

1-1-2006

Análisis de los niveles de estrés inducido por enfermedad (*leptospira spp*), por medio de las variables cortisol y glucosa, en hatos de la Sabana de Bogotá

Carlos Javier Ahumada Moreno
Universidad de La Salle

Julio Eduardo Huerta Munevar
Universidad de La Salle

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria

Citación recomendada

Ahumada Moreno, C. J., & Huerta Munevar, J. E. (2006). Análisis de los niveles de estrés inducido por enfermedad (*leptospira spp*), por medio de las variables cortisol y glucosa, en hatos de la Sabana de Bogotá. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/215

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

ANALISIS DE LOS NIVELES DE ESTRÉS INDUCIDO POR ENFERMEDAD
(LEPTOSPIRA spp), POR MEDIO DE LAS VARIABLES CORTISOL Y
GLUCOSA, EN HATOS DE LA SABANA DE BOGOTA.

CARLOS JAVIER AHUMADA MORENO
JULIO EDUARDO HUERTA MUNEVAR

UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTA, D.C.
2006

ANALISIS DE LOS NIVELES DE ESTRÉS INDUCIDO POR ENFERMEDAD
(LEPTOSPIRA spp), POR MEDIO DE LAS VARIABLES CORTISOL Y
GLUCOSA, EN HATOS DE LA SABANA DE BOGOTA.

CARLOS JAVIER AHUMADA MORENO COD. 14992010
JULIO EDUARDO HUERTA MUNEVAR COD. 14992101

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar por el título de
Médico veterinario

Director: Dr. Ernesto Andrés Dalmau Barros
DMV.M.S.c

UNIVERSIDAD DE LA SALLE
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTA, D.C.

2006

APROBACIÓN

Director

Dr. Ernesto Andrés Dalmau Barros

Jurado

Dr. Germán Rodríguez Martínez

Jurado

Dr. Nicolás Urbina Rojas

Secretaria Académica

Dra. María Teresa Uribe Mallarino

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Rector: Hno Fabio Gallego Arias.

Vicerrector Académico: Hno Carlos Gabriel Gómez Restrepo.

Vicerrector de promoción y desarrollo humano: Hno Edgar Figueroa Abraham.

Vicerrector Administrativo: Dr. Mauricio Fernández Fernández

Decano de la facultad de Medicina Veterinaria: Dr. Pedro Pablo Martínez Mendez.

Secretaria Académica: Dra. María Teresa Uribe Mallarino.

COMPROMISO

El presente trabajo de grado no contiene ideas que de una u otra forma, sean contrarias a la Iglesia Católica, en cuanto a su doctrina, dogma y moral.

Las ideas aquí expuestas por el graduado, no son responsabilidad ni del director del proyecto de investigación, ni de los jurados de la Universidad de La Salle.

DEDICATORIA

Este trabajo lo queremos dedicar a nuestras familias, porque con su esfuerzo, dedicación, esperanza y persistencia, nos han acompañado en el transcurso de estos años y siempre han estado al lado, esperanzados en que algún día los sueños que tenemos se hagan realidad y nos den los frutos que tanto anhelamos.

A nuestros sobrinos que nos han dado la motivación de seguir adelante para que en un futuro se sientan orgullosos de lo que somos y tengan una mano amiga la cual podrán tomar en los buenos y malos momentos. También lo queremos dedicar a nuestros seres queridos que ya han marchado y que fueron parte importante de nuestro desarrollo personal, y ahora que ya tenemos las herramientas necesarias para definir nuestras vidas es hora de mirar hacia atrás y dar GRACIAS a los que están y a los que estuvieron.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a Dios por darnos unos excelentes padres y hermanas que con su esfuerzo y paciencia nos apoyaron no solo económicamente sino anímicamente durante el transcurso de estos años, y que gracias a el aun los tenemos para que nos acompañen en el recogimiento de frutos de nuestro desarrollo profesional.

Agradecemos al Doctor Cesar Díaz, que con sus conocimientos nos aporó significativamente en el desarrollo de nuestra tesis. A nuestros Jurados Dr. Germán Rodríguez y Dr. Nicolás Urbina quienes aportaron con su sabiduría para la realización de un buen trabajo. Agradecemos a nuestros compañeros David Suárez Y Cesar Caicedo por la colaboración prestada durante este año y medio de esfuerzos.

Queremos dar las gracias al Dr. Carlos Lozano, al Dr. Ricardo Chirivi y a Erika Claro. Quienes con sus consejos, permisos y paciencia nos permitieron que finalmente lleváramos a cabo este gran pasó que definirá nuestra vida profesional.

Agradezco a mi novia Alejandra Silva Duque quien me apoyo incondicionalmente durante las extenuantes jornadas de estudio y de trabajo y siempre ha estado aconsejándome para tomar buenas decisiones. (JEHM)

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN

1. MARCOTEÓRICO	1
1.1 GENERALIDADES	2
1.1.1 Activación neuroendocrina	3
1.1.2 Hormona corticotrópica adrenal (ACTH)	3
1.2 Glucocorticoides.	4
1.2.1 Función del cortisol	5
1.2.1.1 Efecto del cortisol sobre el metabolismo de los carbohidratos.	5
1.2.1.1.1 Aumento de la gluconeogénesis.	5
1.2.1.1.2 Utilización disminuida de glucosa por las células.	6
1.2.1.1.3 Aumento de la concentración de glucosa sanguínea y diabetes suprarrenal.	6
1.2.1.2 Función del cortisol durante el estrés.	7
1.3 Sistema de control del estrés	8
1.3.1 Estrés inducido por enfermedad.	9
1.3.2 Formas de Estrés	10
1.3.3 Interacción ambiente-animal	12
1.3.4 Respuestas integradas	12
1.3.5 Mediciones del estrés	16
1.4 LEPTOSPIROSIS BOVINA	17
1.4.1 Influencia del estrés causado por la leptospirosis bovina	22
2. MATERIALES Y METODOS	24
2.1. Estandarización y puesta a punto de las técnicas	24
2.2 Consecución de las fincas positivas y negativas a Leptospira spp.	24
2.3 Trabajo de campo	24
2.3.1 Marco geográfico	24

2.3.2 Marco demográfico	25
2.3.2.1 Variables medioambientales	27
2.3.2.2 Parámetros reproductivos	28
2.3.2.3 Variables productivas	28
2.4 Fase de laboratorio	28
2.4.1 Prueba MAT para la detección de anticuerpos a <i>Leptospira</i> spp.	29
2.4.1.1 Elaboración de antígenos para la prueba de Microaglutinación – lisis MAT	29
2.4.1.2 Técnica de Micro aglutinación-lisis (MAT)	29
2.4.1.3 Titulación de sueros	32
2.4.3 Prueba de Electroquimioluminiscencia para medir Cortisol.	34
2.4.3.1 Principio de la prueba	34
2.4.4 Determinación de glucosa	35
2.5 Almacenamiento y procesamiento de las pruebas	36
2.6 Diseño experimental	36
2.6.1 Modelo estadístico	36
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
3.1 Relación de niveles de cortisol con los niveles de glucosa	38
3.1.1 Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche de la sabana de Bogotá durante seis muestreos.	38
3.1.2 Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche en fincas de la sabana de Bogotá.	40
3.1.3 Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche por grupos etáreos en fincas de la sabana de Bogotá.	42
3.2 Resultado a MAT para <i>Leptospira</i> spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.	44
3.2.1 Serología a MAT para <i>Leptospira</i> spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.	44
3.2.2 Serología a MAT para <i>Leptospira</i> spp en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.	46
3.2.3 Serología a MAT para <i>Leptospira</i> spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá en los grupos etáreos	48

3.3 Estrés inducido por <u>Leptospira spp.</u> En animales de la sabana de Bogotá_	50
3.3.1 Relación de cortisol, glucosa con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en los diferentes muestreos en hatos de la sabana de Bogotá.	50
3.3.2 Relación de cortisol, glucosa con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.	56
3.3.3. Relación de cortisol, glucosa con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en los grupos etéreos de bovinos de leche en la sabana de Bogotá.	60
3.4. Relación del cortisol y glucosa con las variables productivas, reproductivas y medio ambientales en bovinos lecheros en hatos de la sabana de Bogotá.	65

LISTA DE TABLAS

1. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.	38
2. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche en fincas de la sabana de Bogotá.	40
3. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche por grupos etéreos en fincas de la sabana de Bogotá.	42
4. Resultados de la serología a MAT para <u>Leptospira spp</u> en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.	44
5. Comportamiento de la serología a MAT para <u>Leptospira spp</u> en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.	46
6. Comportamiento de la serología a MAT para <u>Leptospira spp</u> en bovinos de leche de la sabana de Bogotá en los grupos etéreos	48
7. Relación de cortisol, glucosa con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en los muestreos en hatos de la sabana de Bogotá.	51
8. Correlación de (Pearson) del cortisol y glucosa con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en hatos de la sabana de Bogotá.	52
9. Relación de cortisol, glucosa con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.	57
10. Resultado del cortisol, glucosa con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en los grupos etéreos de bovinos de leche en la sabana de Bogotá.	61
11. Relación de cortisol, glucosa con la precipitación, litros, intervalo entre partos, servicios concepción, en bovinos lecheros en hatos de la sabana de Bogotá.	65

LISTA DE GRÁFICAS

1. Relación que existe entre la intensidad de las respuestas Termorreguladoras y la temperatura central._____	13
2. Los métodos para perder calor utilizados por una vaca a medida que la temperatura ambiental aumenta._____	14
3. Distribución de pozuelos en caja de microtécnica para MAT._____	31
4. Distribución de pozuelos para Titulación de sueros._____	33
5. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche de la sabana de Bogotá._____	39
6. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche en fincas de la sabana de Bogotá._____	41
7. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche por grupos etéreos en fincas de la sabana de Bogotá._____	43
8. Resultados de la serología a MAT para <u>Leptospira spp</u> en bovinos de leche de la sabana de Bogotá._____	45
9. Comportamiento de la serología a MAT para <u>Leptospira spp</u> en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá._____	47
10. Comportamiento de la serología a MAT para <u>Leptospira spp</u> en bovinos de leche de la sabana de Bogotá en los grupos etéreos_____	49
11. Relación del cortisol, con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en los diferentes muestreos en hatos de la sabana de Bogotá._____	53
12. Relación de la glucosa con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en los diferentes muestreos en hatos de la sabana de Bogotá._____	55
13. Relación de cortisol con los serovares de <u>L. hardjo</u> , <u>L. pomona</u> , <u>L. icterohaemorrhagiae</u> , <u>L. canicola</u> y <u>L. grippotyphosa</u> en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá._____	58

14. Relación de glucosa con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá. _____ 59
15. Relación de cortisol con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en los grupos etéreos de bovinos de leche en la sabana de Bogotá. _____ 62
16. Relación de glucosa con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en los grupos etéreos de bovinos de leche en la sabana de Bogotá. _____ 64

RESUMEN

La presente investigación tiene como propósito principal contribuir al conocimiento de los factores que producen estrés, este concepto se define como una perturbación de la homeostasis e incluye el estresor, la respuesta al estresor y los cambios fisiológicos entre el estresor y la reacción corporal.

Los estresores, externos o internos, pueden actuar de manera aguda o crónica aunque también se pueden generar internamente como parte de la función mental y la intensidad de sus efectos depende de la experiencia individual.

La investigación se realizó en bovinos de leche de raza Holstein, correlacionando la epidemiología de la *Leptospira spp.* en la sabana de Bogotá, con la dinámica de los niveles de cortisol y glucosa, con el fin de determinar su impacto sobre la producción de leche, al identificar los efectos sobre los bovinos y su comportamiento.

ABSTRACT

The main goal of this investigation is to contribute to the knowledge of the factors generating stress. This concept is defined as a homeostasis perturbation which includes the stressor, the response to the stressor and the psychological changes between the stressor and the body reaction.

Stressors, internal or external, could act in a chronic or acute way, even though they could be internally generated as a mental function part and the intensity of its effects depends on individual experience.

This investigation was performed with bovine as correlated to the epidemiology of the *Leptospira* spp. in "La Sabana de Bogota". By identifying the cortisol level dynamics, glucose and the serovariant of this illness, we determined its impact over the milk production as well as the identification of the effects and behavior over the bovine.

INTRODUCCION

El concepto de estrés se define como una perturbación de la homeostasis e incluye el estresor que es el estímulo o situación que provoca una respuesta. La respuesta al estresor y los cambios fisiológicos entre el estresor y la reacción corporal. Los estresores, externos o internos, pueden actuar de manera aguda o crónica aunque también se pueden generar internamente como parte de la función mental y la intensidad de sus efectos depende de la experiencia individual.

El manejo de ganaderías sin estrés permite mejorar la eficiencia de producción. El uso de estos criterios permite minimizar el impacto de procesos estresantes sobre el rendimiento del animal y la calidad del producto.

Su aplicación a la ganadería se centra en los sistemas intensivos de producción de carne o leche, así como al impacto de enfermedades, el transporte, el rendimiento animal y la calidad del producto. El aprovechamiento de animales sin estrés en la producción ganadera constituye una ventaja competitiva que permite aumentar la eficiencia en la producción.

En los bovinos la leptospirosis puede ser un causante de diestrés, el cual ocasiona en los animales una disminución importante en la producción provocando así grandes pérdidas económicas para el productor, por ende se hace necesario la realización de un estudio donde se relacione la enfermedad con los niveles de estrés presentes en los animales, la disminución en la producción y las pérdidas económicas.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En los bovinos la Leptospira spp. es un causante de estrés, esta se caracteriza por ser una enfermedad de tipo reproductivo subclínico con las siguientes manifestaciones: calores irregulares, repetición de calores, infertilidad, mortalidad embrionaria temprana, abortos y mastitis, sintomatología compatible con otra serie de enfermedades reproductivas como Diarrea viral bovina, Rinotraqueitis infecciosa bovina, Brucellosis, Tricomoniasis, Campilobacteriosis.

Al realizar esta investigación tomando la enfermedad de Leptospira spp. Se concluye que las enfermedades que cursan con sintomatología parecida también pueden producir un estrés inducido por la enfermedad trayendo consecuencias económicas a los productores.

Los serovares de la Leptospira spp presentaron altos y bajos títulos debido a la supervivencia del microorganismo en el medio ambiente, esto depende principalmente de las condiciones del suelo, el agua y también de una temperatura ambiental. Estos factores influyen para la supervivencia del microorganismo.

Al determinar el impacto de la Leptospira spp. sobre las variables cortisol y glucosa en bovinos lecheros en hatos de la sabana de Bogotá, nos damos cuenta que estas variables son afectadas por los serovares que mayor prevalencia tienen en la Sabana de Bogota, que son: L. pomona, L. icterohaemorrhagiae y L. hardjo y también con los otros dos serovariantes L. grippotyphosa y L. canicola aunque en menor escala por ser los de menor prevalencia en la Sabana de Bogotá.

Los niveles de cortisol no solo pueden estar causados por un estrés asociado a la enfermedad sino que también pueden aumentar por la manipulación de los animales es decir un estrés agudo, durante la investigación los procedimientos de toma de muestras en algunos casos como en la finca numero 3 (finca la estrella) donde fueron deficientes por causas externas, por esta razón los procedimientos no fueron muy rápidos aumentando los niveles de cortisol. Esta variable también fue afectada por estímulos de estrés neutral como los medio ambientales a los cuales los animales tenían que adaptarse. Estos cambios medio ambientales traen alteraciones internas de parámetros fisiológicos o componentes bioquímicos haciendo que los niveles de cortisol tengan variaciones leves.

Los niveles de glucosa son los que mayor relación tienen con los serovares de la enfermedad Leptospira spp. puesto que el estrés afecta a los glucocorticoides provocando una disminución moderada en el ritmo de utilización de la glucosa por las células. Otro factor que influye en los glucocorticoides es que deprimen ligeramente el transporte de glucosa hacia el interior de las células lo cual pudiera ser un factor adicional para disminuir la utilización de glucosa a nivel celular y aumentar los niveles de glucosa a nivel plasmático.

La enfermedad asociada al estrés también es causal de bajas en la producción con manifestaciones claras en un aumento entre el intervalo entre partos, provocando que las lactancias sean mayores bajando la producción de leche, al estar los animales con presencia de la enfermedad y un claro estrés inducido por esta misma los animales tienen un desbalance fisiológico el cual termina repercutiendo considerablemente en las utilidades económicas de los ganaderos.

El serovar mas importante fue L. Pomona, porque es el de mayor grado de significancia en correlación con las variables de glucosa y cortisol, este serovar también es directamente proporcional con estas dos variables.

5. BIBLIOGRAFIA

Blood D.C. 2002. Medicina veterinaria, tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Pág. 1156.

Bolin C.A. 2001. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to leptospira borgpetersenii serovar Hardjo. Pág. 995.

Breazile J. 1999., The Physiology of Stress and its Relationship to mechanisms of disease and therapeutics, Veterinay Clinics of North America, Food Animal Practice

Calle J., Velásquez J. Evaluación del estrés post – destete bajo dos planes de alimentación en terneras de raza Holstein en una exploración lechera de clima frio, Tesis Universidad de la salle.

Cunninghan J. 1999. Fisiología Veterinaria, Segunda edición. Editorial M^cGraw Hill. México

Shoeder H. Influencia del estrés calórico sobre la Producción y la Lactancia, Revista Acovez, Vol 15 No. 2

Dantzer R., Mormede. El estrés en la cría intensiva del ganado, En [www.cariari.ucr.ac.cr] revista virtual. Consultado marzo 15 de 2004.

Eslava P., Influencia del estres por manejo y transporte, al momento de la toma de muestras sanguineas, sobre los valores de hematología y quimica sanguinea en la cahama blanca, Revista Acovez, vol 20, No. 1

Echeverri J., Efectos nocivos del estrés en la reproducción de los toros, el cebu, asocebu No.335

Faine S. et al. 1999. Leptospira and Leptospirosis. Pag 17.

Garcia S., Castejon M.,1999. **Fisiología Veterinaria**, Editorial M^cGraw Hill. México

Guitian F. et. Al. 2001. Serological study of the frequency of leptospiral infections among dairy cows in farms with suboptimal reproductive efficiency in Galicia, Spain. Pág. 276.

Guyton A.,1989. Tratado de Fisiología Medica, Interamericana, Séptima edición.

Miller D. et al. 1996. Survey to estimate prevalence of Leptospira interrogans in mature cattle in the United States. Pág. 1762

Orrego V. A. y Col. 2000. Leptospirosis: Prevalencia serológica de porcícolas vacunadas y no vacunadas. Pág. 2.

Rancia D., Barrgren W., French K., 1995. Fisiología Animal, Editorial M^cGraw Hill. México.

Rincón G. y Céspedes D. 1996. Dinámica serológica de la Infección por Leptospira, correlacionada con variables climáticas, en predios de altillanura y piedemonte llanero. Trabajo de Grado para optar al título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad de Los Llanos. 150 páginas

Smith B. 2002. Large animal internal medicine. Pag. 870

Swenson Melvin, 1999. Fisiología de los Animales Domesticos, Segunda Edición, Tomos 1 –2, Noriega Editores, México,

Velásquez P. J. 1996. Estrés. Memorias Curso Nuevos enfoques en Reproducción. Villavicencio.

BIBLIOGRAFÍA ANEXA

Adler B. y Faine S. 1983. Species and genus-specific antigens in *Leptospira*, revealed by monoclonal antibodies and enzyme immunoassay. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg Ser. 255: 317-22.

