



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



FRECUENCIA DE DIARREA VIRAL BOVINA, RINOTRAQUEITIS  
INFECCIOSA BOVINA, LEPTOSPIROSIS Y BRUCELOSIS, EN LAS  
DOS REGIONES GANADERAS MÁS IMPORTANTES DE OAXACA  
**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

ERIK GIOVANNI HERNÁNDEZ BADILLO

Asesores:

Dr. Efrén Díaz Aparicio

M.C. Enrique Herrera López

México D.F. 2015



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.

## **DEDICATORIA**

Con todo mi cariño y amor a ustedes papás, Bertha Badillo Godínez y Eustaquio Hernández Badillo, quienes siempre se esforzaron, sacrificaron y me brindaron todo su apoyo y recursos para que yo lograra el sueño de terminar esta hermosa carrera.

A mi esposa, Gabriela Guzmán Delgado que siempre me apoyó y me tuvo paciencia cuando me encontraba fuera de la ciudad y lejos de ella. A mi hija Ingrid Valeria Hernández Guzmán que siempre me dio fortaleza para no declinar, a pesar de lo difícil que pareciera el trabajo.

A mis suegros: Sonia María Delgado Herrera y Pedro Víctor Guzmán López que me aceptaron y acogieron durante todo el proceso de titulación y más.

A mis Hermanos Josimar y Alan que tuvieron paciencia durante toda la carrera y me ayudaron cuando el tiempo no estaba disponible.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis asesores M en C. Enrique Herrera López y el Dr. Efrén Díaz Aparicio quienes siempre confiaron en mí, me impulsaron para seguir adelante y me orientaron para enriquecer este trabajo.

Al CENID-Microbiología Animal del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, donde realicé mi servicio social y mi tesis y me permitió conocer varias partes de este hermoso país.

A la Fundación Produce Oaxaca A.C. Folio 20-2013-0751. Con el proyecto Validación de la vacuna contra brucelosis en bovinos de carne y doble propósito para determinar las causas de aborto en regiones ganaderas de Oaxaca, México.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM que me abrió sus puertas para permitirme estudiar a lo largo de 5 años.

A todos mis profesores que me brindaron sus conocimientos y me ayudaron a formar como médico veterinario zootecnista.

A mis amigos Erik, Mauricio, Julián, Rodolfo, Ilce, Mariana, Berenice, Pilar, Cinthya, Julio, Anita, Paquito, quienes a lo largo de la carrera me brindaron muchísimos momentos memorables e hicieron más ameno todo el trayecto.

# CONTENIDO

<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>2</b>
1.1 <b>Generalidades de la producción de bovinos de doble propósito en México.....</b>	<b>2</b>
1.2 <b>Estado actual de la producción de bovinos de doble propósito en Oaxaca.....</b>	<b>2</b>
1.3 <b>Brucelosis bovina .....</b>	<b>3</b>
1.3.1 <i>Etiología.....</i>	5
1.3.2 <i>Transmisión .....</i>	6
1.3.3 <i>Patogenia .....</i>	6
1.3.4 <i>Signos Clínicos.....</i>	7
1.3.5 <i>Diagnóstico .....</i>	8
1.3.6 <i>Tratamiento.....</i>	9
1.3.7 <i>Prevención y control.....</i>	9
1.4 <b>Leptospirosis bovina.....</b>	<b>10</b>
1.4.1 <i>Etiología.....</i>	11
1.4.2 <i>Transmisión .....</i>	12
1.4.3 <i>Patogenia .....</i>	12
1.4.4 <i>Signos clínicos .....</i>	14
1.4.5 <i>Diagnóstico .....</i>	15
<i>Pruebas serológicas .....</i>	15
<i>Pruebas de detección de leptospiras .....</i>	16
1.4.6 <i>Tratamiento.....</i>	16
1.4.7 <i>Prevención y Control .....</i>	17
1.5 <b>Diarrea Viral Bovina (DVB) .....</b>	<b>18</b>
1.5.1 <i>Etiología.....</i>	18
1.5.2 <i>Transmisión .....</i>	19
1.5.3 <i>Patogenia .....</i>	20
1.5.4 <i>Signos clínicos .....</i>	22
1.5.5 <i>Diagnóstico .....</i>	22
<i>Pruebas de detección del virus o antígenos específicos del virus .....</i>	23
<i>Pruebas para detectar anticuerpos específicos contra el VDVB .....</i>	23
1.5.6 <i>Tratamiento.....</i>	24
1.5.7 <i>Prevención y control.....</i>	24
1.6 <b>Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) .....</b>	<b>25</b>
1.6.1 <i>Etiología.....</i>	26

1.6.2	<i>Transmisión</i> .....	26
1.6.3	<i>Patogenia</i> .....	27
1.6.4	<i>Signos clínicos</i> .....	28
1.6.5	<i>Diagnóstico</i> .....	30
	<i>Pruebas directas</i> .....	31
	<i>Pruebas indirectas</i> .....	31
1.6.6	<i>Tratamiento</i> .....	32
1.6.7	<i>Prevención y control</i> .....	32
<b>2</b>	<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>33</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>34</b>
3.1	<i>Objetivo general</i> .....	34
3.2	<i>Objetivos específicos</i> .....	34
<b>4</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>
4.1	<i>Características generales de las unidades de producción del estudio</i> .....	35
4.2	<i>Tipo de estudio</i> .....	38
4.3	<i>Muestreo</i> .....	39
4.4	<i>Toma de muestra</i> .....	41
4.5	<i>Diagnóstico de Brucelosis</i> .....	41
4.5.1	<i>Prueba de Tarjeta al 8%</i> .....	41
4.5.2	<i>Prueba de Rivanol</i> .....	42
4.5.3	<i>Inmunodifusión radial</i> .....	42
4.6	<i>Diagnóstico serológico de leptospirosis</i> .....	43
4.6.1	<i>Prueba de aglutinación microscópica</i> .....	43
4.7	<i>Diagnóstico serológico de Diarrea Viral Bovina (Prueba de ELISA)</i> .....	44
4.8	<i>Diagnóstico serológico de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (Prueba de ELISA)</i> .....	45
4.9	<i>Cuestionario por hato</i> .....	46
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>47</b>
5.1	<i>Resultados de brucelosis</i> .....	47
5.2	<i>Resultados de leptospirosis bovina</i> .....	48

<b>5.3</b>	<b><i>Resultados de Diarrea Viral Bovina</i></b> .....	<b>52</b>
<b>5.4</b>	<b><i>Resultados de Rinotraqueítis infecciosas Bovina</i></b> .....	<b>55</b>
<b>5.5</b>	<b><i>Resultados del cuestionario (actividades que pueden estar relacionadas con las enfermedades en estudio)</i></b> .....	<b>57</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>64</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>72</b>
<b>8</b>	<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>74</b>
<b>ANEXO 1</b>	.....	<b>80</b>
	<i>Cepario utilizado en el diagnóstico de leptospirosis</i> .....	80
<b>ANEXO 2</b>	.....	<b>81</b>
	<i>Preparación del medio de cultivo y mantenimiento del cepario de leptospirosis</i> .....	81
<b>ANEXO 3</b>	.....	<b>82</b>

## Resumen

Hernández Badillo Erik Giovanni. Frecuencia de Diarrea Viral Bovina, Rinotraqueítis Infecciosa Bovina, leptospirosis y brucelosis, en las dos regiones ganaderas más importantes de Oaxaca. (Bajo la dirección de: Dr. Efrén Díaz Aparicio y M.C. Enrique Herrera López)

El propósito de este trabajo fue determinar la frecuencia de brucelosis, leptospirosis, Diarrea Viral Bovina (DVB) y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR) en las regiones de la Costa e Istmo en Oaxaca. Se realizó un estudio de tipo transversal, se obtuvieron muestras de 1660 bovinos de doble propósito sin antecedentes de vacunación contra estas enfermedades. Para el diagnóstico de brucelosis se usó la prueba de tarjeta al 8%, Rivanol e Inmunodifusión Radial. El diagnóstico de leptospirosis se hizo con la prueba de aglutinación microscópica, con una batería de seis serovariedades y para el diagnóstico de DVB e IBR se utilizó la prueba de ELISA por bloqueo e indirecta respectivamente. Se obtuvo una frecuencia de 0.24% (4/1660) de animales positivos a brucelosis. Del total de los animales, 57.29% (951/1660) presentaron anticuerpos al menos a una serovariedad de leptospira, siendo la serovariedad más frecuente Hardjo (aislamiento nacional) con 46.44% (771/1660), seguido por Hardjo (cepa de referencia) con 28.67% (476/1660), en seguida estuvieron las serovariedades Icterohaemorrhagiae y Canicola con, 21.08% (350/1660) y 17.77% (295/1660) respectivamente. En el diagnóstico serológico de DVB, 31.93% (530/1660) de los animales mostraron anticuerpos contra la enfermedad y finalmente 30.18% (501/1660) fueron seropositivos a IBR. La frecuencia a nivel de hato fue 4.1% (4/97) para brucelosis; 100% (97/97) para leptospirosis; 77.32% (75/97) para DBV y 94.85% (92/97) para IBR. Los resultados demuestran elevadas frecuencias de anticuerpos contra leptospirosis, DVB e IBR en ganado de doble propósito y una baja frecuencia de brucelosis.

# **1 INTRODUCCIÓN**

## ***1.1 Generalidades de la producción de bovinos de doble propósito en México.***

De las actividades pecuarias a nivel nacional, la producción de carne y leche de bovino genera el 43% del valor de este sector, que equivale a 134 mil millones de pesos (SHCP, 2014). Los bovinos aportan el 30.3% de la carne que se consume en México, ubicándose en el segundo lugar, solo por debajo de la carne de pollo (SAGARPA 2006). La producción de carne de bovino se lleva a cabo en dos sistemas: el especializado y el de doble propósito, este último se concentra principalmente en las zonas tropicales del país. Las características de este sistema es que los animales solo dependen de los forrajes que se producen en las praderas, hay poca inversión en infraestructura y mano de obra, no hay una estacionalidad marcada en cuanto al empadre, los partos y la extracción de novillos del hato. Los machos y hembras se crían por igual (Rojo *et al.*, 2009). El sistema de doble propósito aporta el 46% de la carne de bovino que se consume en México y representa el 45% del inventario nacional (Fundación Produce Oaxaca, 2007).

## ***1.2 Estado actual de la producción de bovinos de doble propósito en Oaxaca.***

El estado de Oaxaca ocupa el 6° lugar de la República Mexicana en cuanto al número de cabezas de ganado bovino con 1, 670,226 animales (SIAP, 2013). Siendo las regiones del Istmo y la Costa las que mayor inventario registran

(Fundación Produce Oaxaca, 2007). No obstante, en cuanto a la producción de carne de bovino por estado, Oaxaca ocupa el lugar número 16 (SIAP, 2013), debido a que muchas de las cabezas de ganado que se producen en el estado se venden en pie hacia otras regiones, a la mala condición corporal del ganado que se debe probablemente a la deficiente nutrición que tienen los bovinos, pues en su mayoría se alimentan de pastos de mala calidad que no satisfacen las necesidades de los animales (Rojo *et al.*, 2009; Izaguirre *et al.*, 2007; Fundación Produce Oaxaca, 2007)

Aunado a estos problemas, se suman las complicaciones de sanidad. Algunas de las causas por la que la producción puede verse afectada es por enfermedades que afectan la reproducción como son la IBR, la DVB, la brucelosis y la leptospirosis. Estas dos últimas enfermedades además tienen importancia en salud pública ya que representan un riesgo para el humano (Martínez *et al.*, 2002; Barhi *et al.*, 2003). Una cualidad más de todas estas enfermedades es su habilidad para mantenerse dentro de una población, ya sea por infecciones latentes, animales persistentemente infectados (PI) o portadores crónicos, lo que hace que se dificulte el control de las mismas.

### **1.3 Brucelosis bovina**

La brucelosis es una enfermedad crónica de origen bacteriano (Poester *et al.*, 2013) que se caracteriza por producir abortos en el último tercio de la gestación en los animales que se infectan por primera vez y en algunas ocasiones puede provocar problemas de infertilidad (Kim *et al.*, 2014). Además, es una enfermedad

de gran importancia en salud pública por tratarse de una zoonosis (Martínez *et al.*, 2002), especialmente en países en vías de desarrollo. La enfermedad en el humano se contrae principalmente por el consumo de leche o productos lácteos contaminados y sin pasteurizar o por contacto con animales infectados, secreciones uterinas o fetos abortados, en menor medida la infección se puede contraer por el manejo de vacunas vivas o cepas virulentas en el laboratorio. La enfermedad está presente prácticamente en todo el mundo, pero afecta principalmente a países de América Latina, Asia central, África, el medio este y países del Mediterráneo, mientras que países de Europa Occidental y del norte, así como Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda se consideran libres de la enfermedad (Olsen and Tatum., 2010; Neta *et al.*, 2010; Aguilar, 2010).

En México la brucelosis es una enfermedad endémica que se supone tiene importancia comercial y económica por las restricciones aplicadas a los animales infectados y a sus productos (Martínez *et al.*, 2002; Abimerhi *et al.*, 1995). Está presente prácticamente en todo el territorio nacional, con excepción de la zona norte del estado de Sonora que se considera libre. Los estados de Baja California Sur, la zona de la Península de Yucatán, algunas zonas del estado de Guerrero, Chiapas, Nayarit, Colima, Hidalgo y la zona sur de Sonora se encuentran en fase de erradicación, mientras que Oaxaca y el resto de los estados de la república se encuentran en fase de control (NOM-041-ZOO-1995) (Figura 1).



**Figura 1:** Situación actual del territorio nacional, en cuanto al estatus sanitario contra Brucelosis bovina. (NOM-041-ZOO-1995)

### 1.3.1 Etiología

*Brucella* es un cocobacilo intracelular facultativo, Gram negativo, que puede afectar a múltiples especies incluido el hombre. Se conocen diez especies dentro del género y tienen una fuerte afinidad por sus hospederos, estas son *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis*, *B. microti* y *B. inopinata* (Neta *et al.*, 2010; Olsen and Palmer 2014). En los bovinos la enfermedad es provocada principalmente por *B. abortus* aunque en lugares donde los bovinos conviven con otras especies (particularmente las cabras) se facilita la infección del ganado con *B. melitensis* (Martínez *et al.*, 2002).

### **1.3.2 Transmisión**

Los fetos abortados, las membranas fetales así como las secreciones uterinas eliminadas después del aborto o del parto son las principales fuentes de infección. Otras fuentes con menor importancia son la transmisión vertical o a través de leche contaminada y la transmisión venérea, aunque la inseminación artificial con semen contaminado es una fuente potencial de infección (Neta *et al.*, 2010; Olsen and Tatum 2010; Poester *et al.*, 2013).

La transmisión de la enfermedad en los animales puede ser a través de heridas en la piel, las mucosas respiratoria y conjuntival, aunque la principal ruta de infección es por vía oral (Neta *et al.*, 2010; Poester *et al.*, 2013).

Las vaquillas que adquieren la infección verticalmente o por la ingesta de leche contaminada pueden permanecer negativas a las pruebas serológicas diagnósticas y no presentar ningún signo de la enfermedad durante las primeras etapas de su vida. Sin embargo, estas vaquillas con infección latente asintomática pueden abortar o dar a luz a becerros infectados que son el centro del mantenimiento de la enfermedad dentro del hato (Neta *et al.*, 2010; Olsen and Tatum 2010).

### **1.3.3 Patogenia**

Una vez que la bacteria ingresa al organismo del animal se disemina a los nódulos linfáticos regionales, donde se replica en las células fagocíticas, posteriormente viaja por los vasos linfáticos dentro de los macrófagos y en seguida ocurre una

bacteremia que conduce a una infección sistémica (Neta *et al.*, 2010; Poester *et al.*, 2013), ésto favorece la colonización del tracto reproductor, sobre todo cuando se encuentra grávido, ya que bajo esta circunstancia se producen altas cantidades de eritritol y hormonas esteroides que favorecen la supervivencia de la *Brucella*. Una vez que las bacterias han colonizado el tracto reproductor llegan a las vellosidades coriónicas del tejido placentario, de donde se disemina hacia los trofoblastos intercotiledonarios. La replicación de las bacterias induce una infiltración de células inflamatorias, necrosis de las células trofoblásticas, vasculitis y ulceración del corioalantoides, esto interrumpe el intercambio metabólico entre el feto y la madre, lo que ocasiona el aborto, mortinatos o el nacimiento de crías débiles a partir del sexto mes de gestación (Neta *et al.*, 2010; Poester *et al.*, 2013; Olsen and Tatum., 2010)

#### **1.3.4 Signos Clínicos**

Las manifestaciones clínicas más comunes de la brucelosis son las pérdidas reproductivas a consecuencia de los abortos, el nacimiento de animales débiles o mortinatos. Los abortos ocurren sobre todo en el tercer tercio de la gestación, siendo la característica de la enfermedad. La brucelosis también puede provocar infertilidad, mastitis y en consecuencia disminución de la producción láctea (Olsen and Tatum., 2010; Xavier *et al.*, 2009). En los toros afectados pueden aparecer signos sistémicos como fiebre, depresión y anorexia, aunque la infección es a menudo inaparente. La lesión más significativa en los machos que sufren la enfermedad es la orquitis, que puede ser acompañada de vesiculitis seminal y

epididimitis. Como resultado de la orquitis crónica los toros pueden desarrollar fibrosis en el parénquima testicular, dando como resultado infertilidad permanente (Neta *et al.*, 2010). Ocasionalmente *B. abortus* puede localizarse en articulaciones, huesos, y otras sitios como el sistema nervioso central y los pulmones donde la inflamación y la patología asociada inducen lesiones y signos clínicos específicos (Olsen and Tatum., 2010).

### **1.3.5 Diagnóstico**

Debido al potencial zoonótico de la brucelosis cualquier caso de aborto en los bovinos a partir del quinto mes de gestación debe diferenciarse de otra enfermedad que provoque aborto (Neta *et al.*, 2010). El diagnóstico de la brucelosis se puede dividir en pruebas directas para detectar al microorganismo o su genoma, algunas pruebas directas son el aislamiento, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la inmunohistoquímica (Neta *et al.*, 2010; Xavier *et al.*, 2009). Sin embargo, el diagnóstico mediante estas pruebas no es muy común, y se realiza principalmente con fines de investigación o epidemiológicos (Martínez *et al.*, 2002), El aislamiento debe ser llevado a cabo con precaución por el riesgo que representa para el personal de laboratorio. El otro tipo de pruebas son las indirectas, que detectan anticuerpos en contra del microorganismo, además tienen la ventaja de ser más rápidas y económicas (Xavier *et al.*, 2009), sin embargo la respuesta por anticuerpos debe ser diferenciada si es debida a la vacunación o una infección (Olsen and Tatum., 2010). La Norma Oficial Mexicana contra la brucelosis en los animales (NOM-041-ZOO-1995) establece las pruebas de tarjeta

al 8%, Rivanol, fijación del complemento y la prueba de anillo en leche, como pruebas oficiales para detectar anticuerpos contra las especies lisas de *Brucella* spp. Otras pruebas son la fluorescencia polarizada, la ELISA indirecta, la ELISA competitiva y la prueba de Inmunodifusión radial (Martínez *et al.*, 2002; Abimerhi *et al.*, 1995).

