



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

2ej

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

"ANÁLISIS DEL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO  
DE IBR, BRUCELOSIS, LEPTOSPIROSIS Y  
*Haemophilus somnus* EN UN ESTABLO CON  
PROBLEMAS REPRODUCTIVOS "

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A:  
BEATRIZ LAURA SANTIAGO SANTOS

ASESOR: MVZ. LUIS ARTURO NAVARRO MORALES  
COASESORES: DR. EFRÉN DÍAZ APARICIO  
QFB. LAURA HERNÁNDEZ ANDRADE



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN, N. A. M.  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

EXAMENES PROFESIONALES

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

" Análisis del diagnóstico serológico de IBR, brucelosis, leptospirosis y Haemophilus somnus en un establo con problemas reproductivos. "

que presenta la pasante: Beatriz Laura Santiago Santos  
con número de cuenta: 2156711-9 para obtener el TITULO de:  
Médica Veterinaria Zootecnista .

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 6 de FEBO de 199 8

PRESIDENTE : MVZ. Gilberto Ochoa Uribe  
VOCAL : Dr. Efrén Díaz Aparicio  
SECRETARIO : MVZ. Rafael Pérez González  
PRIMER SUPLENTE : MVZ. Silviano Trejo Nuñez  
SEGUNDO SUPLENTE : MVZ. Raúl Radillo Rodríguez

---

## AGRADECIMIENTOS

### A Dios:

*Por permitirme llegar hasta donde estoy, y darme fuerza para lograrlo.*

### A mis padres:

*Leonor y Bernardino, por su apoyo incondicional, ya que con grandes sacrificios siempre me dan aliento para seguir adelante y ser mejor día tras día, estando en los buenos y malos momentos durante mi vida personal y profesional. Este logro es también de ustedes.*

*Los quiero. Gracias.*

### A mis hermanos:

*Juana, Felipe, Bertha, Luis Esteban, gracias por su apoyo brindado, y porque se que siempre podré contar con ustedes, ya que me han apoyado en momentos difíciles.*

*Con cariño.*

### A mis sobrinos:

*A esos dos pequeñines Natalia Isabel y Luis Felipe, que endulzan cada momento de mi vida con un gesto o una sonrisa.*

### Bertha y David:

*Gracias por la ayuda y paciencia prestada en la elaboración de este trabajo.*

### A mis amigos:

*Esperanza, Teaura e Ylliana, gracias por los momentos compartidos durante nuestra formación profesional y en especial a Lety, te agradezco tu amistad incondicional y por estar conmigo en buenos y malos momentos contando siempre con tu apoyo y amistad.*

*A mis asesores:*

*MOV. Luis Arturo Navarro Morales, por su gran ayuda en la elaboración de este trabajo, compartiendo sus conocimientos y sobre todo dedicando parte de su valioso tiempo para conmigo.*

*Mil gracias.*

*Dr. Efrén Díaz Aparicio, por su amistad y su ayuda brindada en la parte experimental del trabajo. Gracias por su paciencia.*

*ZFB. Laura Hernández Andrade, gracias por su ayuda, sus conocimientos y sus opiniones acertadas para el mejoramiento de este trabajo.*

*A:*

*ZFB. Pedro Mejía y MOV. Arcelia Alvarado, del área de IER,*

*M.C. Francisco Aguilar del área de Haemophilus*

*MOV. Miguel Luna Álvarez y Técnico: Rosa María Urrutia Velázquez, por su ayuda en el laboratorio de Leptospirosis.*

*A todos ellos gracias por su gran ayuda, paciencia y sus conocimientos para la elaboración y culminación de este trabajo.*

*Al Jurado:*

*Por su tiempo y sus comentarios acertados para el mejoramiento de este trabajo*

*A mi abuelo:*

*Este logro es tuyo también, así como lo anhelas, porque siempre estuviste conmigo acompañándome espiritualmente. Dedicada a tu memoria.*

*A ti,*

*Por tus consejos y por compartir parte de tu esencia. Con cariño,*

*Beatriz Laura.*

---

**CONTENIDO**

	Páginas
<b>RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>15</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>22</b>
<b>DISCUSION.....</b>	<b>30</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>34</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>35</b>

---

## RESUMEN

Existen enfermedades infecciosas de los bovinos cuya manifestación más aparente y costosa es el aborto, tal es el caso de la Rinotraqueitis Viral Bovina (IBR), brucelosis (Br), leptospirosis (Lep) y *Haemophilus somnus* (Hs), siendo común que en los establos lecheros coexistan estas etiologías. Se realizaron pruebas serológicas en un hato bovino de 300 vacas Holstein adultas, en donde se vacuna rutinariamente contra IBR, brucelosis, leptospirosis y Diarrea Viral Bovina. Se realizó un primer muestreo a la totalidad de la población para conocer la frecuencia de *Brucella* mediante las pruebas de tarjeta obteniéndose un 45% de animales positivos y a rivanol un 23.5%. de estos se seleccionaron 90 muestras de animales que presentaron problemas recientes de abortos, expulsión fetal, momificación y metritis, se realizaron pruebas serológicas para conocer la frecuencia de: IBR mediante seroneutralización en placa obteniéndose 61.8% de animales positivos para *Brucella* se obtuvo mediante la prueba de tarjeta 97.8% y a rivanol 76.7%, para *Leptospira* por aglutinación microscópica un 10.7% y *Haemophilus somnus* por inmunodifusión doble en gel un 8.8% de animales positivos. El estudio serológico de las enfermedades estudiadas muestra que *Brucella* tuvo la frecuencia más elevada, seguida por IBR con títulos de 1/2 hasta 1/8, lo que indica que ambas infecciones están activas, en los casos de *Leptospira* y *Haemophilus somnus* los porcentajes de reactivos positivos fueron bajos.

## INTRODUCCIÓN.

La explotación de ganado bovino, es sin duda el sistema de producción animal de mayor impacto en la economía nacional, no solamente por la cantidad de recursos económicos y humanos en ella invertidos, sino fundamentalmente debido a la fuente de alimentos obtenidos a partir de ésta especie. A pesar de contar con aproximadamente treinta millones de cabezas de ganado bovino, la producción de dichos animales es baja y consecuentemente el consumo de sus productos por la creciente población mexicana es insuficiente, ocasionando en algunos sectores de la población severos problemas de nutrición ( 21 )

Las enfermedades infecciosas, tienen gran importancia en las explotaciones animales, ya sean de origen viral, bacteriano, micótica, por protozoarios o parasitarias, ocupando uno de los primeros lugares en pérdidas económicas severas, ya que éstas enfermedades pueden afectar a muchos animales en un lapso breve y en algunas ocasiones el índice de mortalidad puede ser alto ( 21 )

En los últimos tiempos los trastornos de tipo subagudo, crónico o latente que afectan a los animales domésticos, y en particular a los bovinos, han tenido un aumento en su incidencia sobre todo en lo que respecta a las enfermedades infecciosas, siendo los problemas reproductivos y nutricionales los más frecuentes, principalmente cuando están asociados ( 7, 20 ).

La reproducción es uno de los factores al que se le ha puesto poco énfasis por parte de los ganaderos ocasionando con éstos, afecciones al tracto reproductivo del ganado, incrementándose las pérdidas económicas por gastos de medicamentos, alimentación, pérdida del producto, disminución en la producción de leche y como consecuencia el deshecho de los animales ( 21, 34 )

El margen de beneficio bruto por vaca se ve afectado por la eficiencia reproductiva en un 5 a 15%. Este margen se ve influenciado por medio de la entrada y salida de animales del hato, el número de becerros nacidos por año, la leche producida por día, el costo del semen y la ganancia genética por año ( 5 )



La eficiencia reproductiva se mide con los índices de comportamiento como son: edad al primer parto, intervalo entre partos, porcentaje de reemplazos del hato por año y servicios por concepción.

La interrupción de la gestación es una de las situaciones en el área de salud animal con repercusiones más negativas sobre la producción animal. El ganadero ve disminuir sus expectativas para disponer de reemplazos, así como en la producción de leche y el capital invertido en sus hembras gestantes ( empadre, inseminación, suplementación ) ( 5 )

Obviamente el ganadero desea que todas sus vacas gestantes lleguen a término y tengan una cría viva y sana.

Una pérdida del 3% es razonable, aunque no deseable, siempre y cuando no se trate de un problema infeccioso. Pero en general como recomendación, los exámenes de diagnóstico se podrían iniciar en cualquier momento en que los abortos en el hato rebasen el 1% ( 5, 21 ).

La gran mayoría de las enfermedades, especialmente en las grandes explotaciones lecheras son incidentales, subclínicas y silenciosos ladrones de las utilidades

Aproximadamente el 20-25% de las vacas de deshecho en los hatos lecheros son eliminadas por problemas reproductivos ( manejo, anatomofisiológicos, nutricionales e infecciosos ).