Barrera M. J. 1998. Estudio de Anticuerpos y de antígenos a *Leptospira* spp. En animales de abasto del municipio de Villavicencio. Trabajo de Grado para optar al título de Médico Veterinario Universidad de Los Llanos. Páginas 89.

Bolin C. A., Zuerner L. y Trueba G. 1989. Effect of vaccination with a pentavalent leptospiral vaccine containing *Leptospira interrogans* serovar hardjo serotype hardjobovis on type hardjobovis infection in cattle. Am J Vet Res. 50(12):2004-2008

Díaz R. C. 2002. La leptospirosis. Una amenaza latente. Revista Medicina Veterinaria. Universidad de La Salle. 1(4):58-61

Góngora O. Villamil L. Vera L. Ramírez B. 1995. Diagnóstico de las principales enfermedades reproductivas en toros de la sabana de Bogotá. Revista de Medicina Veterinaria. Universidad nacional de Colombia. 44(1):37 – 41

Muñoz G. 1957. Existe la leptospirosis en Colombia. Revista facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. No. 21. pags. 539 - 542

Orrego V. A., Giraldo L., Bohorquez R. A. Rios A. y Escobar M. 2000. Leptospirosis: Prevalencia serológica de porcícolas vacunadas y no vacunadas. En [www.pronatta.gov.co]. Consultado en marzo 15 de 2004.

1. MARCO TEÓRICO

El concepto de estrés se define como una perturbación de la homeostasis e incluye el estresor, la respuesta al estresor y los cambios fisiológicos entre el estresor y la reacción corporal. Los estresores, externos o internos, pueden actuar de manera aguda o crónica aunque también se pueden generar internamente como parte de la función mental y la intensidad de sus efectos depende de la experiencia individual. El estrés se ha incorporado al estudio de la homeostasis y se debe a Cannon W. (1920) y a Selye H. (1936).¹

Los estudios efectuados en Colombia sobre el estrés en bovinos no son muchos, en 1991 Schroeder publicó en la revista ACOVEZ un artículo sobre la influencia del estrés calórico sobre la reproducción y la lactancia, donde observó que los efectos del estrés térmico se manifiestan especialmente sobre la reproducción, como son la expresión corporal durante el celo, muerte embrionaria, flujo sanguíneo uterino, relaciones endocrinas y crecimiento fetal entre otros.² en el mismo año, Calle J. y Velásquez J. realizaron un estudio sobre la evaluación del estrés post – destete bajo dos planes de alimentación en terneras de raza Holstein en explotaciones lecheras de clima frío y observaron que los animales en la etapa de crianza son especialmente sensibles a cualquier cambio en el entorno y lo manifiestan disminuyendo su desempeño.³

En 1995 Eslava P. publicó en la revista ACOVEZ un artículo sobre la influencia del estrés por manejo y transporte, al momento de la toma de muestras sanguíneas, sobre los valores de hematología y química sanguínea en la cachama blanca

¹ Swenson Melvin, Fisiología De Los Animales Domésticos. Segunda edición tomos 1-2 . Noriega Editores México 1999 p 655,878,891

² Schroeder H., Influencia del estrés calórico sobre la reproducción y la lactancia, Revista Acovez vol 15 No. 2, Pag.15

³ Calle J., Velásquez J., Evaluación del estrés post – destete bajo dos planes de alimentación en terneras de raza Holstein en una explotación lechera de clima frío, Pag. 70.

observando que los niveles de glucosa muestran ser un indicador sensible de muchos disturbios metabólicos y que se pueden elevar después de un período corto de estrés.⁴

El estudio mas reciente se realizó en el año 2003 por Echeverri J, hablando de los efectos nocivos del estrés en la reproducción de los toros, donde hace mención que las situaciones de estrés afectan el funcionamiento testicular por medio de un mecanismo endocrino. Ante una situación de alarma provocada, el organismo en las glándulas adrenales produce un exceso de una hormona llamada cortisol que a su turno reduce la producción de LH, con la consiguiente disminución de producción de testosterona por las células de Leydig.⁵

1.1 GENERALIDADES

La corteza adrenal es una glándula productora de esteroides, indispensables para la vida y para la adaptación al medio ambiente.

La adaptación al estrés, requiere una acción coordinada entre el sistema nervioso y el humoral, a fin de que el organismo responda como un todo.

La exposición a una gran variedad de situaciones activa el sistema nervioso simpático y el sistema hormonal Corticotropina – glucocorticoides.

Ante la presencia de una causa desencadenante, como enfermedad, mal manejo, manipulación, clima y otros factores, se produce una respuesta inmediata de secreción de Corticotropina, con el aumento de glucocorticoides en sangre.⁶

⁴Eslava P., influencia del estrés por manejo y transporte, al momento de la toma de muestras sanguíneas, sobre los valores de hematología y química sanguínea en la cachama blanca, Revista Acovez vol 20 No. 1, Pag. 5

⁵ Echeverri J., Efectos nocivos del estrés en la reproducción de los toros, El cebu, Asocebu No. 335, Pag. 52

⁶ García S. A., Castejon M. F., Fisiología Veterinaria. Pag. 779

1.1.1 Activación neuroendocrina

La activación neuroendocrina ocurre en los animales, en un lapso de tiempo de segundos a minutos y dura entre 15 minutos y una hora, depende del sistema nervioso central y su función es excitar a todo el sistema nervioso, incrementando la función de algunos órganos, la percepción y la reacción. Inicia con la activación del núcleo paraventricular del hipotálamo el cual segrega el factor liberador de corticotropina (CRF), una vez liberada la corticotropina o adenocorticotropina (ACTH), estimula la corteza suprarrenal para que libere glucocorticoides y mineralocorticoides, para elevar los niveles de glucosa en sangre, transformar las grasas y aumentar el flujo sanguíneo para que se produzca una respuesta de estrés en el animal el cual va a tener manifestaciones externas como sudoración e intolerancia al manejo.⁷

1.1.2 Hormona corticotrópica adrenal (ACTH)

Esta hormona estimula la formación de precursores de glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos. Sus acciones son mediadas por el AMPc. El cortisol es el que realiza la retroalimentación. Ante un estímulo prolongado (causante de estrés o una enfermedad) aumentan los glucocorticoides, mientras que los mineralocorticoides pueden estar en concentraciones normales, ya que el estímulo de la ACTH para su síntesis y liberación es mínimo y limitado a los precursores.⁸

El efecto de las situaciones de estrés sobre la secreción de ACTH ante cualquier tipo de tensión física o mental puede, en plazo de minutos, aumentar de manera considerable la secreción de esta hormona y glucocorticoides, se cree que estímulos dolorosos causados por la situación de alarma son transmitidos primero

⁷ Cunningham J. 1999. Fisiología Veterinaria. Pag. 267

⁸ García S. A., Castejon M. F., Op Cit. Pag 768

a la zona perifornical del hipotálamo. Esta a su vez transmite señales a otras áreas del hipotálamo y por último a la eminencia media donde la CRF es secretada hacia el sistema portal hipofisiario. Al cabo de unos minutos toda la serie de acontecimientos de control origina la aparición de grandes cantidades de glucocorticoides en la sangre.⁹

1.2 Glucocorticoides.

Los glucocorticoides tienen actividad sistémica. Intervienen en el metabolismo de la mayoría de las células del organismo. Regulan procesos que permiten que los animales se adapten a un medio ambiente de marcada variación climática. Participan en el mantenimiento de un equilibrio fisiológico inmediato; es decir, al igual que todas las hormonas, colaboran en la homeostasis.

Sin embargo, sus acciones muchas veces están mas relacionadas con la prioridad funcional que se produce cuando es necesario asegurar un flujo de metabolitos hacia un determinado órgano.

Los glucocorticoides aseguran el aporte de glucosa al sistema nervioso central, aún a costa del catabolismo. Durante la lactancia contribuyen a forzar la movilización de reservas para ser usadas en la síntesis de leche.

Tienen acciones tan complejas que hacen difícil su clasificación. Pueden ser anabólicas, catabólicas, reguladoras, inhibidoras, estimulantes o facilitadoras, según el tejido implicado. Muchas de estas respuestas solo son observables ante el exceso o el déficit de la hormona.

Un factor capaz de modificar el control por retroalimentación negativa de los glucocorticoides es el estrés, que puede resultar debido a hechos físicos o psicológicos que son lesivos para el individuo. Los efectos del estrés están

⁹Guyton Arthur, Tratado de fisiología médica, pag. 909

mediados por todo el sistema nervioso central, en forma similar a los factores que influyen los ritmos circadianos en la secreción de glucocorticoides. La respuesta de los glucocorticoides al estrés es inmediata y se observa que las concentraciones de cortisol aumentan con rapidez para llegar a valores varias veces arriba de lo normal en unos cuantos minutos. La respuesta de glucocorticoides es proporcional a la gravedad del estrés. Los niveles más bajos de estrés dan lugar a una mejor producción de cortisol comparado con los niveles altos de estrés.¹⁰

1.2.1 Función del cortisol

El cortisol es el principal glucocorticoide, entre sus principales funciones esta intervenir en la síntesis de glucosa, mejora la respuesta vascular a catecolaminas, actúa como antiinflamatorio, retarda cicatrización, e inhibe la formación de anticuerpos.¹¹

1.2.1.1 Efecto del cortisol sobre el metabolismo de los carbohidratos.

1.2.1.1.1 Aumento de la gluconeogénesis.

Con mucho, el efecto mas conocido del cortisol, y demás glucocorticoides, sobre el metabolismo es su capacidad de incrementar la gluconeogénesis hepática, aumentándola en ocasiones seis a diez veces. Esto resulta de los diferentes efectos del cortisol: en primer lugar, se encuentran para convertir los aminoácidos en glucosa. Esto es resultado del efecto de los glucocorticoides, que consiste en activar la transcripción de DNA en los núcleos de las células hepáticas de la misma manera en que funciona la aldosterona en las células tubulares renales, con

¹⁰ Cunningham J. Fisiología veterinaria. Pag. 470.

¹¹ Garcia S. A., Castejon M. F., Op Cit. Pag 770

formación de RNA mensajeros que a su vez producen las series de enzimas requeridas para la gluconeogénesis.

En segundo lugar, el cortisol provoca la movilización de los aminoácidos procedentes de tejidos extrahepáticos, sobre todo del músculo. En consecuencia quedan disponibles en plasma mas aminoácidos para penetrar e intervenir en el proceso de gluconeogénesis en el hígado y así estimular la formación de glucosa. Uno de los efectos del aumento de la gluconeogénesis es el incremento neto de glucógeno en las células hepáticas.¹²

1.2.1.1.2 Utilización disminuida de glucosa por las células.

El cortisol también provoca disminución moderada en el ritmo de utilización de glucosa por las células, aunque no se conocen las causas de esta disminución, la mayoría de fisiólogos creen que en alguna etapa entre el ingreso de glucosa en las células y su desintegración final, el cortisol retrasa directamente el ritmo de utilización del azúcar. Un mecanismo sugerido para este efecto se basa en observar que los glucocorticoide deprimen la oxidación de NADH. Como el NADH debe oxidarse para permitir una glucolisis rápida, este efecto pudiera explicar la disminución de la utilización de glucosa en las células. También es sabido que los glucocorticoides deprimen ligeramente el transporte de glucosa hacia el interior de las células lo cual pudiera ser un factor adicional para disminuir la utilización celular de glucosa.

1.2.1.1.3 Aumento de la concentración de glucosa sanguínea y diabetes suprarenal.

Tanto el aumento de la gluconeogénesis como la reducción de la utilización de glucosa por las células aumentan la glicemia. El aumento de la glicemia a veces

¹² Guyton Arthur. Op Cit, pag. 903

es tan grande (50 o mas % arriba del valor normal) que el proceso se llama diabetes suprarenal, y presenta muchas similitudes con la diabetes hipofisiaria. Al administrar insulina, disminuye poco la glucosa sanguínea en la corteza suprarenal y no se compara con la disminución en caso de diabetes pancreática. Por otra parte, el efecto de la insulina sobre la glucosa sanguínea es mayor en la diabetes suprarenal que en la hipofisiaria. Por tanto, se dice que la diabetes suprarenal es moderadamente sensible, la diabetes hipofisiaria poco sensible, y la diabetes pancreática muy sensible a la insulina.¹³

1.2.1.2 Función del cortisol durante el estrés.

En cualquier tipo de estrés, ya sea físico o neurógeno, se produce un incremento inmediato y notable de la secreción de la hormona Adrenocorticotrópica (ACTH) en la hipófisis anterior, a lo que sigue una secreción incrementada de cortisol. Algunos de los diferentes tipos de estrés que aumentan la liberación de cortisol son los siguientes:

- Traumatismo, casi de cualquier género.
- Infección.
- Frío intenso o calor.
- Transporte.
- Inyección de noradrenalina y otros fármacos simpático-miméticos.
- Intervenciones quirúrgicas
- Cualquier enfermedad

Un gran número de estímulos no específicos pueden aumentar en forma notable la secreción de cortisol por la corteza suprarenal.

¹³ Guyton Arthur, *ibid*, pag. 904.

Se sabe que la secreción de cortisol suele aumentar mucho en los estados de alarma, se piensa que estas hormonas causan liberación de aminoácidos y grasas a partir de los depósitos celulares, permitiendo su empleo para obtener energía y sintetizar otros compuestos, incluyendo glucosa, requeridos por los demás tejidos del cuerpo. En realidad, es sabido que cuando los tejidos liberan proteínas, las células hepáticas emplean los aminoácidos correspondientes para formar nuevas proteínas. Es posible que otros tejidos que han sido dañados momentáneamente y carecen de proteínas, también puedan utilizar estos aminoácidos circulantes para formar nuevas proteínas indispensables para la vida de la célula quizá, los aminoácidos se utilizan entre si para sintetizar sustancias intracelulares esenciales como purinas, pirimidinas y creatinfosfato, necesarias para conservar la vida celular y la reproducción de nuevas células.

Todo es basado en el hecho de que los glucocorticoides no suelen causar liberación de las proteínas funcionales básicas de las células, salvo cuando ya se han gastado todas las demás. Este efecto, por el cual el cortisol libera de preferencia las proteínas lábiles, puede poner gran cantidad de aminoácidos a disposición de la célula que los necesita para sintetizar los compuestos indispensables para la vida.¹⁴

1.3 Sistema de control del estrés

El punto central de este control es la excitación del hipotálamo por diversos tipos de situaciones de estrés. Estas activan todo el sistema, originando rápida liberación de cortisol; este, a su vez, inicia una serie de efectos metabólicos destinados a aliviar la naturaleza lesiva del estado de estrés. Además, también hay retroalimentación directa del cortisol al hipotálamo y a la glándula hipofisiaria anterior, para estabilizar la concentración de cortisol en el plasma en momentos en que el animal ya no está sometido a situaciones de alarma. Sin embargo, los

¹⁴ Guyton Arthur, Op Cit., pag. 906.

estímulos productores de tensión son los preponderantes; siempre pueden abrirse paso por esta retroalimentación inhibitoria directa del cortisol y producir exacerbaciones periódicas de la secreción del mismo muchas veces durante el día.¹⁵

Finalmente, y con respecto a la función de la homeostasis de sustancias en sangre, las acciones de los corticoides se pueden resumir en:

- Los glucocorticoides mantienen la glucemia mediante todos los mecanismos posibles.
- Los mineralocorticoides favorecen la retención de Na⁺ y la excreción de K⁺, en todos los lugares de intercambio con el medio externo.¹⁶

1.3.1 Estrés inducido por enfermedad.

El concepto de estrés se define como una perturbación de la homeostasis e incluye el estresor que es el estímulo o situación que provoca una respuesta de estrés. La respuesta al estresor y los cambios fisiológicos entre el estresor y la reacción corporal. Los estresores, externos o internos, pueden actuar de manera aguda o crónica aunque también se pueden generar internamente como parte de la función mental y la intensidad de sus efectos depende de la experiencia individual.¹⁷

Aunque el estrés es usualmente considerado por ser una adaptación a los cambios en el ambiente interno o externo, es mas razonable tomarlo desde un punto de vista mecánico y considerar el estrés como un estímulo que resulta de todas estas adaptaciones. Las reacciones de adaptación, o reacciones de estrés por lo tanto representan una modificación en el mecanismo fisiológico que permite

¹⁵ Guyton Arthur, Op Cit., pag. 909, 910.

¹⁶ García S. A., Castejon M. F., Op Cit. Pag 779

¹⁷ Dantzer r.y P .Mormede. El estrés en la cría intensiva del ganado. Pag. 43.

a un animal responder al estímulo de estrés con una mínima alteración en la homeostasis. Aunque las reacciones de estrés están organizadas para proteger el estado homeostático del animal, ellas contienen elementos que pueden aumentar o disminuir la susceptibilidad al proceso de enfermedad; en muchas ocasiones, de todas formas, las reacciones de estrés por si mismas pueden inducir un cambio patológico.

El estrés es un estímulo interno o ambiental que inicia un cambio adaptativo o una respuesta de estrés en los animales. Hay tres formas o grados de estrés que pueden ser identificados: eustrés, estrés neutro, diestrés. En los procesos de enfermedad e intervención terapéutica las respuestas de diestrés son las de mayor interés.¹⁸

1.3.2 Formas de Estrés

- Eustrés: o estrés bueno, el cual identifica estímulos que no son perjudiciales e inician respuestas benéficas en el animal. Este tipo de estrés lo inicia la alimentación, la bebida, la respiración, cambios en la actividad cardiovascular alteraciones metabólicas, eutermia, escape y otras respuestas que son necesarias para proveer el mantenimiento de la homeostasis.
- Estrés neutral: representa estímulos que no son perjudiciales por si mismos e inician respuestas que no afectan ni ayudan al bienestar del animal. Los estímulos de estrés neutral son de intensidad media y pueden involucrar modificaciones de la actividad neural central y periférica que tienen poca importancia para el animal. Los estímulos de estrés neutral incluyen los estímulos ambientales (calor, frio, humedad) en los cuales el animal tiene que adaptarse, o

¹⁸ Breazile James. The physiology of Stress and its relationship to mechanisms of disease and therapeutics. Pag. 441.

alteraciones internas de parámetros fisiológicos (temperatura o presión arterial) o componentes bioquímicos dentro de los rangos normales de variación.

- Diestrés: este identifica estímulos que pueden o no pueden ser perjudiciales por si mismo, pero involucran respuestas que interfieren con el bienestar, confort y/o capacidades productivas y reproductivas. Las respuestas de diestrés tienen un potencial de producirse sobre las alteraciones patológicas en órganos y tejidos y contribuyen a la patogénesis de la enfermedad. El entendimiento de las respuestas de diestrés es más importante en la formulación de regímenes terapéuticos en el tratamiento de las condiciones de enfermedad para optimizar la homeostasis y corregir las deficiencias producidas por los mecanismos de enfermedad.¹⁹ Aunque el diestrés puede resultar de la amplificación del eustrés, resultando en manifestaciones patológicas, este usualmente representa un estímulo que no hace parte del ambiente normal. El diestrés es usualmente representado por un estímulo generado por agentes infecciosos. Este estímulo adicional inicia una amplia variedad de respuestas en la patogénesis de las enfermedades infecciosas, que en parte protegen al animal de agentes infecciosos y en parte contribuyen al daño celular y de los tejidos.