### **1.3.6 Tratamiento**

No existe un tratamiento específico contra la enfermedad en los animales, aquellos que resultan positivos deben ser sacrificados (NOM-041-ZOO-1995). Esto con la finalidad de disminuir los casos de brucelosis humana y eliminar las fuentes de infección para los demás bovinos (Olsen and Tatum., 2010).

### **1.3.7 Prevención y control**

Las estrategias de prevención y control de la enfermedad se basan en: muestreos serológicos de los animales que se adquieren antes de introducirlos al hato; cuarentena a los animales que provienen de hatos o zonas infectadas; muestreo y diagnóstico serológico de los animales del hato, así como la segregación y eliminación de los animales reactivos y vacunación de todas las hembras, en especial cuando el hato se encuentra en zonas de alto riesgo (Olsen and Tatum., 2010), los machos no deben ser vacunados porque no se considera que tengan un papel importante en la transmisión de la enfermedad (Olsen and Tatum., 2010; Martínez *et al.*, 2002).

La vacunación es una buena herramienta para el control y erradicación de la brucelosis, en primer lugar la vacunación evita las manifestaciones clínicas de la enfermedad (por ejemplo los abortos y el nacimiento de becerros infectados), y a su vez disminuye la propagación de la enfermedad. Las vacunas oficiales que son usadas para prevenir la enfermedad son la vacuna cepa S19 de *B. abortus* y la vacuna cepa RB51 de *B. abortus*. La campaña establece dos protocolos para el caso de la vacuna S19, uno que se aplica a las becerras conocido como dosis clásica y el otro que se aplica a todas las vacas mayores de 6 meses y se conoce como dosis reducida (NOM-041-ZOO-1995). La vacuna a dosis clásica para becerras de 3 a 6 meses de edad debe contener por lo menos un título de  $1 \times 10^{10}$  unidades formadoras de colonias (UFC) por cada mililitro y deben aplicarse 5 ml, lo cual representa un mínimo de  $5 \times 10^{10}$  UFC. La vacuna con dosis reducida se aplica a hembras mayores de 6 meses de edad, aun gestantes, debe contener un título de  $3 \times 10^8$  a  $3 \times 10^9$  UFC/ml, y se aplican dos mililitros a cada vaca, lo que equivale a un título de  $6 \times 10^8$  a  $6 \times 10^9$  UFC (NOM-041-ZOO-1995).

En el caso de la vacuna RB51 la dosis usada en becerras es  $1 - 3.4 \times 10^{10}$  UFC, mientras que para los adultos se sugiere una dosis de  $1 \times 10^9$  UFC (Samartino *et al* 2000)

#### **1.4 Leptospirosis bovina**

La leptospirosis es una enfermedad infecto contagiosa de origen bacteriano que afecta a todos los mamíferos, tanto silvestres como domésticos y tiene múltiples presentaciones (Andicoberry *et al.*, 2001). Está distribuida en todo el mundo a

excepción de la Antártida (Adler and Peña., 2010; Ellis, 2015; Bharti *et al.*, 2003). Se han descrito 13 especies y más de 260 serovariedades (Adler and Peña., 2009; Adler, 2014), aunque la mayoría de las veces, la infección se produce por un número limitado de serovariedades endémicas de una región o país, se debe destacar que la enfermedad se transmite de forma más fácil entre hospederos de mantenimiento, por ejemplo para la serovariedad Hardjo el hospedero de mantenimiento son los bovinos, mientras que si llega a haber una infección con otra serovariedad se considera que es una infección accidental (Andicoberry *et al.*, 2001). La leptospirosis es una enfermedad zoonótica que se presenta con mayor frecuencia en zonas tropicales, sin embargo, la transmisión puede ocurrir tanto en países industrializados como países en vías de desarrollo (Bharti *et al.*, 2003).

La leptospirosis bovina provoca pérdidas principalmente por sus efectos a nivel reproductivo, en segunda instancia por disminución en la producción de leche y en tercer lugar (aunque poco frecuente) por la aparición de un cuadro grave en animales jóvenes, que cursan con fiebre, ictericia, hemorragias y hematuria que por lo regular es de curso fatal y en la que están implicadas principalmente serovariedades accidentales (Andicoberry *et al.*, 2001; Lilenbaum and Martins., 2013).

#### **1.4.1 Etiología**

Las leptospiras son espiroquetas de alrededor de 0.1  $\mu\text{m}$  de diámetro por 6-20  $\mu\text{m}$  de largo, el género *Leptospira* está conformado tanto por las especies saprofitas, como patógenas. La enfermedad es provocada por cualquiera de las 13 especies patógenas de este género y los más de 260 serovariedades que se han

identificado alrededor del mundo (Adler and Peña., 2010; Bharti *et al.*, 2003). En los bovinos la causa más común de leptospirosis es la serovariedad Hardjo (tipo Hardjo-bovis), sin embargo como se mencionó antes, se pueden infectar con otras serovariedades. Esto depende de la región en la que se encuentren los bovinos y las especies animales con las que convivan (Andicoberry *et al.*, 2001; Bolin, 2003).

#### **1.4.2 Transmisión**

La infección ocurre principalmente a través de las membranas mucosas o de lesiones en la piel (Adler and Peña., 2010; Adler, 2014).

La transmisión de la leptospirosis entre los hospederos de mantenimiento, se da a menudo de forma directa e implica el contacto con orina infectada, fluidos placentarios o a través de la leche. Además, puede transmitirse por vía venérea y transplacentaria. La infección de hospederos incidentales ocurre comúnmente de forma indirecta por el contacto con áreas contaminadas o con los hospederos de mantenimiento (Lilenbaum and Martins., 2013; Bolin, 2003). Las condiciones ambientales son críticas en determinar la frecuencia de la transmisión indirecta. La supervivencia de las leptospiras se ve favorecida por condiciones de un ambiente húmedo, temperaturas templadas (alrededor de 25° C), pH neutro o ligeramente alcalino y la presencia de materia orgánica. Bajo estas condiciones el microorganismo puede permanecer viable por días e incluso semanas fuera de su hospedero (Bolin, 2003; Andicoberry *et al.*, 2001).

#### **1.4.3 Patogenia**

Uno a dos días después de la entrada de las leptospiras al organismo del

hospedero, comienza la fase de bacteremia que puede durar hasta una semana. (Ellis 2015; Adler and Peña., 2010). Cuando el número de leptospiras alcanza un nivel crítico en la sangre y en los tejidos del animal, aparecen las lesiones en los tejidos debidas a la acción inespecífica de las toxinas de la leptospira o los componentes de la toxicidad celular con la consiguiente aparición de los signos de la enfermedad (Adler and Peña., 2010). Las primeras lesiones son el daño al endotelio de los pequeños vasos sanguíneos, que conducen a la isquemia localizada en los órganos, resultando en necrosis de los túbulos renales, daño pulmonar y hepatocelular, meningitis, miositis y placentitis e incluso pueden aparecer hemorragias, hemoglobinuria e ictericia en los casos graves de la enfermedad y hasta la muerte (Adler and Peña., 2010; Ellis, 2015). Esta manifestación de la enfermedad se observa frecuentemente en animales jóvenes y se asocia con infecciones accidentales, particularmente con cepas productoras de hemolisinas de las serovariedades Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa y Pomona (Ellis, 2015; Higgins, 1981). Una vez que aparecen los anticuerpos circulantes las leptospiras son removidas de la circulación y de la mayoría de los tejidos. El daño tisular se puede revertir incluso si es grave o pueden aparecer lesiones permanentes en los órganos dañados (Adler, 2014). Cuando la infección ocurre con una serovariedad adaptada (por ej. serovariedad Hardjo en bovinos), después del periodo de leptospiremia, las leptospiras colonizan los túbulos renales proximales, donde se multiplican y son eliminadas en la orina, en cantidad y duración variable entre cada animal, las leptospiras también pueden alojarse en el útero de hembras gestantes (Ellis, 2015).

#### **1.4.4 Signos clínicos**

Los signos clínicos dependen de la edad del animal, del estado inmune, del estado de gestación al momento de la infección y de la serovariedad infectante (Andicoberry *et al.*, 2001).

En animales jóvenes, que no tienen protección y se infectan con cepas pertenecientes a los serogrupos Pomona, Icterohaemorrhagiae y Gryppotyphosa puede aparecer una enfermedad clínica aguda e incluso severa que cursa con fiebre, anemia hemolítica, hemoglobinuria, ictericia, ocasionalmente meningitis y la muerte (Adler and Peña., 2010; Ellis, 2015; Carmona *et al.*, 2011). En hembras lactantes la infección con serovariedades accidentales puede ocasionar hemolactia (Ellis, 2015). Finalmente, cuando una serovariedad accidental entra a un hato puede desencadenar una “tormenta de abortos” (Bolin, 2003).

Por otro lado, la infección con la serovariedad Hardjo en los bovinos adultos es generalmente subclínica o puede provocar disminución de la eficiencia reproductiva y un estado de portador crónico que es fuente de infección para otros animales (Bolin, 2003; Carmona *et al.*, 2011). En hembras gestantes pueden aparecer abortos, nacimiento de crías débiles, mortinatos, aumento en el número de servicios por concepción así como falla reproductiva (Lilenbaum and Martins., 2013; Bolin, 2003). Aunque, los abortos y las crías débiles generalmente aparecen solo cuando la hembra gestante se infecta por primera vez con la serovariedad Hardjo (Bolin, 2003). En las vacas lactantes puede aparecer una caída repentina de la producción láctea, que puede durar hasta 14 días, la leche tiene apariencia de calostro, contiene coágulos, un alto recuento de células

somáticas y los cuatro cuartos pueden estar implicados. El número de animales afectados puede variar desde el 1% hasta el 50% dependiendo de la inmunidad del hato, aunque la mayoría de las veces se presenta en casos aislados (Ellis, 2015).

#### **1.4.5 Diagnóstico**

El diagnóstico de la leptospirosis depende de una buena historia clínica, de su historia de vacunación, así como de las pruebas de laboratorio y la experiencia de este en el diagnóstico de la enfermedad (Bolin, 2003; Andicoberry *et al.*, 2001).

Las pruebas de diagnóstico pueden ser divididas en dos grupos: las que detectan anticuerpos específicos contra el microorganismo y las que detectan al microorganismo o su ADN en los tejidos o fluidos corporales de los animales (Bolin, 2003; Andicoberry *et al.*, 2001; Adler and Peña., 2010). Sin embargo, es recomendable el uso de una técnica serológica y una técnica molecular para identificar al microorganismo y de esta manera aumentar la sensibilidad y especificidad (Adler and Peña., 2010).

#### **Pruebas serológicas**

Las pruebas serológicas son ampliamente usadas para el diagnóstico de leptospirosis en animales, y la de aglutinación microscópica (MAT) es la prueba serológica estándar. La MAT requiere usar cepas de todos los serogrupos y serovariedades identificados en la región o país donde se lleva a cabo el diagnóstico. El aumento en el título de anticuerpos para una serovariedad y que coincide con la presentación clínica de la enfermedad es suficiente para establecer

el diagnóstico. Sin embargo, esta prueba tiene varias limitaciones, una de ellas es que por sí sola no puede diferenciar entre anticuerpos vacúnales y los provocados por la infección (Ellis, 2015; Adler, 2014).

Otras pruebas usadas para detectar anticuerpos contra la leptospirosis son la Fijación del complemento y la ELISA (Andicoberry *et al.*, 2001; Adler and Peña., 2010).

### ***Pruebas de detección de leptospiras***

Estas pruebas incluyen la Inmunofluorescencia (IF) y la PCR. El cultivo es otro método que se puede usar, sin embargo es una técnica cara, que lleva mucho tiempo y generalmente no está disponible en todos los laboratorios. La IF se usa para detectar leptospiras en tejidos, sangre o sedimento urinario, su principal desventaja es que no diferencia la serovariedad infectante, por lo que es necesario un examen serológico. La PCR es una prueba que consiste en la amplificación del ADN del microorganismo, es capaz de detectar la presencia de la bacteria en tejidos o fluidos corporales. Las desventajas de esta prueba son que no diferencia la serovariedad implicada y que es extremadamente sensible a la contaminación con ADN exógeno, por lo tanto puede dar reacciones falsas positivas (Bolin, 2003; Ellis, 2015).

#### ***1.4.6 Tratamiento***

Las leptospiras son prácticamente sensibles a cualquier antibiótico, con excepción de las sulfonamidas y el cloranfenicol (Andicoberry *et al.*, 2001). En el caso de una manifestación clínica severa se necesita la combinación de antibióticos más un

tratamiento de soporte para evitar la muerte del animal. La combinación de estreptomicina a 25 mg/kg más penicilina, es el tratamiento de elección en los casos de leptospirosis aguda (Ellis, 2015; Andicoberry *et al.*, 2001; Gazyagci *et al.*, 2010).

En el caso de portadores crónicos el tratamiento de elección es la administración de estreptomicina a 25mg/kg más la vacunación, esto ha demostrado la disminución de la cantidad de leptospiras que se eliminan en la orina, sin embargo algunos experimentos han demostrado que el tratamiento no elimina el estado de portador crónico (Ellis, 2015; Andicoberry *et al.*, 2001).

#### **1.4.7 Prevención y Control**

Los programas de control de la leptospirosis en los bovinos se basan en: prevenir la exposición de los animales a las fuentes de infección y la vacunación.

En el primer caso, lo que se desea es evitar el contacto directo e indirecto entre los bovinos y los portadores de leptospirosis, por ejemplo en el control de los roedores, limitar el acceso de los bovinos a aguas estancadas o pequeños arroyos, sobre todo cuando otros animales también tienen acceso a estas fuentes de agua. También se sugiere la cuarentena de animales que se desean introducir al hato, esto con la finalidad de evitar la introducción de la serovariedad Hardjo. Sin embargo, hay limitaciones en estas prácticas, ya que algunas requieren de mucho dinero, es imposible terminar con todos los animales silvestres que pueden ser portadores de la enfermedad, y además la prevalencia de la serovariedad Hardjo en el ganado hace imposible prevenir la exposición a todas las fuentes de la enfermedad (Bolin, 2003; Ellis, 2015). Por lo tanto, la vacunación es necesaria

para mejorar la resistencia de los bovinos a la infección, las bacterinas deben contener serovariedades patógenas que previamente hayan sido diagnosticadas en la región o en el hato en cuestión (Andicoberry *et al.*, 2001; Bolin, 2003; OIE, 2004; Balakrishnan and Roy 2014), estas bacterinas en general proveen una buena protección en contra de la enfermedad, inducida por cada uno de las serovariedades que contiene la bacterina, excepto contra la serovariedad Hardjo (Bolin, 2003).

Los protocolos de vacunación para la leptospirosis incluyen dos dosis iniciales de la bacterina, seguidas de una vacunación anual de todos los animales cuando se trata de un hato cerrado, o dos vacunas al año cuando se trata de un hato abierto.

## **1.5 Diarrea Viral Bovina (DVB)**

La DVB es una enfermedad infectocontagiosa de origen viral que afecta a los bovinos de todas las edades y está presente en casi todo el mundo con excepción de algunos países escandinavos (Lindber *et al.*, 1999). La enfermedad es difícil de diagnosticar ya que presenta varias manifestaciones clínicas, desde una enfermedad inaparente, hasta una enfermedad grave e invariablemente fatal conocida como enfermedad de las mucosas (EM) (Ridpath, 2008; Ramírez *et al.*, 2012).

### **1.5.1 Etiología**

El virus de la diarrea viral bovina (vDVB) es un virus ARN, que pertenece al género *Pestivirus* de la familia *Flaviviridae*. El virus presenta dos biotipos

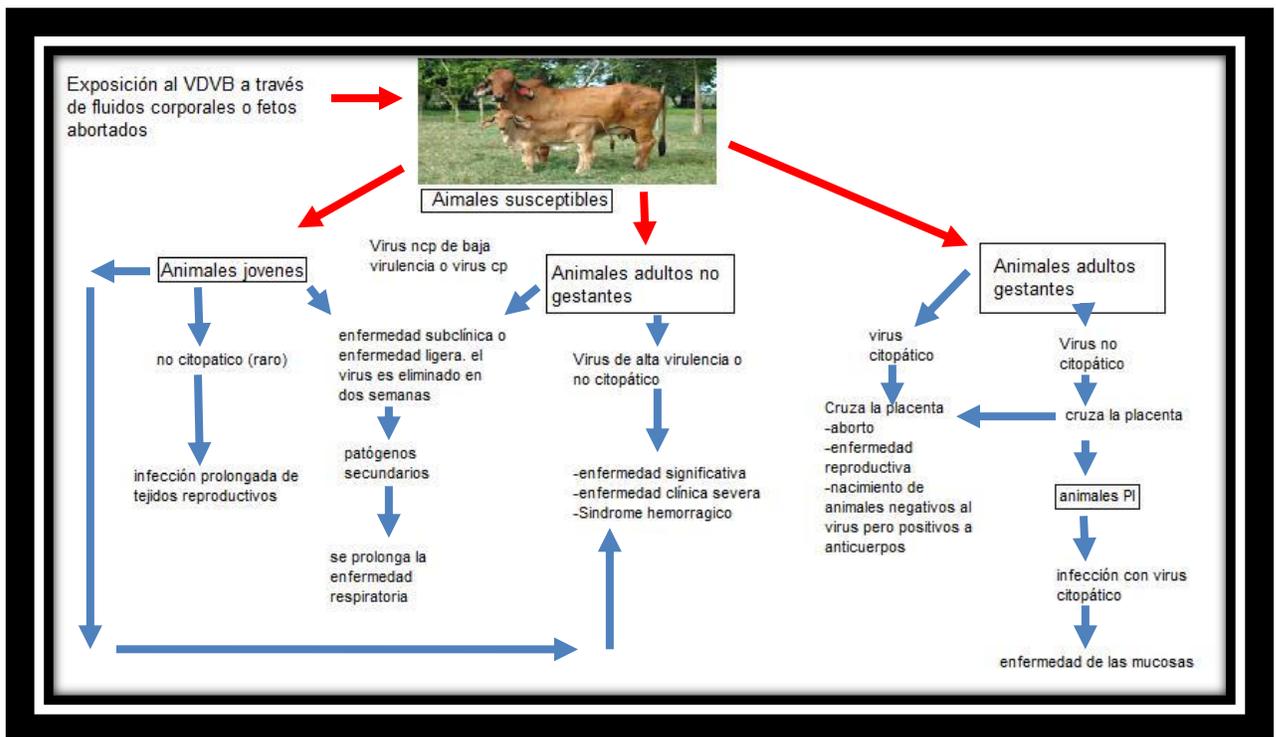
diferentes: citopático (cp) y no citopático (ncp) de acuerdo a los efectos que produce en los cultivos celulares, se divide en dos genotipos (VDVB-1 y VDVB-2) (Lanyo *et al.*, 2014; Ramírez *et al.*, 2012), que presentan una gran variedad antigénica por lo que se han subclasificado en subgenotipos (VDVB-1a ~ 1q, VDVB-2a ~ 2c) (Shandian *et al.*, 2014). La enfermedad se presenta principalmente en los bovinos, aunque el virus puede infectar también a las ovejas, cerdos, cabras y varios rumiantes de vida libre (Potgieter, 2004; Ripath, 2008; Brodersen, 2014).

