

# ACIDOSIS RUMINAL SUBAGUDA EN NOVILLOS DE ENGORDE: USO DE HAPTOGLOBINA PARA EVALUAR RESPUESTA INFLAMATORIA CAUSADA POR EL AYUNO Y REALIMENTACIÓN

Ana Rabaza<sup>a\*</sup>, Martín Fraga<sup>a</sup>, José Luis Repetto<sup>b</sup>, Cecilia Cajarville<sup>b</sup>,  
Marcelo Pla<sup>a</sup>, Georget Banchemo<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Ruta 50 Km 12, Colonia 70000, Uruguay

\*Autor en correspondencia: anarabaza@gmail.com

<sup>b</sup> Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Las Plazas 1550, Montevideo 11600, Uruguay.

## RESUMEN

Se estudió el efecto del ayuno y la posterior realimentación como modelo inductor de acidosis ruminal subaguda (SARA) en novillos de engorde mediante la cuantificación de Haptoglobina (Hp) sérica y medición de pH ruminal. Se utilizaron 20 novillos Hereford, 379,4±6,4kg PV, con cánula ruminal permanente, alimentados con dieta 80% concentrado-20% heno de moha. Se aplicaron 4 tratamientos: control sin ayuno (C), ayuno durante, 12 h (T12), 24 h (T24) y 36 h (T36). Cumplido el período de ayuno se procedió a la realimentación. En cada etapa se midió la concentración sérica de Hp mediante ELISA y el pH ruminal. El ayuno y su duración tuvieron efectos significativos al inducir incrementos de la concentración de Hp ( $P \leq 0,05$ ). Los animales sometidos a ayunos más prolongados, T24 y T36 cuadruplicaron los niveles basales de Hp a las 44 horas de finalizado el ayuno con respecto al de animales controles. Se registró interacción tratamiento\*tiempo sobre el valor de pH ( $P \leq 0,05$ ). El ayuno produjo disminución de pH ruminal compatible a las encontradas en SARA y una respuesta de fase aguda medida mediante la concentración de Hp. En conclusión, la medición de Hp sérica sería de utilidad como un marcador de etapas tempranas de SARA en ausencia de otros signos manifiestos.

## SUMMARY

The effect of fasting and refeeding was studied as a model of induction of Sub-acute ruminal acidosis (SARA) in fattening steers by serum Haptoglobin (Hp) quantification and ruminal pH measuring. Twenty Hereford cannulated steers, 379.4±6.4kg BW, fed 80 % concentrate 20 % hay diet were used. Four

treatments were applied: control without fasting (C), fasted for 12 h (T12), fasted for 24 h (T24), and fasted for 36 h (T36). After fasting period all animales were refeed. In both stages serum Hp using ELISA and ruminal pH were measured. Fasting and its duration induced significant increases of Hp concentration ( $P \leq 0.05$ ). The animals submitted to more long fasting, T24 and T36 quadrupled basal levels of Hp concentration at 44 hours of finished the fasting compared to control. Interaction treatment\*time was registered on ruminal pH value ( $P \leq 0.05$ ). Fasting and rebound on refeeding produced decrease of ruminal pH compatible those found in SARA and an acute phase response measured by Hp concentration. In conclusion, the measurement of serum Hp would be of utility as a marker of early stages of SARA in absence of other manifest signs.

## INTRODUCCIÓN

En sistemas de producción intensiva de carne son frecuentes imprevistos que impiden el acceso a la comida. Problemas mecánicos en equipos de alimentación, clima, dificultades en el desplazamiento, son factores que pueden provocar horas de ayuno. Esta restricción puede causar un aumento en el ritmo de ingesta durante la realimentación desencadenando episodios de acidosis ruminal subaguda (SARA). Indicadores de SARA como patrones de consumo errático, diarrea, pérdida de estado o laminitis (Nocek, 1997), son signos inespecíficos y de valor diagnóstico limitado. El monitoreo de los descensos del pH ruminal es un adecuado indicador de esta patología (Gozho et al., 2005), sin embargo su medición a nivel de campo es dificultosa y condiciona la obtención de datos precisos. En cambio, la medición y determinación de proteínas en sangre presenta ventajas a nivel