Un gran número de alteraciones neurológicas y endocrinas toman lugar durante el diestrés. La mayor alteración involucra una secreción de glucocorticoides un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático un incremento de la producción de Angiotensina II, Vasopresina, Betaendorfinas, Encefalinas, Péptido intestinal vasoactivo, y sustancia P. Cada uno de estos agentes influencia el desarrollo de mecanismos fisiológicos y de las defensas normales del animal.²⁰

Las respuestas a diestrés han demostrado que incrementan la producción de hormona Adrenocorticotrópica (ACTH) y Betaendorfinas por la adenohipofisis bajo

¹⁹ Breazile James. Op Cit. Pag. 442

²⁰ Breazile James. Op Cit. Pag. 443

el control del factor liberador de corticotropina Hipotalámica (CRH), oxitocina y vasopresina (Vp), resultando en un incremento de la secreción de Glucocorticoides por la corteza adrenal. El incremento circulante de los niveles de glucocorticoides han sido usados como un indicador de las respuestas del diestrés en animales.

La producción de CRH, oxitocina, vasopresina por las neuronas hipotalámicas, es controlada por conexiones al hipotálamo desde el sistema límbico, involucrando respuestas emocionales como (temor y ansiedad), como conexiones de dolor desde la formación reticular del cerebro y aferentes vísceras como aquellos referentes a baroreceptores, en el cual una disminución de la presión sanguínea a través de una hemorragia, resulta en la secreción de oxitocina, epinefrina, CRH y vasopresina.²¹

1.3.3 Interacción ambiente – animal

La restricción de movimientos y de espacio, ante la imposibilidad de cumplir ciertas conductas predominantes de su repertorio natural, provoca en el bovino una carencia de estímulos de origen endógeno. Aumentan las actividades orales y otras estereotipias como el mordisqueo y el lamido (puede resultar enfermedad digestiva por consumo de cuerpos extraños o intoxicación, bolas de pelo, etc). Aunque este tipo de actitudes no incide negativamente en el desarrollo ni en la lactancia, si disminuye la eficacia digestiva.²²

1.3.4 Respuestas integradas

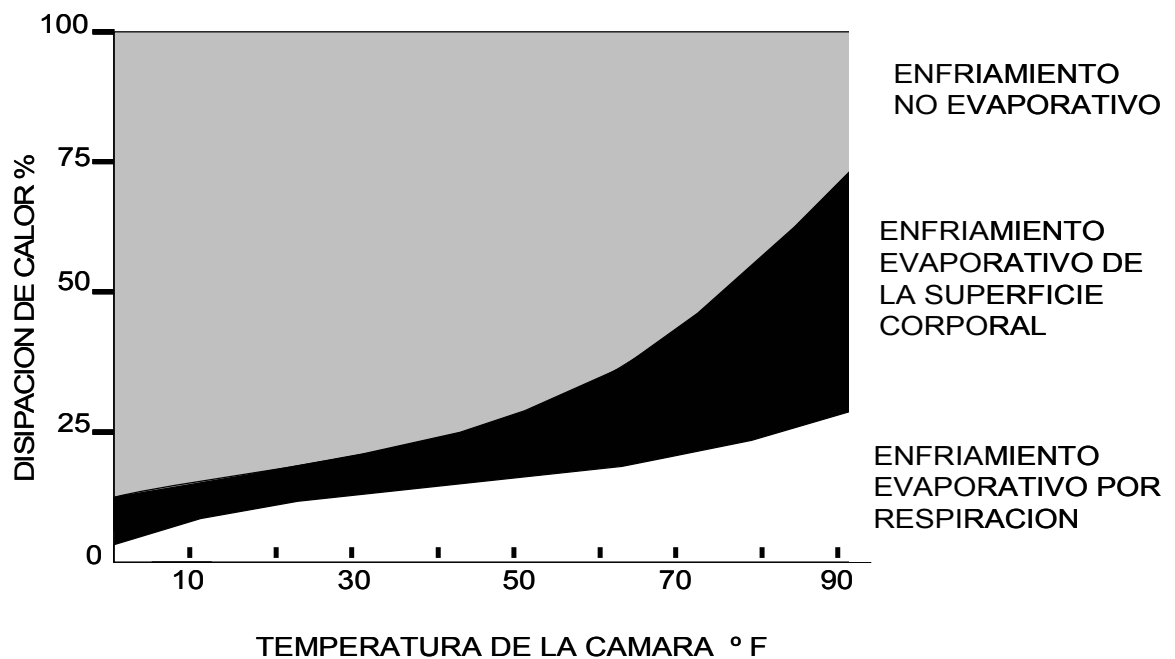
Las respuestas al estrés por calor son la vasodilatación periférica y el aumento en el enfriamiento evaporativo.

²¹ Breazile James. Op Cit. Pag. 444

²² Bonilla agosto, El Estrés en el ganado. Edición 49, No 4.

Para todos los mamíferos y aves existe una temperatura ambiental a la cual la temperatura del cuerpo se puede mantener dentro de un rango normal, principalmente por los mecanismos vasomotores.

Gráfica 1 Relación que existe entre la intensidad de las respuestas Termorreguladoras y la temperatura central.



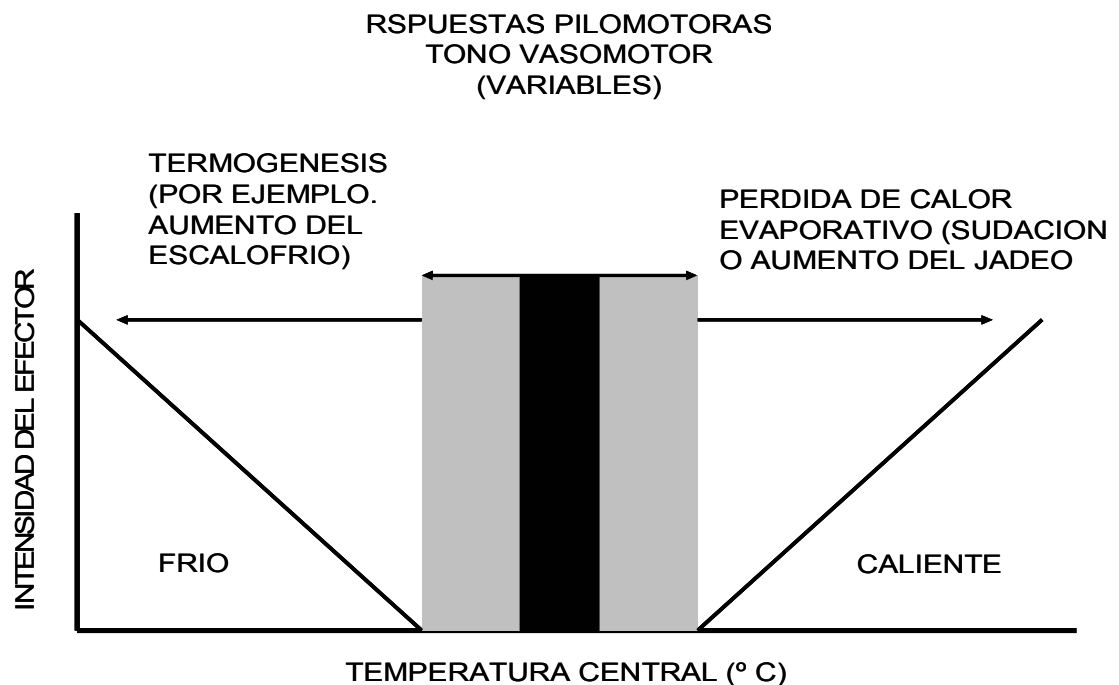
Fuente: Cunningham
Fisiología veterinaria. Pag. 470.

Esta zona de termo neutralidad varía con la tasa metabólica y la cantidad de aislamiento. El ganado lechero con una gran producción de leche produce una cantidad tan grande de energía metabólica que su zona termo neutral es sorprendentemente baja: de 4.5-15.5 °C. En la zona termo neutral se puede controlar la temperatura del cuerpo por mecanismos vasomotores que aumentan o disminuyen el flujo sanguíneo de la piel y en consecuencia cambian la cantidad de pérdida de calor.

Cuando se expone un homeotermo al estrés por calor la respuesta inicial es la vasodilatación, lo que eleva el flujo sanguíneo en la piel y en las extremidades. El incremento resultante en la temperatura de la piel y en la extensión de la temperatura central hacia abajo, hacia las extremidades, aumenta el gradiente de temperatura entre la piel y el ambiente, resultando en una pérdida de calor por radiación y convección.

Si la vasodilatación es ineficiente para mantener la temperatura normal, entonces crece el enfriamiento evaporativo por sudoración. El enfriamiento evaporativo es el único método accesible para perder calor una vez que la temperatura ambiental excede la temperatura de la piel y es más efectivo cuando la humedad relativa es baja.

Gráfica 2 Los métodos para perder calor utilizados por una vaca a medida que la temperatura ambiental aumenta.



Fuente: Cunningham
Fisiología veterinaria. Pag. 470.

En la gráfica (No. 2) se muestra como las animales a 10°C pierden el 10% de su calor por evaporación, pero a medida que la temperatura ambiental se eleva hasta 30°C pierden el 80%. A medida que la humedad relativa aumenta, se hace cada vez más difícil perder calor; en consecuencia, es probable que el ejercicio en condiciones húmedas cálidas produzca agotamiento por calor.

Los animales también utilizan métodos de comportamiento para resistir el estrés por calor. Estos métodos, entre los cuales se incluye la búsqueda de sombra y mantenerse de pie en el agua o en el chapaleo en el lodo no son accesibles para el ganado que se encuentra bajo condiciones de manejo intensivo. El productor debe asumir una mayor responsabilidad para el confort y la supervivencia de los animales. Debido a que el ganado lechero alto productor tiene una baja temperatura termo neutral, necesitan sombra en los climas cálidos mientras que en climas fríos no se hace necesaria una fuente de calor o de aislamiento.

Las respuestas del estrés por frío son:

Vasoconstricción periférica, piloerección y aumento en el calor metabólico producido por escalofrío y por termogénesis no escalofriante.

A medida que la temperatura ambiental disminuye, los homeotermos conservan inicialmente calor por vasoconstricción periférica. Esto establece un gradiente de temperatura a lo largo de las extremidades y reduce la temperatura de la piel, de tal manera que existe un gradiente de temperatura pequeño para que haya una pérdida de calor por radiación y convección. Además el estrés por frío inicia aumentos en la producción metabólica de calor por escalofrío o por la termogénesis no escalofriante. Todos los mamíferos adultos pueden presentar

escalofríos y los neonatos que nacen en un estado avanzado de desarrollo como las ovejas y los potrillos pueden presentar escalofrío.²³

1.3.5 Mediciones del estrés

La evaluación del estrés y el malestar deben abarcar mediciones de las reacciones tanto fisiológicas como de comportamiento. Los indicadores de comportamiento ante el malestar son el intento de escapar, la vocalización, las patadas y la lucha. Otras medidas externas sobre la forma en que un animal percibe un procedimiento de manejo son las pruebas de elección y las pruebas de aversión. Las medidas comunes de estrés fisiológico son el cortisol, la beta-endorfina y el pulso cardíaco. El cortisol es un indicador útil de estrés inmediato debido a procedimientos de manejo o de trabajo ganadero, como la castración. Los investigadores deben tener en cuenta que el cortisol es un indicador que varía con el tiempo y que requiere entre 10 y 20 minutos para alcanzar sus valores máximos.

Los niveles de cortisol son altamente variables, y no se deberían hacer comparaciones absolutas entre los distintos estudios. Se podría concluir tentativamente que un valor medio $>7 \mu\text{g/dL}$, tanto en novillos como en vacas, posiblemente sería un indicativo de manejo rudo, mientras que los niveles más bajos, cercanos a los valores normales $>0.9 \mu\text{g/dL}$, indicarían que el procedimiento fue de bajo estrés o que fue muy rápido. Los procedimientos rápidos son los que se pueden terminar antes de que se empiecen a elevar los niveles de cortisol. La sujeción de la cabeza para la extracción de muestras de sangre, produjo valores de $9 \mu\text{g/dL}$.²⁴

²³ CUNNINGHAM J. Fisiología veterinaria. Pag.720

²⁴ Dantzer r.y P .Mormede. Op cit. Pag .51.

El aislamiento también es un factor de estrés de manejo. Durante la inmovilización para tareas rutinarias de cuidado ganadero, los animales suelen ser separados de sus congéneres. Cuando se pesaba vacunos en una balanza individual, los animales tenían comportamientos menos agitados si podían ver otro animal delante de la balanza, a menos de un metro de distancia. La agitación fue medida electrónicamente usando el sistema de captación de información de la balanza para registrar el movimiento y el balanceo del animal. Numerosos estudios han demostrado que el aislamiento del grupo aumenta el nivel de cortisol y otros indicadores fisiológicos.²⁵

1.4 LEPTOSPIROSIS BOVINA

La *Leptospira spp.* es una entidad patológica de amplia distribución mundial que genera grandes pérdidas económicas por sus efectos sobre la salud animal, bajas en producción y abortos²⁶.

La leptospirosis es una enfermedad infecciosa que se caracteriza por generar una sintomatología inespecífica del sistema reproductivo lo cual hace difícil su diagnóstico debido a que su sintomatología puede ser compatible con varias enfermedades reproductivas como diarrea viral bovina, rinotraqueitis infecciosa bovina, brucelosis, trichomoniasis, campilobacteriosis.

Las infecciones por *Leptospira interrogans* han sido reportadas como una causa de pérdidas económicas en granjas lecheras resultando en agalactia, pérdida fetal, nacimientos prematuros e infertilidad²⁷. Los efectos de esta enfermedad se

²⁵ Dantzer r.y P .Mormede. Op cit. Pag .51,64,65.

²⁶ Orrego V. A. y Col. 2000. Leptospirosis: Prevalencia serológica de porcícolas vacunadas y no vacunadas. Pág. 2.

²⁷ Guitian F. et. Al. 2001. Serological study of the frequency of leptospiral infections among dairy cows in farms with suboptimal reproductive efficiency in Galicia, Spain. Pág. 276.

relacionan con los daños producidos en forma directa e indirecta sobre el tracto reproductivo y glándula mamaria de las principales especies productivas.

El curso subclínico de la leptospirosis ha hecho que no se le diagnostique correctamente y no se le de la importancia que tiene en cuanto a pérdidas económicas en los hatos.²⁸

El agente causal es una espiroqueta (Espiro=espiral; choeta=pelo)²⁹ que es un microorganismo endoflagelado, largo, delgado y flexible, de forma espiralado, aerobio, Gram negativo, altamente sensible a condiciones extremas medioambientales y que no es visible en el microscopio de luz convencional sino en el microscopio de campo oscuro³⁰. El género *Leptospira* posee dos endoflagelos o filamentos axiales insertados subterminalmente dentro del cilindro protoplasmático los cuales son inmunogénicos y forman líneas de precipitación visibles por inmunodifusión.³¹

Entre las principales serovariedades encontramos que la *L. Interrogans* serovariante *hardjobovis* se presenta en todo el mundo y en muchas áreas supera a *L. pomona* en los bovinos³². Dos tipos serológicamente indistinguibles, pero genéticamente diferentes de serovar *L. hardjo* han sido identificados: *Leptospira interrogans* serovar *L. hardjo* (tipo *hardjoprajitno*) y *L. borgpetersenii* serovar *hardjo* (*hardjobovis*).

²⁸ Orrego A. 2002. Epidemiología y Diagnóstico de la Leptospirosis Bovina.

²⁹ Faine S. et al. 1999. *Leptospira* and Leptospirosis. Pag 17.

³⁰ Faine S. et al. 1999. Op cit. Pag. 19

³¹ Ibid. pag 59

³² Blood D.C. 2002. Medicina veterinaria, tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Pág. 1152.

El serovar *hardjo* tipo *hardjobovis* es común en poblaciones de ganado en todas partes del mundo, el tipo *hardjoprjitno* ha sido aislado principalmente de ganado en el Reino Unido³³.

La enfermedad clínica es causada por serovar *L. hardjo* y *L. kennewicki* (antiguamente *L. pomona*), que son responsables de la enfermedad en rumiantes³⁴.

Miller 1996 reporta la presencia de dos subtipos de *L. hardjobovis* A y B por diferencias en su componente genómico mediante el análisis con endonucleasas de restricción que no poseen aparentes diferencias antigénicas³⁵. El de mayor prevalencia en los Estados Unidos es el tipo A con el 85% de los aislamientos³⁶, el serovar *L. hardjo* se ha relacionado con la presencia de infertilidad primaria, abortos, mortinatos, mortalidad perinatal y mastitis clínica en los bovinos³⁷.

Otros serovares de alta prevalencia en bovinos son *L. pomona*, *L. grippotyphosa* e *L. icterohaemorrhagiae*³⁸.

Las leptospiras son capaces de sobrevivir en medios ambientes húmedos por prolongados períodos a menos que ocurran congelamientos. Las posibles fuentes de serovares patógenos para los bovinos son, cuerpos de agua contaminados, animales salvajes, roedores y animales domésticos contaminados. La leptospira penetra a través de la superficie de mucosas externas y piel lesionada, se disemina en la corriente sanguínea para invadir múltiples órganos. Después de varios días, anticuerpos opsonizados son generados para ayudar a combatir la

³³Bolin C.A. 2001. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to leptospira borgpetersenii serovar Hardjo. Pág. 995.

³⁴Ogilvie T.H. 1998. Large animal internal medicine. Pág. 334.

³⁵Miller D. et al. 1996. Survey to estimate prevalence of Leptospira interrogans in mature cattle in the United States. Pág. 1762

³⁶Ibid. Pág. 1763

³⁷Díaz R. C. 2002. La leptospirosis. Una amenaza latente. Pág 59.

³⁸Prescott J. F y Nicholson V. 1991. Curso corto en Leptospirosis. Pág. 6

infección desde varios sitios del hospedador. Una vez el agente ha penetrado se presenta una fase de septicemia de cuatro a seis días, con una rápida multiplicación y presentación de un estado febril y agalactia moderada, súbita de uno a dos días de duración.

En esta fase se puede aislar la *Leptospira* de sangre periférica. La duración de la leptospiremia y la severidad de la sintomatología están relacionadas principalmente con el serovar actuante y la patogenicidad del mismo. Las primeras aglutininas detectables aparecen a los 2-5 días de la fase septicémica y son del tipo IgM, su pico se presenta hacia la primera semana y comienzan a descender lentamente hasta niveles basales persistiendo por dos años o más³⁹. Sin embargo la leptospira puede localizarse en glándula mamaria, riñón o tracto genital, donde permanecen relativamente protegidas de la respuesta inmune.

Hacia la segunda semana aparecen los anticuerpos neutralizantes del tipo de las IgG, las cuales aumentan paulatinamente desde el día 21 postinfección hasta los dos meses. De ahí en adelante inician un descenso rápido hasta niveles basales persistiendo por años⁴⁰, cada serovar posee una patogenicidad e inmunogenicidad distinta y las curvas de IgG detectadas varían considerablemente.

En los bovinos la leptospiruria puede persistir durante un período medio de 36 días (10-118 días), siendo el momento de mayor excreción la primera mitad de este período. Incluso después de la recuperación clínica pueden eliminar leptospiras por la orina durante períodos largos de tiempo (meses o años).⁴¹

A nivel renal se localiza en la luz de los túbulos, un lugar aislado del sistema retículo endotelial, donde los anticuerpos de superficie del tipo IgA, producidas por las células epiteliales tubulares, son las únicas encargadas de la defensa del

³⁹ Acosta H. y Col. 1994. Leptospirosis Revisión. Pág 36.