Entre las enfermedades infecciosas de los bovinos cuya manifestación mas aparente es el aborto, se encuentran: Rinotraqueítis Infecciosa Bovina ( IBR ), Brucelosis ( Br ), Leptospirosis ( Lep ), Diarrea Viral Bovina ( DVB ), y en menor proporción *Haemophilus somnus* ( Hs ) afectando en diferentes grados a la ganadería bovina del país, por lo que es necesario tomar medidas de control y prevención ( 5, 7, 21, 37 )

Algunas enfermedades como la brucelosis y leptospirosis son problemas de salud pública que afectan enormemente a la población dedicada al sector agropecuario ( ordeñadores, inseminadores, MVZ, etc ), incrementan las pérdidas económicas en el país por el tratamiento y la imposibilidad de trabajar de las personas afectadas con éstas enfermedades ( 2, 17, 39 )

---

Ante estas situaciones y para tomar las medidas pertinentes que conduzcan al restablecimiento de la salud y de la adecuada eficiencia productiva de los animales afectados con alguna (s) de esta (-s) enfermedad (es), es fundamental conocer la etiología de las mismas, conocimiento que se logra contando con una adecuada historia clínica que fundamente un diagnóstico presuntivo que sea confirmado o refutado por el diagnóstico de laboratorio el cual será en último momento el que orientará a determinar el agente (s) involucrados en el proceso patológico ( 5, 11, 12 )

### **RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA ( IBR )**

**Historia:** Los primeros reportes sobre IBR se hicieron en la Unión Americana, en los estados de California y Colorado en el año de 1954. En México el primer reporte de IBR, recibido por la Dirección General de Sanidad Animal ( D.G.S.A ), fue en 1971 y correspondió a un brote ocurrido en el Estado de México que afectó a un hato de 450 vacas lecheras, sin embargo fue aislado hasta 1972 cuando se investigaron dos brotes ocurridos en ganado lechero en el Distrito Federal ( Azcapotzalco ) y el Estado de Puebla ( 2, 4, 7 ).

**Sinonimias:** Rinotraqueitis Infecciosa Necrótica Bovina, Rinitis Necrótica, Enfermedad de la Naniz Roja, Vulvovaginitis Pustular Infecciosa, Exantema Coital Bovino, y con las abreviaturas de IBR, IPV o IBR-IPV, IPB ( 2, 5, 26, 28 ).

**Definición** Enfermedad infectocontagiosa que afecta a los bovinos de cualquier edad, provocado por un virus de la familia Herpesviridae ( 2 ).

**Transmisión:** El virus de IBR invade el organismo de los bovinos a través del tracto respiratorio o del genital. La forma respiratoria se transmite mediante exposición a aerosoles y posiblemente a descargas vaginales infectadas, dado el hábito que tiene el ganado de lamerse los unos a los otros. La forma genital, es generalmente de origen venéreo. La infección también puede ser transmitida al ganado susceptible, por utilización de guantes, espéculos o camas contaminadas. El virus es albergado en forma latente por animales portadores sanos que periódicamente sufren exacerbaciones de la enfermedad con excreción del virus ( 4, 7, 14, 25, 28 ).

**Signología:** Se reconocen cinco formas clínicas.

- **Forma respiratoria** Presenta anorexia, depresión, descargas nasales y disnea En ocasiones se pueden observar pequeñas vesículas en la mucosa oral, nasal y traqueítis
- **Forma conjuntival.** Se presenta con queratoconjuntivitis, sin ulceración de la córnea, excesiva lagrimación y descarga ocular.
- **Forma genital** Se caracteriza por hiperemia de la mucosa vulvovaginal y formación de pústulas, es causa de infertilidad y de aborto, en el macho esta enfermedad se le llama balanopostitis pustular infecciosa
- **Forma abortiva:** Ocurre en diferentes etapas de la gestación
- **Forma encefálica:** Es poco frecuente, produce disturbios nerviosos con incoordinación y parálisis principalmente en animales jóvenes ( menos de 6 meses de edad ) ( 2, 14, 23 )

**Prevención:** Puede realizarse mediante la vacunación, la cual deberá ser realizada siempre y cuando se tenga conocimiento de la enfermedad en la zona ( 4, 7, 27 )

Existen cuatro diferentes tipos de vacunas contra IBR en el mercado:

- a) Virus vivo modificado para administración intramuscular
- b) Virus vivo modificado para administración intranasal
- c) Virus inactivado ( muerto )
- d) Virus químicamente alterado ( 5, 7 )

Se recomienda la aplicación periódica de vacunas de preferencia virus muertos o bien emplearse vacunas de virus atenuados pero de aplicación nasal Las vacunas de virus atenuados por aplicación intramuscular pueden ocasionar y complicar aún más la enfermedad ( 5, 27, 32 )

**Diagnóstico:** El diagnóstico clínico debe asociarse al del laboratorio La Seroneutralización (SN) es una prueba que se ha utilizado tradicionalmente con fines epizootiológicos y para el diagnóstico de la IBR, aunque tiene como desventajas el requerir manipulaciones estériles ( 2, 4, 14, 28, 41 ).

**Pérdidas económicas:** Si bien es conocido que la IBR es una enfermedad de gran importancia económica para la ganadería mexicana Las pérdidas económicas que causa son cuantiosas y esto es debido a que el establecimiento de la enfermedad afecta a los animales en cada una de las diferentes etapas del proceso de producción, causando abortos, así como

---

problemas respiratorios, baja en la conversión alimenticia y baja en la producción láctea y de carne ( 5, 27 ).

## BRUCELOSIS

**Historia:** La brucelosis fue observada por primera vez por Marston en 1863 en Malta. En 1887, también en Malta, Bruce descubrió un agente patógeno al que le denominó *Micrococcus melitensis* ( hoy *Brucella melitensis* ). En 1897 se aisló por Frederick Bang, la *B. abortus* y se comprobó que afecta al bovino, hombre, caballos, aves, ovejas, cabras, perros, venados y bisontes. En México Ruiz Castañeda propone un medio de cultivo bifásico para *Brucella* y una prueba diagnóstica de tarjeta ( 7, 15 ).

**Sinonimias:** Enfermedad de Bang, Aborto Infeccioso y Aborto Contagioso. En el hombre Fiebre de Malta, Fiebre Ondulante, Fiebre Mediterránea, Fiebre Sudoral, Fiebre de Gibraltar, Aborto Epidémico ( 9, 29 )

**Definición:** Es una enfermedad infecciosa del ganado, bastante diseminada, que se caracteriza principalmente por la expulsión prematura del feto, y por retención de placenta y esterilidad ( 6, 7, 9 ).

**Etiología:** Bacteria gramnegativa aerobia facultativa, son pequeños cocobacilos, su crecimiento ocurre entre 20 a 40 ° C, a una temperatura óptima de 37 ° C y un pH de 6.6 a 7.4. Son catalasa positiva, oxidasa positiva usualmente, no producen indol, no licúan la gelatina, utilizan diversos carbohidratos, pero no producen ácido ni gas en cantidades suficientes como para poder usarlos en su identificación, son urea y nitratos positivas. Actualmente existen medios de cultivo selectivos que permiten un buen crecimiento de las brucelas, inhibiendo eficazmente el de microorganismos contaminantes, debido a que los constituyentes básicos del medio se añaden colorantes y/o antibióticos. Los medios más utilizados son los de Renoux, Jones, Brinley-Morgan y Farrel. Este último es el mejor, tanto por su poder de selección como por su capacidad de asegurar el crecimiento de los tipos de brucelas más exigentes, a excepción de *B. suis* que no crece en éste medio ( 6, 7, 9, 38 )

---

Se reconocen seis especies de *Brucella spp.*, las cuales están clasificadas como brucelas lisas *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, y brucelas rugosas *B. ovis* y *B. canis* ( 6, 9, 11, 30 )

**Transmisión y patogenia:** La brucelosis casi siempre es transmitida al ganado susceptible por su estrecha asociación con ganado infectado o a la exposición a un ambiente contaminado

Los animales infectados eliminan la bacteria en sus secreciones vaginales, leche y orina, pero la mayor cantidad de microorganismos es excretado durante el aborto o incluso durante el parto y algunas semanas posteriores a éste ( 7, 9, 11, 15 ).