### **1.5.2 Transmisión**

La forma más común de transmisión del virus es por el contacto directo nariz-nariz o el contacto sexual de un animal susceptible con un animal persistentemente infectado (PI), aunque éstos últimos eliminan el virus en cualquier fluido corporal y por lo tanto, cualquier secreción es una fuente de contagio. Los animales PI eliminan grandes cantidades del virus a lo largo de su vida siendo la fuente más importante de la transmisión de la enfermedad. Otra forma de transmisión es por el contacto directo con animales que sufren la enfermedad aguda, sin embargo estos animales eliminan solo pequeñas cantidades del virus y por un corto periodo de tiempo (Lanyo *et al.*, 2014; Houe, 1999). La transmisión entre pequeños rumiantes y el ganado bovino también ha sido demostrada en ambos sentidos (Houe, 1999; Brodersen, 2014) y finalmente la transmisión por equipo o material veterinario contaminado juega un papel un tanto menos importante pero también se ha descrito (Lanyo *et al.*, 2014).

### 1.5.3 Patogenia

Una vez que el vDVB entra al organismo de su hospedero hay varias rutas que puede seguir la infección dependiendo del estado inmune del animal, la virulencia del microorganismo, la edad del animal, el estado de gestación y la presencia de otros microorganismos (Ripath, 2008; Lanyo *et al.*, 2014) (Figura 2).



**Figura 2:** Patogenia de la DVB. Presentaciones clínicas seguidas de la infección con el vDVB de acuerdo a factores como la edad del animal, la virulencia de la cepa, el estado inmune del animal

*Enfermedad aguda:* en animales no inmunes y que no están gestantes la infección con el biotipo ncp resulta en una viremia transitoria tres días después de la infección (Brodersen, 2014; Lanyo *et al.*, 2014; Fulton, 2013; Nettleton, 2013) que puede durar hasta 14 días, esto puede traer como consecuencia una

trombocitopenia, apoptosis en el timo, inmunosupresión, fiebre y diarrea. La inmunosupresión puede favorecer el establecimiento de otros agentes que agravan el cuadro o la enfermedad puede recrudecer (Brodersen, 2014; Lanyo *et al.*, 2014; Fulton, 2013).

*Infección fetal:* los efectos de la infección fetal son complejos y dependen de la edad del feto cuando se infecta la madre. Durante los primeros 18 días de gestación, mientras el embrión no se ha implantado la infección no ocurre, una vez que se desarrollan los cotiledones, existe una viremia durante los días 29-41 de gestación, el embrión se puede infectar y esto conduce a la muerte embrionaria.

Cuando la hembra se infecta después del día 30 de gestación y hasta el día 90, puede dar lugar al nacimiento de animales PI. La infección entre los días 80 y 150 de gestación puede dar como resultado efectos teratogénicos en el feto, también puede conducir a la muerte del feto y provocar aborto sin ningún efecto en la vaca (Brodersen, 2014; Lanyo *et al.*, 2014; Fulton, 2013).

*Infección Persistente:* la infección de la hembra en el primer tercio de la gestación (entre los días 30 y 90) puede dar lugar al nacimiento de becerros PI, esta condición solo se da cuando la hembra se infecta con un biotipo ncp en la gestación (Lanyo *et al.*, 2014; Brodersen, 2014; Houe, 1999). Los animales PI son la fuente más importante del virus para otros animales susceptibles ya que eliminan grandes cantidades del virus en todos sus fluidos corporales (Lanyo *et al.*, 2014; Brodersen, 2014).

*Enfermedad de las Mucosas (EM):* La EM solo se desarrolla en animales PI y es una enfermedad invariablemente fatal. La enfermedad se asocia con la aparición

de un biotipo cp del vDVB derivado de la mutación del biotipo ncp que ya circula en el animal o por una reinfección con un biotipo cp (Brodersen, 2014; Lanyo *et al.*, 2014; Fulton, 2013).

#### **1.5.4 Signos clínicos**

En animales que cursan con una enfermedad aguda los signos que pueden aparecer son fiebre de hasta 42° C, diarrea, descarga nasal, inapetencia, letargia, disminución de la producción láctea y en caso de cepas virulentas pueden aparecer ulceraciones en el morro, la cavidad oral, laringe, faringe, esófago y una enteritis hemorrágica, (Brodersen, 2014; Lanyo *et al.*, 2014; Ramírez *et al.*, 2012). A nivel reproductivo pueden aparecer abortos, disminución en las tasas de concepción, retorno al estro y defectos teratogénicos en los becerros que nacen, sin que la madre presente signos. Los animales PI generalmente son pequeños, débiles, enfermizos y propensos a sufrir enfermedades secundarias (Lanyo *et al.*, 2014; Givens and Marley., 2013). Finalmente los animales que sufren la EM presentan los mismos signos que aquellos animales que sufren de una enfermedad aguda, pero son mucho más severos que los conducen a la muerte (Brodersen, 2014; Lanyo *et al.*, 2014).

#### **1.5.5 Diagnóstico**

Recientemente, se han desarrollado varias técnicas para el diagnóstico de la DVB, que permiten diagnosticar la enfermedad en sus múltiples presentaciones (Brodersen, 2014; Nettleton, 2013; Beaudeau *et al.*, 2001). Las pruebas diagnósticas pueden detectar al virus, detectar antígeno viral o detectar

anticuerpos específicos contra el vDVB (Lanyo *et al.*, 2014). Las pruebas más comúnmente usadas son la ELISA, la PCR y la prueba estándar de seroneutralización (Beaudeau *et al.*, 2001)

### ***Pruebas de detección del virus o antígenos específicos del virus***

Estas pruebas se usan principalmente cuando se investigan casos individuales, se trata de erradicar el vDVB de un hato o región, o los animales infectados representan un riesgo inminente. Las pruebas disponibles para estos casos son el aislamiento viral, la inmunohistoquímica (IHQ), el ELISA de captura de antígeno, y la PCR (Lanyo *et al.*, 2014).

La prueba de oro es el aislamiento viral, sin embargo, el uso de la PCR se prefiere más que el aislamiento ya que es menos costoso, más rápido, altamente sensible y no se limita a laboratorios que tienen instalaciones para el cultivo celular. Las muestras idóneas para la realización de estas pruebas son sangre, leche, saliva, lágrimas y tejidos. Está indicada principalmente para casos agudos y detectar animales PI. Se recomienda que la prueba se repita a las 4 semanas, si el resultado vuelve a ser positivo indica que es un animal PI (Lanyo *et al.*, 2014).

### ***Pruebas para detectar anticuerpos específicos contra el VDVB***

La detección de anticuerpos en el ganado es una forma valiosa de determinar el estatus inmune individual de los animales, así como una exposición previa al VDVB. Un resultado positivo en animales no vacunados indica que el animal ha estado expuesto al virus y que no es PI, si se obtiene el mismo resultado en una hembra gestante señala que hay probabilidad de que sea portadora de un animal

PI (Lanyo *et al.*, 2014). A nivel de hato o región, una alta prevalencia de resultados positivos a anticuerpos es indicativo de que la población actualmente está infectada y que hay animales PI (Lanyo *et al.*, 2014; Houe, 1999).

Un resultado negativo en un individuo no confirma que el animal no haya estado expuesto al virus, pero tampoco que el animal sea PI, en este caso se necesitan pruebas de detección de antígeno viral para confirmar si un animal es PI o no. Una alta prevalencia de resultados negativos a anticuerpos indica que es poco probable que la población tenga animales PI. Por otro lado, una baja prevalencia en un rebaño o región, indica, que la introducción de la enfermedad tendría consecuencias severas y proporciona evidencia de que es necesaria una cuidadosa protección del ganado (Lanyo *et al.*, 2014; Houe, 1999).

Las pruebas disponibles para detección de anticuerpos son el ELISA y la prueba de Inmunodifusión doble en gel (IDG) (Lanyo *et al.*, 2014).

#### **1.5.6 Tratamiento**

No existe un tratamiento específico contra el virus, el tratamiento consiste en controlar los agentes oportunistas y dar una terapia de sostén en los casos agudos (Ozcanlar *et al.*, 2012).

#### **1.5.7 Prevención y control**

La prevención y control de la enfermedad se basa en la identificación de las fuentes de infección del virus, particularmente animales PI y la eliminación de estos animales del hato, implementación de medidas que eviten la entrada de nuevas fuentes del virus al hato y finalmente una población inmune en base a

esquemas de vacunación que protejan contra los genotipos circulantes (Lanyo *et al.*, 2014; Fulton, 2013). Las vacunas deben ser capaces de proteger al ganado contra la infección y la enfermedad aguda, pero más importante aún, deben prevenir una infección fetal con el fin de evitar el nacimiento de animales PI. De esta forma se rompe el ciclo de la enfermedad y se disminuye la fuente de eliminación del virus para el resto de los animales. Existen dos tipos de vacunas, las de virus muerto y la de virus vivo modificado. Ambas vacunas son capaces de proteger contra varias cepas del vDVB, pero la vacuna viva induce una respuesta mucho más rápida. Los protocolos de vacunación exigen una revacunación anual de los animales adultos, mientras que en los becerros se recomienda una vacunación con dos dosis a partir de los 6 meses de edad, seguidas de revacunaciones anuales. En las hembras gestantes se debe usar preferentemente vacunas de virus muerto o en caso de vacunas de virus vivo, solo aquellas que eviten la infección del feto y que estén aprobadas por las estancias de gobierno en cada país (Fulton, 2013; Lindber *et al.*, 1999).

## **1.6 Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR)**

La Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) es una enfermedad altamente contagiosa que afecta a los bovinos de todas las edades, principalmente a animales mayores de 6 meses. Tiene una distribución mundial, aunque algunos países de Europa han iniciado programas para su erradicación (Muylkens *et al.*, 2007; Raaperi *et al.*, 2014; Mahajan *et al.*, 2013). La enfermedad puede presentarse de forma respiratoria y reproductiva, afectando los órganos genitales de las hembras y

machos y de forma sistémica (Babiuk *et al.*, 1996; Mahajan *et al.*, 2013), además tiene la habilidad de inducir una infección latente por invasión de las terminaciones nerviosas (Peshev and Christova, 2010).

### **1.6.1 Etiología**

El agente etiológico de la IBR es el Herpes virus bovino tipo 1 (HVB-1), es un virus ADN, que pertenece a la familia *Herpesviridae*, sub familia *Alphaherpesvirinae*, genero *varicellovirus*. Existen tres subtipos diferentes del HVB-1: el respiratorio (HVB-1.1), el genital (HVB-1.2) y el neuropatogénico (HVB-1.3), aunque este último se clasifica ya como Herpes virus Bovino Tipo 5 (HVB-5) (Babiuk *et al.*, 1996; Biswas *et al.*, 2013; Moeller *et al.*, 2013).

### **1.6.2 Transmisión**

La transmisión del HVB-1 ocurre especialmente a través del contacto directo con descargas nasales o aerosoles de animales enfermos, la vía venérea es otra fuente de infección directa para los animales susceptibles. La infección se puede adquirir de forma indirecta a través de alimento o agua contaminada con secreciones de los animales enfermos, por inseminación artificial con semen contaminado o por las máquinas de ordeña, así como por el contacto con fluidos vaginales del parto (Engels *et al.*, 1996; Biswas *et al.*, 2013; Nandi *et al.*, 2009). Los animales en los que se reactiva la enfermedad después de un periodo de estrés y que cursan de nuevo con un cuadro clínico son una fuente de infección para los demás animales (Babiuk *et al.*, 1996; Biswas *et al.*, 2013).

### **1.6.3 Patogenia**

Las principales puertas de entrada del virus son la cavidad nasal, la orofaringe, los ojos y el tracto genital. Una vez que el virus entra en el hospedero, generalmente se replica por primera vez en las células epiteliales que se encuentran en la mucosa por donde el virus entró. El resultado posterior de la infección depende del virus y/o factores del hospedero. Existen tres vías que puede tomar la patogenia del virus: (1) infección restringida a áreas locales (2) diseminación sistémica por la viremia y (3) diseminación neuronal (Engels *et al.*, 1996; Biswas *et al.*, 2013; Tikoo *et al.*, 1995).

*Infección restringida a áreas locales:* los ejemplos de estas manifestaciones son la infección de tracto respiratorios superior o la del tracto genital, conocidas como Vulvovaginitis Pustular Infeciosa (VPI) y Balanopostitis Pustular Infeciosa (BPI). En este paso hay una gran destrucción de las células epiteliales locales por la replicación del virus. Se producen altos títulos de virus que son excretados en las secreciones de estos dos tractos que se convierten en fuente de infección, una a dos semanas después de la entrada del virus se desarrolla la inmunidad que limita el avance de la enfermedad y los animales generalmente se recuperan. Sin embargo, las lesiones pueden facilitar las infecciones secundarias, que pueden agravar la enfermedad (Engels *et al.*, 1996; Muijkens *et al.*, 2007; Biswas *et al.*, 2013; Moeller *et al.*, 2013).

*Propagación sistémica por viremia:* cuando los animales no tienen una adecuada respuesta inmune, el virus logra diseminarse por la invasión de los vasos y nódulos linfáticos seguidos de una viremia y llegando a un amplio rango de tejidos

provocando diferentes signos, dependiendo del sitio afectado. El virus es capaz de viajar y replicarse en los monocitos sanguíneos y se ha demostrado que también en los linfocitos, al menos hasta que hay un desarrollo de anticuerpos neutralizantes. La destrucción de las células infectadas es la principal responsable de las manifestaciones clínicas (Engels *et al.*, 1996; Biswas *et al.*, 2013; Moeller *et al.*, 2013; Babiuk *et al.*, 1996). En hembras gestantes pueden presentarse abortos en esta fase y en los animales jóvenes sin inmunidad se puede presentar un infección sistémica fatal (Muylkens *et al.*, 2007).

*La Neuroinvasión:* durante la replicación inicial en la superficie de las mucosas el virus puede entrar a los axones de las células nerviosas a través de las terminaciones nerviosas. Entonces, por transporte intra-axonal, el virus alcanza el cuerpo neuronal de los ganglios regionales y se establece el estado de latencia (Engels *et al.*, 1996). El HVB-1 no suele invadir más allá de la primera neurona en el nervio trigémino donde establece la latencia. Hay aislamientos esporádicos del virus en animales que sufrieron de trastornos del sistema nervioso central. Estos casos pueden ser debidos a la susceptibilidad individual al virus (Muylkens *et al.*, 2007). Sin embargo, no se ha determinado si la invasión del sistema nervioso central por parte del HVB-1 se logra a través de transporte axonal o vía viremia. Esto último implicaría que el virus supera la barrera hematoencefálica y explicaría porque la encefalitis por HVB-1 se produce solo de manera esporádica (Engels *et al.*, 1996).

#### **1.6.4 Signos clínicos**

La extensión y la gravedad de las lesiones pueden variar desde una enfermedad

leve y subclínica, a una aguda con signos clínicos, hasta una enfermedad grave que se complica por infecciones bacterianas secundarias que incluso pueden llegar a ser fatales (Biswas *et al.*, 2013; Nandi *et al.*, 2009). Los signos clínicos dependen de la edad y estado inmune de los animales, de la cepa infectante, la vía de entrada del virus, un ambiente estresante y la participación de agentes oportunistas (Muylkens *et al.*, 2007; Biswas *et al.*, 2013; Tikoo *et al.*, 1995).

*Forma respiratoria:* los signos clínicos que se observan son fiebre de hasta 41° C por 4 a 5 días que puede estar acompañada por anorexia, depresión y en vacas adultas puede haber una disminución en la producción de leche. Después de dos a tres días de incubación, se observan signos respiratorios y oculares, como el enrojecimiento de la mucosa nasal, descarga nasal serosa o mucopurulenta, dificultad para respirar y tos, salivación. Los signos oculares incluyen conjuntivitis y descarga ocular mucopurulenta, aunque no es tan frecuente. (Muylkens *et al.*, 2007; Biswas *et al.*, 2013; Nandi *et al.*, 2009). Se pueden observar abortos que son consecuencia de una infección sistémica en las vacas seronegativas. Usualmente la infección sistémica puede provocar muerte fetal en etapas tempranas de la gestación que se manifiesta como un retorno al estro. En los fetos abortados se pueden observar lesiones en el hígado (Muylkens *et al.*, 2007; Nandi *et al.*, 2009; Engels *et al.*, 1996). Cabe mencionar que también puede presentarse aborto en vacas que no presentan signología (Tikoo *et al.*, 1995)

*Forma genital:* los signos en esta presentación aparecen uno a tres días después del apareamiento, las vacas afectadas normalmente muestran una micción frecuente, mantienen la cola elevada para evitar el contacto con la vulva y después aparecen signos como fiebre, depresión, anorexia, la vulva se torna

hiperémica y aparecen lesiones pustulares en la misma. La infección también se puede complicar con agentes bacterianos y surgen descargas purulentas, en los machos surgen lesiones similares en el pene (Muylkens *et al.*, 2007; Biswas *et al.*, 2013; Nandi *et al.*, 2009).

*Forma sistémica:* en los terneros que adquieren la infección antes del nacimiento o que son privados del calostro y se infectan durante las primeras etapas de su vida, esta puede ser multisistémica y haber fiebre, depresión, debilidad, salivación excesiva y diarrea, que generalmente los conduce a la muerte (Muylkens *et al.*, 2007; Tikoo *et al.*, 1995).