⁴⁰ Prescott J. F Y Nicholson V. 1991. Op cit. Pág. 16.

⁴¹ Blood D.C. 2002. Op cit. Pág. 1155.

organismo a la infección, debido a esto, la enfermedad toma fácilmente un curso crónico y explica la leptospiruria intermitente con presencia de bacterias viables⁴².

Los efectos patológicos de la bacteria se deben en parte a daños directos sobre los tejidos y a la presencia de un polióxido de superficie que tiene poder hemolizante, en infecciones agudas se puede presentar anemia, hemoglobinuria, ictericia, conjuntivitis, depresión y neumonías. La muerte ocurre por falla renal complicada con neumonías y hepatitis.

La infección crónica renal o reproductiva permite la transmisión del microorganismo en orina, secreciones uterinas y vaginales, placenta, tejidos fetales y semen⁴³. El aislamiento de las leptospiras del tracto reproductivo y de semen fresco o congelado de toros, parece indicar que la transmisión venérea es una vía de contagio a tener en cuenta⁴⁴. La transmisión transplacentaria es infrecuente pero la infección neonatal *in útero* se ha producido.⁴⁵

El curso de la enfermedad es variable, con presentaciones desde agudas hasta crónicas y en algunos casos subclínicas, con signos tan variables que por si solos no permiten un adecuado diagnóstico. Las formas de presentación son aguda o clínica, subaguda, crónica o abortiva y portador asintomático, las variaciones en cuanto a la patogenicidad de los distintos serogrupos o serovares también afecta la naturaleza de los signos clínicos que aparecen⁴⁶.

⁴² Faine S. et al. 1999. Op cit. Pág. 77.

⁴³ Smith B. 2002. Large animal internal medicine. Pág. 870.

⁴⁴ Díaz R. C. 2002. Op cit. Pág. 59.

⁴⁵ Blood D.C..2002. Op cit. Pág. 1156.

⁴⁶ Acosta H. y Col. 1994. Op cit. Pág. 36.

1.4.1 Influencia del estrés causado por la leptospirosis bovina

En el ganado bovino causa pérdidas económicas por abortos, infertilidad, pérdida de la lactancia, mastitis y nacimiento de crías prematuras o débiles.⁴⁷ Las epidemias de abortos, esterilidad y el aumento de número de animales desechados causan pérdidas económicas importantes. Las epidemias de agalactia en los hatos lecheros y el síndrome hipogaláctico se asocia a la infección por L. hardjo. La caída repentina de la producción de leche puede afectar hasta al 50% de las vacas al mismo tiempo y causar una disminución precipitada de la producción lechera del hato. Esta disminución puede durar hasta 8 semanas pero en vacas individuales puede volver a la normalidad entre 10 y 14 días.⁴⁸

Infertilidad, nacimientos tempranos, abortos, y nacimiento de terneros débiles son manifestaciones clínicas típicas de infección con serovar L. hardjo en vacas, fiebre, agalactia y mastitis pueden ocasionalmente presentarse, dando como resultado problemas en ubres y por lo tanto bajas en producción lechera. La ubre es uniformemente blanda, y la leche puede ser amarilla o teñida de rojo y espesa, pareciéndose al calostro⁴⁹.

Parra y col⁵⁰ encontraron que los días abiertos, los servicios por preñez y el intervalo entre partos alto se correlacionaban con los títulos serológicos a L. hardjo en forma inversa, lo cual explica en parte, porque al aumentar la respuesta inmunológica inespecífica se produce un mejor comportamiento reproductivo, es tal vez debido, a que al aumentar la respuesta inmunológica se aumentan los niveles de IgA en la luz del útero, controlando las Leptospiras presentes.

⁴⁷ Lottersberger J. 2002. Diseño y evaluación de un Elisa IgG (género específico) para el diagnóstico de leptospirosis bovina.

⁴⁸ Blood DC. 2002. Op cit. Pag 1156

⁴⁹ Smith B. 2002. Op cit. Pag 870

⁵⁰ Parra J. L. 1993. Estudio dinámico de la diarrea viral bovina en fincas de la sabana de Bogotá. Pag 156

La leptospirosis bovina, en su forma de presentación reproductiva es de curso crónico y subclínico, sus principales efectos se manifiestan sobre el tracto urogenital, el útero grávido y la glándula mamaria. El genotipo L. hardjoprajitno se ha asociado con la presentación de un mayor número de abortos, enfermedades renales agudas y sintomatología más severa, mientras que el genotipo L. hardjobovis se relaciona más con la presentación de infertilidad, nefritis crónica y enfermedad subclínica⁵¹.

Infecciones por otros serovares como L. pomona y L. grippotyphosa también han sido asociadas con pérdidas económicas en granjas lecheras⁵².

⁵¹ Miller D. et al. 1996. Op cit. Pag 1764

⁵² Guitian F. 2001. Op cit. pag 276

2. MATERIALES Y METODOS

La investigación se dividió en tres fases:

2.1 Estandarización y puesta a punto de las técnicas

Esta fase duró aproximadamente dos meses en la cual se realizó lo pertinente para llegar a un margen de confiabilidad adecuado de la Técnica de Micro aglutinación-lisis (MAT) en los laboratorios de microbiología de la facultad de Medicina Veterinaria, entre los principales procesos fueron:

- Preparación de medios de cultivo semi-sólidos y líquidos, para el mantenimiento del cepario de *Leptospira spp.* La elaboración de los antígenos necesarios para la prueba de MAT.
- Consecución de cepario de *Leptospira spp.* a través del Instituto Colombiano Agropecuario ICA .
- Capacitación en las técnicas de la prueba de MAT

2.2 Consecución de las fincas positivas y negativas a *Leptospira spp.*

Esta fase tuvo una duración aproximada de 1 mes en la cual se realizaron muestreos serológicos aleatorios en las fincas que cumplieron con los requisitos de número mínimo de animales, presentaron registros y estaban ubicadas en la Sabana de Bogotá.

2.3 Trabajo de campo

Una vez estandarizadas las pruebas diagnósticas (MAT) y elegidas las fincas para el estudio, se procedió a realizar la parte de campo en la cual una de las fincas positivas, y previo acuerdo con el dueño se tomó una cohorte de animales a los

cuales se le hizo seguimiento serológico cada mes por espacio de 6 meses con el fin de determinar la dinámica de la enfermedad, durante ese mismo tiempo se recolectó la información pertinente a variables productivas y reproductivas de los animales de las cohortes respectivas y del hato en general.

2.3.1 Marco Geográfico

El presente estudio se realizó en fincas localizadas en la periferia de la ciudad de Bogotá la cual se caracteriza por una temperatura promedio de 14°C, con una temperatura máxima de 19.9°C y una mínima de 8.2°C en promedio. La precipitación anual equivale a 1013 mm, con una humedad relativa de 72% y una presión de 752 milibares⁵³. La zona a la cual pertenecen los municipios es la sabana de Bogotá, la cual es una región caracterizada por unas condiciones similares a la de la capital, una temperatura promedio de 12°C, 2600 msnm con fluctuaciones entre los 2400 y los 2800 msnm, presenta dos períodos climatológicos definidos como período seco y período de lluvias, la tierra es franco-arcillosa ideal para cultivo de flores y la producción de ganadería lechera especializada.

La región de la Sabana de Bogotá pertenece al departamento de Cundinamarca y comprende las zonas de Sabana Centro, Sabana Occidente, Sabana oriente y se extiende hasta el municipio de Soacha.

Los municipios que comprendieron los muestreos son:

- Sopó: con una temperatura promedio de 14°C, y 2580 msnm.
- Guasca: con una temperatura promedio de 13°C, y 2710 msnm.
- Tabio: con una temperatura promedio de 14°C, y 2569 msnm.
- La Calera: con una temperatura promedio de 13°C, y 2718 msnm.

⁵³ Intranet.IDEAM.gov.co consultado en junio de 2005

- Sibaté: con una temperatura promedio de 14°C, y 2574 msnm.⁵⁴

2.3.2 Marco demográfico

Para la medición serológica de la leptospirosis bovina se identificaron fincas positivas a *Leptospira spp* por medio de la prueba de MAT que cumplieron con las siguientes características:

- Hatos lecheros especializados localizados en la sabana de Bogotá.
- Con registros productivos y reproductivos.
- Que realizan ciclo completo de producción y con un número mínimo de 40 animales en producción.

Una vez identificadas las fincas que cumplieron dichas características se realizó un muestreo serológico para determinar la presentación de la enfermedad e incluirlas en el estudio.

Las fincas positivas se agruparon de la siguiente forma:

El primer grupo de fincas se utilizó para el seguimiento de la dinámica serológica por espacio de 6 meses con muestreos mensuales, a la cuales se le recolectaron los indicadores productivos y reproductivos durante este periodo de tiempo.

Se identificó una finca negativa a *Leptospira spp* la cual sirvió como grupo control para la dinámica serológica.

De cada finca se seleccionó al azar una cohorte con un número de animales distribuidos de la siguiente manera: 30 finca Romeral (La Calera), 20 finca Santa Mariá (Sopó), 14 finca La Estrella (Sibaté), 14 finca Chicu (Tabio), distribuidas en

⁵⁴ www.cundinamarca.gov.co consultado en julio de 2005

los tres grupos etéreos (terneras, novillas, vacas), los cuales se identificaron y se les realizó seguimiento durante el estudio. El total de animales para el estudio fue de 78 animales de raza Holstein.

Los animales que fueron eliminados por razones de salud, venta, o muerte etc. fueron reemplazados por otro animal de las mismas características y del mismo grupo etéreo.

A los animales pertenecientes a las fincas de la dinámica serológica se les realizó muestreos cada mes y se anotaron los indicadores productivos y reproductivos respectivos.

Los indicadores productivos y reproductivos de los animales del estudio se tomaron en forma mensual, de los programas de monitoreo que se llevan en las respectivas fincas o de los registros manuales.

2.3.2.1 Variables medioambientales

Las variables medioambientales que se registraron fueron:

- Humedad relativa promedio
- Precipitación promedio
- Temperatura promedio

Al finalizar los muestreos se solicito al IDEAM, los datos climatológicos de las estaciones metereológicas mas cercanas a las respectivas fincas, correspondientes a los meses del estudio.

2.3.2.2 Parámetros reproductivos

Los parámetros reproductivos que se registraron fueron:

- Servicios por concepción (SPC)
- Intervalo entre partos (IEP)

Los servicios por concepción hacen referencia al número de inseminaciones que se requieren en la finca para preñar las hembras aptas desde el punto de vista reproductivo. La meta ideal sería 1.65 servicios por concepción.

El intervalo entre partos es el tiempo que transcurre entre parto y parto. En ganaderías lecheras este período debe sucederse entre cada 12-14 meses. Para que exista un lapso de 12 meses entre parto y parto, la vaca deberá estar preñada a los 85 días postparto.⁵⁵

2.3.2.3 Variables productivas

de los registros de las fincas se tomaron los siguientes datos:

- Producción de leche en kilogramos por día

2.4 Fase de Laboratorio

La fase de laboratorio comprende la realización de las pruebas de diagnóstico serológico de la leptospirosis bovina y la medición de las variables hemáticas necesarias para la correlación planteada en el presente estudio.

⁵⁵ Shoeder F. 1999. Fisiopatología reproductiva de la vaca. Pagina 632

2.4.1 Prueba MAT para la detección de anticuerpos a *Leptospira spp.*

2.4.1.1 Elaboración de antígenos para la prueba de Microaglutinación – lisis MAT

Esta prueba se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio de genética animal de la facultad de Medicina Veterinaria de Universidad de La Salle.

Los antígenos se prepararon siguiendo el procedimiento descrito por Faine S. et al. 1999⁵⁶. De cada una de las cepas se toma un mililitro de medio semisólido con buen crecimiento y se transvasa a un medio EMJH líquido, se incuba a 30°C por 7 días.

Al séptimo día se observó al microscopio de campo oscuro para determinar crecimiento y calidad del cultivo. Cuando la cantidad de Leptospiras por campo 40X fue mayor de 200 bacterias (Aproximadamente 1/2 unidad de MacFarland), con movimientos vigorosos y las espiroquetas se encontraron libres (sin aglutinación) se realizó un segundo repique en medio STUART líquido, se incubó y se observó a los 7 días o hasta que alcanzaron el crecimiento adecuado.

Este procedimiento se repitió para cada serovar y por el tiempo necesario para lograr obtener un cultivo sin residuos de agar, con espiroquetas móviles, sin presencia de aglutinación y con una concentración media de 200 Leptospiras por campo 40X, el cual fue utilizado como antígeno para la prueba de MAT.

2.4.1.2 Técnica de Micro aglutinación-lisis (MAT)

La técnica utilizada en este trabajo se basa en la descrita por MYERS D. M. en 1988⁵⁷ pero modificada de la siguiente forma.

⁵⁶ Faine S. et al. 1999. Op cit. Pag 174.

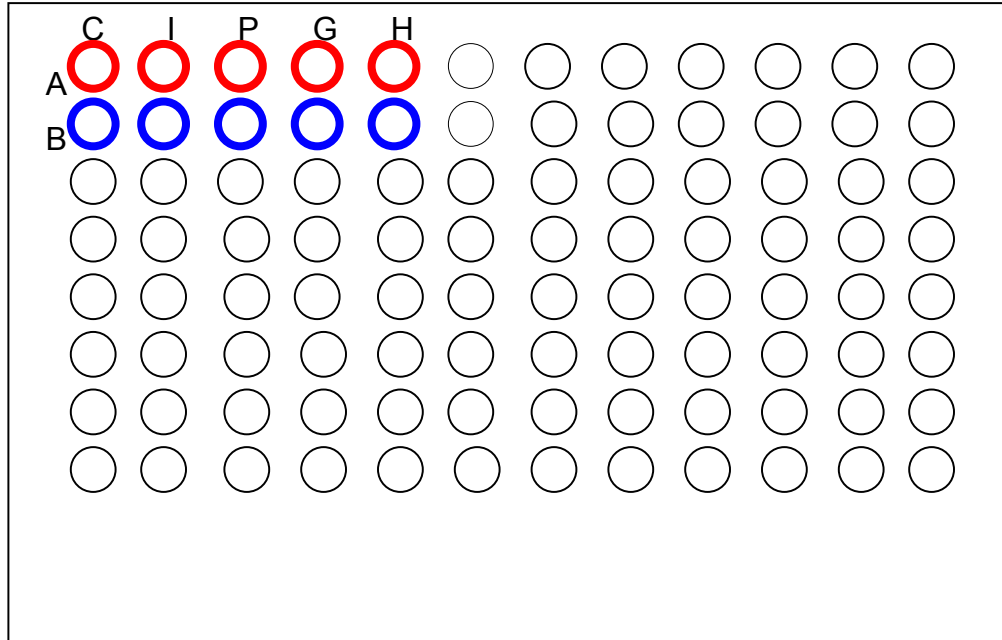
La técnica se describe así:

- Hacer una dilución 1:50 del suero con solución salina amortiguadora de fosfatos (SSAF): depositar en un tubo de ensayo 490 µl de SSAF y 10µl del suero, mezclar muy bien. A esta dilución se le da el nombre de “solución madre”.
- Posteriormente tomar una caja de microtécnica de 96 pozuelos fondo en U (Grafica 3), marcar 6 pozuelos (pozuelos A) correspondientes a los 6 serovares de *Leptospira interrogans*, depositar 50 µl de cada antígeno en cada pozuelo, luego adicionar a cada pozuelo 50 µl de la solución madre.
- Por cada serovar se debe hacer un pozuelo como control negativo (pozuelos B): depositar 50 µl de SSAF y 50 µl del antígeno respectivo en cada pozuelo control (Grafica 4).
- Tapar la caja de microtécnica y llevar a incubación durante 1 hora a 37°C en cámara húmeda.
- Post-incubación, sacar la caja de microtécnica de la incubadora e iniciar la lectura con microscopio de campo oscuro. La lectura se hace de la siguiente manera: utilizando micropipetas graduadas, primero, tomar una gota de cada pozuelo control negativo (pozuelos B), colocar sobre una lámina portaobjetos y leer. La lectura de los controles negativos debe estar libre de aglutinaciones. Segundo, se procede a realizar la lectura de los pozuelos A.

⁵⁷ Myers D. M. 1988. Manual of laboratory methods for the diagnosis of Leptospirosis. Pag. 30

Gráfica 3. Distribución de pozuelos en caja de microtécnica para MAT.

CAJA DE MICROTÉCNICA



C: sv *canicola*, I: sv *icterohaemorrhagiae*, P: sv *pomona*, G: sv *grippotyphosa*, H: sv *hardjo*

- Pozuelos A: 50 µl antígeno respectivo + 50 µl solución madre.
- Pozuelos B: 50 µl antígeno respectivo + 50 µl PBS.

Fuente: Autores.

Interpretación de la lectura:

- Negativo: No presenta aglutinación y es igual al control.
- Positivo a dilución 1:50: Presenta aglutinación en menos del 50% del campo.
- Positivo para titular: Presenta aglutinación en mas del 50% del campo.

3.4.1.3. Titulación de sueros:

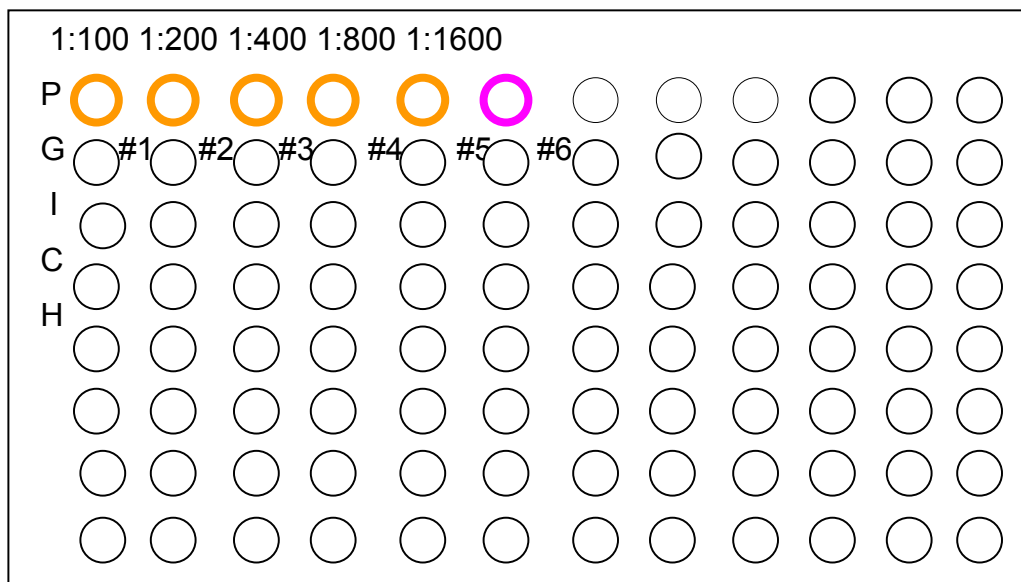
La titulación de sueros se realizó a los sueros que presentaron aglutinación en más del 50% del campo en dilución 1:50 con alguno de los 5 antígenos. Se basó en la técnica de Myers descrita en 1988, modificada de la siguiente forma:

- Hacer diluciones seriadas del suero a partir de la solución madre (dilución 1:50). Para esto se debe tomar una caja de microtécnica de 96 pozuelos y en los 8 primeros pozuelos (pozuelos C) de la fila 1 depositar 50 µl de SSAF.
- Posteriormente tomar 50 µl de la solución madre y depositarlos en el pozuelo #1, homogenizar con una micropipeta graduada, obteniendo una dilución del suero 1:100.
- Luego tomar 50 µl de la dilución 1:100 y depositarlos en el pozuelo #2 obteniendo una dilución 1:200; hacer esto hasta llegar al pozuelo #8 con una dilución 1: 1600
- A continuación agregar a los 8 pozuelos 50 µl del antígeno a titular.
- Por cada antígeno a titular se debe hacer un control negativo, el cual se ubica en el pozuelo # 6 (pozuelo D) en el cual se debe agregar 50 µl de SSAF y 50 µl del antígeno respectivo. Esto se debe realizar igual para cada antígeno a titular (figura 9)



- Tapar la caja de microtécnica y llevar a incubación por una hora a 37°C en cámara húmeda.
- Posterior a la incubación retirar la caja de la incubadora e iniciar el proceso de lectura en campo oscuro. El título se da como el valor recíproco de la dilución más alta donde presentó aglutinación de al menos el 50% de las células (Myers, 1988).