Las placentas, fetos y líquidos fetales son productos altamente contaminados, lo cual originan que se contaminen pasturas, agua e instalaciones y los animales sanos se infecten ( 7 )

La brucelosis bovina casi siempre se origina en condiciones naturales, tras la ingestión del microorganismo que ha sido eliminada por las vacas infectadas. Los métodos de infección son:

- \* La inhalación
- \* La exposición conjuntival
- \* El contacto através de la piel
- \* Inoculación intramamaria o intrauterina
- \* A través de la vía congénita

Siguiendo a la ingestión y penetración através de las membranas mucosas, las bacterias son fagocitadas por los macrófagos. Hay una bacteremia transitoria, como los microorganismos del género *Brucella* son parásitos intracelulares facultativos que pueden permanecer dentro de las células fagocíticas y estar protegidos por los mecanismos normales de defensa del hospedador. Las bacterias tienen afinidad por los órganos reproductivos del macho y de la hembra. En las vacas esto está asociado con la gestación y con la producción de un compuesto natural en el útero, el eritritol. Las bacterias se localizan también en otros lugares. En casi todas las vacas infectadas se localizan en la glándula mamaria y los ganglios linfáticos supramamarios, siendo excretado en la leche en grandes cantidades. Otras lesiones y sitios de infección en casos crónicos pueden ser los higromas. El útero es invadido aproximadamente a mitad de gestación. Las bacterias colonizan el tejido conjuntivo del

---

alantocorion y penetran en vasos sanguíneos fetales. Los polimorfonucleares se acumulan intersticialmente, produciéndose una secreción purulenta. Los macrófagos llenos de bacterias son eliminados por las secreciones uterinas ( 7, 9, 28, 29, 36 )

La apariencia macroscópica del útero gestante y del útero postparto es normal. Después del parto hay con frecuencia una endometritis leve o moderada que habitualmente cede en 30 a 90 días ( 7 )

**Cuadro clínico:** Los signos clínicos dependen del estado de inmunidad del hato. En hembras preñadas no vacunadas altamente susceptibles sobreviene como signo cardinal el aborto pasado el quinto mes de gestación, como secuelas se presentan retención de placenta y metritis. Las infecciones mixtas suelen producir metritis que pueden ser aguda, con septicemia y muerte consecutiva o crónica seguida de esterilidad.

En el toro se observa ocasionalmente orquitis y epididimitis. Puede estar uno o ambos sacos escrotales con tumefacción aguda y dolorosa que aumenta hasta dos veces su tamaño normal. Los toros enfermos suelen ser estériles cuando la orquitis es aguda. Puede considerarse sospechosa las inflamaciones de tipo higroma sobre todo en rodillas ( 5, 7, 12, 28, 30 )

**Diagnóstico:** El diagnóstico definitivo requiere del aislamiento y la identificación de la bacteria causante, sin embargo no siempre es posible recuperar *B. abortus* de animales infectados vivos. Por lo tanto muchos diagnósticos se basan en el resultado de pruebas serológicas ( 3, 6, 9, 13, 38 )

Las pruebas autorizadas por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural para la campaña son: Prueba en tarjeta, Prueba de rivanol, Prueba de fijación del complemento, Prueba de anillo en leche, cualquier otra prueba que se considere necesaria, conforme a las disposiciones de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural ( 31 ).

**Prevención:** Se realiza con la vacuna *B. abortus* cepa 1119-3, vacunando becerras de 3 a 6 meses de edad, dosis completa (  $5 \times 10^9$  UFC ) 5 ml, becerras mayores de 6 meses de edad se aplica dosis reducida ( la cual debe contener  $3 \times 10^8$  UFC ) 2 ml ( 5, 30, 31 )

---

**Repercusión económica** Esta enfermedad ocasiona severas pérdidas a consecuencia de abortos, esterilidad, muerte de terneras jóvenes, disminución en la producción de leche, depreciación de animales enfermos y retraso en el crecimiento ( 9 ).

## **LEPTOSPIROSIS**

**Historia:** La enfermedad fue diagnosticada en el hombre varios años antes, de que supiera que existía en el ganado. La similitud de los signos clínicos en el hombre con los de la fiebre amarilla y algunas de las características peculiares del microorganismo posiblemente retardaron el conocimiento de la infección ( 1800, Larrey ) En 1853, Laundouzi reconoció un padecimiento febril que llamó Fiebre Hepática En 1916, Inada y col Determinaron la causa de la enfermedad de Weil un germen que denominaron *Spirochaeta icterohaemorrhagiae*, esta enfermedad se confundió con la Fiebre Amarilla hasta que en 1917 Noguchi, observando la morfología de éste microorganismo y las lesiones que causaba en ratas silvestres, le dio el nombre de *Leptospira spp.* En la República Mexicana la presencia de la leptospirosis fue demostrada en los trabajos realizados por Noguchi, en 1920 en el estado de Yucatán En 1962, Sainz Z, hizo estudios serológicos en bovinos, utilizando las técnicas de aglutinación microscópica y macroscópica encontrando un 17% de animales reactivos a *Leptospira pomona* ( 17, 25 ).

**Sinonimia:** Ictericia Contagiosa del Bovino, Orina Roja de los Terneros, Enfermedad de Weil.

**Definición:** Enfermedad infectocontagiosa bacteriana que afecta a casi todas las especies animales tanto domésticas como silvestres y también al hombre, siendo una zoonosis de amplia distribución y se ha diagnosticado en todo el territorio nacional El contagio se adquiere por contacto de las mucosas conjuntival, nasal y bucal principalmente con orina y aguas contaminada; causando septicemia, nefritis intersticial, anemia hemolítica y aborto en la mayoría de las especies ( 7, 12, 25, 37 ).

---

**Etiología:** El agente causal de la enfermedad es un microorganismo perteneciente al orden de las *Spirochaetales* de la familia *Treponemataceae* del género *Leptospira*. Se reconocen dos especies

1 - *L. interrogans*, que es patógena para el hombre y animales, la cual cuenta con 20 serogrupos y más de 200 serovariedades

2 - *L. biflexa*, de bajo poder patogénico de vida libre, se encuentra en aguas superficiales y raramente está asociada a infecciones en los mamíferos.

Son espiroquetas enrolladas estrechamente delgadas, flexibles de 5-15 micrómetros de longitud con vueltas en espiral, muy finas de 0.1-0.2 micrómetros de ancho ( 6, 7, 25 ).

Uno de los extremos a menudo está doblado formando un gancho. Tiene un activo movimiento de rotación, pero se le han descubierto flagelos. Crecen en condiciones aerobias de 28-30 °C y en medios semisólidos ricos en proteínas ( 11, 25, 37 )

**Transmisión y Patogenia:** Las leptospiras pueden atravesar las membranas mucosas intactas y la piel.

La fuente de diseminación es mediante la orina infectada , por productos de aborto ( fetos, placentas y líquidos ). Las ratas y los ratones juegan un papel importante en la diseminación, porque orinan el alimento y agua, que al ser ingeridos por animales domésticos les transmiten la enfermedad ( 1, 5, 7 )

La leptospirosis se manifiesta como enfermedad en una variada serie de formas. La variación entre serotipos de *L. interrogans* en cuanto a su patogenicidad también afectan la naturaleza de los signos que aparecen

Después de penetrar por piel o mucosas los microorganismos se multiplican rápidamente en la corriente sanguínea, hay fiebre y empiezan a aparecer anticuerpos en el torrente circulatorio y microorganismos en la orina. Durante el periodo temprano de septicemia puede producirse suficiente hemolisina para causar hemoglobinuria franca como resultado de hemólisis intravascular extensa, poco probable en adultos, común en becerros, si el animal sobrevive a ésta fase de la enfermedad, puede ocurrir localización del proceso



infeccioso en el ñiñn el hecho de producir hemólisis o no depende del serotipo para producir la hemolisina

Una secuela frecuente después de la invasión generalizada inicial es el aborto causado por la muerte del feto, con degeneración de la placenta o sin ella, ambos efectos resultantes de la invasión del producto durante la fase septicémica de la enfermedad. El aborto ocurre en la segunda mitad de la preñez ( 1, 7, 10, 37 )

**Cuadro clínico:** Las manifestaciones clínicas son diversas:

Se puede manifestar en forma aguda o crónica; en la forma aguda se puede presentar en los bovinos a cualquier edad, siendo los becerros los más susceptibles. La fase crónica de la leptospirosis se manifiesta por signos clínicos como aborto, momificación, reabsorción, infertilidad y nacimiento de animales prematuros y débiles que mueren en un término de 24 a 48 horas. Hay un aumento en el porcentaje de servicios por concepción ( 5, 9, 18 )

Existen informes esporádicos de meningitis leptospirósica en bovinos. Son también signos frecuentes incoordinación, sialorrea, conjuntivitis y rigidez muscular ( 7 ).

En la especie bovina las serovariedades de leptospirosis que se reconocen como agentes causales de problemas reproductivos son *L. pomona*, *L. hardjo*, *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. wolffi*, entre otras. En México las serovariedades para bovinos de mayor frecuencia son *L. hardjo*, *L. wolffi* y *L. tarassovi* ( 7, 10, 35 )

**Diagnóstico:** Se puede realizar mediante:

- a) Aislamiento bacteriológico.
- b) Inmunofluorescencia a partir de orina, tejido renal y exudado de cavidades corporales ( fetos )
- c) Pruebas serológicas mediante la aglutinación microscópica a partir de las serovariedades existentes en los laboratorios de diagnóstico ( 25, 37 ).