*Estado de latencia:* se puede establecer después de una primo infección. En este estado no hay signos clínicos, sin embargo si los animales son sometidos a eventos de estrés como el parto, el transporte etc, el virus se puede reactivar y aparecen los signos de la enfermedad además estos animales vuelven a eliminar el virus convirtiéndose en una fuente de infección para el resto de los animales, perpetuando así la enfermedad dentro del hato (Nandi *et al.*, 2009; Tikoo *et al.*, 1995; Muylkens *et al.*, 2007; Engels *et al.*, 1996)

### **1.6.5 Diagnóstico**

El diagnóstico clínico de la enfermedad no es fácil debido a la existencia de otras enfermedades que cursan con signos clínicos similares, por lo tanto es necesario un diagnóstico de laboratorio cuando se sospecha de la enfermedad. Las pruebas para el diagnóstico del HVB- se pueden dividir en directas e indirectas (Obando *et al.*, 2005; Biswas *et al.*, 2013; Tikoo *et al.*, 1995; Nandi *et al.*, 2009).

### ***Pruebas directas***

Estas pruebas se basan en la detección de virus, de antígenos virales o del material genético del virus. Las pruebas disponibles son el aislamiento viral en cultivo celular, inmunofluorescencia, ELISA para detección de antígeno, la PCR y la microscopia electrónica (Biswas *et al.*, 2013; Obando *et al.*, 2005). Para que estas pruebas tengan éxito, las muestras deben ser tomadas de forma estéril y enviadas en refrigeración al laboratorio de referencia. Las muestras que se mandan al laboratorio son hisopos nasales, vaginales, conjuntivales, lavados prepuciales, cotiledones de la placenta, fetos abortados y sus órganos, particularmente el hígado (Obando *et al.*, 2005; Mahajan *et al.*, 2013).

En cultivo celular la presencia del virus es detectada por el efecto citopático que ocasiona en las células. La histopatología detecta cuerpos de inclusión intranucleares, pero solo está indicada en biopsias de tejidos vaginales, en casos de encefalitis fatales y para detectar el antígeno en los órganos de fetos abortados. La microscopia electrónica se usa para detectar partículas virales en etapas tempranas de la enfermedad. (Biswas *et al.*, 2013; Nandi *et al.*, 2009). La PCR se usa de forma más común ya que es más fácil y rápida de realizar y es la opción para detectar el genoma del virus en tejidos fetales abortados (Mahajan *et al.*, 2013; Biswas *et al.*, 2013; Nandi *et al.*, 2009).

### ***Pruebas indirectas***

El fundamento de las pruebas indirectas es la detección de anticuerpos en contra del HVB-1, las pruebas disponibles para este fin son la seroneutralización (SN),

que es una prueba de referencia internacional y la prueba de ELISA. La ELISA indirecta es usada ampliamente debido al corto tiempo que necesita para dar los resultados y a que se pueden trabajar un gran número de muestras. Éstas indican el estatus sanitario del hato, debido a que puede haber animales aparentemente sanos pero que se encuentran con el virus latente (Biswas *et al.*, 2013; Obando *et al.*, 2005; Mahajan *et al.*, 2013; Nandi *et al.*, 2009).

#### **1.6.6 Tratamiento**

No existe un tratamiento específico para el HVB-1, éste se basa en el control de los agentes secundarios que puedan agravar el cuadro clínico (Tikoo *et al.*, 1995).

#### **1.6.7 Prevención y control**

Las medidas de prevención y control se establecen de acuerdo al estatus sanitario en el que se encuentren los animales del hato, si un hato se encuentra libre de la enfermedad, es necesario aplicar medidas de bioseguridad para evitar que la enfermedad ingrese al hato, ya que tendría graves consecuencias. Las medidas que se toman son: comprar e introducir animales con certificado de seronegativos, cuarentenar a los animales que se van a introducir, sobre todo cuando no tienen certificado y vienen de una zona endémica y finalmente, en caso de que se use la inseminación artificial, utilizar semen libre de la enfermedad (Obando *et al.*, 2005;). En hatos infectados las medidas que se deben tomar son: en caso de que exista una pequeña proporción de animales con la enfermedad se eliminan y remplazan por animales sin este padecimiento (Obando *et al.*, 2005; Muylkens *et al.*, 2007). Cuando hay una frecuencia considerable, los animales positivos se separan de los

negativos, y se debe ir remplazando a los animales positivos. En hatos en los que la proporción de animales infectados es alta, el procedimiento más usado para prevenir las manifestaciones clínicas de la enfermedad y por lo tanto controlar la transmisión del virus, es mediante la vacunación (Biswas *et al.*, 2013; Obando *et al.*, 2005).

Las vacunas disponibles para proteger al ganado contra el HVB-1 pueden ser clasificadas en cuatro categorías: vacuna de virus vivo modificado, vacuna con virus muerto, vacunas de subunidades y vacunas marcadoras (Muylkens *et al.*, 2007; Nandi *et al.*, 2009; Biswas *et al.*, 2013).

## **2 JUSTIFICACIÓN**

El proyecto surge como demanda por parte de los productores que han reportado problemas reproductivos, principalmente abortos e infertilidad en sus hatos, es por esto que la “Fundación Produce Oaxaca A.C.” financia el proyecto para ver si el problema era causado por brucelosis o la vacunación contra esta enfermedad, que era lo que los productores pensaban y fue en estas zonas donde la campaña y SAGARPA indicaron que hubo más quejas. Sin embargo, es posible que la presencia de otras enfermedades abortivas como la leptospirosis, la DVB e IBR, de las cuales no se conoce su estatus, puedan tener una frecuencia mayor y estar contribuyendo a las fallas reproductivas. La entrada de estas enfermedades en hatos bovinos que se infectan por primera vez provoca grandes pérdidas económicas, principalmente por los efectos adversos que producen sobre la reproducción, así como las complicaciones clínicas que pueden provocar y los

gastos en el tratamiento. En los hatos en los cuales estas enfermedades son endémicas, aparecen problemas de forma esporádica que pueden comprometer la producción de los bovinos (Santos *et al.*, 2013; Ellis, 2015; Lanyo *et al.*, 2014; Nandi *et al.*, 2009). Por lo anterior es de suma importancia tener evidencia de si los bovinos de estas regiones están conviviendo con los agentes productores de estas patologías, puesto que, no se han realizado trabajos sobre estas en las dos regiones del estado de Oaxaca mencionadas.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Identificar mediante pruebas serológicas presencia de anticuerpos contra brucelosis, leptospirosis, Diarrea Viral Bovina y Rinotraqueítis Infecciosa Bovina en poblaciones de bovinos de doble propósito en las regiones ganaderas de La Costa y El Istmo, en el estado de Oaxaca.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Determinar la frecuencia de brucelosis mediante la prueba de tarjeta al 8%, rivanol e Inmunodifusión radial.
- Identificar algunas serovariedades de *Leptospira* spp. a través de la prueba de aglutinación microscópica, en la población de estudio.
- Determinar la frecuencia de Diarrea Viral Bovina por medio de la prueba de ELISA por bloqueo.
- Señalar la frecuencia de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina por medio de la

prueba de ELISA indirecta.

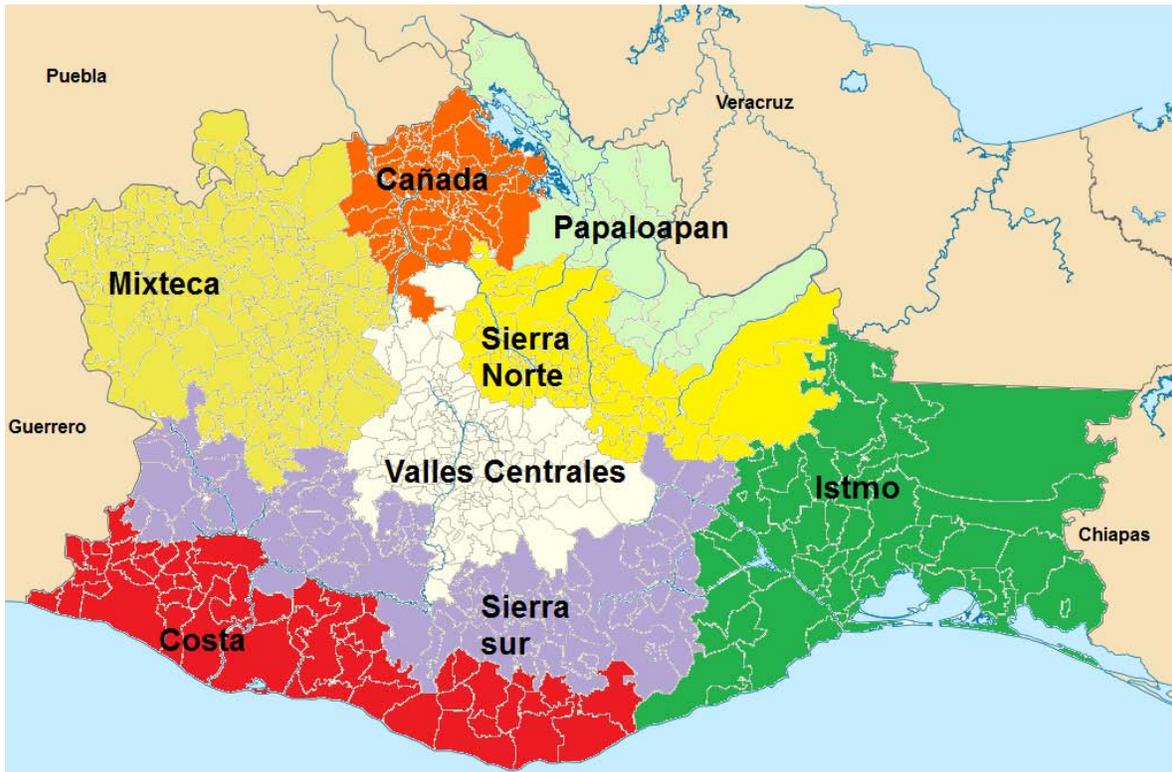
## **4 MATERIAL Y MÉTODOS**

### ***4.1 Características generales de las unidades de producción del estudio***

El estado de Oaxaca se divide en ocho regiones geográficas: Mixteca, Cañada, Papaloapan, Sierra norte, Valles centrales, Sierra sur, Costa e Istmo (Figura 3).

Este estudio fue realizado en dos regiones del estado de Oaxaca; la región de La Costa y la región del Istmo. La región de La Costa se localiza en el sur del estado, tiene una superficie de 11605.06 km<sup>2</sup> (CIEDD, 2011), mientras que la zona del Istmo se localiza al este del estado y cuenta con una superficie de 20,755.26km<sup>2</sup> (CIEDD, 2011).

## Regiones geográficas de Oaxaca



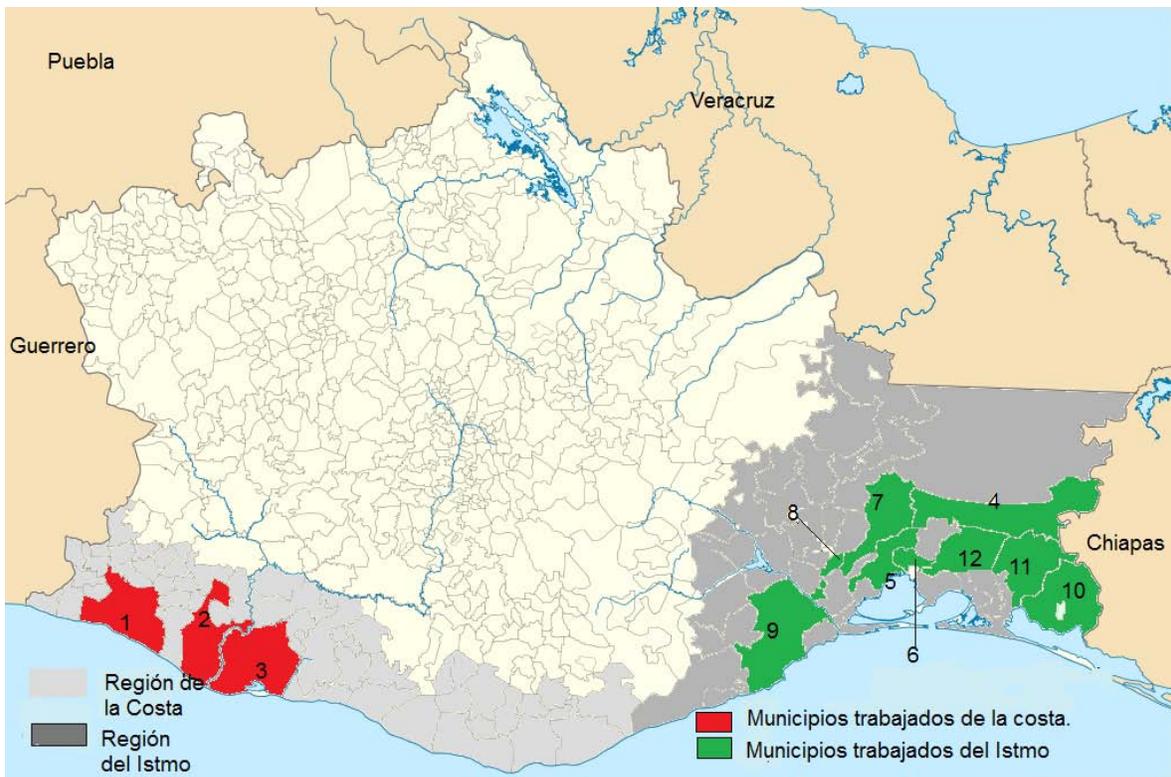
**Figura 3:** Mapa de las ocho regiones geográficas del estado de Oaxaca, México.

Ambas regiones tienen un clima cálido subhúmedo con una temperatura media anual de 22°C, las lluvias se presentan en verano con precipitaciones medias de 1550 mm anuales (INEGI, 2015). La superficie de los tres municipios de la Costa en los que se trabajó es de 2591.19 km<sup>2</sup>, mientras que la superficie de los nueve municipios del Istmo de Oaxaca en los que se trabajó es de 6069.16 km<sup>2</sup> (Municipios de México, 2000).

En la región de la Costa se trabajó en 22 localidades de tres municipios (Santiago Jamiltepec, Santiago Pinotepa Nacional y Villa de Tututepec de Melchor Ocampo) de los 50 que conforman esta región (CIEDD, 2011), los criterios de inclusión para los municipios fueron aquellos municipios aledaños a Villa de Tututepec. La

segunda región donde se trabajó fue la del Istmo, donde se hizo el muestreo en 35 localidades de nueve municipios (San Miguel Chimalapa, Juchitán de Zaragoza, Unión Hidalgo, Asunción Ixtaltepec, San Pedro Comitancillo, Santo Domingo Tehuantepec, San Pedro Tapanatepec, Santo Domingo Zanatepec y Santiago Niltepec) de los 41 que comprenden la región (CIEDD, 2011), el criterio de inclusión por municipio fue que estuvieran cerca de Juchitán de Zaragoza (Figura 4).

En estas regiones hay ganado cebú, criollo o cruza de animales de origen europeo y cebú, puesto que son animales que resisten las condiciones climáticas y algunas enfermedades que están presentes en las zonas del sureste de México. El principal sistema de producción que se lleva a cabo en esta región es de doble propósito, que consiste en que el ganado produce leche para venta o autoconsumo y novillos que son vendidos para el abasto. En este tipo de sistemas de producción los animales se alimentan casi exclusivamente de los pastos nativos que crecen en la región, la inversión en instalaciones es poca, las vacas se dejan con el toro todo el tiempo, lo que hace que el empadre no tenga una estacionalidad tan marcada y haya terneros todo el año. Una cualidad más de este sistema es que la ordeña de las vacas se lleva a cabo con el becerro al pie (Rojo *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2002).



1-Santiago Pinotepa Nacional	4- San Miguel Chimalapa	7- Asunción Ixtaltepec	10-San Pedro Tapanatepec
2-Santiago Jamiltepec	5-Juchitán de Zaragoza	8- San Pedro Comitancillo	11-Santo Domingo Zanatepec
3-Villa de Tututepec Melchor Ocampo	6- Unión Hidalgo	9- Santo Domingo Tehuantepec	12- Santiago Niltepec

**Figura 4:** Ubicación de los doce municipios de la Costa y el Istmo en donde se realizó el muestreo.

## 4.2 Tipo de estudio

Se realizó un estudio observacional descriptivo de tipo transversal. En el cual se analizó el fenómeno, en un punto en el tiempo.

### **4.3 Muestreo**

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. Se obtuvieron 1660 muestras de suero de bovino, de 97 unidades de producción. En la región de la costa se trabajó con 40 productores y se obtuvieron 696 muestras de suero de bovinos de doble propósito, en la región del Istmo se trabajó en 57 unidades de producción y se obtuvieron 964 muestras de suero de bovinos de doble propósito (Cuadro 1).

Los criterios de inclusión para este estudio fueron: bovinos hembras o machos que se encontraron en edad reproductiva, que estuvieron en un sistema de producción de doble propósito y que no tuvieran antecedentes de vacunación contra las enfermedades en estudio, los criterios de inclusión para los municipios y localidades fueron: las localidades que se encontraran en el municipio de Villa de Tututepec o municipios aledaños en el caso de la región de la Costa y en el caso de la región del Istmo se incluyeron las localidades que estuvieran dentro del municipio de Juchitán de Zaragoza o municipios aledaños, finalmente se incluyeron los animales de los ranchos que quisieron entrar en el estudio.

**Cuadro 1: Municipios, número de hatos y número de animales muestreados en  
cada región**

<b>Municipio</b>	<b>Hatos Muestreados</b>	<b>Animales Muestreados</b>	<b>Región del estado de Oaxaca</b>
<b>Villa de Tututepec Melchor Ocampo</b>	31	568	La costa
<b>Santiago Pinotepa Nacional</b>	5	79	La costa
<b>Santiago Jamiltepec</b>	4	49	La costa
<b>Juchitán de Zaragoza</b>	21	405	Istmo
<b>San Pedro Tapanatepec</b>	14	214	Istmo
<b>Santo Domingo Zanatepec</b>	7	96	Istmo
<b>Santiago Niltepec</b>	5	72	Istmo
<b>San Pedro Comitancillo</b>	4	54	Istmo
<b>Unión Hidalgo</b>	2	40	Istmo
<b>Santo Domingo Tehuantepec</b>	2	39	Istmo
<b>Asunción Ixtaltepec</b>	1	24	Istmo
<b>San Miguel Chimalapa</b>	1	20	Istmo
<b>12</b>	<b>97</b>	<b>1660</b>	<b>Total</b>

#### **4.4 Toma de muestra**

Las muestras se obtuvieron mediante punción de la vena coccígea, en tubos vacutainer sin anticoagulante, se obtuvieron 5 ml de sangre, posteriormente los tubos se identificaron con el número o nombre del animal, el sexo, el nombre del rancho o unidad de producción, la localidad y el municipio de donde pertenece la muestra, así como el nombre del productor.