Gráfica 4. Distribución de pozuelos para Titulación de sueros.

CAJA DE MICROTÉCNICA



P: sv pomona, G: sv grippotyphosa, I: sv icterohaemorrhagiae, C: sv canicola, H: sv hard

-  Pozuelos C: Diluciones seriadas + 50 µl antígeno a titular.
-  Pozuelo D: 50 µl PBS + 50 µl antígeno respectivo.

Fuente. Autores.

2.4.3 Prueba de Electroquimioluminiscencia para medir Cortisol.

Este es una prueba inmunológica in Vitro para la determinación cuantitativa de cortisol en suero, plasma, orina y saliva.

La prueba elecsys® cortisol emplea el principio competitivo con un anticuerpo policlonal dirigido específicamente contra el cortisol. El cortisol endógeno de la muestra liberado de las proteínas de fijación por el danazol compite con el derivado de cortisol marcado con quelato de rutenio de origen exógeno por los puntos de fijación del anticuerpo biotinilado.

Estas pruebas fueron realizadas en el laboratorio Zoolab de Bogotá Colombia.

2.4.3.1 Principio de la prueba

Principio de competición con una duración total de 18 minutos.

1º incubación: la muestra (20µL) se incuba con un anticuerpo biotinileco específico anti-cortisol y un derivado de cortisol marcado con quelato de rutenio. Los puntos de fijación del anticuerpo marcado son ocupados, según sea la concentración de analito en la muestra, en parte por el analito de la muestra y en parte por el hapteno marcado con rutenio provocando la formación del inmunocomplejo respectivo.

2ª incubación: después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.

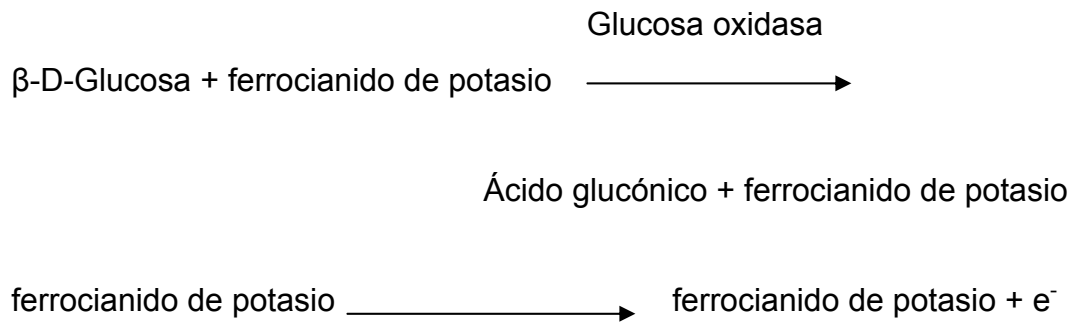
La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan temporalmente a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con el reactivo ProCali. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador.

Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración realizada en el sistema a partir de una calibración a dos puntos y una curva principal incluida en el código de barras del reactivo.

2.4.4 Determinación de Glucosa.

Para la determinación de la glucosa se empleó un glucómetro digital (Glucocard II® DATA-Arkay). Esta prueba mide los niveles de glucosa en la sangre a nivel de los pequeños vasos capilares). La prueba se realizó mediante punción de la vena coccígea, y colocando la tira de glucómetro en contacto directo con la sangre por capilaridad. Previamente se había realizado una limpieza del sitio a puncionar para evitar contaminación y alteraciones en la muestra. Los resultados fueron obtenidos 30 segundos después. Las tiras están diseñadas para medir el nivel de azúcar en la sangre capilar. El principio de la prueba está basado en la reacción glucosa/oxidasa/peroxidasa.

La glucosa contenida en la muestra de sangre reacciona con la glucosa oxidasa y el ferricianido de potasio que contiene la tira. El ferrocianido de potasio es producido en proporción a la concentración de glucosa de la muestra de sangre. La oxidación de ferrocianido de potasio produce una corriente eléctrica la cual es entonces convertida por el medidor para mostrar la concentración de glucosa.



2.5 Almacenamiento y procesamiento de las pruebas

Con el fin de lograr que las pruebas de laboratorio garantizarán una correcta medición de los niveles y arrojarán resultados idóneos, las muestras fueron fraccionadas y almacenadas a -70° C hasta el momento de la prueba, la cual se realizó cada mes, después del muestreo para MAT.

Para el procesamiento de las muestras para cortisol, se corrieron las pruebas después de haber terminado los seis muestreos.

2.6 Diseño experimental

2.6.1 Modelo estadístico

La presente investigación correspondió a un modelo epidemiológico prospectivo o de cohortes en el cual se hizo seguimiento de un grupo de animales por un período de tiempo determinado. Se realizó el cálculo de factores de riesgo y se determinó la incidencia de factores ambientales y productivos sobre el agente causal en este caso *Leptospira spp.*

Este estudio permitió determinar la prevalencia y la incidencia de la enfermedad:

Prevalencia: $P = \text{No. Animales positivos en un tiempo lugar} / \text{total de animales en ese tiempo lugar}$.

Incidencia: $I = \text{No. De nuevos casos en un tiempo lugar} / \text{total de animales en ese tiempo lugar}$.

A las variables cuantitativas edad, producción de leche, número de partos, números de servicios por concepción, intervalo entre partos, días abiertos, temperatura ambiental, precipitación y humedad relativa, se le realizó estadística descriptiva basada en la media, desviación estándar, coeficiente de variación y error típico, las cuales son presentadas en graficas y tablas para su mejor entendimiento y comprensión.

A las variables cuantitativas de no distribución normal como número de animales positivos y negativos se les realizó estadística descriptiva basada en la mediana y se presento en tablas de contingencia.

Para determinar la relación entre los títulos de la enfermedad y las variables climáticas, productivas y reproductivas se realizó un estudio de correlación de Pearson⁵⁸, donde:

$$r = \text{covariación } X_1 X_2 / \sqrt{(\text{var } X_1 * \text{var } X_2)}$$

Los datos de indicadores productivos, reproductivos, de variables ambientales, bioquímicas y de anticuerpos fueron organizados en bases de datos elaboradas en el programa EXCEL⁵⁹ y STATISTIX⁶⁰.

⁵⁸ Steel R. y Torrie G. 1999. Bioestadística, principios y procedimientos. Pag. 153

⁵⁹ Microsoft. 2005

⁶⁰ www.statistix.com

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Relación de niveles de cortisol con los niveles de glucosa

En la determinación del estrés en cualquier especie animal los principales indicadores son los niveles de la hormona cortisol y los niveles del metabolito glucosa, estos dos indicadores permiten determinar si un animal está bajo una tensión o un estrés el cual puede ser agudo o crónico, estos tipos de estrés pueden ser ocasionados por múltiples razones y es muy importante relacionarlos con el medio ambiente, manejo y otros factores que pueden determinar si un animal esta o no esta estresado.

3.1.1. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche de la sabana de Bogotá durante seis muestreos.

Para determinar los niveles de estrés de los diferentes animales y fincas se tomaron como indicadores el metabolito glucosa y la hormona cortisol, durante seis muestreos en cuatro fincas ubicadas en la sabana de Bogotá.

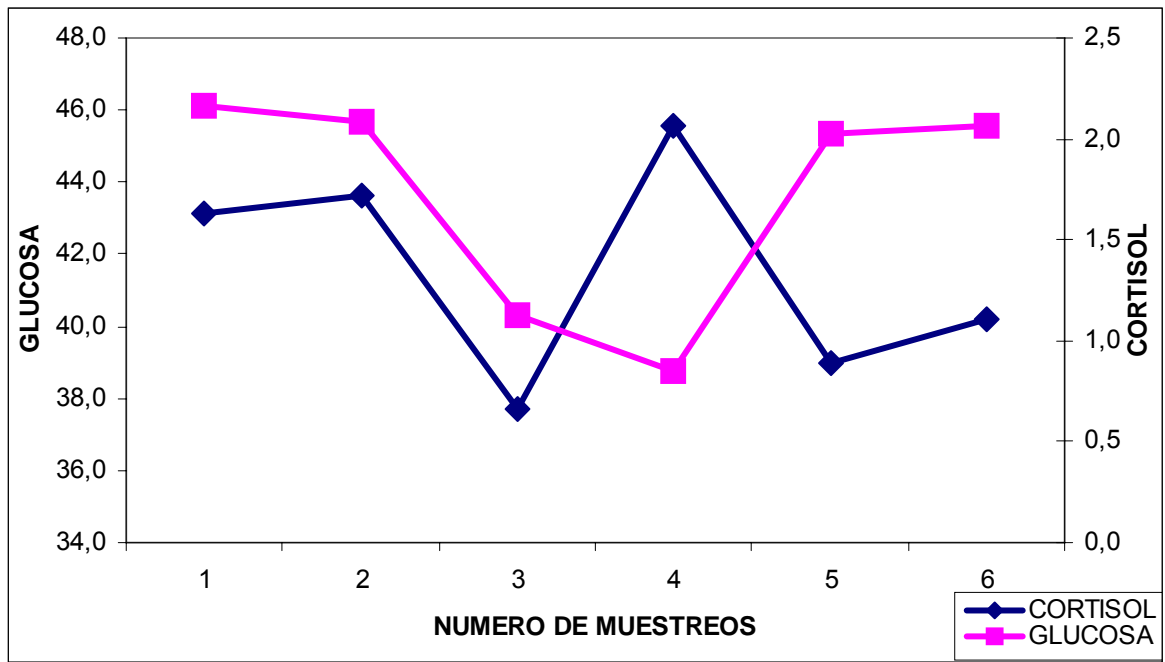
Tabla 1. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.

ITEM	MUESTREO*					
	1	2	3	4	5	6
CORTISOL ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	1.63 ± 1.99	1.73 ± 1.62	0.66 ± 0.6	2.07 ± 2.79	0.89 ± 0.87	1.11 ± 1.34
GLUCOSA (mg/ml)	46.1 ± 21.8	45.69 ± 1.62	40.3 ± 8.09	38.7 ± 6.27	45.4 ± 0.87	45.5 ± 11.6

Fuente: Autores

*Promedio \pm Desviación estándar

Gráfica 5. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

En los 3 primeros muestreos hay una relación directa de los niveles de cortisol con los niveles de glucosa (ver grafica 5), en los siguientes muestreos las dos variables se comportan de forma inversa, es decir que mientras el cortisol aumenta la glucosa baja sus niveles, este comportamiento está dado por su baja correlación ($r = - 0.113492$) el cual indica estas dos variables tienen una variación no significativa e inversa.

El aumento de la glucosa en el primer muestreo puede ser causado por los efectos del cortisol sobre gluconeogénesis, ya que el cortisol provoca una disminución moderada en el ritmo de utilización de glucosa por las células y por esta razón aumenta sus niveles en plasma Cunningham (1999), en el tercer muestreo los niveles de cortisol y glucosa descendieron posiblemente por un mayor gasto

energético de los animales debido a diferentes causas las cuales se pueden dar por un aumento en la producción, pero se mantuvieron en una relación directa. En el cuarto muestreo se puede observar un pico de cortisol el cual pudo ser generado por un estrés agudo, este estrés puede ser consecuencia del manejo de los animales en el momento de la toma de muestra, mientras que la glucosa se mantuvo en nivel estable al mostrado en el tercer muestreo reflejado por el gasto energético de los animales. En el quinto y sexto muestreo podemos observar un nivel estable de cortisol lo que indica un estrés crónico por esta razón la glucosa también tiene un nivel alto, debido a un aumento de la gluconeogenesis dado por la tendencia al aumento en los niveles de cortisol según Cunnigham (1999)

3.1.2. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche en fincas de la sabana de Bogotá.

Se tomaron los datos de Cortisol y glucosa en cada una de las fincas de la sabana de Bogotá, para observar si se presenta una relación directa entre las dos variables.

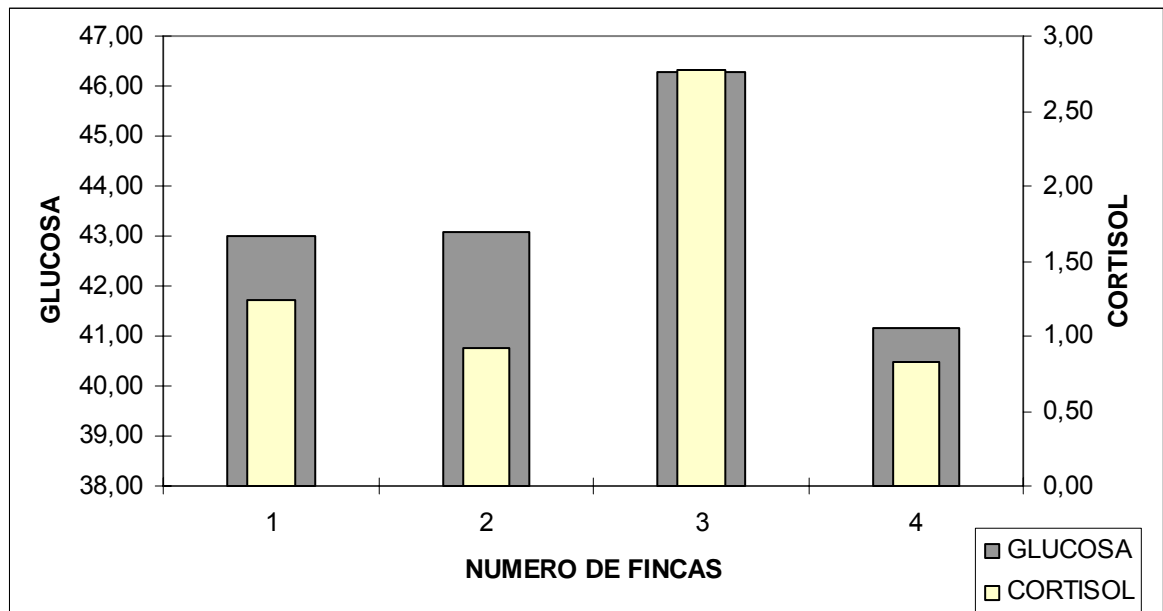
Tabla 2. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche en fincas de la sabana de Bogotá.

ITEM	*FINCA			
	1	2	3	4
CORTISOL ($\mu\text{g/dl}$)	1.236 \pm 1.002	0.92 \pm 1.131	2.773 \pm 3.563	0.827 \pm 0.7
GLUCOSA (mg/ml)	43.02 \pm 14.57	43.06 \pm 9.669	46.29 \pm 12.58	41.18 \pm 7.621

Fuente: Autores

*promedio \pm Desviación estándar

Gráfica 6. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche en fincas de la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

Hay una relación entre los niveles de cortisol y los de glucosa en cada una de las fincas (gráfica No. 6), conservando siempre la misma tendencia de niveles altos o bajos en cada una. Es importante resaltar que la finca 3 presenta unos niveles altos en comparación con las otras tres fincas.

En la finca número tres se presenta un aumento en los niveles de glucosa y cortisol comparado a las otras tres fincas que tienen niveles muy parecidos este aumento es debido al manejo de los animales Dantzer (2004) quien afirma que los niveles de cortisol pueden aumentar tres o cuatro veces mas en situaciones de sujeción comparado a métodos de extracción de muestras de sangre rápidas, el aumento de la glucosa se debe al efecto de los glucocorticoides sobre el metabolismo, mostrando la capacidad de incrementar la gluconeogénesis

hepática, aumentándola en ocasiones seis a diez veces Cunnigham (1999), esto en animales que están bajo una situación de estrés por manejo.

3.1.3. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche por grupos etéreos en fincas de la sabana de Bogotá.

Los niveles de glucosa en animales adultos y jóvenes son muy diferentes, por razones fisiológicas, en este estudio se tomaron muestras en animales jóvenes como lo son las terneras en animales jóvenes adultos como lo son las novillas y en animales adultos que son las vacas con el fin de identificar las variaciones entre estos tres grupos para lograr un mejor análisis teniendo en cuenta las diferencias fisiológicas.

Tabla 3. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche por grupos etéreos en fincas de la sabana de Bogotá.

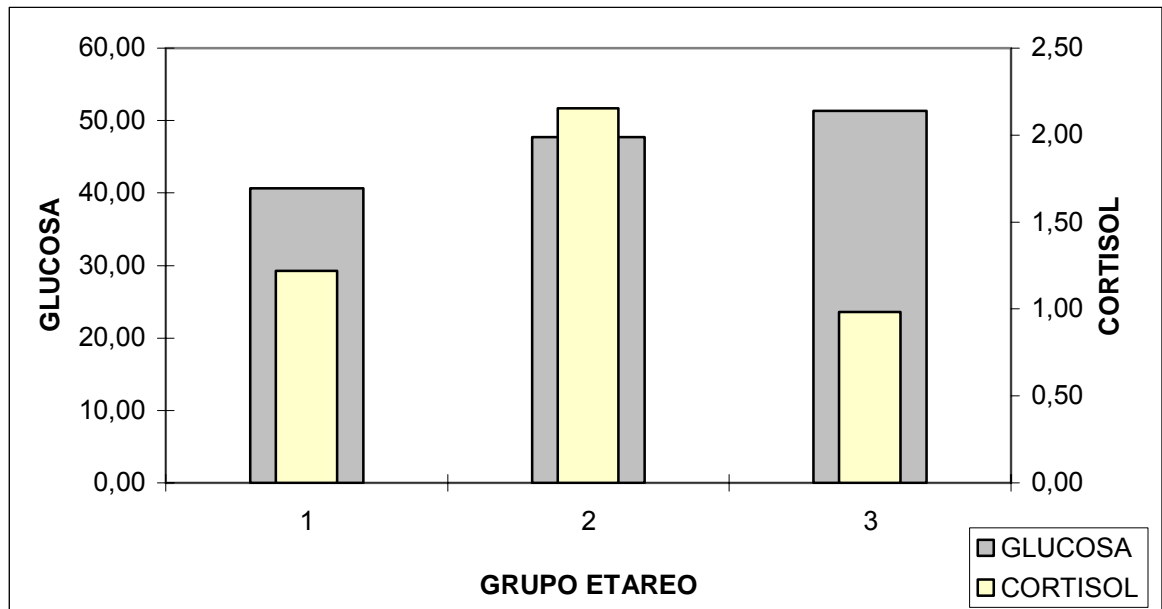
ITEM	*GRUPO ETÀREO		
	VACAS	NOVILLAS	TERNERAS
CORTISOL ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	1.219 \pm 1.286	2.15 \pm 3.129	0.984 \pm 0.873
GLUCOSA (mg/ml)	40.63 \pm 8.92	47.75 \pm 16.37	51.35 \pm 17.26

Fuente: Autores

*Promedio \pm Desviación estándar

Los niveles de cortisol son parecidos en los tres grupos etéreos es decir no hay una diferencia marcada (tabla No. 3), la glucosa tiene un nivel un poco mas alto en el grupo etéreo de las terneras pero se encuentran dentro del rango normal de glucosa (40-80 mg/dL) según la publicación Research Animal Resources (2000).

