 83.3% de los individuos hembras en su mayoría grávidas, dejando un 16.6% del total, perteneciente a los machos. Se encontró en la inspección externa que el 90% de los individuos presentaron un síndrome descamativo de caparazón y plastrón o también conocido como enfermedad septicémica ulcerativa cutánea (SCUD), además, se observaron lesiones a nivel de sistema respiratorio, digestivo, y sistema reproductor, como enfisemas pulmonares, úlceras gástricas, necrosis del oviducto y retención de huevo.

**Palabras clave:** medicina de la conservación, *Trachemys callirostris*, tráfico ilegal.

**Key words:** conservation medicine, illegal trade, *Trachemys callirostris*.

## Evaluación inmunocitoquímica de peces nativos colombianos candidatos para centinelas en estudios de ecotoxicidad\*

### Immunocytochemical evaluation of Colombian native fish candidates for sentinel in ecotoxicity studies

Diego Aranzazu Taborda<sup>1</sup>, MV, Esp, Est MSc; Beatriz Vieco Durán<sup>2</sup>, Bacteriología; Dubel Ignacio Balvin<sup>1</sup>, MV, Est MSc; Biviana Andrea Duque Agudelo, Est MV; Luis Fernando Restrepo<sup>1</sup>, Estadístico, Esp; Berardo de Jesús Rodríguez<sup>1</sup>, MV, Esp, PhD

\* Corporación para el desarrollo de la investigación, CODI, Universidad de Antioquia, 20092027

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en patobiología Quirón. Docentes Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, <sup>2</sup>Laboratorio de Inmunohistoquímica. Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia.

Varias especies de peces se han utilizado para monitorear toxicidad ambiental utilizando pruebas implementadas por la OECD y por la USEPA. Recientemente la atención se ha dirigido hacia el desarrollo de indicadores sensibles del estrés inducido por la contaminación en las especies acuáticas. La inmunolocalización tisular de la proteína Vitelogenina (Vtg) en peces machos, se usa actualmente como biomarcador de contaminación por disruptores endocrinos. Algunos peces se han utilizado como centinelas de ecotoxicidad, ellos son: *Oryzias latipes* en Japón, *Danio rerio* en Europa y *Pimephales promelas* en EEUU; ocasionalmente son utilizadas las especies *Poecilia reticulata* y *Gasterosteus aculeatus*. Como se puede observar, en esta lista no se incluyen especies propias de Suramérica y mucho menos de Colombia. Este estudio se realizó con el objetivo de evaluar si el anticuerpo monoclonal anti-tilapia Vtg (Biosense, MAb ND – 5F8), produce reacción cruzada utilizando la técnica de inmunocitoquímica en dos especies icéticas nativas colombianas, (*Prochilodus magdalenae* y *Rambdia spp*), candidatas para utilizarse como centinelas para monitorear ecotoxicidad. Se evaluaron 16 bocachicos (*P. magdalenae*) y 25 barbudos (*Rambdia spp*) machos aparentemente sanos no inducidos hormonalmente de la estación piscícola de la

Universidad de Antioquia, ubicada en el municipio de San Roque en Antioquia. Se tomaron muestras de hígado que fueron incluidas en parafina y coloreadas por la técnica de inmunocitoquímica para determinar la expresión tisular de Vtg. Como control positivo se utilizaron tejidos de tilapia con marcación positiva verificada previamente. Como control de coloración inespecífica se realizó la tinción sin la adición del anticuerpo primario. Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó estadística descriptiva calculando la proporción de inmunomarcación. Se encontró una inmunomarcación positiva para Vtg en el 87.5% (14/16) de los bocachicos y en el 92.0% (23/25) de los barbudos. Este hallazgo sugiere la presencia de xenobióticos disruptores endocrinos en la quebrada la vega, fuente de agua de la estación piscícola estudiada y verifica la reacción cruzada del anticuerpo primario en las especies evaluadas, por lo que se concluye que estas especies son candidatas para monitorear la contaminación por xenobióticos disruptores endocrinos en las cuencas hidrográficas colombianas.