Las muestras de sangre fueron llevadas a las asociaciones ganaderas locales donde se centrifugaron a 4500 rpm, para obtener el suero, posteriormente fueron transportadas en una hielera con refrigerantes al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología animal (CENID-Microbiología) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado en la carretera Federal México- Toluca km 15.5 en la colonia Palo Alto. DF. Los sueros se mantuvieron en congelación a  $-20^{\circ}$  C hasta su uso para cada una de las pruebas diagnósticas.

#### **4.5 Diagnóstico de Brucelosis.**

##### **4.5.1 Prueba de Tarjeta al 8%**

Para el diagnóstico serológico de la brucelosis se usó la prueba de tarjeta al 8%, que consistió en agregar 30  $\mu$ l de suero en una placa de vidrio, posteriormente se agregaron 30  $\mu$ l de antígeno teñido con rosa de bengala al 8% junto a la gota del suero, inmediatamente después de poner la gota del antígeno se mezclaron cuidadosamente hasta formar una zona circular de 2 cm de diámetro

aproximadamente, la mezcla se agitó por un tiempo y se comprobó la reacción de aglutinación en los primeros cuatro minutos, cualquier reacción de aglutinación se consideró positiva.

#### **4.5.2 Prueba de Rivanol**

La prueba de rivanol es de tipo cualitativa y cuantitativa; se confrontan el suero problema que fue positivo en la prueba de tarjeta al 8% con un colorante de acridina, que precipita las inmunoglobulinas IgM, quedando en suspensión las IgG (Neta *et al.*, 2010). Posteriormente se agregaron gotas de 5, 10, 20, 40 y 80  $\mu$ l del sobrenadante en una placa de vidrio, a continuación se agregó una gota de 30  $\mu$ l de antígeno a un lado de la gota del sobrenadante, se mezcló hasta formar una zona oval o circular de aproximadamente 2 cm de diámetro y en un plazo de menos de 4 minutos se hace la lectura, pudiendo haber o no una reacción de aglutinación, en caso de no haberla la muestra se consideró negativa, en caso de que hubiera una reacción de aglutinación, esta pudo haber sido desde 1:25 hasta 1:400. Las muestras de 1:50 y 1:25 se consideraron sospechosas, mientras que aquellas muestras en las que el título de anticuerpos es 1:100 o superior se consideraron positivas (OIE, 2009).

#### **4.5.3 Inmunodifusión radial**

Esta prueba consistió en poner 20  $\mu$ l del suero problema en un pozo que está en un gel con el antígeno (hapteno nativo) obtenido a partir de la cepa *B. melitensis* 16 M (Miranda *et al.*, 2006). Los sueros deben difundir hacia el gel, en los sueros

positivos los anticuerpos den una reacción de precipitación que se observó como un anillo alrededor del pozo donde se depositó el suero, mientras que en los sueros negativos no se observan cambios alrededor del pozo.

## ***4.6 Diagnóstico serológico de leptospirosis.***

### ***4.6.1 Prueba de aglutinación microscópica***

Para el diagnóstico de leptospirosis bovina se usó la prueba MAT con una batería de seis serovariedades: tres de referencia que fueron: Wolffi, Hardjo y Tarassovi y tres aislamientos nacionales que fueron: Hardjo, Icterohaemorrhagiae y Canicola (Anexo 1), las cepas fueron mantenidas en medio Cox y posteriormente se realizaron resiembras (Anexo 2). En esta prueba se diluyó el suero en una solución amortiguadora de pH, a continuación se agregó una cantidad igual de antígeno (cualquiera de las 6 serovariedades) a cada pozo, se dejó incubar la placa a temperatura ambiente durante una a dos horas en una cámara húmeda, en seguida se examinó mediante microscopía de campo oscuro la reacción de aglutinación y se determinó el porcentaje de aglutinaciones, aquellas muestras en las que fueron igual o superiores al 50% se llevaron a una segunda dilución. De igual forma las muestras se dejaron incubar una hora a temperatura ambiente en una cámara húmeda, con la cepa en la cual hubo reacción de aglutinación, pasado este tiempo las muestras se examinaron mediante microscopía de campo oscuro, donde se obtuvieron títulos de 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 y 1:1600. Se consideraron como positivas aquellas que en una dilución 1:100 o superior, tuvieran un 50% o más de aglutinación, mientras que las muestras donde hubo un título de 1:50 se consideraron sospechosas (OIE, 2004).

#### **4.7 Diagnóstico serológico de Diarrea Viral Bovina (Prueba de ELISA)**

Para el diagnóstico de DVB se usó una prueba comercial: CIVTEST® BOVIS BVD/BD P80 de Laboratorios Hipra, S.A., siguiendo las instrucciones del fabricante. Es un ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) de bloqueo que detecta anticuerpos frente a una proteína específica (p80) presente en todas las cepas del vDBV.

- Se agregaron 90 µl de diluyente en cada pozo, más 10 µl de cada muestra de suero en cada pozo.
- En los últimos cuatro pozos se agregaron los controles positivos y negativos, 10 µl en cada pozo, con diluyente también.
- Se dejó incubar durante una hora a 36-38° C.
- Se realizaron cuatro lavados para retirar el exceso de anticuerpos no unidos.
- En seguida se agregaron 100 µl de solución de conjugado a cada pozo.
- Se dejó incubar durante una hora a 36-38° C.
- Se realizaron cuatro lavados para retirar el exceso de conjugado no unido.
- Se agregaron 100 µl de revelador (solución de sustrato) a cada pozo.
- Se dejó incubar 10-15 min a temperatura ambiente en oscuridad total.
- Se agregaron 100 µl de solución de paro y a continuación las placas se llevaron al lector.

Las placas se leyeron con un lector de ELISA, con una longitud de onda de 450 nm. Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición de acuerdo a la siguiente formula  $\%IN = \left[ \frac{\text{media Densidad optica (DO) de Control Negativo} - \text{DO muestra}}{\text{Media DO de control negativo}} \right] * 100$ .

Un porcentaje de inhibición menor a 50% es seronegativo

Un porcentaje de inhibición igual o superior a 50% es seropositivo.

#### **4.8 Diagnóstico serológico de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (Prueba de ELISA)**

Para el diagnóstico de IBR se usó una prueba comercial: CIVTEST® BOVIS IBR de Laboratorios Hipra, S.A., siguiendo las instrucciones del fabricante. La prueba se basa en un ELISA indirecto, que detecta anticuerpos específicos contra el virus de la IBR.

- Primero se agregaron 49.5 µl de diluyente en cada pozo, más 0.5 µl de muestra de suero en cada pozo.
- En los últimos cuatro pozos se agregaron los controles positivos y negativos, 50 µl en cada pocillo sin diluyente.
- Se dejó incubar durante una hora a 36-38° C.
- Se realizaron cuatro lavados para retirar el exceso de anticuerpos no unidos.
- Se agregaron 50 µl de solución de conjugado a cada pozo.
- Se dejó incubar durante una hora a 36-38° C.

- Se realizaron cuatro lavados para retirar el exceso de conjugado no unido.
- Se agregaron 50 µl de revelador (solución de sustrato) a cada pozo.
- Se dejó incubar 10-15 min a temperatura ambiente en obscuridad total.
- Se agregaron 50 µl de solución de paro y a continuación las placas se llevan al lector.

Las placas se leyeron con un lector de ELISA, con una longitud de onda de 450 nm. Los resultados se expresan en índice relativo x 100 de acuerdo a la siguiente formula

$$IRPC = \left[ \frac{DO_{muestra} - Media\ DO\ Control\ Negativo}{Media\ DO\ Control\ Positivo - Media\ DO\ Control\ Negativo} \right] * 100$$

Un Índice relativo por cien (IRPC) menor o igual a 9 es un resultado negativo.

Un IRPC mayor de 9.0 e inferior a 15.0 es un resultado sospechoso.

Un IRPC mayor a 15 es un resultado positivo.

#### **4.9 Cuestionario por hato**

En cada hato se levantó información a través de un cuestionario (Anexo 3) a los productores, principalmente para conocer las condiciones en las que se llevan a cabo la crianza de los bovinos así como, para conocer si han tenido abortos en sus rebaños, algunas prácticas de medicina preventiva que lleven a cabo y cuáles son las enfermedades que más los aquejan.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 Resultados de brucelosis**

El 5.2% (5/97) de los hatos en los que se trabajo tuvo al menos un animal positivo a la prueba de tarjeta al 8%, mientras que a la prueba de Rivanol, solo 4.1% (4/97) de los hatos fueron positivos y ninguno de ellos fue positivo a la prueba de IDR. De los hatos positivos a tarjeta al 8% y Rivanol, 3.1% (3/97) se localizan en la región de la Costa y 2.1% (2/97) en la región Istmo.

Es decir que en la región de la costa el 7.5% (3/40) de los hatos trabajados fueron positivos para las pruebas de tarjeta al 8% y rivanol, mientras que solo 1.8% (1/57) de los hatos en la región del Istmo fue positivo a estas dos pruebas y hubo una unidad de producción en la cual un animal resulto positivo a la prueba de tarjeta y negativo a rivanol.

A nivel individual 0.3% (5/1660) de los animales fueron positivos a la prueba de tarjeta al 8%, el 0.2% (4/1660) a la prueba de Rivanol y el 0% a IDR.

En la región de la Costa 0.4% (3/696) de los animales muestreados resultaron positivos tanto a la prueba de tarjeta al 8% y Rivanol, pero fueron negativos a IDR, mientras que 0.1% (1/956) de los animales muestreados en la región del Istmo fueron positivos a las pruebas de tarjeta al 8% y Rivanol, así mismo 0.1% (1/956) de los animales fueron positivos a la prueba de tarjeta al 8% y negativos a la prueba de Rivanol. Ambos resultados fueron negativos a la prueba de IDR (Cuadro 3).

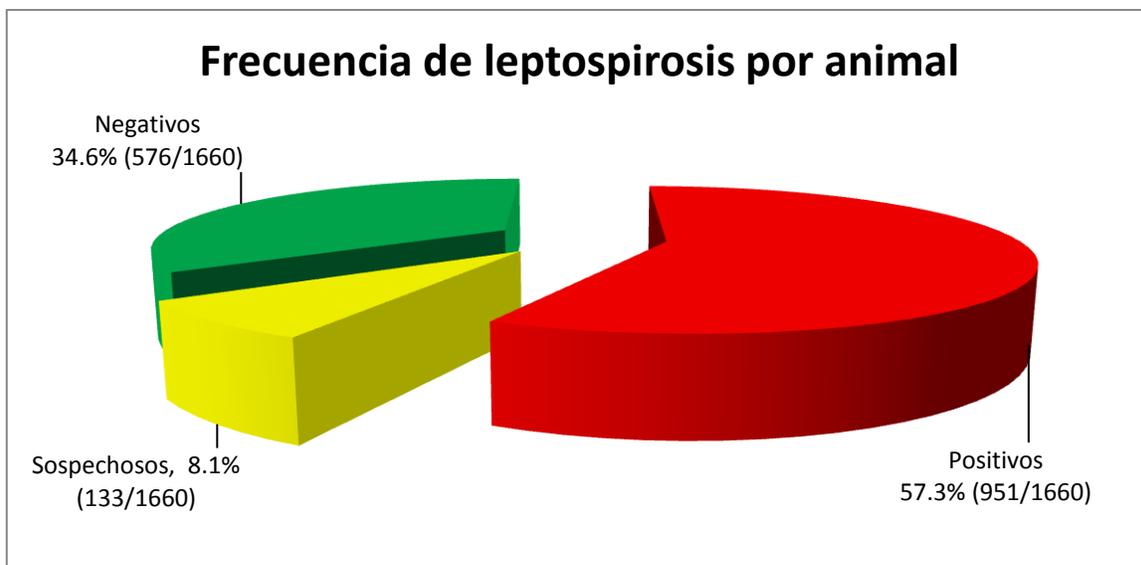
**Frecuencia de animales seropositivos a las pruebas diagnósticas de Tarjeta al 8% y Rivanol en las regiones de la Costa y el Istmo en Oaxaca**

	% Animales seropositivos a la prueba de tarjeta al 8%	% Animales seropositivos a la prueba de Rivanol
<b>Costa</b>	0.4% (3/696)	0.4% (3/696)
<b>Istmo</b>	0.2% (2/964)	0.1% (1/964)
<b>Total</b>	<b>0.3% (5/1660)</b>	<b>0.2% (4/1660)</b>

**5.2 Resultados de leptospirosis bovina**

En este estudio, el 100%(97/97) de los hatos muestreados tuvieron al menos un bovino positivo para una de las 6 serovariedades con las que se trabajó.

El 57.3% (951/1660) de las muestras obtenidas resultaron positivas a por lo menos una serovariedad de *Leptospira* y 8.1% (133/1660) de las muestras fueron sospechosas (Figura 5).



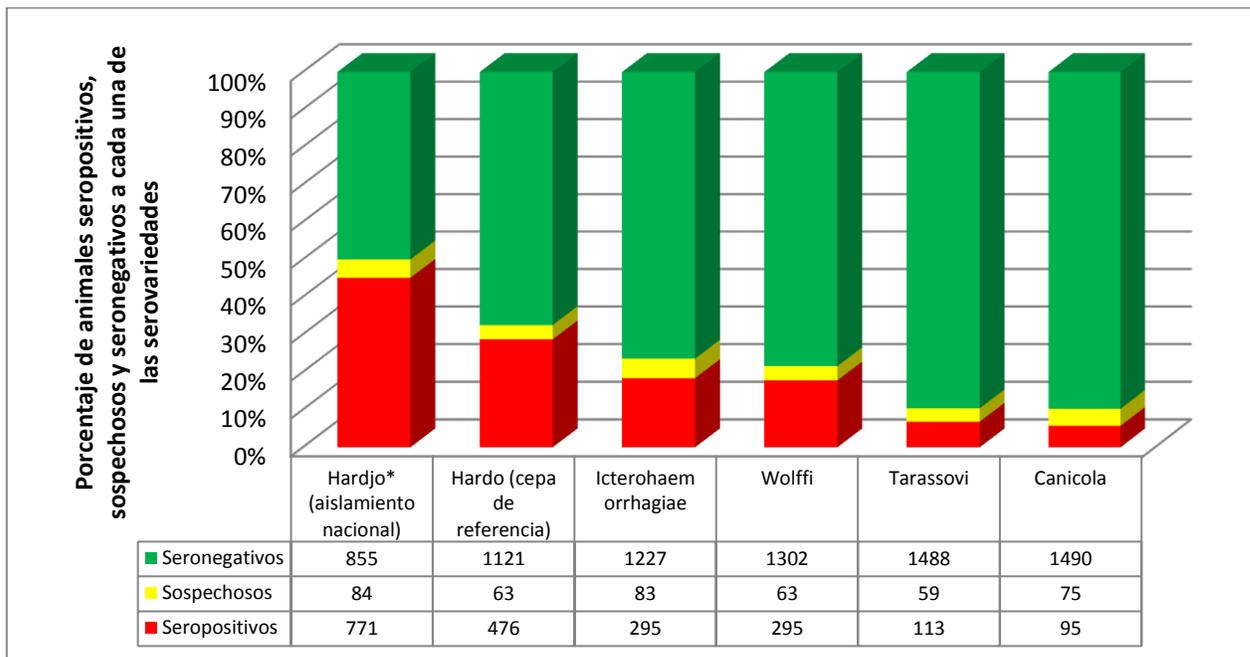
**Figura 5:** Porcentaje y número de muestras seropositivas, sospechosas y seronegativas a la prueba de MAT para leptospirosis, en los animales muestreados de la región del Istmo y la Costa.

En la zona de la Costa 46.4% (323/696) de los animales muestreados, resultaron positivos a alguna serovariedad de *Leptospira* y 9.2% (64/696) fueron sospechosos. Mientras que en la región del Istmo 65.1% (628/964) de los animales fueron positivos a por lo menos una serovariedad y 7.2% (69/964) fueron sospechosos (Cuadro 4).

Las serovariedades que tuvieron mayor frecuencia fueron: Hardjo (cepa de aislamiento nacional) con 46.4% (771/1660) de animales seropositivos, en segundo lugar estuvo Hardjo (cepa de referencia) con 28.7% (476/1660) de animales seropositivos, en seguida estuvo *Icterohaemorrhagiae* (Cepa de aislamiento nacional) con 21.1% (350/1660), después Canicola (cepa de aislamiento nacional) con 17.8% (295/1660) de muestras seropositivas. Las dos serovariedades que tuvieron menor frecuencia fueron Tarassovi con 6.8% (113/1660) muestras seropositivas y Wolffi con 5.7% (95/1660) (Figura 6).