**Control:** El control se basa en la utilización de un antibiótico, de preferencia dihidroestreptomina a dosis de 25 mg / Kg efectiva para la reducción de Leptospiras excretadas por la orina. Actualmente la inmunización es el método de elección para el

control de la enfermedad, siendo importante que las bacterinas tengan de preferencia las serovariedades más comunes en México ( 5, 8 )

### *Haemophilus somnus.*

**Historia:** Desde que la Meningoencefalitis Tromboembólica Infecciosa fue descrita por primera vez en Colorado, E U A *Haemophilus somnus* se ha encontrado con una amplia distribución en el mundo. En México, en 1975, se realizó el primer estudio relacionado con éste microorganismo e informaron la presencia de anticuerpos de sueros de bovinos con historia clínica de padecimientos reproductivos y respiratorios. En 1985 se aislaron por primera vez en México *H. somnus* a partir de lavados prepuciales de toros clínicamente sanos. En México, se han encontrado un 25% de seropositividad en bovinos con problemas reproductivos y respiratorios en el Estado de México, Puebla y Yucatán, así como el DF ( 1, 19 )

**Sinonimia:** Meningoencefalitis Tromboembólica Infecciosa

**Definición:** Enfermedad septicémica aguda que afecta a bovinos, localizándose en varios tejidos y órganos. Afecta primariamente al Sistema Nervioso Central, caracterizado por fiebre, depresión intensa, debilidad, ataxia, ceguera, parálisis, coma y muerte, también provoca pleuritis, neumonía y sinovitis ( 1, 7 ).

**Etiología:** Es un cocobacilo pleomórfico, gram negativo, aerobio o microaerofílico, no forma esporas y es inmóvil. La morfología de las colonias son convexas, circulares, lisas, de consistencia mantequillosas y de color amarillo grisáceo. Los medios de cultivo más utilizados para el crecimiento de ésta bacteria son el agar infusión cerebro corazón y el agar chocolate, suplementados con 10% de suero de equino, 10% de sangre desfibrinada y 0.5% de extracto de levadura ( 19, 22 )

Según implica el nombre del género *Haemophilus* ("afinidad por la sangre"), este grupo de bacterias requiere ciertos factores derivados de la sangre para que cualquiera de sus especies pueda desarrollarse en los medios de cultivo. Algunas especies necesitan Factor X, una ferroporfirina termoestable derivada de la hemoglobina ( hemo ). Otras

requieren nicotinamida adenina dinucleótido, ( NAD ), también conocida como coenzima I o Factor V y algunas veces ambos factores. Para *H. somnus* su crecimiento es independiente de éstos factores ( 20, 22, 33 )

**Transmisión y patogenicidad:** Aunque no se conoce con certeza la forma de entrada del microorganismo al huésped sí se sabe que puede producir gran variedad de afecciones, las cuales pueden presentarse como producto de una baja de defensas. No se ha definido aun el método de transmisión y la puerta de entrada, puede aislarse el microorganismo de las vías respiratorias y el aparato reproductor en 3-10% de animales normales y en la orina.

El proceso patogénico es poco conocido, se menciona que es similar al producido por las bacterias gram negativas, es decir se debe a la invasividad del germen por la producción de una toxina o bien de ambas ( 1, 7, 20, 22 )

**Cuadro clínico:** Los síndromes aceptados por la asociación de infecciones, por *H. somnus*, incluyen

- a) La clásica Meningoencefalitis Tromboembólica ( TEME ) Neurológica.
- b) La enfermedad primaria respiratoria, usualmente una neumonía fibrinosa y pleuritis (aguda), sin afectar el sistema nervioso.
- c) Abortos esporádicos en asociación de una temprana TEME como enfermedad crónica en el ganado. La relación de *H. somnus* con la TEME, actualmente está muy bien documentada, sin embargo la relación con enfermedades respiratorias o reproductivas son menos investigadas y presentan una actividad clínica no específica ( 19, 34 )

El microorganismo es capaz de producir diversas afecciones, con cuadros clínicos que incluyen la meningoencefalitis tromboembólica infecciosa, abscesos miocárdicos, neumonías, artritis, infección genital, aborto el cual ocurre por transmisión hematogena, infertilidad, mastitis, conjuntivitis, síndrome de becerros débiles, orquiepididimitis y muerte embrionaria temprana ( 1, 20 ).

**Diagnóstico:** Se han empleado diversas pruebas serológicas, sin embargo, presentan gran cantidad de reacciones indeseables o cruzadas. Se han encontrado que la prueba de

---

Imunodifusión en Gel ( IDG ) es muy específica, aunque es poco sensible ( 22, 34, 42 )

En México falta mayor conocimiento del microorganismo, ya que su presencia puede confundirse con otras enfermedades de cuadros clínicos similares lo que dificulta el diagnóstico, pudiendo estar involucrado en procesos patológicos que ocasionan pérdidas sobre todo en regiones eminentemente ganaderas, por lo que es indispensable realizar inicialmente estudios encaminados a determinar la magnitud del problema ( 34 )

---

## OBJETIVO GENERAL:

Establecer mediante pruebas serodiagnósticas, la presencia de anticuerpos para algunos agentes etiológicos que puedan ser agentes causales de problemas reproductivos en un establo bovino lechero.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- 1 Conocer el porcentaje de bovinos positivos a Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, por medio de la prueba de seroneutralización
- 2 Determinar por medio de la prueba de tarjeta y prueba de rivanol el porcentaje de reactores positivos a *B. abortus* en el hato.
- 3 Determinar la seroprevalencia de *L. interrogans* y sus serovariaciones por medio de la prueba de aglutinación microscópica
4. Determinar por medio de la prueba de Inmunodifusión en Gel la presencia de animales positivos a *H. somnus*.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La realización de este trabajo se llevó a cabo en un rancho ubicado en el municipio de Cuautitlán, Edo de México, teniendo una altura sobre el nivel mar de 2,252 mts en un terreno plano con una inclinación de 5-10% aproximadamente, el clima dominante es templado, de diciembre a enero se registran temperaturas mínimas de 0 a 3° C, la precipitación pluvial estimada es de 648.7 mm, iniciándose por lo regular en el mes de junio.

El rancho cuenta con una población de 300 bovinos, raza Holstein, cuyas edades fluctúan entre 2-6 años, encontrándose vacas en producción (250 aproximadamente) y vacas secas (50 promedio). Siendo una explotación de tipo intensiva, y en el cual hay antecedentes de vacunación contra brucelosis, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina y leptospirosis. Las vacunas utilizadas son la Cattle Master 4 (Vacuna contra Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Parainfluenza, Virus Respiratorio Sincitial y Diarrea Viral Bovina) de Smith Kline Beechman Animal Health, una bacterina para *Leptospira* preparada en base a las serovariedades existentes en el establo mediante previa serología por Laboratorios Alcocer, la cual incluye las serovariedades de *L. pomona*, *hardjo*, *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *griphotiphosa*, además *L. tarassovi* y *wolffi*.

Fecha de vacunación.

Cattle master 4	12/ febrero/1996
Leptospira	22/ abril/ 1996
Brucela dosis reducida	26 / julio / 1996

### I. TOMA DE MUESTRAS:

1 De la población total, se seleccionaron 90 vacas, las cuales contaban con antecedentes de problemas reproductivos entre los que se encontraron abortos, momificaciones fetales, retención placentaria, expulsiones, metritis, etc. La selección se hizo en base a los registros reproductivos que se llevan a cabo en el rancho.

2 Se tomaron muestras sanguíneas, del paquete vascular anocaudal, con equipo vacutainer, con aguja calibre 18, previa asepsia de la zona

3 Las muestras fueron centrifugadas para la obtención del suero, y posteriormente congeladas asta su posterior utilización para ser trabajadas.

4 La parte experimental se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Investigaciones Disciplinarias en Microbiología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias SAGAR Localizado en el Km 15.5 de la carretera federal México - Toluca, Palo Alto, Cuajimalpa, México, D F

## II. METODOLOGIA:

Para las pruebas experimentales, se utilizaron: Un antígeno para IBR para la prueba de seroneutralización, antígenos de *B. abortus* para la prueba de tarjeta, un antígeno de *B. abortus* especial para la prueba de rivanol, un antígeno preparado con cepas de leptospiras para la prueba de Aglutinación Microscópica, un antígeno para la prueba de Inmunodifusión en Gel para la prueba contra *H. somnus*.

## III. TÉCNICAS DE LABORATORIO

### I PRUEBA DE SERONEUTRALIZACIÓN PARA IBR

a) **Antígeno para la prueba de seroneutralización** Cultivo de tejidos Se emplearon monoestratos celulares de la línea MDBK ( Madin Darby Bovine Kidney ), mantenidas en medio de cultivo Modificado suplementado, con suero fetal bovino, caldo de triptocaseína y fosfato, estreptomycin y penicilina

b) **Metodología** Los sueros se inactivaron en baño María a 56°C / 30 minutos, posteriormente fueron diluidos en 1:4 en medio Basal de Eagle's (MBE), con antibiótico y mantenidos en congelación

Para la prueba se utilizó cultivo primario de células de embrión de riñón de bovino ( ERB ) y el cultivo de línea Medin-Darby de riñón de bovino ( MDBK ).