práctico. Las dietas de engorde son ricas en carbohidratos de rápida fermentación y provocan descensos del pH ruminal, cambios en la microbiota y acumulación de endotoxinas (Emmanuel et al., 2008). Durante episodios de SARA se produce inflamación, procesos degenerativos de papilas ruminales, ruminitis, hiperqueratosis y paraqueratosis volviendo al epitelio ruminal susceptible a injurias que facilitan la translocación de endotoxinas del líquido ruminal hacia el torrente sanguíneo (Kleen et al., 2003). Se desencadena una respuesta inmune generalizada e inespecífica conocida como respuesta de fase aguda (Werling et al., 1996), con incremento de proteínas de fase aguda (PPA, Ametaj et al., 2009). La Haptoglobina (Hp) es la PPA de mayor importancia en el ganado (Horadagoda et al., 1999), en animales sanos es indetectable (Eckersall y Conner, 1988), pero, frente a daño tisular y en las primeras 24-48 h el nivel de Hp aumenta entre 50 y 100 veces en relación a su nivel basal, siendo de gran utilidad en estados subclínicos (Cole et al., 1997; Godson et al., 1996) y de fácil implementación. El objetivo del trabajo fue determinar las concentraciones de Hp en suero y los cambios de pH ruminal en novillos de engorde sometidos a la inducción experimental de SARA a través del modelo ayuno-realimentación, y evaluar la utilidad de Hp como marcador de la enfermedad en etapas tempranas.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 novillos Hereford con cánula ruminal permanente (379±6.4 kg PV) en engorde de terminación bajo un diseño experimental de bloques completos al azar. La alimentación se suministró como ración to-

talmente mezclada (TMR) y estuvo constituida por 80% concentrado (88.5%MS, 11.7%PC, 15.0%FDA) y 20% heno de moha (96.2%MS, 3.4%PC, 58.4%FDA) los animales tuvieron acceso de agua ad libitum. Se evaluaron 4 tratamientos (n=5): Control sin ayuno (C), ayuno por 12 h (T12), 24 h (T24) y 36 h (T36). Se colectaron muestras de sangre mediante venopunción yugular durante el periodo de ayuno y realimentación (t= -8, 0, 8, 20 y 44h). Se determinó Hp en suero por una técnica ELISA (kit TP-801, Tri-Delta Diagnostics Inc., Morris Plains, NJ; Gozho et al., 2005). Las muestras se analizaron por duplicado midiendo los valores de absorbancia a 630nm en un lector Thermo Electron Corporation, Multiscan EX, con una sensibilidad analítica de 0.005 mg/mL. Durante el mismo periodo se registró el pH de líquido ruminal fresco (t= -10, -8, -6, -4, -2, 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 42 y 48h), empleando pHmetro digital (EW-05991-36, Cole Parmer, Illinois, EE.UU) en forma inmediata luego de la extracción. Análisis estadístico Los datos se analizaron como medidas repetidas (PROC MIXED, SAS, 2004). La unidad experimental y la observacional fue el animal, los efectos del tratamiento, tiempo e interacción tiempo\*tratamiento se consideraron significativos cuando P≤0.05.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante todo el periodo de análisis y en todos los animales, las concentraciones de Hp se ubicaron por encima de 110 µg/mL (Figura 1). Este valor es considerado como umbral inflamatorio para el ganado de carne (Tourlomoussis et al., 2004), describiendo de esta manera un patrón sérico compatible con una respuesta de tipo inflamatoria.

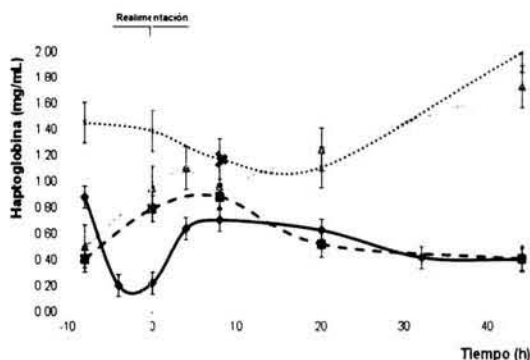


Figura 1: Concentración sérica de Haptoglobina en novillos sometidos a diferentes periodos de ayuno seguido de realimentación h 0 (media ± DE). Grupo control sin ayuno: —●— C, Ayuno durante 12 horas: - - -■- T12, 24 horas: - · - · -▲- T24, y 36 horas: · · · · · 136.