**Cuadro 4: Frecuencia de leptospirosis en las regiones de la Costa y el Istmo en el estado de Oaxaca**

	Región de la Costa		Región del Istmo	
	Número de animales	Porcentaje	Número de animales	Porcentaje
<b>Seropositivos</b>	323	46.4%	628	65.1%
<b>Sospechosos</b>	64	9.2%	69	7.2%
<b>Seronegativos</b>	309	44.4%	267	27.7%
<b>Totales</b>	<b>696</b>	<b>100%</b>	<b>964</b>	<b>100%</b>

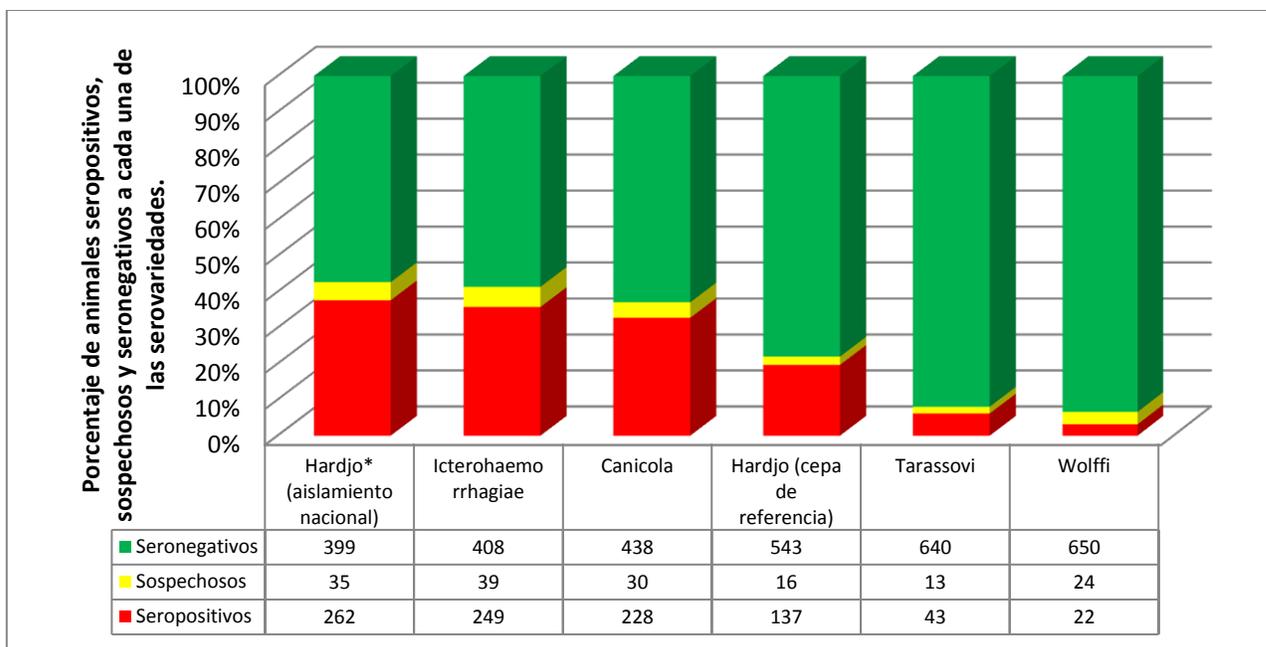


**Figura 6:** Serovariedades más frecuentes contra las que fueron seropositivos los bovinos de las regiones de La Costa y El Istmo

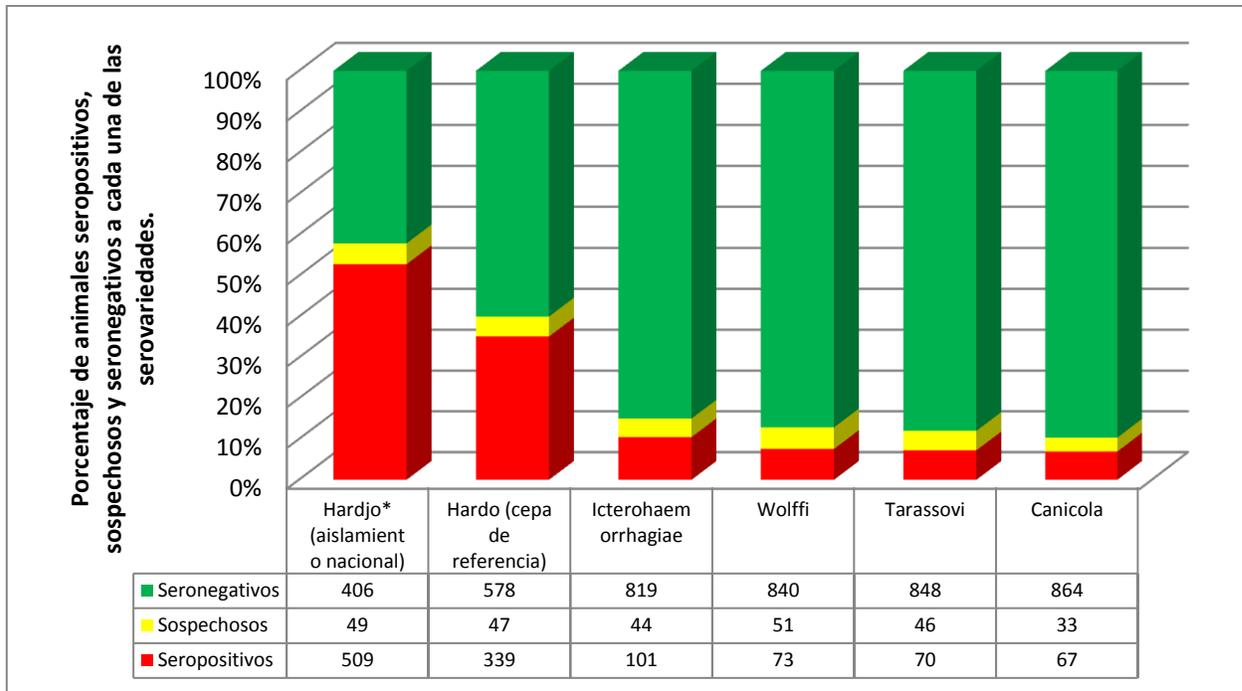
En la región de la Costa las serovariedades con mayor frecuencia fueron: Hardjo

(cepa de aislamiento nacional) 37.6% (262/696), en seguida Icterohaemorrhagiae (cepa de aislamiento nacional) con una frecuencia de 35.8% (249/696), en tercer lugar Canicola (cepa de aislamiento nacional) con una frecuencia de 32.8% (228/696), las serovariedades con menor frecuencia fueron Hardjo (Cepa de referencia) 19.7% (137/696), Tarassovi 6.2% (43/696) y Wolffi con 3.2% (22/696) (Figura 7).

En la zona del Istmo las serovariedades con mayor frecuencia fueron: Hardjo (cepa de aislamiento nacional) 52.8% (509/964), Hardjo (cepa de referencia) 35.2% (339/964), en tercer lugar la serovariedad Icterohaemorrhagiae 10.5% (101/964), las serovariedades con menor frecuencia fueron Wolffi con 7.6% (73/964), Tarassovi 7.3% (70/964) y Canicola (cepa de aislamiento nacional) 7% (67/964) (Figura 8).



**Figura 7:** Frecuencia de animales seropositivos a cada serovariedad en la región de la Costa, Oaxaca.



**Figura 8:** Frecuencia de animales seropositivos a cada serovariedad en la región del Istmo, Oaxaca.

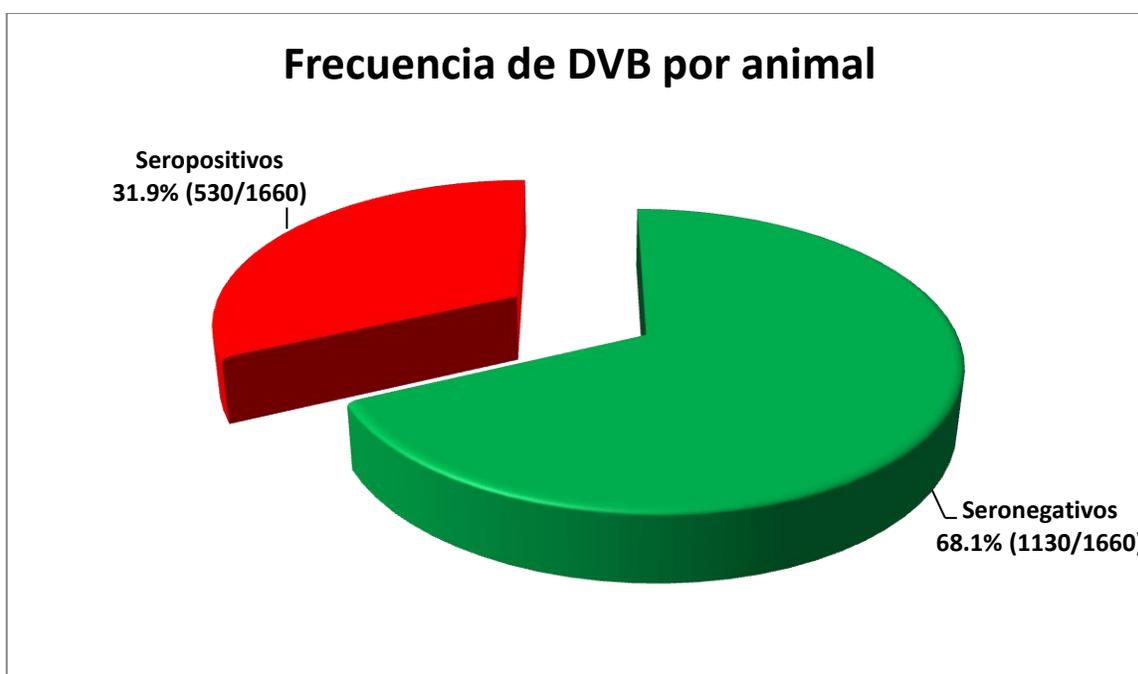
### **5.3 Resultados de Diarrea Viral Bovina**

En este estudio en el 77.3% (75/97) de las unidades de producción se detectó por lo menos un animal que resulto seropositivo para el vDVB. De los 40 hatos trabajados en la zona de la Costa 92.5% (37/40) fueron positivos a DVB, mientras que en la región del Istmo 66.7% (38/57) de los hatos fueron positivos a DVB (Cuadro 5).

Por otro lado, de las 1660 muestras obtenidas, 530 (31.9%) fueron positivas a DVB (Figura 9).

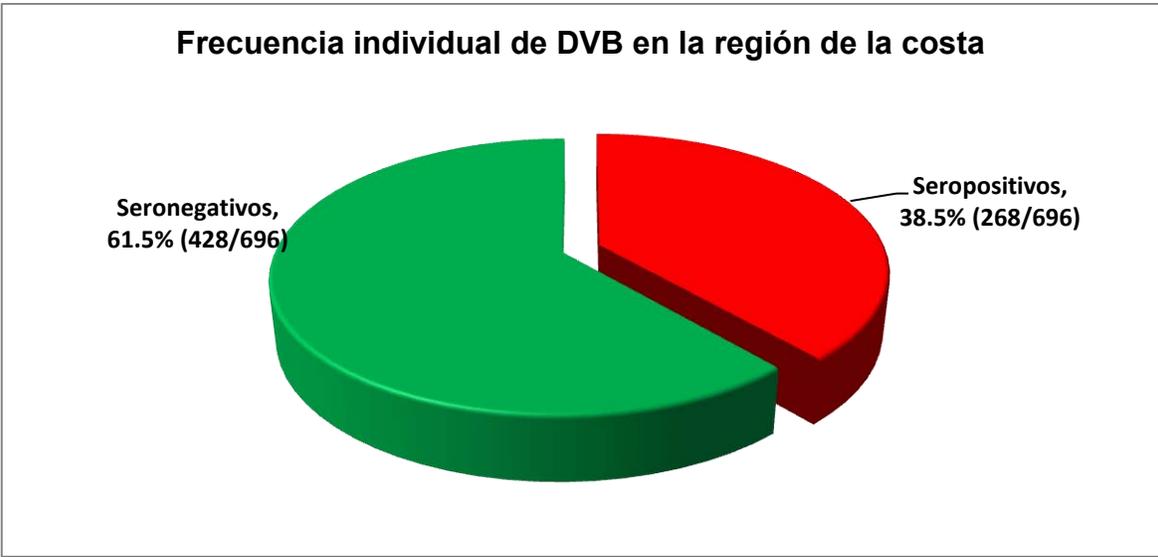
**Cuadro 5 : Frecuencia de hatos seropositivos y seronegativos a DVB en la región de la Costa y el Istmo en Oaxaca**

	Hatos positivos	Hatos negativos	Total
<b>Costa</b>	37 (92.5%)	3 (7.5%)	40
<b>Istmo</b>	38 (66.7%)	19 (33.3%)	57
<b>Total</b>	<b>75</b>	<b>22</b>	<b>97</b>

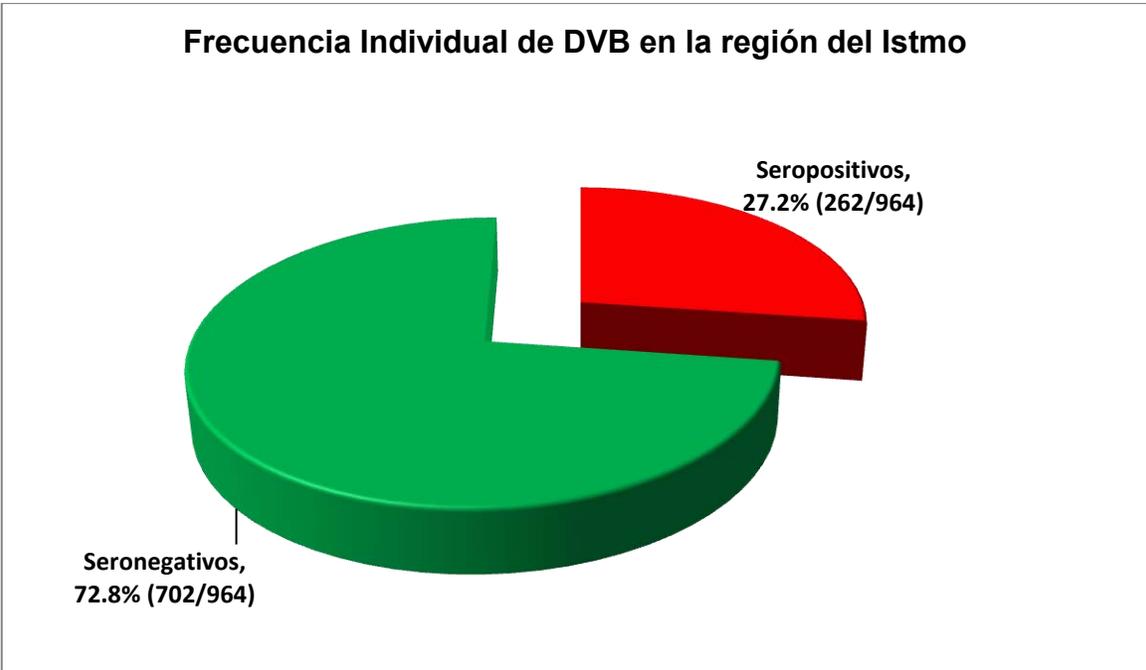


**Figura 9:** Frecuencia expresada en porcentaje de animales positivos y negativos a DVB mediante la prueba de ELISA en las regiones de la Costa y el Istmo en Oaxaca.

Los resultados por animal en cada región fueron: 38.5% (268/696) para la Costa (Figura 10) y 27.2% (262/964) en la del Istmo (Figura 11).



**Figura 10:** Frecuencia individual expresada en porcentaje de DVB en la región de la Costa en el estado de Oaxaca



**Figura 11:** Frecuencia individual expresada en porcentaje de DVB en la región del Istmo en el estado de Oaxaca

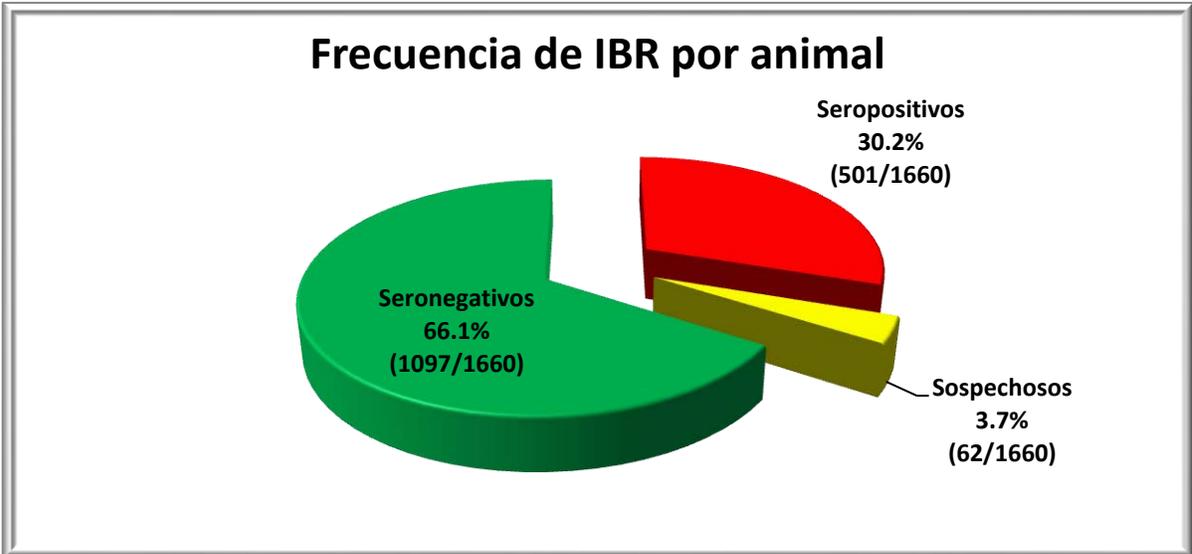
#### **5.4 Resultados de Rinotraqueítis infecciosas Bovina**

Se detectaron 94.9% (92/97) de los hatos trabajados con por lo menos un animal seropositivo al HVB-1 en estas dos regiones. En la región de la Costa 95% (38/40) de las unidades de producción fueron positivas a IBR, mientras que en la zona del Istmo 94.7% (54/57) de los hatos fueron positivos a la enfermedad (Cuadro 6). De las 1660 muestras totales, 501 (30.18%) fueron seropositivas al HVB-1 (Figura 12).