---

Como medio de crecimiento se empleó el MBE suplementado con 10% de suero fetal bovino ( SFB ) y antibióticos ( 200 U I de penicilina, 200 mg de estreptomocina/ml )

Como controles se utilizan

1) Suero negativo: Suero fetal bovino

2) Suero positivo: a) Suero con inmunoglobulinas de un animal sin antecedentes de vacunación y con cuadro clínico de IBR.

b) Suero con inmunoglobulinas provenientes de un animal vacunado pero sin presentar signos clínicos de IBR

Para la prueba se utilizaron microplacas de plástico con 96 pozos de fondo plano, microdiluidores de 0.05 ml y micropipetas de 0.05 ml y 0.025 ml.

La técnica de microseroneutralización se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Rossi y Kiessel

Las microplacas se incubaron a 37°C por 48 horas. En los pozos donde se formaron monoestratos celulares significa que el virus se neutralizó por anticuerpos específicos en el suero, por el contrario en ausencia de estos el virus producirá efectos citopatogénicos ( ECP ) en el cultivo celular

## II PRUEBA DE TARJETA PARA *Brucella spp.*

a) Antígeno de *Brucella abortus* para la prueba de tarjeta. Se utilizó el antígeno brucelar amortiguado estable que consiste en una suspensión de *Brucella abortus* cepa 1119-3 al 8%, en una solución amortiguadora de lactato a un pH de  $3.5 \pm 0.05$  y teñida con rosa de bengala

b) Metodología La técnica se realizó, según Alton y col

La lectura se hace en base a la de aglutinación que pueda presentar el suero.

Resultados de la prueba:

( + ) = Cualquier grado de aglutinación

( - ) = No aglutinación.



### III PRUEBA DE RIVANOL PARA *Brucella* spp.

a) Antígeno de *Brucella abortus* especial para la prueba de rivanol. Este contiene 4% de células por volumen y un pH de 5.8 - 6.2. Una solución al 1% de rivanol (lacto 2-etoxi - 6,9 diamonoacridina).

Está indicada como prueba complementaria para el diagnóstico de brucelosis

b) Metodología: La técnica se realizó según Alton y col

La lectura se hace en base al grado de aglutinación.

Resultados:

- Positiva (+): Hay aglutinación completa y los grumos formados están separados por líquido claro.

- Positiva incompleta: Hay aglutinación definida. Pero no hay claridad completa en el líquido que separa los grumos.

- Negativo. No hay aglutinación.

En animales no vacunados se considera positiva una aglutinación completa 1:25 y en animales vacunados se considera sospechosa. Una aglutinación completa 1:50 será positiva (Velázquez y col. 1994).

### IV PRUEBA DE AGLUTINACION MICROSCOPICA PARA *Leptospira* spp.

a) Antígeno para la prueba de aglutinación microscópica. Es un antígeno preparado con serovariedades de leptospiras vivas, incubadas a 30 °C durante 7 días.

Las serovariedades empleadas fueron

*L. icterohaemorrhagiae*, *L. hebdomadis*, *L. bratislava*, *L. pyrogenes*, *L. gryppolyphosa*, *L. canicola*, *L. pomona*, *L. panama*, *L. wolffi*, *L. hardjo*, *L. tarassovi*, *L. cepa UAM* (No es cepa de referencia).

b) Metodología: Se diluyeron en solución salina estéril amortiguada con fosfatos (SAF) los sueros que fueron sometidos a prueba para obtener una dilución 1:25.

Para ello se añadió 0.25 ml de suero a un tubo que contenía 6.0 ml de SAF y se mezclaron. Se usaron dos tubos de ensayo (12 x 75 mm), para cada antígeno, en uno se

colocó 0.2 ml de suero diluido y en el otro 0.1 ml del mismo suero diluido y 0.1 ml de SAF. Se agregó a ambos tubos 0.2 ml de antígeno estandarizado con lo que se obtuvieron diluciones finales del suero de 1:50 y 1:100, para cada uno de los antígenos de prueba. Se incluyó un tubo control que tenga 0.2 ml de SAF y 0.2 ml del antígeno.

Se agitaron los tubos, posteriormente se incubaron a temperatura ambiente durante dos horas y se examinaron. Con un asa de bacteriológica, calibrada se dejó caer una pequeña gota uniforme de cada tubo sobre un portaobjetos de vidrio limpio. La lectura se hizo por microscopía de campo oscuro con objetivos de poco aumento (10x) y oculares 10x o 15x sin cubre objetos. Registrando el grado de aglutinación de cada antígeno en relación con el antígeno control según la escala 1+ a 4+, ó como negativo.

Negativo = Sin aglutinación e idéntico al antígeno de control.

+ = Aglutinación con 75% de células libres.

++ = Aglutinación con 50% de células libres.

+++ = Aglutinación con 25% de células libres.

++++ = Aglutinación con 0-25% de células libres.

#### DETERMINACIÓN DEL TÍTULO

Todos los sueros que a una dilución de 1:100, reaccionaron con una aglutinación del 50% (++) o mayor frente a uno o más antígenos, fueron seleccionados para una nueva titulación. Para estas pruebas se hicieron diluciones dobles de la dilución original del suero 1:25. Se preparó una gradilla con hileras de 8 tubos para cada antígeno reaccionante, cada uno con 0.2 ml de SAF, se añadió al primer tubo 0.2 ml de la dilución del suero 1:25, se mezcló y se transfirió 0.2 ml, al segundo tubo y se volvió a mezclar. Se descartó 0.2 ml una vez agregado el mismo volumen de antígeno. Se llegó a diluciones del suero 1:100 a 1:12800. En casos donde el título fuera mayor que la dilución más elevada con cualquiera de los antígenos, se repite el procedimiento efectuando diluciones adicionales del suero.

El título de aglutininas de un suero se expresa como la recíproca de la dilución más alta. Si el suero en el cual se haya aglutinado por lo menos del 50% (++) de las células y el 50% se mantuvieron libres.

## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- **Caso confirmado.** Cuando se comparan dos muestras de suero, un aumento cuádruple o mayor del título de anticuerpos en la prueba de AM, frente a uno o más de los antígenos leptospirales, se considera diagnóstico de infección en curso. Del mismo modo una conversión del título de menos de 1:50 en 1:100 o mayor acompañada de síntomas o signos clínicos compatibles con la leptospirosis, se considera diagnóstico significativo de enfermedad en curso.
- **Caso presuntivo.** Un título en la prueba de AM de 1:100 o superior en una sola muestra frente a uno o más de los antígenos leptospirales, sólo es evidencia significativa de enfermedad anterior o de posibilidad de infección en curso. Sin embargo, la combinación de un título de AM relativamente alto ( 1:600 en animales o superior a 1:200 en el hombre ) junto con signos o síntomas clínicos es evidencia presuntiva de leptospirosis ( 6, 9 )

## V PRUEBA DE INMUNODIFUSIÓN EN GEL PARA *Haemophilus somnus*.

a) **Antígeno para la prueba de Inmunodifusión en Gel.** Se utilizó la cepa de referencia 2336 de *H. somnus*, la cual fue sembrada en agar chocolate. Después de 48 horas de incubación la cepa se cosechó y las células fueron diluidas con solución salina formalizada al 0.5% y ajustadas a una densidad óptica de 0.39 a 550 nm en un espectrofotómetro. El antígeno se preparó destruyendo las estructuras bacterianas por ultrasonido, al centrifugarse este antígeno a 3000 gravedades durante 10 minutos y ajustar el sobrenadante a una densidad óptica de 1.0 a 550 nm

b) **Metodología.** Para la IDG se usó la técnica descrita por Williams et al con la diferencia que se empleó agar noble al 1% en lugar de agar purificado, utilizando 10 ml en cada caja de Petri en lugar de 5ml. Las cajas se perforaron haciendo 8 grupos de 7 pozos, en cada grupo 6 pozos fueron colocados en forma simétrica alrededor de un pozo central, los que fueron identificados en forma progresiva siguiendo el sentido de las manecillas del reloj. En el pozo se agregó 10 microlitros de antígeno y en los pozos marcados con los números 1 y 4 se agregó la misma cantidad de suero testigo positivo y testigo negativo,

---

respectivamente, empleando los 4 pozos restantes para los sueros problema. Las cajas fueron colocadas en una cámara húmeda y se incubaron a 37°C durante 72 horas.

La lectura se realizó a las 24, 48, 72 horas de acuerdo con el criterio usado por Williams. Los resultados se expresaron en porcentaje de seropositivos de la población animal muestreada ( 7, 13 ).