Gráfica 7. Relación de niveles de cortisol y glucosa en bovinos de leche por grupos etáreos en fincas de la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

El comportamiento del cortisol y la glucosa en los tres grupos etáreos (gráfica No. 7), se encuentran dentro de los niveles normales de cortisol (0.9 a 9 $\mu\text{g}/\text{dL}$) según Dantzer (2004) y de glucosa (40-80 mg/dL) según publicación Research Animal Resources (2000). El nivel de la glucosa va en aumento entre los grupos etáreos, las vacas que es el primer grupo etáreo tiene niveles menores que las novillas y las terneras de glucosa y cortisol, el aumento de los niveles de glucosa en el caso de las terneras es debido a que la fisiología de estos animales es diferente a la de los rumiantes porque se comporta como monogástricos y por esta razón tienen niveles más altos de glucosa en sangre según Guyton (1989), las terneras presentan niveles más altos de glucosa en relación con las vacas y de cortisol en relación con vacas y terneras porque estos animales no están acostumbrados a un manejo diario, son animales que se encuentran en pastoreo constante en las fincas, los niveles de estrés de estos animales aumentan considerablemente al

momento de la toma de la muestra ya que son muy difíciles de manejar, según Guyton (1999) el cortisol también provoca disminución moderada en el ritmo de utilización de glucosa por las células, el cortisol retrasa directamente el ritmo de utilización del azúcar aumentando los niveles de glucosa en sangre.

3.2. Resultado a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.

La serología que se realizó durante la investigación por medio de la técnica de MAT, fue realizada para identificar y medir los títulos de las diferentes serovariedades de leptospira spp.

3.2.1. Serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.

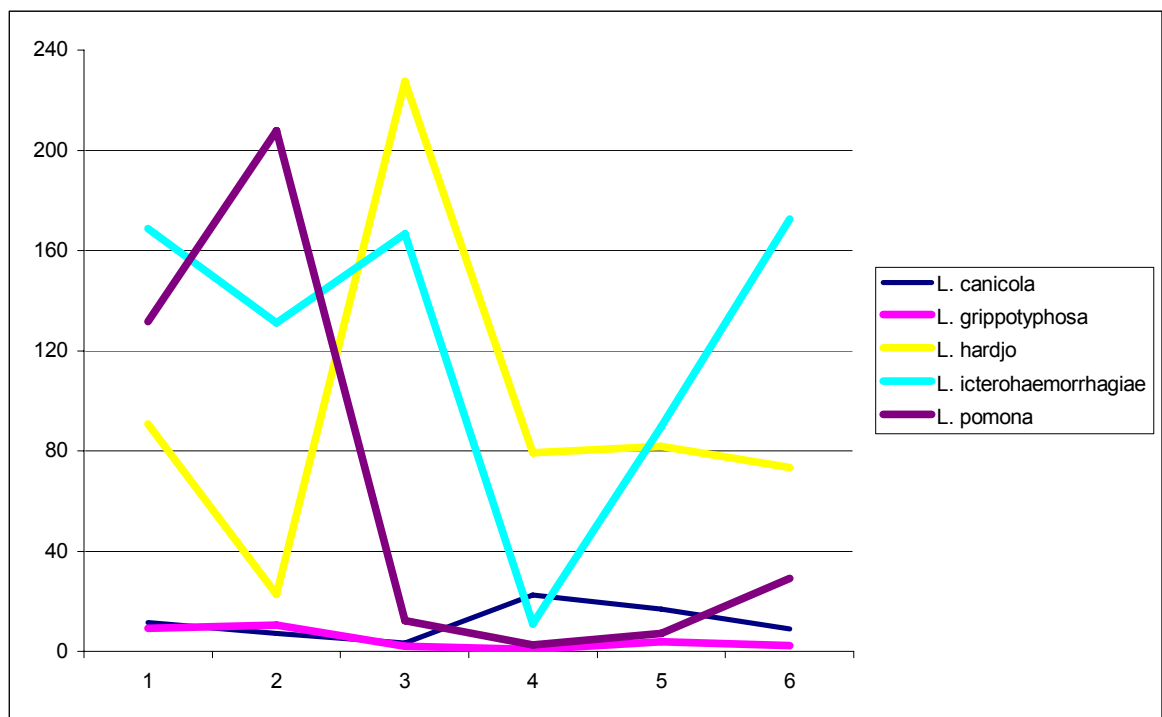
Tabla 4. Resultados de la serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.

ITEM	MUESTREO*					
	1	2	3	4	5	6
<u>L. canicola</u>	11.43 ± 28.6	7.14 ± 19.39	3.205 ± 16.79	22.37 ± 102	16.88±92.3	8.81±19.2
<u>L. grippotyphosa</u>	9.3 ± 45.45	10.39 ± 28.4	1.923 ± 9.67	0.649 ± 5.69	3.89 ±17.7	2.42±10.8
<u>L. hardjo</u>	90.64 ± 291	22.73 ± 92.7	227.6 ± 439.7	79.22 ± 262	81.82±271	73.39±245
<u>L. icterohaemorrhagiae</u>	168.6 ± 436	131 ± 373	166.6 ± 431.1	11.04 ± 22.4	89.61±271	172.6±368
<u>L. pomona</u>	131.1 ± 373	207 ± 445	12.18 ± 28.13	2.59 ± 11.17	7.143±19.3	29.03±113

Fuente: Autores
Promedio ± Desviación estándar

Los promedios de los serovariantes de leptospira spp son muy variables durante los muestreos realizados (Tabla No. 4), los niveles son estables o mantienen una relación entre muestreo y muestreo por cada uno de los serovariantes pero cuando se comparan los serovariantes entre si son diferentes.

Gráfica 8. Resultados de la serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

Los serovares mas homogéneos fueron L. canicola, y L. grippotyphosa (gráfica 8), las cuales muestran unos bajos niveles durante los 6 muestreos porque según Orrego w. (2000) son los serovariantes que menor prevalencia tienen en la sabana de Bogotá 3.6% L. canicola y 1.8% L. grypotyphosa. Según este autor los serovariantes L. hardjo, L. icterohaemorrhagiae y L. pomona tienen una prevalencia del 7.6% indicando que hay una mayor predisposición a que los

animales presenten estos serovariantes en la sabana de Bogotá, otro factor importante de por que estos serovares presentan altos y bajos niveles es por la supervivencia del microorganismo en el medio ambiente, dependiendo principalmente de condiciones del suelo y el agua de una temperatura ambiental inferior a 7-10 °C, cuando es superior a 34-36°C es perjudicial para su supervivencia. La humedad y el agua de la superficie del suelo son los factores mas importantes que rigen la persistencia de este microorganismo en el lecho o el suelo, puede persistir hasta 183 días en un suelo saturado de agua, pero solo 30 minutos cuando el suelo está aireado. Los anticuerpos de L. hardjo tienen una prevalencia alta en todas las áreas de precipitaciones, pero L. pomona es mucho mas común en las zonas de precipitaciones escasas según Blood (2002), como lo ocurrido del tercer muestreo en adelante.

3.2.2. Serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.

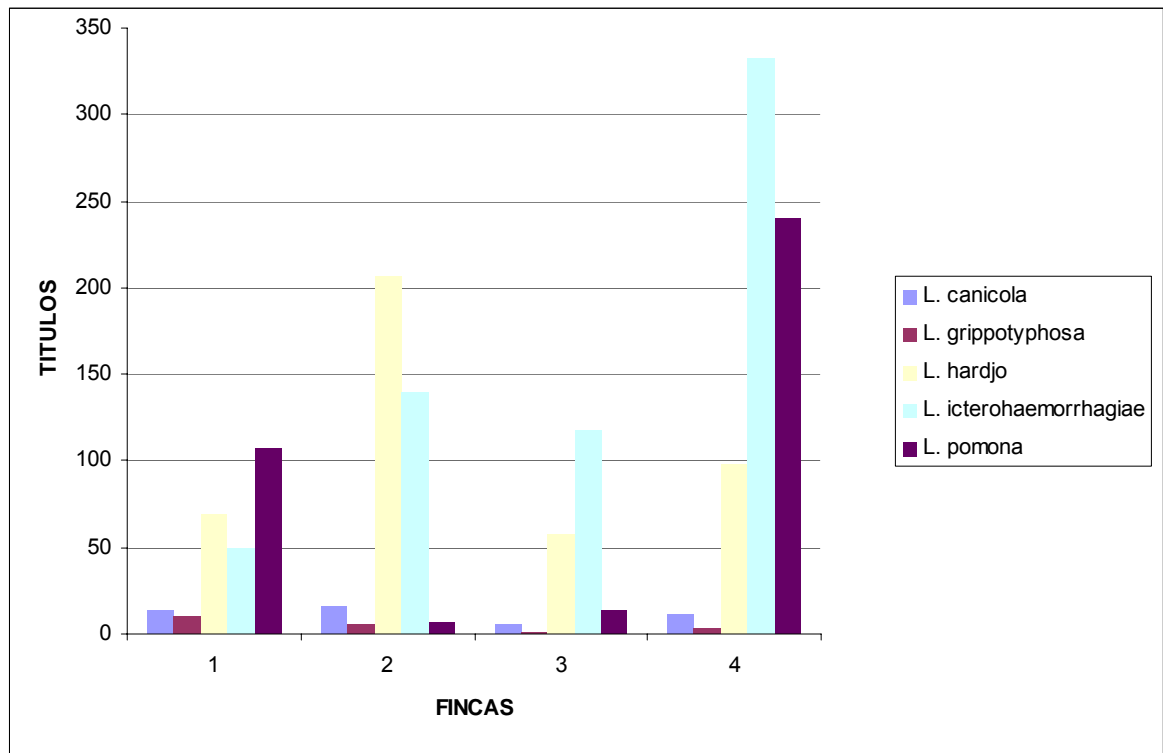
Tabla 5. Comportamiento de la serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.

ITEM	*FINCA			
	1	2	3	4
<u>L. canicola</u>	14.06 ± 62.54	16.67 ± 81.65	5.966 ± 16.25	11.77 ± 47.34
<u>L. grippotyphosa</u>	10.88 ± 46.89	6.19 ± 20.45	1.136 ± 7.473	2.941 ± 11.84
<u>L. hardjo</u>	69.17 ± 237.4	206.67 ± 434.1	57.43 ± 346.8	97.65 ± 241.1
<u>L.icterohaemorrhagiae</u>	49.74 ± 160.8	139.52 ± 407.7	117.9 ± 364.1	332.4 ± 554.2
<u>L. pomona</u>	106.99 ± 318.55	7.14 ± 25.409	13.35 ± 63.522	240.00 ± 503.72

Fuente: Autores

*Promedio ± Desviación estándar

Grafica 9. Comportamiento de la serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

El comportamiento de los serovariantes de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae (gráfica No. 9), en las cuatro fincas son las que mayores niveles de títulos presentan debido a su mayor prevalencia en la sabana de Bogotá, los otros dos serovariantes L. canicola y L. grippityphosa, tienen una presencia baja de títulos en las 4 fincas donde fue realizada la investigación, la finca con mayores títulos de serovares fue la número 4 Chicú que está ubicada en Tabío Cundinamarca y en la que se tomaron todos los animales positivos a la enfermedad de Leptospira spp. La finca número 1 el Romeral ubicada en la Calera Cundinamarca presentó niveles de títulos de los cuatro serovariantes pero en una proporción baja comparada con las otras fincas, la finca 2 Santa María ubicada en Sopo Cundinamarca muestra unos niveles altos de los serovariantes L. hardjo y L.

icterohaemorrhagiae comparados con los otros tres serovariantes, la finca 3 la Estrella ubicada en Sibaté Cundinamarca presenta los niveles mas bajos de títulos de los serovariantes comparándolos con las otras 3 fincas, estas diferencias de los títulos en las 4 fincas son debidos a que las fincas tienen diferentes precipitaciones de agua y también puede cambiar el clima entre las fincas por encontrarse a diferentes alturas sobre el nivel del mar, favoreciendo o limitando la prevalencia de los serovariantes según Blood (2002).

3.2.3. Serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá en los grupos etéreos

La serología que se realizó durante la investigación por medio de la técnica de MAT, fue realizada para identificar y medir los títulos de las diferentes serovariedades de leptospira spp. en los tres grupos etéreos con el fin de identificar diferencias entre las terneras, novillas y vacas de la sabana de Bogotá

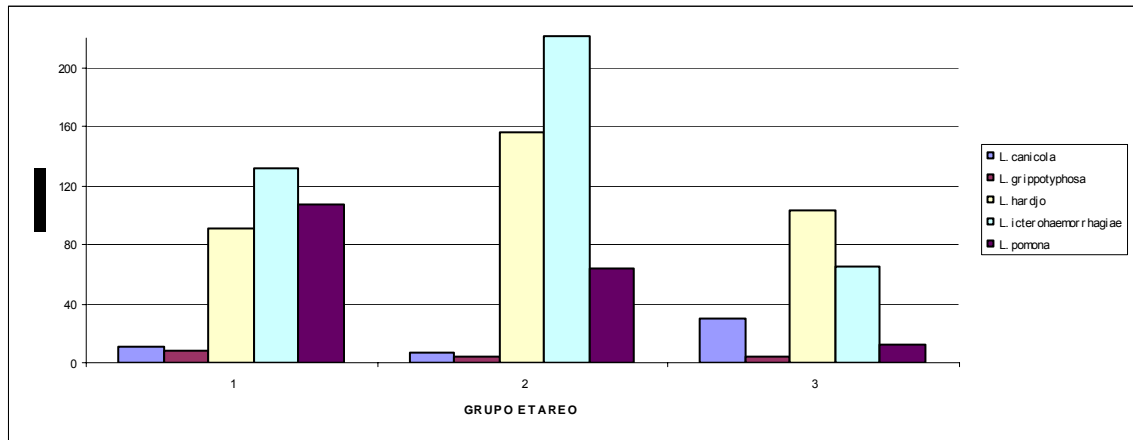
Tabla 6. Comportamiento de la serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá en los grupos etéreos

ITEM	*GRUPO ETÁREO		
	VACAS	NOVILLAS	TERNERAS
<u>L. canicola</u>	10.99 ± 32.16	6.54 ± 24.84	29.83 ± 148.5
<u>L. grippotypbosa</u>	7.658 ± 36.94	4.21 ± 15.54	3.509 ± 15.98
<u>L. hardjo</u>	90.84 ± 255.9	56.07 ± 389.2	103.5 ± 357.2
<u>L. icterohaemorrhagiae</u>	131.8 ± 362.2	221.03 ± 483.8	64.91 ± 238.1
<u>L. pomona</u>	107.8 ± 339.7	64.02 ± 235.1	12.28 ± 59.23

Fuente: Autores

*Promedio ± Desviación estándar

Gráfica 10. Comportamiento de la serología a MAT para Leptospira spp en bovinos de leche de la sabana de Bogotá en los grupos etéreos



Fuente: Autores

En los tres grupos etéreos Terneras, Novillas y Vacas los serovares que mayores niveles de títulos presentan son L. icterohaemorrhagiae y L. hardjo (gráfica 10), siendo un poco mayor en el grupo de las novillas estos animales presentan mayores títulos de los serovariantes por estar mayor tiempo en las condiciones medio ambientales ideales para la presentación de los serovariantes, como se ha dicho anteriormente los serovariantes necesitan de unas condiciones altas de precipitación afirmado por Blood (2002) y como este grupo de animales (novillas) permanecen expuestos a estas condiciones son los que mayores títulos tienen, por no estar aun vacunados, el grupo que menores títulos presenta es el de las terneras porque estos animales aun mantienen los anticuerpos maternos a la enfermedad según Acosta H. y Col. (1994), los niveles de títulos en el grupo de las vacas está en los niveles aceptables pero tienden a ser altos comparados con los otros dos grupos, esta respuesta es debida a que en la investigación se tomaron animales positivos, negativos e inmunizados y la cantidad de animales positivos está influenciando los niveles de serovares en el grupo.

3.3. Estrés inducido por Leptospira spp. En animales de la sabana de Bogotá.

El estrés inducido por enfermedad o diestrés según Breazile J. (1999) es usualmente representado por un estímulo generado por agentes infecciosos. Este estímulo adicional inicia una amplia variedad de respuestas en las patogénesis, trayendo un gran número de alteraciones neurológicas y endocrinas que toman lugar durante el diestrés. La mayor alteración involucra una secreción de glucocorticoides influenciando el desarrollo de mecanismos fisiológicos y de las defensas normales del animal.

3.3.1. Relación de cortisol, glucosa con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en los diferentes muestreos en hatos de la sabana de Bogotá

El estrés en los bovinos causado por enfermedad, se puede medir por medio de los niveles de cortisol y glucosa, los cuales nos permiten comprobar si los animales tienen un estrés causado por la enfermedad o simplemente un estrés inducido por algún otro estresor.

Los serovariantes incluidos en la investigación son L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa, con el fin de determinar su prevalencia en animales de la sabana de Bogotá y comprobar si la enfermedad produce un estrés en los animales, por esta razón es de suma importancia mirar si hay o no una relación entre el aumento o la disminución de los títulos de los serovariantes con las variaciones en los niveles de glucosa y cortisol.

Tabla 7. Relación de cortisol, glucosa con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en los muestreos en hatos de la sabana de Bogotá.

ITEM	MUESTREO*					
	1	2	3	4	5	6
CORTISOL (µg/dl)	1.63±1.991	1.73±1.62	0.661±0.647	2.068±2.788	0.894±0.871	1.111±1.34
GLUCOSA (mg/ml)	46.14± 1.77	45.69±10.95	40.33±8.086	38.74±6.274	45.35±13.23	45.55± 1.5
<u>L. canicola</u>	11.43±28.6	7.14±19.39	3.205±16.79	22.37±102	16.88±92.3	8.81±19.2
<u>L. grippotyphosa</u>	9.3 ± 45.45	10.39 ± 28.4	1.923 ± 9.67	0.649 ± 5.69	3.89 ± 17.7	2.42 ± 10.8
<u>L. hardjo</u>	90.64 ± 291	22.73 ± 92.7	227.6 ± 439.7	79.22 ± 262	81.82 ± 271	73.39 ± 245
<u>L. icterohaemorrhagiae</u>	168.6 ± 436	131 ± 373	227.6 ± 431.1	11.04 ± 22.4	89.61 ± 271	172.6 ± 368
<u>L. pomona</u>	131.1 ± 373	207 ± 445	12.18 ± 28.13	2.59 ± 11.17	7.143 ± 19.3	29.03 ± 113

Fuente: Autores

*Promedio ± Desviación estándar

Los serovares mas importantes son L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, (tabla No. 7) mostrando los niveles mas altos de títulos y confirmando la teoría de otros estudios como el de Orrego w. (2000) en donde afirma que las cepas con mayor prevalencia en hatos de la sabana de Bogotá son las tres aquí nombradas con una prevalencia del 7.6 %

Los serovariantes L. canicola, L. grippotyphosa, no muestran niveles altos es decir tienen una baja presencia en la zona confirmando lo dicho por Orrego w. (2000) que son los serovares que menor prevalencia tienen 3.6% en hatos de la sabana de Bogotá

Tabla 8. Correlación de (Pearson) del cortisol y glucosa con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en hatos de la sabana de Bogotá.