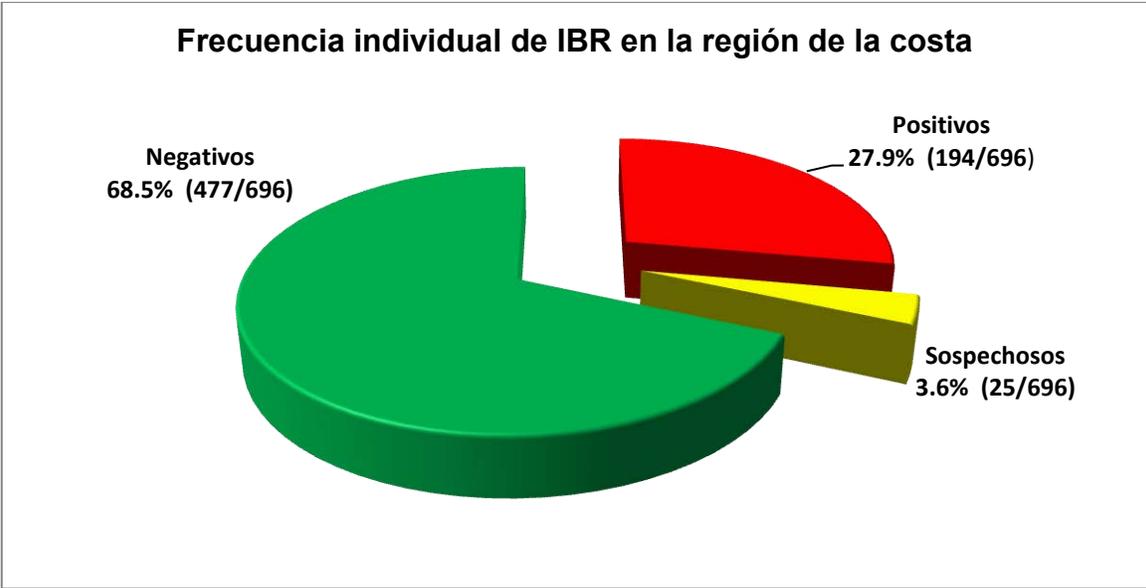
**Cuadro 6: Frecuencia de hatos seropositivos y seronegativos a IBR en las regiones de la Costa y el Istmo en Oaxaca**

	<b>Hatos positivos</b>	<b>Hatos negativos</b>	<b>Total</b>
<b>Costa</b>	38 (95%)	2 (5%)	40
<b>Istmo</b>	54 (94.7%)	3 (5.3%)	57
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>5</b>	<b>97</b>

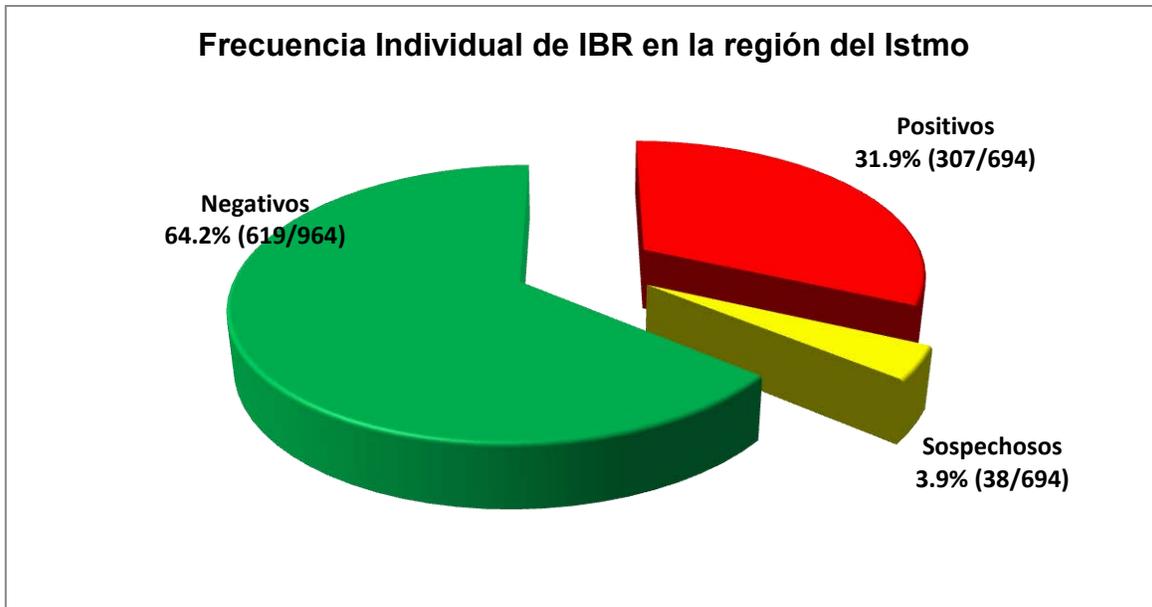
La frecuencia individual para IBR en estas zonas fue: 27.9% (194/696) en la región de la Costa (Figura 13) y 31.9% (307/964) en la región del Istmo (Figura 14).



**Figura 12:** Frecuencia expresada en porcentaje de animales seropositivos, sospechosos y seronegativos a la prueba de ELISA para IBR.



**Figuras 13:** Frecuencia individual expresada en porcentaje de IBR en las región de la Costa en el estado de Oaxaca.



**Figuras 14:** Frecuencia individual expresada en porcentaje de IBR en las región del Istmo en el estado de Oaxaca.

### ***5.5 Resultados del cuestionario (actividades que pueden estar relacionadas con las enfermedades en estudio).***

Los siguientes cuadros muestran información acerca de la conformación de los hatos trabajados, la presencia de abortos, la procedencia de los animales que ingresan al hato, las vacunas que aplican a sus animales, las enfermedades que ellos consideran que son las que más los aquejan y los animales que conviven con los bovinos dentro del hato. Todo esto con el objetivo de ver en qué tipo de producciones se trabajó.

**Cuadro 7: Número de vacas que tienen en ordeña los diferentes productores**

<b>Número de vacas</b>	<b>Número de productores</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>0-10</b>	40	41.2%
<b>11-20</b>	34	35%
<b>21-30</b>	9	9.3%
<b>31-40</b>	8	8.2%
<b>Superior a 40</b>	6	6.2%
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>100%</b>

**Cuadro 8: Número de vacas cargadas en las unidades de producción**

<b>Número de vacas</b>	<b>Número de hatos</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>0</b>	5	5.2%
<b>1-10</b>	35	36.1%
<b>11-20</b>	34	35%
<b>21-30</b>	9	9.3%
<b>35-40</b>	8	8.2%
<b>Superior a 40</b>	6	6.2%
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>100%</b>

**Cuadro 9: Número de vacas vacías en los hatos trabajados de las regiones de la Costa y el Istmo en Oaxaca**

<b>Número de vacas</b>	<b>Número de hatos</b>	<b>Porcentajes</b>
<b>0</b>	3	3.1%
<b>1-10</b>	33	34%
<b>11-20</b>	32	33%
<b>21-30</b>	13	13.4%
<b>31-40</b>	5	5.2%
<b>Superior a 40</b>	11	11.3%
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>100%</b>

**Cuadro 10: Presencia de abortos en el hato trabajados en los últimos tres años**

	<b>Número de hatos</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Si ha habido Abortos</b>	45	46.4%
<b>No ha habido abortos</b>	52	53.6%
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>100%</b>

**Cuadro 11: Porcentaje de productores que ingresa bovinos de reemplazo de otra unidad de producción a su hato**

	<b>Número de productores</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Si</b>	73	75.3%
<b>No</b>	24	24.7%
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>100%</b>

**Cuadro 12: Procedencia de los bovinos de reemplazo que ingresan a las unidades de producción**

<b>No ingresa</b>	24	24.7%
<b>De otro estado</b>	24	24.7%
<b>De la misma comunidad</b>	18	18.6%
<b>De el mismo municipio</b>	14	14.4%
<b>De diferentes lugares</b>	10	10.3%
<b>De otros municipios</b>	7	7.3%
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>100%</b>

**Cuadro 13: Aún tiene vacas que hayan presentado abortos**

<b>Si</b>	47	48.5%
<b>No</b>	47	48.5%
<b>No sabe</b>	3	3%
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>100%</b>

**Cuadro 14: Porcentaje del número de parto en el cual las vacas presentaron aborto**

<b>Primer parto</b>	10	10.3%
<b>Segundo parto</b>	11	11.3%
<b>Tercer parto</b>	11	11.3%
<b>Cuarto parto</b>	11	11.3%
<b>Primero, segundo y tercer parto</b>	1	1%
<b>Primer y tercer parto</b>	1	1%
<b>Segundo y tercer parto</b>	2	2.1%
<b>No abortan</b>	47	48.5%
<b>No saben</b>	3	3.2%

**Cuadro 15: Porcentaje y tipo de inmunogénos que son aplicados a los bovinos en los diferentes hatos**

<b>Enfermedad que previenen</b>	<b>Número de Productores que lo aplican</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Brucelosis</b>	27	27.8%
<b>Rabia</b>	59	60.8%
<b>Clostridiasis</b>	91	93.8%
<b>Complejo Neumónico</b>	84	86.6%
<b>Histofilosis</b>	16	16.5%

**Cuadro 16: Porcentaje del manejo que se le da a la placenta cuando una vaca ha abortado o parido**

	<b>Número de productores</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>La deja tirada</b>	74	76.3%
<b>Se la dan a los perros</b>	9	9.3%
<b>La quema</b>	0	0%
<b>La entierra</b>	14	14.4%

**Cuadro 17: Padecimientos más frecuentes que afectan a los bovinos en los hatos muestreados**

<b>Mastitis</b>	41	42.3%
<b>Neumonías</b>	23	23.7%
<b>Anaplasmosis</b>	16	16.5%
<b>Gabarro o problemas de patas</b>	10	10.3%
<b>“Mal de cacho”(complicación bacteriana en los cuernos)</b>	10	10.3%
<b>Diarreas</b>	8	8.3%
<b>Clostridiasis</b>	7	7.2%
<b>Babesiosis</b>	5	5.2%
<b>Rabia</b>	5	5.2%
<b>Garrapatas</b>	4	4.1%
<b>Retención placentaria</b>	3	3.1%
<b>Aborto</b>	3	3.1%
<b>Hipocalcemia</b>	2	2.1%
<b>Histofilosis</b>	2	2.1%
<b>Parasitosis</b>	2	2.1%
<b>Papilomatosis</b>	2	2.1%
<b>Cáncer de ojo</b>	1	1%
<b>Fasciolasis</b>	1	1%
<b>Mosca del cuerno</b>	1	1%
<b>Pústulas vulvares</b>	1	1%
<b>Timpanismo</b>	1	1%
<b>Tuberculosis</b>	1	1%

**Cuadro 18: Especies domesticas que conviven con los bovinos dentro de los hatos trabajados**

<b>Especie</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Caballos</b>	60/97	61.9%
<b>Perros</b>	43/97	44.3%
<b>Aves</b>	25/97	25.8%
<b>Borregos</b>	16/97	16.5%
<b>Gatos</b>	10/97	10.3%
<b>Cerdos</b>	8/97	8.3%
<b>Cabras</b>	3/97	3.1%
<b>Burros</b>	3/97	3.1%
<b>No conviven con otra especie</b>	19/97	19.6%

## **6 DISCUSIÓN**

Se han realizado numerosos trabajos sobre estas enfermedades a lo largo del país, los resultados obtenidos en cada estudio varían de acuerdo a la región, el tipo de producción, la edad de los animales, entre otros. Aunque, tres de estas enfermedades (leptospirosis, DVB e IBR) no se diagnostican comúnmente en los hatos bovinos, por no ser enfermedades que se encuentren en campaña, por lo cual no se sabe a ciencia cierta la distribución de cada una de ellas, aunque como se ha mencionado ha evidencia de que se encuentran presentes en todo el territorio nacional.

En este trabajo se confirma la presencia de anticuerpos contra *Brucella spp.* en bovinos de doble propósito de las zonas de la Costa y el Istmo en el estado de Oaxaca. La frecuencia a nivel individual fue de 0.2% (4/1660) de animales seropositivos a las pruebas de tarjeta al 8% y Rivanol, lo que indica que hay una baja distribución de esta enfermedad. A pesar de que la frecuencia de brucelosis es muy baja, la enfermedad sigue presente y es necesario continuar con la campaña para erradicarla de las producciones de tipo extensivo, ya que el control y erradicación de la enfermedad es más práctica cuando el porcentaje de infección es baja (Bandara and Mahipala 2002). Cabe mencionar que al ser una enfermedad que se encuentra en campaña, es bien conocida por parte de los productores, muchos de ellos saben las limitaciones y consecuencias que podrían haber en sus hatos si hay animales positivos o se ingresan animales con la enfermedad, por lo que deciden eliminarlos y piden certificado de animal libre de la enfermedad. La diseminación de la enfermedad es menor en producciones de tipo extensivo, ya que no hay un estrecho contacto entre los animales, los hatos suelen tener pequeñas poblaciones que limitan la diseminación de la enfermedad. El resultado en este estudio es similar a la frecuencia que reporta el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), el cual es de 0.09% para la brucelosis bovina en el estado de Oaxaca. Ramos y colaboradores (2014) encontraron una frecuencia del 0% en bovinos de doble propósito en el municipio de San Juan Cotzocón en el estado de Oaxaca. En otros estados del sur del país también se han realizado estudios sobre la presencia de anticuerpos en contra de esta enfermedad, Aguilar (2010) encontró una seroprevalencia del 0.19% de brucelosis en bovinos de la zona sur del estado de

Veracruz. Barajas (1989) encontró una seroprevalencia del 0% en ganado Holstein-Cebú en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical (CEIEGT) de la FMVZ-UNAM en el municipio de Tlapacoyan, Veracruz. Todos estos resultados son similares al que se encontraron en este estudio, esto puede deberse a que los animales presentan condiciones similares en cuanto al medio ambiente y el sistema de producción en el que se desarrollan.

Por el contrario, la prevalencia y frecuencia que reportan algunos autores en hatos lecheros ubicado en zonas endémicas de esta enfermedad son mucho más altas, pues las condiciones de hacinamiento, la falta de áreas exclusivas para que las vacas paran, entre otras condiciones favorece la transmisión de la bacteria (Calistri *et al.*, 2013). Serrano y colaboradores (2007) encontraron una frecuencia individual de 9.9% y 14.5% de hatos lecheros infectados en el Valle del Valsequillo en el estado de Puebla. Escamilla y colaboradores (2003) encontraron una frecuencia de 24% para brucelosis en un establo lechero del estado de Querétaro. Se puede observar que la frecuencia en hatos lecheros es mucho más alta, esto se debe al contacto estrecho en el que se encuentran los animales, ya que la principal fuente de infección se da por el contacto con los desechos del parto o el aborto (Neta *et al.*, 2009; Olsen and Tatum 2010; Poester *et al.*, 2013).

Por otro lado, los resultados de este estudio demuestran las altas tasas de bovinos seropositivos a leptospirosis en la región de la Costa y El Istmo en el estado de Oaxaca. Se encontraron anticuerpos aglutinantes en más de la mitad de la población muestreada, no es posible determinar si la presencia de anticuerpos está relacionada con una infección crónica o entró recientemente a la población de

bovinos muestreados, lo que sí se puede concluir es que los animales están expuestos a la bacteria, pues en ninguno de los hatos incluidos en el estudio se aplican bacterinas contra la leptospirosis, que puedan estar provocando la presencia de anticuerpos en el suero de los animales. La enfermedad se caracteriza por tener mayor frecuencia en zonas tropicales y subtropicales, como las que se incluyen en este estudio, esto debido a que la humedad favorece la supervivencia de la bacteria fuera de sus hospederos, dando tiempo a que otros animales susceptibles adquieran la infección (Andicoberry *et al.*, 2001). Además en los hatos bovinos de estas regiones se hacen varias prácticas que pueden aumentar la frecuencia de la enfermedad, como la presencia de otros animales domésticos y silvestres (roedores principalmente), la compra e introducción de bovinos así como lugares anegados donde estos pastan (Leal *et al.*, 2014).

Otros estudios realizados en el sur del país muestran resultados similares. Segura y colaboradores (2003) reportan una seroprevalencia de 62.8% en el estado de Yucatán, las serovariedades Hardjo y Tarassovi tuvieron la mayor seroprevalencia, 54.1% y 53.3% respectivamente. Martínez y colaboradores (2011) encontraron una seroprevalencia de 70.4% en bovinos del estado de Tamaulipas, siendo las serovariedades Tarassovi (53.25%), Hardjo (23.64%), Canicola (15.32%) los que mayor frecuencia tuvieron. Pavón y colaboradores (2011) obtuvieron una frecuencia del 52% en bovinos del municipio de Cuajinicuilapa, Guerrero, las serovariedades más frecuentes fueron Hardjo H89 (45.5%), Hardjo (33.1%), Wolffi (28.6%) y Tarassovi (9%).

Los resultados que se presentan en este y otros estudios concuerdan con la presencia y frecuencia de la enfermedad en regiones tropicales. Además, en la

mayoría de estudios que se realizan en bovinos es la serovariedad Hardjo la que mayor frecuencia tiene, esto debido a que los bovinos son reservorios de esta serovariedad y la transmisión entre ellos se facilita por contacto directo y no depende de factores medioambientales además, las prácticas de introducir animales al hato sin estudios previos puede favorecer la diseminación de la misma (Carmona *et al.*, 2011 Bolin, 2003, Andicoberry *et al.*, 2001).

La frecuencia de las demás serovariedades generalmente está determinada por el área geográfica en la que se crían los bovinos, las condiciones medioambientales y por los animales domésticos y silvestres con los que conviven que puedan perpetuar la presencia de estas (Lilenbaum *et al.*, 2013, Andicoberry *et al.*, 2001; Bolin, 2003), en la mayoría de los estudios las serovariedades Wolffi y Tarassovi son contra las que hay una respuesta serológica de los bovinos, sin embargo en este estudio las serovariedades Wolffi y Tarassovi fueron los menos frecuentes.

Es importante determinar las serovariedades de cada región, para administrar bacterinas que contengan aquellas a las que están expuestos los bovinos y de esta forma protegerlos contra la enfermedad, en la medida de lo posible tratar de establecer medidas de control de la infección de acuerdo a la serovariedad predominante, ya que encontrar una alta frecuencia de cierta serovariedad podría orientar hacia la fuente de infección.

En la gran mayoría de los hatos en los que se trabajó, se encontró por lo menos un animal seropositivo al VDVB esto sugiere que la enfermedad está ampliamente distribuida y varias prácticas que se realizan en las producciones de doble propósito aumentan los riesgos de diseminar la enfermedad, por ejemplo la falta

de barreras físicas que eviten el contacto de los bovinos con los de otros hatos, la introducción de animales provenientes de zonas donde la enfermedad es endémica, no cuarentenar a los nuevos animales, la falta de conocimiento sobre la enfermedad y obviamente la falta de vacunación que ayudaría a tener una población resistente y evitar la manifestaciones clínicas de la enfermedad (Gates *et al.*, 2013). El encontrar anticuerpos sugiere que los animales están protegidos, sin embargo, el alto número de animales seropositivos es un indicador de que en el hato se encuentran animales PI que están diseminando la enfermedad, por lo que valdría la pena tratar de identificar y eliminar a estos de la población pues representan un riesgo para todos los animales que no tienen inmunidad frente al virus y son un peligro latente para la población en general. Por otro lado, en un hato seronegativo si bien es cierto que los animales no han sido expuestos a la enfermedad, no quiere decir que éstos no corran riesgo ya que la enfermedad está circulando en explotaciones aledañas (Lanyo *et al.*, 2014).

Los resultados varían de acuerdo a los que han reportado otros autores que han realizado estudios en la zona sur de México. Calderón y colaboradores (2003) encontraron un 60% de hatos positivos y una seroprevalencia individual del 14% en el estado de Yucatán. Salas y colaboradores (2009) obtuvieron una prevalencia de 60.3% en todo el estado de Veracruz, mientras que los animales de doble propósito mostraron la prevalencia más alta en este mismo estudio 62.7%. Varguez y colaboradores (2012) encontraron un 100% de hatos positivos de los 34 que estudiaron en el estado de Campeche, mientras que la prevalencia individual fue de 40.42% en este mismo estudio. Ramos y colaboradores hallaron una frecuencia del 41% en bovinos de doble propósito del municipio de San Juan

Cotzocón en el estado de Oaxaca. Los hallazgos que se obtuvieron en otras regiones del país son de la misma forma muy variados. Segura y colaboradores (2010) encontraron el 45.16% de hatos positivos en ganado lechero del estado de Michoacán. Escamilla y colaboradores (2003) encontraron una frecuencia de 70% en un hato lechero del estado de Querétaro.