## RESULTADOS:

Los resultados obtenidos en los sueros de 90 vacas, en cada una de las pruebas serológicas realizadas seroneutralización, tarjeta, rivanol, aglutinación microscópica e inmunodifusión doble en agar, se presenta en los cuadros correspondientes

En el cuadro 1 se muestra en base a títulos de anticuerpos el número y porcentaje de animales positivos y negativos a la prueba de Seroneutralización para el diagnóstico de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina, teniéndose una seropositividad del 61.8% (42 animales)

En el cuadro 2 se indica un 97.8% de seropositividad a *Brucella abortus* mediante la prueba de tarjeta, y para la prueba de rivanol utilizada como prueba complementaria se presentó un 76.6% de positivos, siendo los títulos más altos de 1:200 (Cuadro 3).

En el cuadro 4 se observan los resultados a la prueba de aglutinación microscópica, para *L. interrogans*. Encontrándose la serovariedad más frecuente *L. cepa UAM* (48.1%), seguida por *L. icterohaemorrhagiae* (14.9%), *L. wolffi*, *L. hardje* y *L. tarassovi* (7.4%). Siendo los títulos mayores de 1:200.

En el cuadro 5. Nos muestra la presencia de *Haemophilus somnus*, encontrándose 8 animales (8.9%) positivos de los 90 trabajados

CUADRO 1.

RESULTADOS A LA PRUEBA DE SERONEUTRALIZACIÓN EN PLACA PARA RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (IBR), DE 90 SUEROS DE VACAS EN UN ESTABLO CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS.

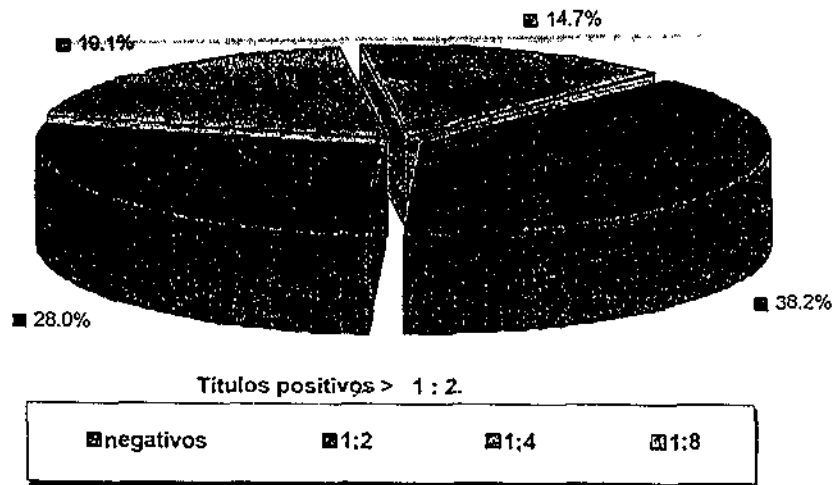
Dilución	Nº de sueros	Resultado en porcentaje
Positivos		61.8
1:2	19	28.0
1:4	13	19.1
1:8	10	14.7
Negativos	26	38.2
TOTAL	68	100.0

*NOTA:* Títulos de 1.2 son considerados como positivos  
Fueron eliminados 22 sueros por presentar contaminación.

Santiago S B L 1998

GRAFICA No 1.

RELACIÓN DE TÍTULOS DE ANTICUERPOS CONTRA IBR, EXPRESADO EN PORCENTAJE

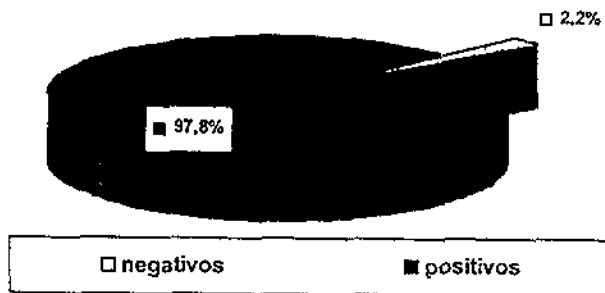


Santiago S.B.L. 1998.

CUADRO y GRAFICA 2:

RESULTADOS A LA PRUEBA DE TARJETA EXPRESADOS EN PORCENTAJE, DE ANIMALES POSITIVOS A *Brucella abortus*, EN SUEROS DE 90 VACAS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS.

Negativos	2	2.2
Positivos	88	97.8
TOTAL	90	100.0



Santiago S.B.L. 1998



CUADRO 3

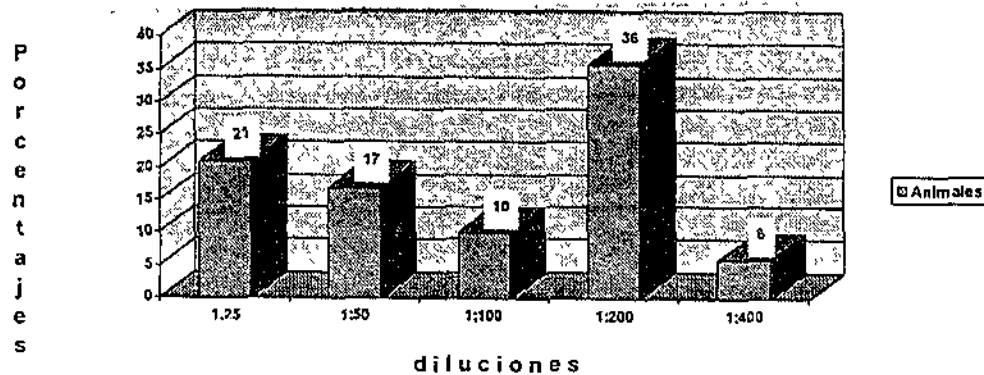
RESULTADOS EN DILUCIÓN DE LA PRUEBA DE RIVANOL PARA *Brucella abortus* EXPRESADOS EN PORCENTAJE EN SUEROS DE 90 VACAS QUE PRESENTARON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS

Dilución	No. de vacas	Resultados en porcentaje
1:25	21	23.3
1:50	17	18.9
1:100	10	11.1
1:200	36	40.0
1:400	6	6.7
TOTAL	90	100.0

NOTA: Resultados  $\geq$  a 1:50 son considerados positivos

Santiago S.B.L. 1998

GRAFICA 3  
FRECUENCIA DE REACTORES POSITIVOS EXPRESADOS EN PORCENTAJE A LA PRUEBA DE RIVANOL PARA  
*Brucella abortus* .POR DILUCIÓN.



RESULTADOS  $\geq$  1:50 SON POSITIVOS.

Santiago S B L. 1998

CUADRO 4.

FRECUENCIA DE RESULTADOS POSITIVOS A DIFERENTES SEROVARIEDADES DE *L. interrogans* MEDIANTE AGLUTINACIÓN MICROSCÓPICA DE SUEROS DE 90 BOVINOS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS

SEROVARIEDAD	NUMERO DE AGLUTINACIONES	%	TITULOS		
			1:100	1:200	1:400
* cepa Ur-M	13	48,1	12	1	-
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	4	14,9	4	-	-
<i>L. wolffii</i>	2	7,4	1	1	-
<i>L. hardjo</i>	2	7,4	1	1	-
<i>L. tarassovi</i>	2	7,4	1	1	-
<i>L. pyrogenes</i>	2	7,4	1	-	1
<i>L. canicola</i>	1	3,7	-	1	-
<i>L. quisiptychosa</i>	1	3,7	-	1	-
<i>L. bratislava</i>	-	-	-	-	-
<i>L. helveticus</i>	-	-	-	-	-
<i>L. panama</i>	-	-	-	-	-
<i>L. pomona</i>	-	-	-	-	-
TOTAL	27	100%	20	6	1
%		100%	74,0	22,2	3,8

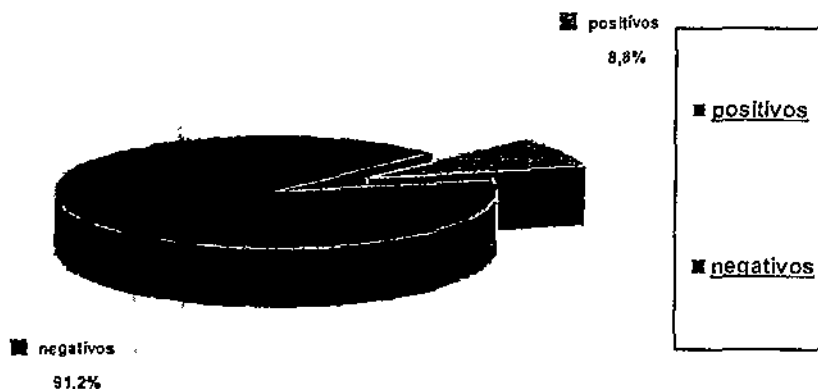
\*Cepa de aislamiento nacional.

Santiago S B L 1998.