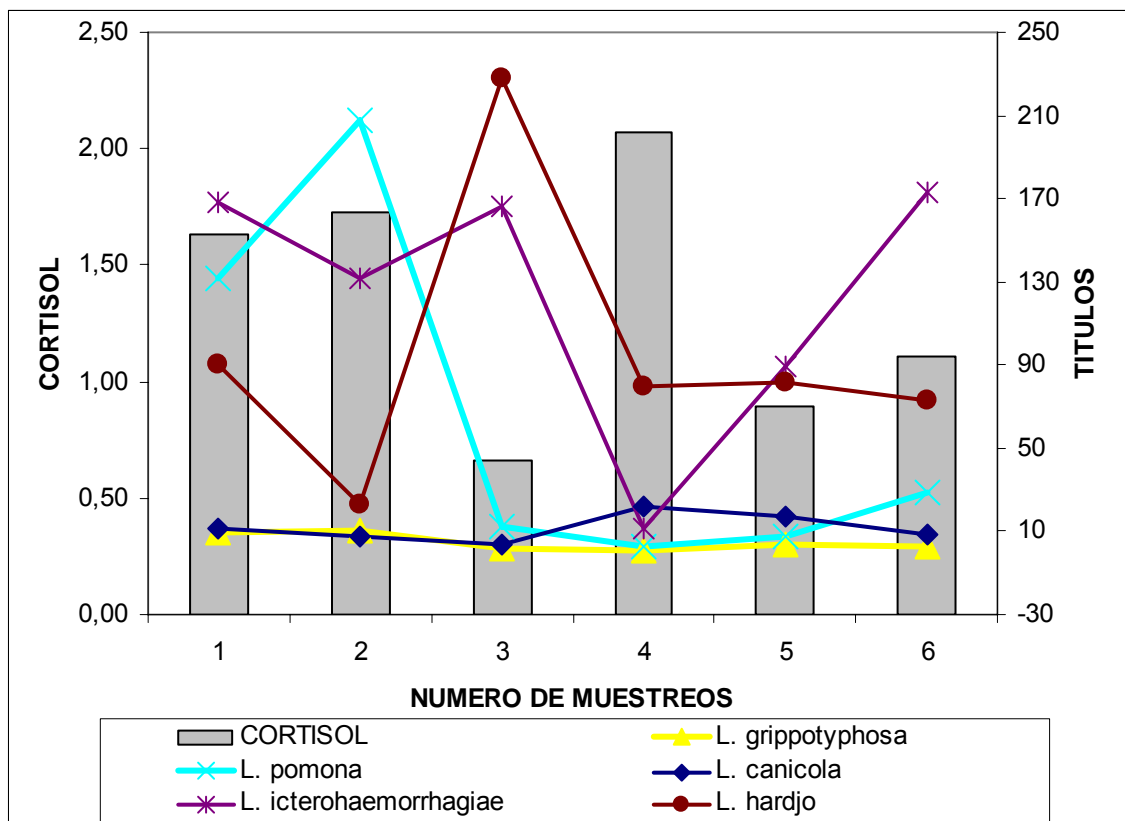
ITEM	SEROVAR				
	<u>L. canicola</u>	<u>L. grippotyphosa</u>	<u>L. hardjo</u>	<u>L. icterohaemorrhagiae</u>	<u>L. pomona</u>
CORTISOL	0.5304	-0.4804	-0.7139	-0.6485	0.4301
GLUCOSA	-0.2750	0.5231	-0.3300	0.3044	0.5634

Fuente: Autores

Los serovares que mayor relación tienen con el cortisol son L. canicola y L. pomona los cuales tienen una correlación de (pearson) positiva, indicando que son directos o sea que a mayor cortisol mayor nivel de títulos de los serovares (tabla No. 8), los niveles de estos serovariantes son altamente significativos porque están en un valor superior de ($r = 0.33$) si los niveles de estos serovariantes estuvieran iguales o por debajo de este valor serían no significativos o poco significativos.

Con respecto a la glucosa los serovares que mayor relación tienen son los de L. grippotyphosa y L. pomona con un ($r = 0.5231$) y ($r = 0.5634$). En esta investigación todos los serovares son de gran importancia no solo por su alta significancia, que tienen con el cortisol y la glucosa, si no por la prevalencia de la enfermedad, especialmente con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae. Los cuales son los que mayores niveles de títulos tienen en esta investigación.

Gráfica 11. Relación del cortisol, con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en los diferentes muestreos en hatos de la sabana de Bogotá.



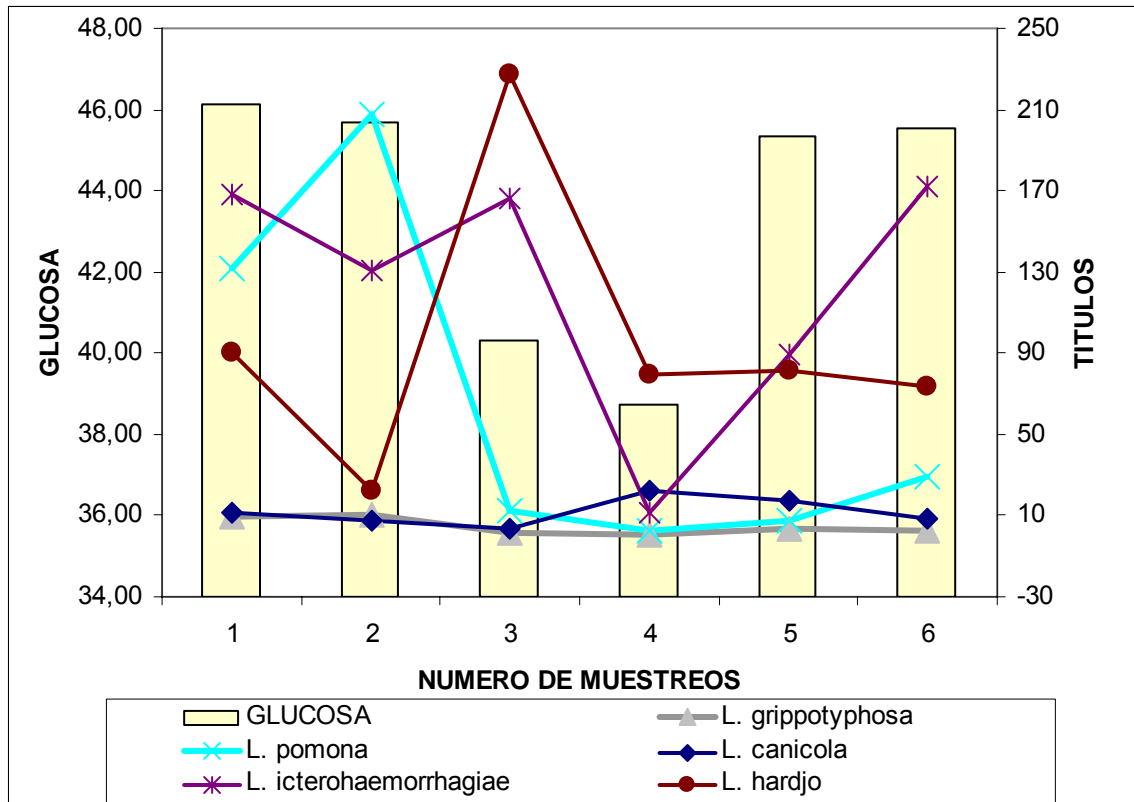
Fuente: Autores

Los niveles de cortisol tiene una relación directa con los serovares L. canicola y L. pomona de ($r = 0.5304$) y ($r = 0.4301$) respectivamente (gráfica 11), de estos dos serovares el de mayor prevalencia según Orrego w. (2000) con un 7.6 % es L. pomona, este serovar al ser uno de los que mayor número de casos presentó durante la investigación (tabla No. 7) y al estar con un nivel de relación y de significancia alto con el cortisol, se puede afirmar que está causando un estrés inducido por la enfermedad, además este serovar según blood (2002) tiene una gran resistencia en zonas donde las condiciones medio ambientales son variables

como en el caso de la sabana de Bogotá. Los serovares de *L. grippotyphosa*, *L. icteroahemorrhagiae* y *L. hardjo*, muestran una relación inversa pero muy significativa de ($r = - 0.4804$), ($r = - 0.6485$) y ($r = - 0.7139$) respectivamente con el cortisol durante los seis muestreos indicándonos que mientras los niveles de los serovares aumentan o disminuyen el cortisol tiene un comportamiento contrario el cual es por causa de las condiciones medio ambientales relacionados con la precipitación ya que la supervivencia del microorganismo en el medio ambiente depende principalmente de variaciones en las condiciones del suelo y el agua en el área contaminada una temperatura ambiental inferior a 7-10 °C o superior a 34-36°C es perjudicial para su supervivencia descrito por Blood (2002).

Los niveles de cortisol no solo pueden estar causados por un estrés asociado a la enfermedad sino que también pueden aumentar por la manipulación de los animales afirmado por Dantzer (2004), un estrés agudo, como lo ocurrido en el primero, segundo y cuarto muestreos donde la manipulación de los animales fue deficiente al ser mayores los tiempos de agrupación de los animales por parte de los operarios o encargados. En el tercer muestreo vemos una baja en el nivel del cortisol de igual manera en el quinto y sexto muestreos, pero según este autor los niveles comunes de cortisol son 0.9 µg/dL, indicando que el procedimiento fue de bajo estrés o que fue muy rápido. Los procedimientos rápidos son los que se pueden terminar antes de que se empiecen a elevar los niveles de cortisol y cualquier demora en la manipulación de los animales o en la toma de la muestra puede ocasionar que el cortisol aumente considerablemente, también hay estímulos según Breazile (1999) que no son perjudiciales por si mismos e inician respuestas que no afectan ni ayudan al bienestar del animal. Los estímulos de estrés neutral incluyen los estímulos ambientales en los cuales el animal tiene que adaptarse, a alteraciones internas de parámetros fisiológicos o componentes bioquímicos pero dentro de los rangos normales de variación de cortisol.

Gráfica 12. Relación de la glucosa con los serovares de *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* y *L. grippotyphosa* en los diferentes muestreos en hatos de la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

Los niveles de glucosa se encuentra relacionados con los valores de títulos altos de los serovariantes de *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae* y *L. grippotyphosa* en ($r = 0.5634$), ($r = 0.3044$) y ($r = 0.5231$) respectivamente, es decir que estos niveles de significancia y relación con estos tres serovares que son los de mayor prevalencia en la sabana de Bogotá según Dantzer (2004) y son los que mayores niveles de títulos tienen en esta investigación confirmando que en el estrés inducido por enfermedad lo que mas se afecta son los glucocorticoides y al estar estos afectados según Guyton (1989) se provoca una disminución moderada en el ritmo de utilización de glucosa por las células, se cree que en alguna etapa entre

el ingreso de glucosa en las células y su desintegración final, el cortisol retrasa directamente el ritmo de utilización del azúcar. Un mecanismo sugerido para este efecto se basa en observar que los glucocorticoides deprimen la oxidación de NADH. Como el NADH debe oxidarse para permitir una glucólisis rápida, este efecto pudiera explicar la disminución de utilización de glucosa en las células. También es sabido que los glucocorticoides deprimen ligeramente el transporte de glucosa hacia el interior de las células lo cual pudiera ser un factor adicional para disminuir la utilización celular de glucosa.

La relación de los serovares con la glucosa es mucho mayor que con el cortisol porque el cortisol es una hormona que aumenta al presentarse cualquier estímulo que produzca un estrés en el animal descrito por Breazile (1994) mientras que la glucosa se demora mucho mas en aumentar a estímulos o a casos de estrés agudo, es por esta razón que la glucosa en el momento de la toma de muestra no se aumenta. Y se puede observar una mayor relación entre esta y los serovares de la enfermedad.

3.3.2. Relación de cortisol, glucosa con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.

Los niveles de cortisol y glucosa son diferentes en cada finca porque los animales se encuentran en condiciones de manejo totalmente diferentes, por esta razón se debe analizar finca por finca los cambios de estos niveles y también se deben analizar los cambios de los títulos de la enfermedad puesto que puede que haya una relación mucho mas estrecha en alguna finca entre los niveles de cortisol y de glucosa con las serovariantes.

Tabla 9. Relación de cortisol, glucosa con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.

ITEM	FINCA*			
	1	2	3	4
CORTISOL ($\mu\text{g/dl}$)	1.236 \pm 1.002	0.92 \pm 1.131	2.773 \pm 3.563	0.827 \pm 0.7
GLUCOSA (mg/ml)	43.02 \pm 14.57	43.06 \pm 9.669	46.29 \pm 12.58	41.18 \pm 7.621
<u>L. canicola</u>	14.06 \pm 62.54	16.67 \pm 81.65	5.966 \pm 16.25	11.77 \pm 47.34
<u>L. grippotyphosa</u>	10.88 \pm 46.89	6.19 \pm 20.45	1.136 \pm 7.473	2.941 \pm 11.84
<u>L. hardjo</u>	69.17 \pm 237.4	206.67 \pm 434.1	57.43 \pm 346.8	97.65 \pm 241.1
<u>L. icterohaemorrhagiae</u>	49.74 \pm 160.8	139.52 \pm 407.7	117.9 \pm 364.1	332.4 \pm 554.2
<u>L. pomona</u>	106.94 \pm 318.55	7.14 \pm 25.40	13.35 \pm 63.52	240 \pm 503.7

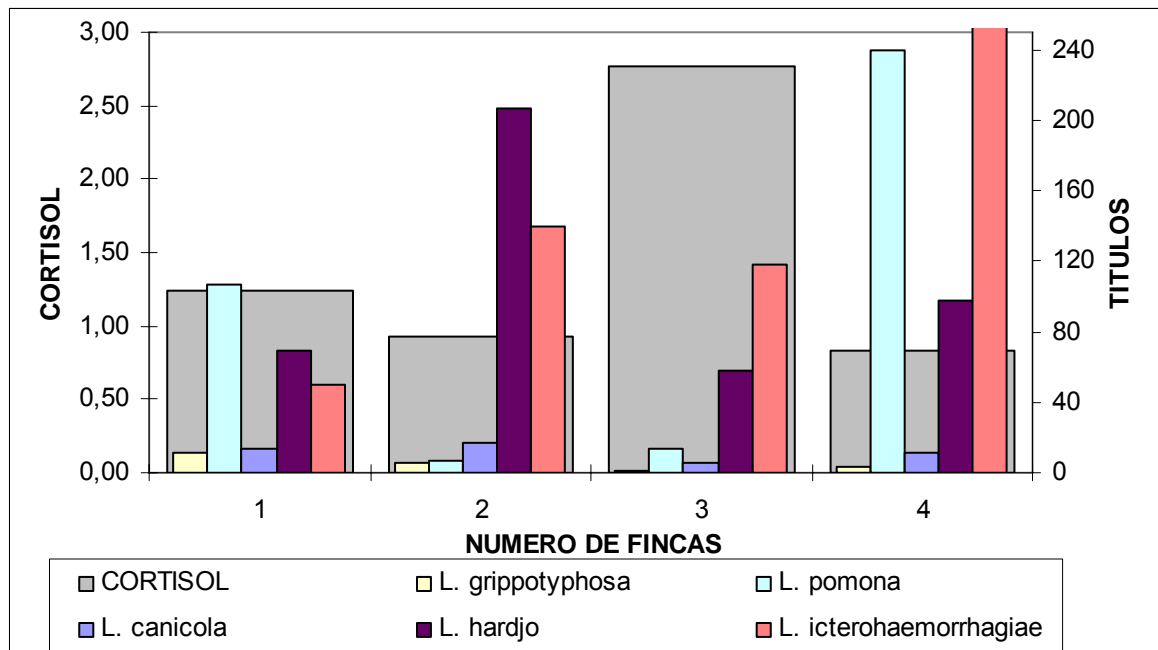
Fuente: Autores

*Promedio \pm Desviación estándar

Los serovares mas importantes en las 4 fincas muestreadas en la sabana de Bogotá son L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, (tabla No. 9) mostrando los niveles mas altos de títulos en relación con otros estudios como el de Orrego (2000) en donde afirma que las cepas con mayor prevalencia en hatos de la sabana de Bogotá son estos tres.

Los serovariantes L. canicola, L. grippotyphosa, no muestran niveles altos es decir tienen una baja presencia en la sabana de Bogotá, por tener condiciones medio ambientales diferentes como lo describió Orrego (2000) puesto que estos serovariantes se desarrollan mejor en zonas de precipitación menores.

Gráfica 13. Relación de cortisol con los serovares de *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* y *L. grippotyphosa* en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.

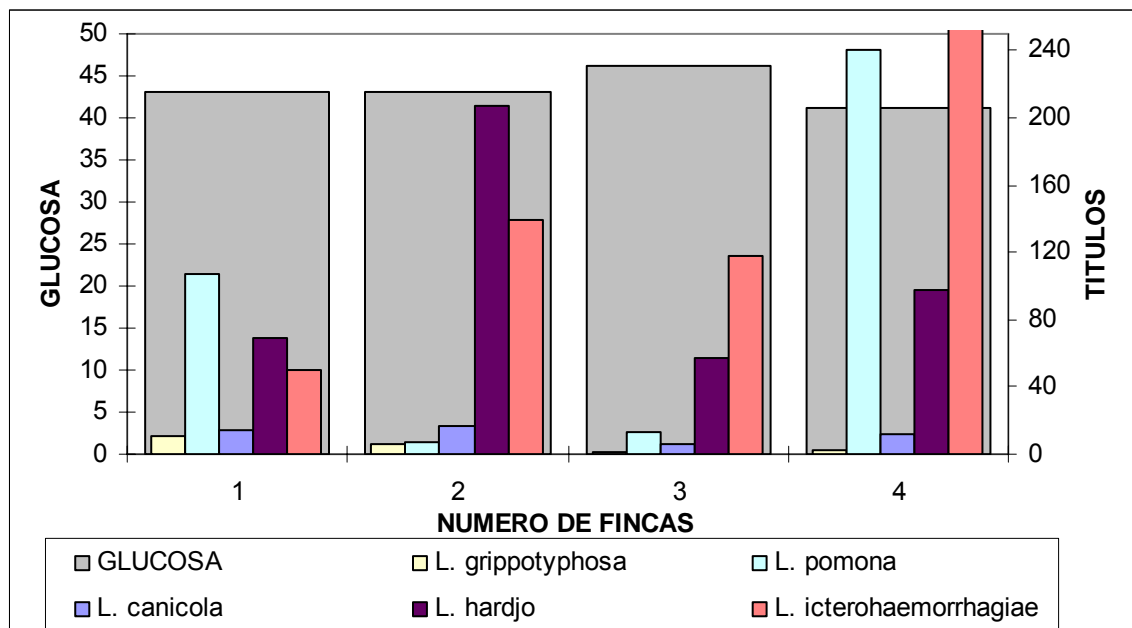


Fuente: Autores

El comportamiento de los serovares en las 4 fincas es muy diferente. La que mayor homogeneidad tiene entre el cortisol y los serovares es la finca número 1 (gráfica 13), esta finca llamada el Romeral ubicada en la Calera Cundinamarca presentó niveles de títulos de los cuatro serovariantes pero en una proporción baja comparada con las otras fincas principalmente con los serovariantes de *L. hardjo*, *L. pomona* y *L. icterohaemorrhagiae*, en la finca 2 llamada Santa Maria ubicada en Sopo Cundinamarca hay un aumento en los niveles de los serovariantes *L. icterohaemorrhagiae* y *L. hardjo* porque es una finca con mayores niveles de precipitación por estar ubicada en una zona mas húmeda y cercana al río Bogotá favoreciendo las condiciones ambientales para el desarrollo de estos serovariantes, los niveles de cortisol en esta finca están dentro de los rangos

normales y el manejo de los animales era bueno en comparación a otras fincas. La finca número 3 la Estrella, ubicada en Sibaté Cundinamarca, muestra un aumento en los niveles de cortisol pero dentro de los rangos normales Dantzer (2000) que indica un nivel máximo de 9 µg/dL, pero mucho mayor que las otras tres fincas utilizadas durante la investigación en la sabana de Bogotá. En la finca número 4 llamada Chicu ubicada en Tabio Cundinamarca, se ve un aumento en los serovariantes *L. hardjo*, *L. pomona* y *L. icterohaemorrhagiae* en comparación a las otras 3 fincas, los niveles de cortisol son muy parecidos a las fincas 1 y 2 indicándonos un manejo similar de los animales en estos tres sitios; la precipitación y el medio ambiente de esta finca también favorece a los serovares. Blood (2004) afirma que la altura, las condiciones ambientales y la precipitación son de suma importancia para el desarrollo de los serovares.