**Palabras clave:** bio-monitoreo, disruptores endocrinos, polución, vitelogenina.

**Key words:** bio-monitoring, endocrine disruptors, pollution, vitellogenin.

### Evaluación histopatológica de la respuesta inflamatoria intestinal inducida por el Lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli* en cerdos en el período postdestete\*

#### *Histopathologic evaluation of the intestinal inflammatory response induced by Escherichia coli lipopolysaccharide (LPS) on swines during postweaning*

Johana María Grajales Torres<sup>1</sup>, Est MV; Laura Ortiz<sup>1</sup>, MV, MS; Berardo Rodríguez<sup>2</sup>, MV, Esp, PhD; María Consuelo Ramírez Rojas<sup>2</sup>, MV, MS; Albeiro López Herrera<sup>3</sup>, Zoot, MV, MSc, DrSci; Jaime Eduardo Parra Suescún<sup>3</sup>, Zoot, MSc, (c) PhD.

\*Proyecto financiado por Dirección de Investigaciones Medellín (DIME), Código QUIPU 20301007862, Universidad Nacional de Colombia y por el Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI) número 20096000 Universidad de Antioquia. <sup>1</sup>Grupo de investigación Quirón Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, Colombia. <sup>2</sup>Profesor Universidad de Antioquia, Facultad de Ciencias Agrarias, AA 1226, Medellín. \*mariacon\_1@hotmail.com, teléfono 2199124. <sup>3</sup>Profesor, Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Animal, Grupo BIOGEM AA 1779, Colombia.

En los cerdos la población microbiana del intestino antes del destete, está constituida por bacterias capaces de aprovechar los nutrientes de la leche, estos microorganismos mueren luego del destete y liberan LPS. Esta situación es potenciada por la práctica del destete precoz en la industria porcina. Aunque se ha documentado la capacidad de los LPS para inducir inflamación, son escasos los estudios que describen las alteraciones histopatológicas asociadas a los LPS en el intestino de lechones en el período postdestete. Por esta razón se realizó un estudio experimental con el propósito de implementar un modelo para investigar los mecanismos involucrados en el desarrollo de enteritis. El objetivo general fue determinar el efecto del LPS de *E. coli* sobre los cambios inflamatorios en el intestino delgado de cerdos recién destetados. Para ello se utilizaron 52 lechones, Duroc x Landrace, destetados a los 21 días de edad, con un peso aproximado de 6 kg, divididos en cuatro grupos a los cuales se les suministró, respectivamente, una dieta basal adicionada con diferentes niveles de LPS de *E. coli*: 0 µg/mg, 3 µg/mg, 5 µg/mg y 10 µg/mg de alimento. Los días 1, 5, 7 y 10 postdestete se sacrificaron 4 animales por tratamiento. Se tomaron muestras de intestino delgado que fueron procesadas por métodos histopatológicos convencionales y analizadas con microscopio óptico y con un sistema computarizado de análisis de imágenes. Se empleó el diseño estadístico bloques en un arreglo factorial 4 x 4. Se encontró que

el LPS induce un aumento dependiente de la dosis y del tiempo de exposición en la cantidad de leucocitos de la lámina propia, principalmente neutrófilos, eosinófilos, leucocitos globulares y macrófagos. La infiltración leucocitaria fue mayor en yeyuno e ileon, donde es más elevada. El LPS probablemente potencia los efectos adversos del destete precoz, induciendo enteritis con una consecuente disminución en la absorción de nutrientes y la presentación del síndrome de diarrea postdestete. Este estudio muestra la utilidad del análisis morfométrico computarizado para investigar la fisiopatología de los agentes causantes de enteritis y podría utilizarse para evaluar estrategias terapéuticas.

**Palabras clave:** destete, diarrea, enteritis, infiltración leucocitaria.

**Key words:** diarrhea, enteritis, leukocyte infiltration, weaning.

### Expresión de vitelogenina en tilapias macho de la estación piscícola de la Universidad de Antioquia en el municipio de San Roque, Antioquia\*

#### *Expression of vitellogenin in male tilapia from fish station at the University of Antioquia in the municipality of San Roque, Antioquia*

Diego Aranzazu Taborda<sup>1</sup>, MV, Esp, cMsc; Beatriz Vieco Durán<sup>2</sup>, Bacteriología; Bernardo de Jesús Rodríguez<sup>1</sup>, MV, Esp Patol, PhD

\*Corporación para el desarrollo de la investigación, CODI, Universidad de Antioquia, 20092027

<sup>1</sup>Grupo de Investigación en patobiología Quirón. Docentes Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, <sup>2</sup>Laboratorio de Inmunohistoquímica. Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia.