CUADRO 5:

RESULTADOS OBTENIDOS PARA *Haemophilus somnus* MEDIANTE LA PRUEBA DE INMUNODIFUSION EN GEL. EN SUEROS DE 90 BOVINOS LECHEROS CON PROBLEMAS REPRODUCTIVOS

Positivos	8	8,8
Negativos	82	91,2
TOTAL	90	100,0



Santiago S.B.L. 1998

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## DISCUSION:

Estudios serológicos realizados por Vilchis y col (1985) en México, mediante serología de 2209 animales, por medio de la prueba de seroneutralización, indicó que la seroprevalencia de anticuerpos específicos para IBR en animales productores de leche ( 354 procedieron de las principales cuencas lecheras del país ) y de carne ( 1855 animales de diferentes estados del país), obtuvieron los siguientes resultados. en ganado lechero la comarca lagunera fue la zona de mayor porcentaje de reactores positivos con un 84% y en Tulancingo, Hgo. la de menor prevalencia encontrándose un 19%, en cuanto a ganado productor de carne el estado de Puebla se encontró un porcentaje de reactores positivos de un 70 1% y en el Estado de Durango del 20 7% Ayala y col (1989) por medio de seroneutralización que realizaron a 150 sueros de becerros y vaquillas Holstein realizando dos muestreos, encontraron que el 34.2% fueron seropositivas, siendo el titulo más frecuente de 1 2 (23 8%) y los titulos más altos de 1.8 Los titulos de anticuerpos en ambos muestreos fueron bajos siendo iguales o menores a 1.8 estos animales contaban con antecedentes de vacunación y revacunación al diagnóstico de gestación En el presente trabajo se obtuvo una seropositividad a IBR del 61 76%, teniendo en cuenta que se contaba con antecedentes de vacunación, ya que la vacunación que se sigue es la TSV2 a los 10 días y se repite a los 2 meses de edad, a los 6 meses la vacuna polivalente. Los titulos encontrados fueron de 1 2 ( 28% ) lo cual reportado por Vilchis es de los mas frecuentes y los titulos mas altos fueron de 1.8 ( 14 7%), lo cual coincide con Vilchis , Lucas y col donde reportan titulos máximos de 1 8 y concluyen que los titulos vacunales son, en promedio, menores a aquellos encontrados después de una infección En este estudio considerando que se incluyen vacas adultas, los anticuerpos vacunales ya no deben estar presentes por lo que el 61 76% pueden considerarse positivos.

En relación a estudios realizados a *Leptospira interrogans*, si bien existen varios métodos para el serodiagnóstico, sólo la prueba de Aglutinación Microscópica es el procedimiento de referencia , ya que ésta técnica se emplea para detectar anticuerpos leptospirales en el suero, identificar los aislamientos de leptospiras y clasificar cepas, además de servir de base para evaluar cualquier otro método serológico nuevo para el diagnostico de la enfermedad , las pruebas como Aglutinación

Microscópica en placa , Fijación de complemento y de Hemaglutinación , Contraimmunoelectroforesis, que son género específicas, se aplican a las infecciones en el hombre, pero no dan buenos resultados con sueros animales. Estudios hechos por Cantú y col. en 1995, en tres municipios del Sur de Tamaulipas por medio de la prueba de aglutinación microscópica encontraron que 228 bovinos de 683 ( 33.4 %) resultaron positivos a una o más serovariedades de *Leptospira*, aunque los títulos de anticuerpos no fueron mayores de 1 800, siendo las serovariedades más frecuentes *L. wolffi* con 33.5%, siguiendo *L. tarassovi* con 19.2% y por *L. hardjo* con 24.2%. Fernández y col en 1993 realizaron un estudio en el Valle de Atlixco a 116 sueros de bovinos encontrando un 84.4% de animales positivos y 15.52% negativos a la prueba de aglutinación microscópica, reaccionando los sueros a más de una serovariedad, siendo la de mayor número de reactivos *L. icterohaemorrhagiae* con un 45.69%, siguiendo *L. pyrogenes*, *L. panama*. Dorantes estimó una prevalencia del 53.96% en Hidalgo. Mendoza encontró una prevalencia del 42% en el estado de México y Alvarez obtuvo una prevalencia del 10% en el Altiplano de la República Mexicana. Santiago y Col en 1995, analizaron 551 muestras en Ciudad Guzmán, Jalisco encontrando un 34.3% de positivas a una o más serovariedades de *Leptospira*, predominando *L. hardjo* con 15.9%, siguiendo *L. wolffi* con 11.9%, *L. hebdomadis* con 3.8%, *L. tarassovi* con 3.6%, *L. grippityphosa* con 3.4% y *L. icterohaemorrhagiae* con 1.08%. Torres y col. En 1995, realizaron un análisis en Ixtapaluca, Edo De México encontrando una positividad del 66% a una o más serovariedades, encontrando las serovariedades más frecuentes *L. wolffi*, *L. hardjo*, *L. bratislava*, *L. panama* % y *L. pyrogenes*. En cuanto a leptospirosis en este trabajo se puede observar que los reactivos fueron pocos, teniendo un mínimo porcentaje, en cuanto a seropositividad y en base a las serovariedades existentes en el hato, se encontró la más frecuente *L. cepa UAM* (48.1%), *L. icterohaemorrhagiae* (14.9%), *L. wolffi* (7.4%) al igual para *L. hardjo* y *L. tarassovi*, lo cual está por debajo con resultados publicados por otros autores. La cepa UAM, que fue aislada en México y se ha diagnosticado serológicamente en casi todo el territorio nacional ( Rojas, et. Al 1994 ), en el presente trabajo fue una de las leptospirosis encontradas

---

con mayor frecuencia, lo cual coincide con Orduña que observó un 15.21% en el Estado de México. Pero es importante tener en cuenta que esta cepa tiene antigenicidad cruzada con *L. hardjo*, por este motivo aumenta su presencia

En lo que respecta a las serovariedades más frecuentes encontradas en este trabajo se observan entre las primeras cinco *L. hardjo*, *L. wolffi* y *L. tarassovi* lo cual coincide con los autores a nivel nacional. Cabe mencionar que para *L* cepa *W411*, no todos los laboratorios utilizan esta cepa para el diagnóstico porque no es considerada cepa de referencia

En el estado de México donde la brucelosis bovina es un problema endémico, Luna y col (1992) realizaron un estudio para conocer la frecuencia de brucelosis bovina en 22 establos destinados a la producción láctea, ubicados en el municipio de Nezahualcóyotl, cuya población ascendía a 449 animales en producción encontrando un 26% de seropositividad en los animales estudiados. A estos sueros se les aplicaron las pruebas de rosa de bengala y mercaptoetanol. La brucelosis bovina constituye un problema de salud animal en el hato trabajado, ya que los resultados nos muestran que se encontró una seropositividad del 97.8% para tarjeta y un 76.7% para rivanol. Los hallazgos serológicos sugieren que es alta la presencia de esta enfermedad teniendo en cuenta que se lleva a cabo un programa de vacunación y revacunación con la cepa 19 de *B. abortus*, lo que produce anticuerpos posvacunales que no se diferencian con las pruebas utilizadas de rutina, por la revacunación constante que se está manejando además puede enmascarar infecciones latentes y alta presencia de falsos positivos

*Haemophilus somnus* es causante de meningoencefalitis tromboembólica, problemas reproductivos y neumonías, se presenta más en ganado de carne que en ganado lechero, estudios realizados por Acosta y col en 1995, realizaron un estudio en el estado de Chihuahua aislando a partir de lavados prepuciales indicando un aislamiento del 3.9% de animales con lesión neumónica y de prepucio de animales clínicamente sanos del 3% de animales. Kwicien y Little en 1992 aislaron del tracto reproductor de 461 animales 28 cepas indicando un 6.1% de animales positivos. Rodríguez y col En 1993 buscaron la identificación de anticuerpos contra *Haemophilus somnus* en bovinos del

---

municipio de Tuxtepec Oaxaca, colectaron 300 muestras séricas de bovinos clínicamente sanos seleccionados al azar, las cuales fueron procesadas mediante la prueba de Inmunodifusión en gel, por poseer una alta especificidad ante este microorganismo, encontrando un 2% de seropositividad a diferencia de estudios realizados por Correa y col, que encontraron un 25% de seropositividad en bovinos con problemas reproductivos y respiratorios en el Estado de México, Puebla y Yucatán, así como en el Distrito Federal

En el muestreo efectuado en el hato bovino se encontró una seropositividad del 8.9% , lo cual indica que este no es el problema principal en el hato bovino y que coincide con tasas bajas de animales positivos con otros autores pero es importante recalcar que a pesar de que se muestran porcentajes bajos que coinciden con Acosta y Rodríguez hay que tomar en cuenta que la bacteria está presente y que a futuro puede ser causante de grandes problemas en el hato En el estado de México no se tienen datos sobre la prevalencia de esta bacteria



---

## CONCLUSIONES:

- Al analizar los resultados en el hato bovino con problemas reproductivos se pudo observar que hay un alto porcentaje de animales positivos a *Brucella* e IBR, a pesar de que para estos padecimientos se llevan a cabo programas de prevención (inmunización)
- Se sugiere que se lleven a cabo las medidas de la campaña contra la brucelosis, marcadas por la Norma Oficial Mexicana, realizando pruebas diagnósticas, identificación de reactivos, sacrificio o aislamiento de estos reactivos, además de la vacunación de animales jóvenes y adultos
- En lo que se refiere a IBR, se debe seguir un muestreo serológico, para conocer su frecuencia en el hato y conocer que tantas pérdidas está causando a causa de los problemas reproductivos.
- Para el caso de leptospirosis el problema no es tan grave, ya que la previa serología que se realiza para conocer la existencia de las serovariedades existentes en el hato y crear la bacterina adecuada es de gran ayuda, para la prevención de la enfermedad.
- Para el caso de *Haemophilus somnus* se deberá establecer la vacunación correspondiente y es necesario recalcar la importancia de los estudios de ésta bacteria ya que nos permitiría conocer la frecuencia y distribución de *H. somnus* y evaluar las posibles repercusiones que se puedan tener, sino se previene a futuro.