Gráfica 14. Relación de glucosa con los serovares de *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* y *L. grippotyphosa* en bovinos de leche en las 4 fincas de la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

El comportamiento de la glucosa en las cuatro fincas es muy estable exceptuando la finca número tres en la cual los niveles son mas altos (gráfica 13), en la finca cuatro se ve que los niveles de glucosa son un poco mas bajos que en la finca número uno, en la última finca los serovares de L. *icterohaemorrhagiae* y L. *pomona* aumentan considerablemente en comparación de los niveles de glucosa y el número de títulos de los serovariantes L. *grippotyphosa*, L. *hardjo* y L. *canicola*.

Los niveles de glucosa también están influidos por los factores externos como de manejo y medioambientales como lluvias o veranos prolongados, no en la misma relación que el cortisol pero también se pueden afectar Guyton (1989), estos factores son muy variables en todas las fincas y son capaces de producir gastos energéticos o un estrés neutral, que representa estímulos que no son perjudiciales por si mismos e inician respuestas que no afectan ni ayudan al bienestar del animal. Los estímulos de estrés neutral son de intensidad media y pueden involucrar modificaciones de la actividad neural, central y periférica que tienen poca importancia para el animal. Los estímulos de estrés neutral incluyen los estímulos ambientales en los cuales el animal tiene que adaptarse, o alteraciones internas de parámetros fisiológicos o componentes bioquímicos dentro de los rangos normales de variación según Breazile (1999).

3.3.3. Relación de cortisol, glucosa con los serovares de L. *hardjo*, L. *pomona*, L. *icterohaemorrhagiae*, L. *canicola* y L. *grippotyphosa* en los grupos etéreos de bovinos de leche en la sabana de Bogotá.

Los niveles de cortisol y glucosa son muy diferentes en los grupos etéreos por razones fisiológicas sobre todo los niveles de glucosa, además, influyen las condiciones de manejo que tienen los animales en las diferentes épocas de su vida.

Tabla 10. Resultado del cortisol, glucosa con los serovares de L. hardjo, L. pomona, L. icterohaemorrhagiae, L. canicola y L. grippotyphosa en los grupos etáreos de bovinos de leche en la sabana de Bogotá.

ITEM	*GRUPO ETAREO		
	VACAS	NOVILLAS	TERNERAS
CORTISOL (µg/dl)	1.219 ± 1.286	2.15 ± 3.129	0.984 ± 0.873
GLUCOSA (mg/ml)	40.63 ± 8.92	47.75 ± 16.37	51.35 ± 17.26
<u>L. canicola</u>	10.99 ± 32.16	6.54 ± 24.84	29.83 ± 148.5
<u>L. grippotyphosa</u>	7.658 ± 36.94	4.21 ± 15.54	3.509 ± 15.98
<u>L. hardjo</u>	90.84 ± 255.9	56.07 ± 389.2	103.5 ± 357.2
<u>L. icterohaemorrhagiae</u>	131.8 ± 362.2	221.03 ± 483.8	64.91 ± 238.1
<u>L. pomona</u>	107.8 ± 339.7	64.02 ± 235.1	12.28 ± 59.23

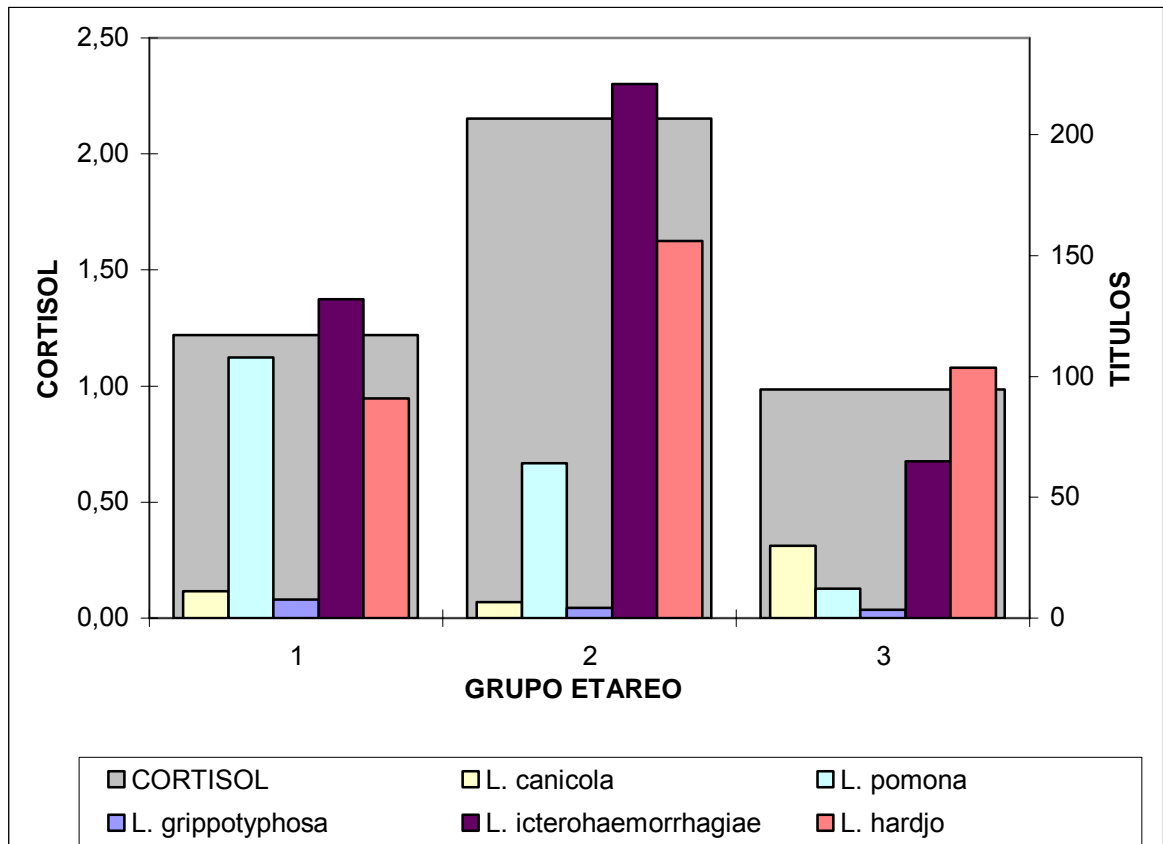
Fuente: Autores

*Promedio ± Desviación estándar

Los niveles mas altos de títulos son los pertenecientes al grupo de las vacas principalmente con los serovares de L. icterohaemorrhagiae (tabla No. 10), de la misma forma que en el grupo de las novillas, en el grupo de las terneras el serovar L. hardjo es la que mayor promedio de títulos.

El cortisol es estable en los tres grupos y la glucosa tiene un nivel mas alto en el grupo etáreo de las terneras pero dentro del rango normal (40-80 mg/dL) descrito en la publicación Research Animal Resources (2000). La tabla nos indica que los tres grupos etáreos presentaron unos niveles de títulos y de la hormona cortisol y el metabolito glucosa, normales entre los diferentes grupos.

Gráfica 15. Relación de cortisol con los serovares de *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* y *L. grippotyphosa* en los grupos etéreos de bovinos de leche en la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

El comportamiento del cortisol en los tres grupos etéreos con respecto a los niveles de los títulos de los serovares tienen gran similitud entre si (gráfica 15), en el grupo etéreo 1 al que pertenecen las vacas o los animales adultos muestra que los niveles de los títulos de la enfermedad no son muy altos y el promedio del cortisol tampoco es alto, el grupo 2 al que pertenecen las novillas es el que presenta los mayores niveles de los serovares y del cortisol y el 3 grupo el de las terneras presenta los menores niveles de títulos y de cortisol. Los serovares que mayores niveles presentan en los tres grupos etéreos son *L. pomona*, *L.*

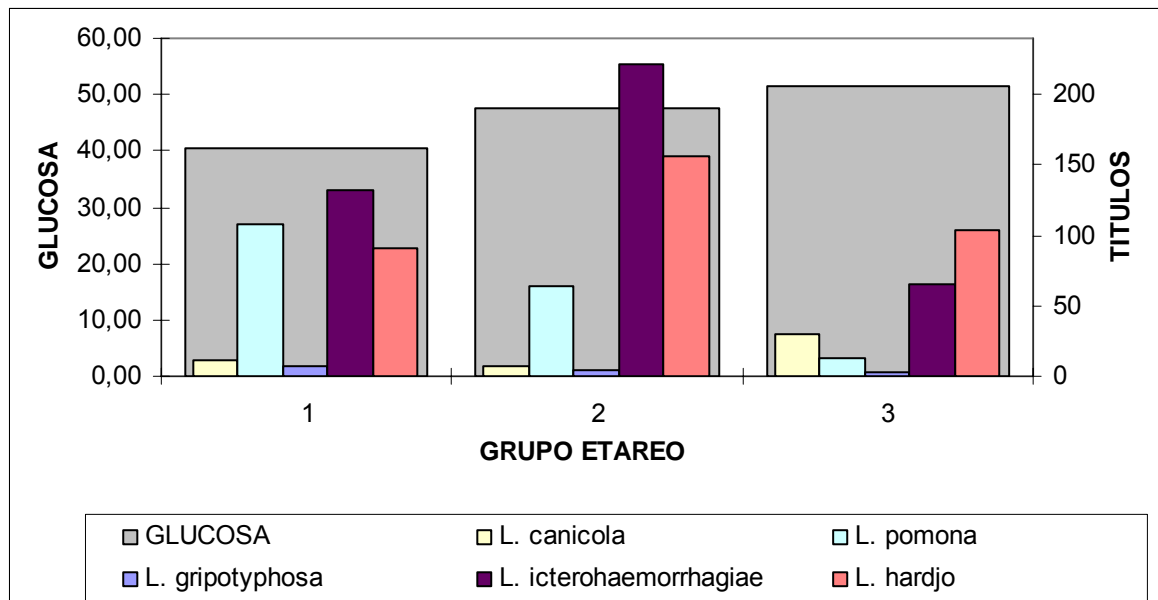
icterohaemorrhagiae y L. hardjo los cuales son los de mayor prevalencia en la sabana de Bogotá dicho por Orrego w. (2000) con un 7.6%.

Es de considerar que la similitud del cortisol con los serovares L. pomona, L. icterohaemorrhagiae y L. hardjo y también con los otros dos serovariantes L. grippotyphosa y L. canicola aunque en menor escala por ser los de menor prevalencia en la sabana de Bogotá descrito por Orrego w. (2000) con un 3.6%. Se puede entender que existe una relación entre la enfermedad y el estrés producido por este estímulo adicional que inicia una amplia variedad de respuestas en las enfermedades contribuyendo al daño celular según Breazile (1999).

Un gran número de alteraciones neurológicas y endocrinas toman lugar durante el diestrés o estrés producido por enfermedad, la mayor alteración involucra una secreción de glucocorticoides un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático un incremento de la producción de Angiotensina II, Vasopresina, Betaendorfinas, Encefalinas, Péptido intestinal vaso activo, a sustancia P. Cada uno de estos agentes influencia el desarrollo de mecanismos fisiológicos y de las defensas normales del animal considerado por Breazile (1999).

Cunninghan (1999) reporta que los efectos del estrés están mediados por todo el sistema nervioso central, en forma similar a los factores que influyen los ritmos circadianos en la secreción de glucocorticoides. La respuesta de los glucocorticoides al estrés es inmediata y se observa que las concentraciones de cortisol aumentan, la respuesta de glucocorticoides es proporcional a la gravedad del estrés, como lo que ocurrió en los tres grupos etéreos durante la investigación ya que existe una diferencia de la cantidad de anticuerpos a la enfermedad en los tres grupos, puesto que las vacas están en su mayoría vacunadas y las terneras aun presentan anticuerpos maternos a la enfermedad, mientras que las novillas no han sido vacunadas y ya no poseen los anticuerpos maternos a esta enfermedad.

Gráfica 16. Relación de glucosa con los serovares de *L. hardjo*, *L. pomona*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola* y *L. grippotyphosa* en los grupos etéreos de bovinos de leche en la sabana de Bogotá.



Fuente: Autores

Los niveles de glucosa van en aumento del primer grupo etéreo al último (gráfica 16), y el comportamiento de los serovares es mayor en el grupo número dos (novillas), el grupo número 3 (terneras) es el que mayor nivel de glucosa muestra relacionado a las condiciones fisiológicas de esta edad según Guyton (1989), por esta razón los grupos que mayor relación muestran entre la enfermedad y la glucosa son los de las novillas y las vacas, en el caso de las novillas muestran niveles altos de serovares y un nivel un poco más alto en la glucosa y las vacas muestran un nivel más bajo de serovares y de glucosa. Esta relación entre los niveles de títulos de serovariantes y de glucosa tiene relación por el efecto de los glucocorticoides sobre el metabolismo mostrando su capacidad de incrementar la gluconeogénesis hepática, aumentándola en ocasiones seis a diez veces Cunningham (1999).

3.4. Relación del cortisol y glucosa con las variables productivas, reproductivas y medio ambientales en bovinos lecheros en hatos de la sabana de Bogotá.

Es muy importante mirar la relación de la hormona cortisol y el metabolito glucosa con las variables productivas, reproductivas y medio ambientales, puesto que estas variables influyen mucho en los niveles de estrés de los animales y pueden hacer que los niveles de cortisol y glucosa cambien considerablemente.

Se tomaron los datos de precipitación, litros, intervalo entre partos y servicios por concepción en cada muestreo, y de esta forma poder mirar si existe relación con los niveles de cortisol y glucosa.

Tabla 11. Relación de cortisol, glucosa con la precipitación, litros, intervalo entre partos, servicios concepción, en bovinos lecheros en hatos de la sabana de Bogotá.

ITEM	*MUESTREO					
	1	2	3	4	5	6
CORTISOL ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	1.63 \pm 1.991	1.73 \pm 1.622	0.661 \pm 0.647	2.068 \pm 2.788	0.894 \pm 0.871	1.111 \pm 1.34
GLUCOSA (mg/ml)	46.14 \pm 21.77	45.69 \pm 10.95	40.33 \pm 8.086	38.74 \pm 6.274	45.35 \pm 13.23	45.55 \pm 11.5
PRECIPITACION	4.123 \pm 0.258	2.93 \pm 0.883	1.279 \pm 0.372	1.279 \pm 0.344	2.118 \pm 0.174	5.24 \pm 0
LITROS	17.4 \pm 20.69	13.31 \pm 24.89	13.76 \pm 5.138	14.57 \pm 7.021	16.57 \pm 7.532	15.52 \pm 7.27
INTERVALO ENTRE PARTOS	577.8 \pm 130	579.60 \pm 12.28	426 \pm 70.50	429.6 \pm 40.61	428.8 \pm 87.53	530.3 \pm 53.4
SERVICIOS CONCEPCION	2.85 \pm 1.59	3.60 \pm 1.517	1.857 \pm 1.574	1.75 \pm 0.957	2.429 \pm 1.512	2.438 \pm 1.89

Fuente: Autores

*Promedio \pm Desviación estándar

Al haber una mayor precipitación, los niveles de cortisol tienden a aumentar, dando a entender que en los periodos con más lluvia los animales se encontraban con mayores niveles de estrés, y en los periodos más secos estos niveles disminuyen. En el muestreo numero 4 los niveles de cortisol aumentaron considerablemente (Tabla No. 11), probablemente debido a factores externos en el momento de la toma de la muestra. El estudio de Cunningham (1999) dice que al encontrarse un animal en periodos fríos y lluviosos los animales responden realizando una vasoconstricción periférica, piloerección y aumento en el calor metabólico producido por escalofrío y por termogénesis no escalofriante generando de esta manera una situación de estrés, la cual podemos observar claramente en la mayor parte de los muestreos realizados. Cuando hay mayor precipitación se observa que los niveles de glucosa aumentan directamente, según Guyton (1989) la situación de estrés produce un aumento de la gluconeogenesis mediada por cortisol y una reducción en la utilización de glucosa por parte de la células aumentando la glicemia, generando en algunas ocasiones aumentos de los valores de la glucosa de un 50 % o mas. Acá los niveles de glucosa nunca salieron de los rangos normales, pero si aumentaban o disminuían según el caso con respecto a la precipitación.

La producción de litros de leche durante el segundo y tercer muestreo la cual es baja en comparación con los otros cuatro muestreos efectuados en fincas lecheras de la sabana de Bogotá (Tabla No. 11), concuerdan con una variación en los niveles de precipitación, estos cambios repentinos en la precipitación pueden ocasionar bajas importantes en la producción de leche. Según Blood (2002) La caída repentina de la producción de leche puede afectar hasta al 50% de las vacas al mismo tiempo y causar una disminución precipitada de la producción lechera del hato. Esta disminución puede durar hasta 8 semanas pero en vacas individuales puede volver a la normalidad entre 10 y 14 días. Haciendo la relación del estrés con estas variables los niveles de cortisol y glucosa en estos dos

muestreos también tuvieron un comportamiento similar al de precipitación y litros de leche.

Smith (2002) afirma que la Infertilidad, nacimientos tempranos, abortos, intervalo entre partos, servicios concepción y nacimiento de terneros débiles son manifestaciones clínicas típicas de infecciones con serobares de la enfermedad de Leptospira spp. Cuando hay mayores niveles de estrés se observa una disminución en las variables productivas y reproductivas según Schroeder (1999) existe una influencia de los factores medioambientales como calor y frío sobre los animales provocando estrés calórico el cual se manifiesta especialmente sobre la reproducción como la expresión corporal durante el celo, muerte embrional, flujo sanguíneo uterino, relaciones endocrinas y crecimiento fetal entre otros.