La medición de los cambios biológicos inducidos por la contaminación química en los ambientes acuáticos es útil en programas de biomonitorio para determinar ecotoxicidad. Esta aproximación se ha empleado extensamente en los ecosistemas en Norte América y en Europa; sin embargo, los estudios de las respuestas biológicas inducidas por los contaminantes en peces de las aguas suramericanas son escasos. La identificación de los efectos sobre la salud, la caracterización histopatológica de las lesiones inducidas por esos contaminantes y la expresión tisular de la proteína vitelogenina (Vtg) en peces machos, se usan actualmente como biomarcadores de contaminación; no obstante, estos métodos no se usan actualmente en Colombia. Por esta razón el objetivo de este estudio fue implementar la técnica de inmunohistoquímica para determinar el efecto disruptor endocrino de la contaminación ambiental en peces de agua dulce, como base para monitorear la contaminación en las cuencas hidrográficas colombianas. En este estudio se muestrearon 37 Tilapias macho aparentemente sanas no inducidas hormonalmente de la estación piscícola de la Universidad de Antioquia, ubicada en el municipio de San Roque en el departamento de Antioquia. Se tomaron muestras de hígado y gónadas que fueron incluidas en parafina por métodos histopatológicos convencionales y coloreados por la técnica de inmunocitoquímica utilizando el anticuerpo monoclonal anti-tilapia Vtg (Biosense, MA6 ND – 5F8) para determinar la expresión tisular de Vtg. Para el análisis de los datos obtenidos se utilizó estadística descriptiva calculando la proporción de inmunomarcación positiva. Se encontró una inmunomarcación positiva para la proteína Vtg en el 91.89 % (34/37) de los peces. Este hallazgo indica la presencia de xenobióticos disruptores endocrinos en la quebrada la vega, fuente de agua que abastece la estación piscícola estudiada. En este estudio se implementó la técnica de inmunocitoquímica para la determinación tisular de Vtg en peces, esta técnica permitirá realizar futuras investigaciones para monitorear la contaminación por xenobióticos disruptores endocrinos en las cuencas hidrográficas colombianas. Se requieren estudios adicionales para encontrar especies icticas nativas que puedan utilizarse como centinelas de ecotoxicidad.

**Palabras clave:** bio-monitoreo, disruptores endocrinos, inmunocitoquímica, peces.

**Key words:** bio-monitoring, endocrine disruptors, fish, immunocitochemistry.

## Inhibición *in situ* de la adhesión de *Pasteurella multocida* a receptores del epitelio respiratorio de conejos por medio de lectinas

### *In situ* adherence - inhibition of *Pasteurella multocida* to rabbits respiratory epithelium by means of lectins

Magda Patricia Carrillo Lamus<sup>1</sup>, MSc; Carlos Arturo Iregui Castro<sup>2</sup>, Direct Lab Pat Vet

*Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Patología Veterinaria por la estudiante Magda Patricia Carrillo Lamus como requisito parcial para optar por el título de Maestría en Salud Animal en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - UN.*

<sup>1</sup>Expositora. Salud Animal. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. [mpcarrillo@unal.edu.co](mailto:mpcarrillo@unal.edu.co). <sup>2</sup> Director del Laboratorio de Patología Veterinaria. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. [caireguic@unal.edu.co](mailto:caireguic@unal.edu.co). Teléfono: 3165000 extensiones 15402-15352 Laboratorio de Patología Veterinaria, Universidad Nacional de Colombia

Se evaluó la capacidad de dieciocho lectinas de inhibir la adhesión de *Pasteurella multocida* y la inducción de lesiones por este patógeno en el epitelio respiratorio de septo nasal de conejo. Se utilizaron cultivos de septo nasal de fetos de conejo de 26 días de gestación; para la evaluación de la adhesión y las lesiones se usó inmunoperoxidasa indirecta y cortes semi-delgados. Se diseñaron dos experimentos: incubación de los cultivos con las lectinas previa a la adición de la bacteria (EL) e incubación del microorganismo con las lectinas previa su adición al cultivo (PmL). Se evaluaron cinco alteraciones: porcentaje de adhesión de la bacteria, porcentaje de células muertas, con vacuolización, aumento de espacios intercelulares e hiperactividad de células calciformes. Análisis estadístico: para las hipótesis de ausencia-presencia de la bacteria que resultaron significativas ( $p < 0.01$ ) se aplicó la prueba de Duncan. Para el análisis de las lesiones, cuando las hipótesis fueron significativas ( $p < 0.01$ ) se realizó la prueba de Dunnett; y para las variables que no cumplieron el supuesto de homogeneidad de varianzas se realizó el ANAVA mediante la prueba de Kruskal-Wallis. En el experimento EL las lectinas SJA, RCA<sub>120</sub>, WGA y LCA inhibieron la adhesión y también disminuyeron las lesiones; esto demuestra que este epitelio posee cantidades representativas de D-manosa, D-glucosa, N-acetil-D-galactosamina que son reconocidas por *P. multocida*, y así mismo, ésta tiene estructuras con comportamiento similar a estas lectinas como la fimbria tipo IV. En el experimento PmL cuando *P. multocida* se incubó con las lectinas ConA, DSL, ECL y GSL II hubo inhibición del porcentaje de bacteria adherida y de las lesiones, esto demuestra que sobre la superficie bacteriana existen residuos de D-manosa, D-glucosa, N-acetil-D-glucosamina y N-acetil-D-galactosamina probablemente en la capsula o en la cadena O del LPS. Esto permite proponer estrategias terapéuticas o profilácticas como el uso de lectinas, alternas al uso de antibióticos y vacunas.