---

## LITERATURA CITADA:

- 1.- Alkhatir, S et al. (1996). Associations between *Campylobacter fetus*, *Haemophilus somnus*, *Leptospira hardjo* and bovine viral diarrhoea virus antibody titers in dairy cattle from a California herd Preventive Veterinary Medicine 27 125-134.
- 2 - Alvarado, I A et al. (1993) Aislamiento y tipificación de una cepa del herpes virus bovino 1 Del tipo vulvovaginitis pustular infecciosa Tec Pec Mex 31:72-83
- 3.- Alton, G G (1978) Laboratory Techniques in Brucellosis. 2nd FAO-WHO. Geneva.
- 4.- Alvarado, I A et al. (1995). Elaboración y evaluación en conejos de cuatro tipos de adyuvantes para una vacuna contra Rinotraqueítis Infecciosa Bovina. Tec Pec Méx 33 125-133.
- 5 - Avila, G J. Abortos y prevención XIX. Congreso Nacional de Buiatría 1995.p p 58-68
- 6.- Biberstein, L C Cheung, Z.Y. ( 1990 ). Review of veterinary microbiology Edit Black well Scientific publication Inc. United States of America
- 7 - Blood, D C ( 1985 ). Medicina Veterinaria. 5ta edición. Edit Interamericana México.
- 8 - Bolin. A.C et al. (1991). Effect of vaccination with a monovalent *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* type *hardjo-bovis* vaccine on type *hardjo-bovis* infection of cattle. Am J Vet Res. 52 1639-1643.
- 9.- Bovis. Tratado de veterinaria práctica. ( 1994 ) No. 57 Edit Luzán España
- 10.- Camu, C A Banda, R Y M. Seroprevalencia de leptospira bovina en tres municipios del Sur de Tamaulipas. Tec Pecu. Mex. 24 ( 2 ) 1995 p p.121 -124.
- 11.- Charles, M S. ( 1991 ), Introducción a la bacteriología veterinaria. Edit Acribia Zaragoza-España.
- 12.- Crawford, P R. et al (1991). Effects of stage of gestation and breed on bovine responses to vaccination with *Brucella abortus* strain 19. JAVMA 199 887-891
- 13.-Cheville, F.N. et al (1993): Development of vaccines and diagnostic reagents for eradication of Bovine Brucellosis Agri-Practice 14 9-13

---

14.-Dinter,Z Morein, B ( 1990 ) Virus Infections of ruminants Vol 3. Edit. Elsevier Science Publisher B V. New York . USA

15 - Dieguez, BE Presencia de anticuerpos contra *Bruella* en los animales del zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México. Tesis de Licenciatura de la UNAM. 1995

16 -Durhman, P J et al (1991). Serological studies of infectious bovine rhinotracheitis , parainfluenza 3, bovine diarrhea and respiratory syncytial viruses in calves following entry to a bull test station Can Vet J 32: 427-429.

17 -Ferrer, C S Correlación de los resultados obtenidos en perras de la prueba de Leptospirosis de campo obscuro y la prueba de microaglutinación Tesis de Licenciatura de la FESC- UNAM 1995

18 -Fernández L.J. J et al ( 1993 ) Detección de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en bovinos de hatos lecheros del valle de Atláxco,Puebla, mediante la prueba de aglutinación microscópica Vet Méx 24: 47-49.

19 -Franco, T M C Rodríguez, A L Aislamiento e identificación de *Haemophilus somnus*, en neumonías de bovinos productores de carne en la región central del Edo. de Chihuahua Tesis de Licenciatura de la Universidad Autónoma de Chihuahua Facultad de Ciencias Químicas 1989.

20 - Harns, W. F Et al (1989). The *Haemophilus somnus* disease complex ( Hemophilosis) A review. Can Vet J 30. 816-822.

21 -Hernández, B I Martínez, E.E Aspectos sanitarios de una explotación intensiva de bovinos productores de leche Tesis de Licenciatura FESC- UNAM 1995.

22 - Humphrey, J D. ( 1983 ) " *Haemophilus somnus* " A review Veterinary bulletin 53 (11) 987-1004

23 - Inzana, J T et al. (1992). Immune response of cattle to *Haemophilus somnus* hpid A- protein conjugate vaccine and efficacy in a mouse abortion model Am. J Vet. Res 53 175-179.

24 -Kupferschmed,H.U.et al ( 1986) Transmission of IBR/IPV virus in bovine semen a case report Theriogenology. 25 439-443.

25.-Manual de métodos para el diagnóstico de laboratorio de la Leptospirosis Centro Panamericano de Zoonosis Nota técnica No 30 1985

- 
- 26 -Méndez, G E Torres, U A M. Estudio serológico para la detección de anticuerpos contra *Leptospira* en ganado bovino lechero en los municipios de Coacalco, Cuautitlán de R.R, Melchor Ocampo, Teoloyucan y Zumpango, Estado de México Tesis de Licenciatura de la FESC-UNAM 1989
- 27 -Miguel, M J M. Evaluación del virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. Tesis de Licenciatura de la FESC- UNAM 1987.
- 28 -Monlla,G.A (1989) Inmunología veterinaria. 1ra edición Edit Diana México
- 29 -Pérez ,D M (1991) Manual sobre ganado productor de leche 4ta impresión Edit Diana México
- 30.-Nicoletti, P (1981) Prevalence and persistence of *Brucella abortus* strain 19 infections and prevalence of other biotypes in vaccinated adult dairy cattle JAVMA 178 143-145
- 31 - Norma oficial Mexicana Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales. Diario Oficial de la Federación 20 de agosto de 1996.
- 32 - Pichardo. S M Evaluación de la respuesta inmune a la vacunación contra IBR en bovinos de Zumpango, Estado de México. Tesis de Licenciatura de la FESC-UNAM 1990.
- 33 - Quinn, P.J Carter, M E Markey, B. (1994) Clinical Veterinary Microbiology. 1ra. ed edit. Wolfe
- 34-Rodríguez, A M. Martínez, M J Aguilar R F Detección de Anticuerpos contra *Haemophilus somnus* en bovinos del municipio de Tuxtepec. Oaxaca, México Vet Mex 24 ( 4 ) 1993 pp. 303 - 305
- 35-Rossi, Ch R Kiesel G.K. ( 1982 ). Association between route of inoculation with infectious bovine rhinotracheitis virus and site of recrudescence after dexamethasone treatment. Am. J Vet Res 43 (8) 1440
- 36 -Salgado, A E et al (1995) Estudio de brucelosis a partir de muestras de leche de bovinos en el trópico subhúmedo del estado de Guerrero Vet Méx. 26 359-362.
- 37-Santiago, D J et. al. Presencia de anticuerpos contra *Leptospira interrogans* en muestras de sangre tomadas en bovinos de establos y rastros en la región del Sur de Jalisco. XIX Congreso Nacional de Buiatría 1995 P p 35
- 38- Scanlan, M Ch (1991). Introducción a la bacteriología veterinaria Edit Acribia Zaragoza, España

- 
- 39-Torres, A F Frecuencia de anticuerpos antileptospira en bovinos productores de leche con y sin problemas reproductivos. Congreso de Buiatria 1995 pp 109-112
- 40 -Vaero,G Diagnostico Veterinario 1ra ed. Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios,A.C.
- 41 --Milchis, M C et al. (1991) Evaluación de la vacuna TSV-2 de IBR PI<sub>3</sub> , en bovinos nacionales. Tec Pec Méx 29 19-23.
- 42 -Williams,M J et al (1978). Immunogenicity of *Haemophilus somnus* Bacterin in Cattle Am J.Vet Res 39 1756-1762