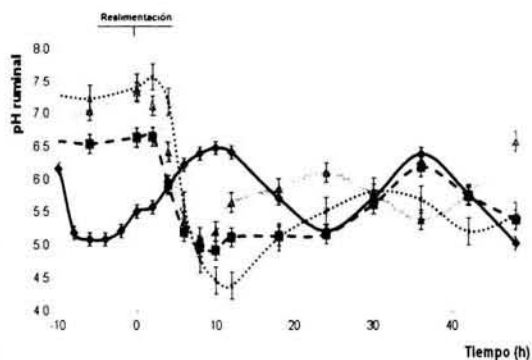


Figura 2: Dinámica de pH de líquido ruminal de novillos sometidos a diferentes periodos de ayuno seguido de realimentación h 0 (media ± DE). Grupo control sin ayuno: —●— C, Ayuno durante 12 horas: - - -■- T12, 24 horas: - · - · -▲- T24, y 36 horas: · · · · · 136.

Esta situación ya ha sido reportada en estudios previos, la alimentación en base a dietas ricas en concentrados induce una respuesta inflamatoria inespecífica (Jafari et al., 2006) que incrementa rápidamente el nivel de Hp a las tres semanas de iniciado el suministro (Ametaj et al. 2009). A pesar del alto nivel de Hp registrado en todos los grupos, atribuido al tipo de alimentación recibida y asociada potencialmente a la presencia de la cántula ruminal, los animales sometidos a ayuno presentaron concentración sérica de Hp significativamente mayor ( $P \leq 0.05$ ). En T36 y T24, ambos con ayunos prolongados, la concentración sérica de Hp fue más elevada en todo el período, llegando a cuadruplicar el nivel registrado para el grupo control a las 44 horas de finalizado el ayuno. Se ha informado que el suministro de cantidades crecientes de granos se asocia a un incremento de endotoxinas en el fluido ruminal (Emmanuel et al., 2008). Éstas son componentes celulares de bacterias Gram-negativas (LPS) y actúan como inductores de respuesta inflamatoria aguda del sistema inmune inespecífico. El perfil de biosíntesis hepático se modifica produciendo las PPA como la Hp que es liberada por los hepatocitos para reducir la hemoglobina plasmática libre y evitar así que el hierro quede a disposición para el crecimiento y multiplicación bacteriana (Wassell, 2000). En cuadros de SARA inducida mediante suministro de concentrados sin previo acostumbramiento se ha evidenciado la translocación de LPS hacia torrente sanguíneo (Khafipour et al., 2009) y aumento de Hp en sangre periférica (Gozho et al., 2006). En este estudio se registró una interacción tratamiento\*tiempo significativa sobre el valor de pH ( $P \leq 0.05$ ; Figura 2), siendo que los animales sometidos a ayuno sufrieron caídas de pH compatibles con las registradas en episodios de SARA (Gozho et al., 2005). La evaluación del pH ruminal permitió comprobar que el modelo ayuno-realimentación induce SARA de forma experimental. El monitoreo conjunto de pH ruminal y Hp sérica durante la inducción de SARA, evidenció que la aplicación de ayuno provoca la activación de una respuesta de fase aguda reflejada en el gran incremento de la concentración de Hp, estos cambios indican que tuvo lugar una respuesta inflamatoria exacerbada compatible a la producida en SARA. En conclusión, los datos obtenidos sustentan la validez del uso de la Hp como herramienta alternativa en la detección temprana de SARA en ausencia de otros signos manifiestos.

## AGRADECIMIENTOS

La investigación que da origen a los resultados presentados en la presente publicación recibió fondos de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación bajo los códigos FSA\_1\_2013\_1\_12990 y POS\_NAC\_2014\_1\_102200. Agradecemos a la Dra. Gretel Rupprechter por su colaboración en la interpretación de los datos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ametaj, B.N., Koenig, K.M., Dunn, S.M., Yang, W.Z., Zebeli, Q. and Beauchemin, K.A., 2009. Backgrounding and finishing diets are associated with inflammatory responses in feedlot steers. *Journal of animal science*, 87(4), pp.1314-1320.
- Cole, D.J., Rousel, A.J. and Whitney, M.S., 1997. Interpreting a bovine CBC: Evaluating the leukon and acute-phase proteins. *Veterinary medicine (1985)(USA)*.
- Eckersall, P.D. and Conner, J.G., 1988. Bovine and canine acute phase proteins. *Veterinary research communications*, 12(2-3), pp.169-178.
- Emmanuel, D. G., S. M. Dunn, and B. N. Ametaj. 2008. Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:606-614.
- Godson, D.L., Campos, M., Attah-Poku, S.K., Redmond, M.J., Cordeiro, D.M., Sethi, M.S., Harland, R.J. and Babiuk, L.A., 1996. Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 51(3), pp.277-292.
- Gozho, G.N., Krause, D.O. and Plaizier, J.C., 2006. Rumen lipopolysaccharide and inflammation during grain adaptation and subacute ruminal acidosis in steers. *Journal of dairy science*, 89(11), pp.4404-4413.
- Gozho, N. G., J. C. Plaizier, D. O. Krause, A. D. Kennedy, and K. M. Wittenberg. 2005. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *J. Dairy Sci.* 88:1399-1403.
- Horadagoda, N. U., K. M. G. Knox, H. A. Gibbs, S. W. J. Reid, A. Horadagoda, S. E. R. Edwards, and P. D. Eckersall. 1999. Acute phase proteins in cattle: Discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet. Rec.* 144:437-441.
- Jafari, A., D. G. Emmanuel, R. J. Christopher-