**Palabras clave:** *explantos, infección bacteriana, lectino histoquímica, patología*

**Key words:** *explants, bacterial infection, lectin histochemical*

## Uso de PCR en tiempo real (qPCR) para detectar Herpesvirus bovino 5 (BoHV-5) en tejido nervioso conservado en bloques de parafina

### Real time PCR (qPCR) for detection of Bovine Herpesvirus 5 (BoHV-5) in nervous tissue preserved in paraffin blocks

Francisco Pedraza-Ordóñez<sup>1</sup>, MV, (c)PhD; Ricardo Yamatogi<sup>2</sup>, MV, (c)PhD; Antonio Carlos Alessi<sup>3</sup>, MV, PhD; Joao Pessoa Araujo Jr.<sup>4</sup>, MV, PhD.

<sup>1</sup>Universidad de Caldas, Manizales, Colombia, <sup>2</sup>Doutorando FCAV-UNESP, Sao Paulo, Brasil. <sup>3</sup>Doutorando FMVZ-UNESP, Sao Paulo, Brasil, <sup>4</sup>FCAV-UNESP, Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil, <sup>5</sup>Profesor Titular, FMVZ-UNESP, Botucatu, Sao Paulo, Brasil.

El BoHV-5 es un alfa herpesvirus neurovirulento que causa meningoencefalitis fatal y tiene capacidad para establecer latencia en el ganglio trigemino. Los animales afectados muestran signos clínicos que se pueden confundir con la enfermedad de la rabia y otras afecciones nerviosas. Histológicamente hay meningoencefalitis no suprativa con cuerpos de inclusión intranucleares. La reacción serológica cruzada entre los diferentes herpesvirus hace que el levantamiento de mapas epidemiológicos sea difícil, sin embargo, se sabe que el BoHV-5 tiene distribución mundial. Muestras de cerebro conservado en bloques de parafina de 24 bovinos obtenidos en el Instituto Colombiano Agropecuario ICA de Bogotá, entre 2000 y 2004 y el ICA de Montería entre 2005 y 2009, fueron procesadas por qPCR (PCR en Tiempo Real) para detectar material genético del BoHV-5. Con el fin de extraer el ADN viral de los tejidos incluidos en parafina se utilizó el kit *Illustra™ tissue & cells genomicPrep Mini Spin*. Para la amplificación se utilizó el kit *Maxima Sybergreen qPCR* con los primers BoHV5-EBS, programando a 94 °C por 10 minutos, seguido por 40 ciclos de 95 °C durante 15 segundos y 60 °C por 30 segundos, con lectura en 60 °C. Las muestras positivas fueron identificadas por comparación de las curvas de disociación. Fue detectado material genético del BoHV-5 en dos casos que inicialmente habían sido archivados como encefalitis inespecíficas. En un estudio previo fueron detectados por nested-PCR cinco casos positivos a BoHV-5, los cuales fueron incluidos en los 24 casos de esta investigación; solo uno de ellos pudo ser confirmado por q-PCR. La diferencia entre positivos por las dos técnicas podría deberse a la cantidad de ADN extraído o simplemente por diferencia de sensibilidad entre ellas, lo cual es motivo de discusión. Se concluye que la técnica de qPCR es útil para recuperar diagnósticos en material de archivo respecto a las encefalitis inespecíficas de bovinos.

**Palabras clave:** *herpesvirus, inmunohistoquímica, meningoencefalitis, qPCR.*

**Key words:** *herpesvirus, immunohistochemistry, meningoencephalitis, qPCR.*