son, J. R. Thompson, G. K. Murdoch, J. Woodward, C. J. Field, and B. N. Ametaj. 2006. Parenteral administration of glutamine modulates acute phase response in postparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:4660-4668.

• Khafipour, E., Krause, D.O. and Plaizier, J.C., 2009. Alfalfa pellet-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows increases bacterial endotoxin in the rumen without causing inflammation. *Journal of dairy science*, 92(4), pp.1712-1724.

• Kleen, J.L., Hooijer, G.A., Rehage, J. and Noordhuizen, J.P.T.M., 2003. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 50(8), pp.406-414.

• Nocek, J. E. 1997. Bovine acidosis: Implications on laminitis. *J. Dairy Sci.* 80:1005-1028.

• Statistical Analysis Systems (SAS) 2004. SAS/STAT User's Guide. Release 9.1.2. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

• Tourlomoussis, P., P. D. Eckersall, M. M. Waterson, and S. Bun- cic. 2004. A comparison of acute phase protein measurements and meat inspection findings in cattle. *Foodborne Pathog. Dis.* 1:281-290.

• Wassell, J. 2000. Haptoglobin: Function and polymorphism. *Clin. Lab. (Zaragoza)* 46:547-552.

• Werling, D., F. Sutter, M. Arnold, G. Kun, P. C. Tooten, E. Gruys, M. Kreuzer, and W. Langhans. 1996. Characterization of the acute phase response of heifers to a prolonged low dose infusion of lipopolysaccharide. *Res. Vet. Sci.* 61:252-257.

## DEFECTOS CONGENITOS ASOCIADOS A INFECCIÓN CON EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA: PRESENTACIÓN DE UN CASO

Carlos Flores Olivares<sup>1,2</sup>; Erika Gonzalez Altamiranda<sup>3</sup>; Anselmo Odeón<sup>1</sup>; Lilian Lischinsky<sup>1</sup>; Ignacio Llada<sup>1</sup>, Juan Cora<sup>2</sup>; Ernesto Odriozola<sup>1</sup>; Germán Cantón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INTA EEA Balcarce, Argentina. <sup>2</sup>Universidad Mayor, Santiago de Chile. <sup>3</sup>CONICET, Argentina.

Autor de correspondencia: carlos.flores01@mayor.cl.

### RESUMEN

Las infecciones con el virus de la Diarrea Viral Bovina (vDVB) tienen amplia distribución afectando el ganado bovino en todo el mundo. El objetivo de este trabajo es describir un caso de malformaciones congénitas en un ternero de un establecimiento de producción de carne de la provincia de Buenos Aires, Argentina, asociado a una infección con el vDVB. Las malformaciones ocurren cuando la vaca se infecta con una cepa no citopática del vDVB entre los 40 y 120 días de gestación y ocurre una infección transplacentaria en fetos con un sistema inmune no desarrollado. Las infecciones persistentes con el vDVB son frecuentes y asintomáticas; sin embargo, las malformaciones congénitas suelen ser poco frecuentes. En este trabajo se describe un caso de malformaciones congénitas nerviosas, oculares y tegumentarias en un ternero de 11 días de vida, asociado a una infección con el vDVB.

### SUMMARY

Infections with Bovine Viral Diarrhea virus (BVDV) are frequently in cattle worldwide. The aim of this work is to describe a case of congenital malformations in a calf from a beef cattle production facility in Buenos Aires province, Argentina, associated with BVDV infection. These defects occur when a pregnant cow is infected with a non cytopathic strain of BVD between days 100 and 150 of gestation. Although BVDV infections are common but asymptomatic, congenital malformations are infrequent. In this paper we describe a case report of nervous, ocular and dermal malformations in a 11-days-old calf in association with BVDV infection.

### INTRODUCCIÓN

El vDVB, pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Pestivirus*, es de distribución mundial y ha sido asociado a patologías reproductivas, respiratorias, circulatorias, inmunológi-