Los resultados que reportan todos estos autores no muestran un patrón, pues son resultados heterogéneos tanto para animales productores de carne, como para animales especializados en la producción de leche y de doble propósito, esto puede ir de la mano con las variaciones en la frecuencia de animales PI que son los focos de infección, así como con las prácticas que se realizan en cada producción.

Otra enfermedad que tiene una distribución amplia en México es la IBR y en este estudio no es la excepción, al igual que con la DVB y la leptospirosis, varias condiciones en el medio favorecen la presentación de la enfermedad, se han identificado como factores de riesgo para esta enfermedad: la presencia de animales de edad avanzada que podrían mantener la enfermedad en estado de latencia, los machos ya que al ser una enfermedad que se puede transmitir por vía venérea y generalmente en este tipo de ganado se da la monta natural para cargar a las vacas, estos podrían diseminar el virus y finalmente la introducción de animales provenientes de hatos infectados (Boelaert *et al.*, 2005; Engels *et al.*, 1996; Studdert, 2008; Biswas *et al.*, 2013; Nandi *et al.*, 2009). Si se toma en cuenta que todas estas prácticas son llevadas a cabo en la mayoría de los hatos en los que se trabajó, no es de sorprender, que en más del 90% de ellos se encontraran animales seropositivos a la enfermedad.

Estos resultados difieren un poco con los que se reportan en otros estados de la zona sur del país. Solís y colaboradores (2003) obtuvieron una seroprevalencia del 54.4% en el estado de Yucatán. Sánchez y colaboradores (2010) encontraron una prevalencia del 62.8% en tres hatos ganaderos del estado de Chiapas. Aké y colaboradores (2008) encontraron una prevalencia de 41.68% en bovinos del estado de Campeche. Espinoza y colaboradores (2008) obtuvieron una seroprevalencia del 59.5% de bovinos positivos en el estado de Tamaulipas. Segura y colaboradores (2010) obtuvieron un 24.19% de hatos lecheros positivos en el estado de Michoacán. Escamilla y colaboradores (2003) encontraron una frecuencia de 90% en un establo lechero del estado de Querétaro.

Los resultados de éste y otro estudio son muy variados, aunque como se puede observar, la enfermedad está muy distribuida a lo largo del país, por lo que no se puede atribuir que el contacto estrecho, por ejemplo en hatos lecheros, sea el único factor que determine la alta prevalencia de la enfermedad, ya que también se reportan altas tasas de prevalencia en hatos de doble propósito donde los animales están en pastoreo.

La amplia diseminación de la leptospirosis, DVB e IBR se puede atribuir a múltiples factores, pero uno de los más importantes puede ser el desconocimiento por parte de los productores y los médicos veterinarios de campo que ignoran la manera en la que estas enfermedades entran a las unidades de producción y que medidas de control se deben de tomar en caso de estar presentes, muchos productores incluso desconocen la existencia de estas enfermedades y atribuyen todos los problemas al menos de carácter reproductivo a la brucelosis. Además la frecuencia elevada de la leptospirosis, la DVB y la IBR puede deberse a que en

muchos de los hatos en los que se trabajó aún hay animales que presentan abortos lo cual podría estar asociado a estas enfermedades. Cabe destacar que la mayoría de los productores cree que el aborto es el único problema reproductivo que se presenta en los bovinos y les parece normal que las vacas sean repetidoras, lo que puede ser un signo de estas tres enfermedades. Aunque para poder afirmar esto, se deben realizar más estudios, un muestreo aleatorio y representativo, así como estimar los factores de riesgo y determinar en la medida de lo posible el agente implicado en los problemas reproductivos que tiene cada productor, que bien podrían tener un origen no infeccioso.

## **7 CONCLUSIONES**

La brucelosis tiene una frecuencia por debajo del 1% en los animales muestreados en este estudio, por lo que es suma importancia eliminar estos animales antes de que puedan diseminar la enfermedad y perpetuarla dentro de los hatos en los cuales se encontraron estos animales, así mismo es necesario reforzar algunas medidas para evitar la entrada de la enfermedad.

Por el contrario, la leptospirosis es una enfermedad infecciosa que tuvo una frecuencia muy elevada en los bovinos de doble propósito de la región del Istmo y la Costa. Debido a las condiciones climáticas, la presencia de otros mamíferos y el desconocimiento de los productores, la enfermedad tiene una alta distribución, por lo que la enfermedad afecta a casi todos los hatos en estas regiones y provoca grandes pérdidas económicas a la ganadería principalmente por los problemas reproductivos que causa. De modo tal, que es importante proteger a los bovinos

contra la enfermedad, usando principalmente serovariedades identificadas en cada región.

La frecuencia de animales seropositivos a DVB e IBR fue considerablemente alta y está presente en la mayoría de los hatos de las regiones de la Costa y el Istmo donde se trabajó. Algunas prácticas que se llevan a cabo en la crianza de los bovinos, principalmente la falta de bioseguridad, es un factor que favorece la propagación de estas enfermedades. Se deben implementar programas que contengan la diseminación de la DVB e IBR, sin embargo estos programas requieren grandes inversiones que muchas veces no son viables, por lo que es recomendable aplicar programas de inmunización para tener una población resistente a estos agentes infecciosos y reducir el esparcimiento de los mismos.

## 8 REFERENCIAS

1. Abimerhi DA, Gutiérrez REJ, Villalobos ZD, Holhold N, Villegas PSL. Comparación de cinco pruebas serológicas para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* y reporte preliminar del porcentaje de reactores positivos en hatos bovinos en Yucatán, México. *Rev Biomed* 1995; 6: 84-90.
2. Adler B. Pathogenesis of leptospirosis: Cellular and molecular aspects. *Veterinary Microbiology* 2014; 172: 353-358
3. Adler B, Peña MA. *Leptospira* and leptospirosis. *Veterinary Microbiology* 2010; 140: 287–296.
4. Aguilar BG. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a brucelosis (*Brucella abortus*) En ganadería bovina en la zona sur de Veracruz, México (tesis de maestría). México: Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, 2010.
5. Aké MI, Méndez OF, Encalada ML, Cruz TA, Lastra del RC. Prevalencia y factores de riesgo de IBR en hatos bovinos en el estado de Campeche. *Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2012 Agosto 2-4; Mérida, Yucatán, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2008: 291-298.*
6. Andicoberry CA, García PFJ, Ortega MLM. Epidemiología. Diagnóstico y control de la leptospirosis bovina. *Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim* 2001; 16: 205-225.
7. Babiuk AL, Hurk LSD, Tikoo KS. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection. *Veterinary Microbiology* 1996; 53: 3-42.
8. Bajani MD, Ashford DA, Bragg SL, Woods CW, Aye T, Spiegel RA, *et al.* Evaluation of four Commercially available rapid serologic test for diagnosis of leptospirosis. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41: 803-809.
9. Balakrishnan G, Roy P. Comparison of efficacy of two experimental bovine leptospira vaccines under laboratory and field. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2014; 159: 11-15.
10. Bandara AB, Mahipala MB. Incidence of brucellosis in Sri Lanka: an overview. *Veterinary Microbiology* 2002; 90: 197-207.
11. Barajas RJA. Aplicación de la técnica Inmunoenzimática de ELISA para el estudio epidemiológico de enfermedades del ganado bovino en el trópico de México. *Memorias del XXXII Congreso Nacional de Buiatría; 2008 Agosto 14-16; Boca del Río, Veracruz, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2008: 1-16.*
12. Beaudeau F, Belloc C, Seegers H, Assié S, Sellal E, Joly A. Evaluation of a blocking ELISA for the detection of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) antibodies in serum and milk. *Veterinary Microbiology* 2001; 80: 329-337.
13. Bharti RA, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA *et al.* Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 757-771.

14. Biswas S, Bandiopadhyay S, Dimri U, Patra PH. Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) - a re-emerging concern in livestock: a revisit to its biology, epidemiology, diagnosis and prophylaxis. *Veterinary Quarterly* 2013; 33 (2): 68-81.
15. Boelaert F, Speybroeck N, Kruif A, Aerts M, Burzykowski T, Molenberghs G, Berkvens DL. Risk factor for bovine Herpesvirus-1 seropositivity. *Preventive Veterinary Medicine* 2005; 69: 285-295.
16. Bolin AC. *Diagnosis and Control of Bovine Leptospirosis*. Reno 2003; 155-159.
17. Brodersen WB. Bovine Viral Diarrhea Virus Infections: Manifestation of Infectio and recent advances in understanding pathogenesis and control. *Veterinary Pathology* 2014; 51(2): 453-464.
18. Calistri P, Iannetti S, Atzeni M, Di Bella C, Schembri P, Giovannini A. Risk factors for the persistence of bovine brucellosis in Sicily from 2008 to 2010. *Preventive Veterinary Medicine* 2013; 110: 329-334.
19. Carmona GCA, León LL, Castillo SLO, Ramírez OJM, Ko A, Lua PC, de la Peña MA: Detection of *Leptospira santarosai* y *L. kirshneri* in cattle: new isolates with potential impact in bovine production and public health. *Veterinaria México* 2011; 42 (4): 277-288.
20. CIEDD., 2011. Información Básica Estadística y Geográfica. Carpeta regional Costa. *Centro de Información Estadística y Documental para el Desarrollo*.
21. CIEDD., 2011. Información Básica Estadística y Geográfica. Carpeta regional Istmo. *Centro de Información Estadística y Documental para el Desarrollo*.
22. Ellis AW. Animal Leptospirosis. *Microbiology and Immunology* 2015; 387: 99-137.
23. Encalada MLA, Torres BJ, Duarte UIE, García RMJ, Olvera YA, Detección de *Leptospira* spp. y factores de riesgo en hatos bovinos del estado de Campeche, México. *Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2012 Agosto 2-4; Mérida, Yucatán, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2008: 307-312.*
24. Engels M, Ackerman M. Pathogenesis of ruminant herpesvirus infections. *Veterinary Microbiology* 1996; 53: 3-15.
25. Espinoza BH, Zapata CC, López ZR, Loredó OJ, Carvajal V, Jasso OO. Seroprevalencia y factores asociados a la presencia de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el estado de Tamaulipas, México. *Memorias del XXXV Congreso Nacional de Buiatría; 2011 Agosto 11-13; León, Guanajuato, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2008; 51-58.*
26. Fulton WR. Host response to bovine viral diarrhea virus and interactions with infectious agents in the feedlot and breeding herd. *Biologicals* 2013; 41: 31-38.
27. Fundación Produce Oaxaca A.C. 2007. Información general sobre la ganadería en el Estado de Oaxaca.
28. Gates MC, Woolhouse MEJ, Gunn GJ, Humphry RW. Relative association of cattle movements, local spread, and biosecurity with bovine viral diarrhea

- virus (BVDV) seropositivity in beef and dairy herd. Preventive Veterinary Medicine 2013; 112: 285-295.
29. Gazyagci S, Yildirim M, Kayguzus S. Investigation on efficacy of a commercial vaccine for treatment of leptospirosis in cattle. Journal of Animals and Veterinary Advances 2010; 9 (10): 1531-1533.
  30. Givens MD, Marley MS. Immunology of chronic BVDV infections. Biologicals 2013; 41: 26-30.
  31. González ME, Hernández AL, Díaz AE. Radial immunodiffusion test with native hapten in the differentiation of cattle with repeated *Brucella abortus* S19 strain revaccination. Téc Pecu Méx 2006; 44 (2): 269-276.
  32. Herrera LE, Palomares G, Díaz AE. Milk Production increase in a Dairy Farm under a six-year Brucellosis control program. Animal Biodiversity and Emerging Diseases 2008; 1149: 296-299.
  33. Herrera LE, Suárez GF, Hernández AL, Córdova LD, Díaz AE. Epidemiological study of Brucellosis in cattle, immunized with *Brucella abortus* RB51 vaccine in endemic zones. Vaccine 2010; 28S: F59-F63.
  34. Higgins R. A minireview of the pathogenesis of acute leptospirosis. Can. Vet. J 1981; 22: 277-278.
  35. Houe H. Epidemiological features and economical importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. Veterinary Microbiology 1999; 64: 89-107.
  36. INEGI., 2015. Información por entidad. Oaxaca, clima. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
  37. Izaguirre FF, Martínez TJJ, Sánchez OL, Ramón CMA, Pérez HP, Martínez PG. Influencia del amamantamiento y presencia del Toro en el comportamiento productivo y reproductivo de vacas pardo suizo en el trópico húmedo. Revista Científica, FCV-LUZ 2007; 6: 614-620.
  38. Kim J-Y, Sung S-R, Lee K, Lee KH, Kang IS, Lee JJ, *et al.* Immunoproteomics of *Brucella abortus* RB51 as candidate antigens in serological diagnosis of brucellosis. Veterinary Immunology and Immunopathology 2014; 160: 218-224.
  39. Lanyo RS, Hill IF, Raichel PM, Brownlie J. Bovine viral diarrhoea: Pathogenesis and diagnosis. The Veterinary Journal 2014; 199: 201-209.
  40. Leal HM, Díaz AE, Pérez R, Hernández AL, Arellano RB, Alfonseca E, Suárez GF. Protection of *Brucella abortus* RB51 revaccinated cows, introduced in a herd with active Brucellosis, with presence of atypical humoral response. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases 2005; 28: 63-70.
  41. Lilenbaum W, Martins G. Leptospirosis in Cattle: A Challenging Scenario for the Understanding of the Epidemiology. Transboundary and Emerging Diseases 2014; 61: 63-68.
  42. Lindberg EAL, Alenius E. Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. Veterinary Microbiology 1999; 64: 197-222.
  43. Mahajan V, Banga HS, Deka D, Fila G, Gupta A. Comparison of diagnostic test for diagnosis infectious bovine rhinotracheitis in natural cases of bovine abortion. J. Comp. Path., 2013; 149: 391-401

44. Martínez LJE, Terán MC. Brucellosis in Mexico: current status and trends. *Veterinary Microbiology* 2002; 90: 19–30.
45. Moeller JRB, Adaska J, Reynolds J, Blanchard PC. Systemic *Bovine herpes virus* 1 infections in neonatal dairy calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2013; 25: 136-141.
46. Municipios de México., 2000. *Municipios de Oaxaca, México*.
47. Muylkens B, Thiry J, Kirten P, Schynts F, Thiry E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet. Res.* 2007; 38: 181–209.
48. Nandi S, Kumar M, Manohar M, Chauhan RS. Bovine herpesvirus infections in cattle. *Animal Health Research Reviews* 2009; 10: 85-98
49. Neta CAV, Mol SJP, Xavier NM, Paixão AT, Lage PA, Santos LR. Pathogenesis of bovine brucellosis. *The Veterinary Journal* 2010; 184: 146-155.
50. Nettleton P. Bovine viral diarrhoea virus: biology, diagnosis and control. *Veterinary Record* 2013; 172: 447-448.
51. Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional Contra la Brucellosis en los Animales. “Núm. 041 y sección 7” (“1995”).
52. Obando RCA, Rodríguez MJ (2005) Rinotraqueitis Infecciosa Bovina. In *Manual de ganadería de doble propósito*
53. OIE., 2004. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Leptospirosis. *Organización Mundial de Sanidad Animal*.
54. OIE., 2009. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Brucelosis bovina. *Organización Mundial de Sanidad Animal*.
55. Olsen SC, Palmer MV. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years. *Veterinary Pathology* 2014; 51 (6): 1076-1089.
56. Olsen S, Tatum F. Bovine Brucellosis. *Vet Clin Food Anim* 2010; 26: 15-27.
57. Orea MA, Herrera LE, Favila HL, Banda RVM, Socci EG. Leptospirosis en Hatos bovinos lecheros en el estado de Puebla. *Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2012 Agosto 2-4; Mérida, Yucatán, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2012; 472-477.*
58. Ortiz MM, Acosta AM. Prueba de Rosa de Bengala y/o tarjeta en el diagnóstico de brucelosis bovina.
59. Ozkanlar Y, Aktas MS, Kaynar O, Ozkanlar S, Kirecci E, Yildiz L. Bovine respiratory disease in naturally infected calves: clinical signs, blood gases and cytokine response. *Revue Méd. Vét.*, 2012; 163 (3): 123-130.
60. Pavón JMD, Romero RPI, Torres AF, Meléndez VP, Torres BJI, Gavaldón RD, Moles y CLP. Presencia de anticuerpos antileptospira en 10 ranchos pertenecientes al municipios de Cuajinicuilapa, Guerrero México. *Memorias del XXXV Congreso Nacional de Buiatría; 2011 Agosto 11-13; León, Guanajuato, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2011; 155-158.*
61. Pérez HP, García WM, Gallegos SJ. Postpartus anoestrus is reduced by increasing the within-day milking to suckling interval in dual purpose cows. *Animal Reproduction Science* 2002; 73: 159-168.

62. Peshev R, Christova L. Diagnosis and molecular epidemiological investigation of Bulgarian bovine herpes virus 1 strains by PCR and restriction enzyme analysis. *Revue Méd. Vét.*, 2010; 161: 381-386.
63. Pimenta CLRM, Castro V, Clementino JI, Alves CJ, Fernandes LG, Brasil AWL, Santos CSAB, Azevedo SS. Leptospirose bovina no Estado da Paraíba: prevalência e fatores de risco associados à ocorrência de propriedades positivas. *Pesq. Vet. Bras.* 2014; 34 (4): 332-336.
64. Poester FP, Samartino LE, Santos RL. Pathogenesis and pathobiology of brucellosis in livestock. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz* 2013; 32: 105-115.
65. Potgieter LDN (2004) Bovine viral diarrhoea and mucosal disease. *Infectious diseases.*
66. Raaperi K, Orro T, Viltrop A. Epidemiology and control of bovine herpesvirus-1 infection in Europe. *The Veterinary Journal* 2014; 201: 249-256.
67. Ramírez RR, Chavarria MB, López MA, Rodríguez TLE, Nevárez GAM. Presence of bovine virus diarrhoea in association with other pathologies in feedlot cattle. *Veterinaria México* 2012; 43 (3): 225-234.
68. Ramos GAB. Frecuencia de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), Diarrea Viral Bovina (DVB) y Leptospirosis en bovinos de doble propósito, en el municipio de San Juan Cotzocón, Oaxaca, México (tesis de licenciatura). México: UNAM, 2014.
69. Ridpath JF. (2008) Bovine Viral Diarrhoea Virus. In BRIAN, WJM & VAN, RMH (eds). *Encyclopedia of Virology*. 3<sup>rd</sup> Ed. San Diego, CA.
70. Rojo RR, Vázquez A JF, Pérez HP, Mendoza MGD, Salem MAZ, Albarrán PB, González RA, Hernández MJ, Rebollar RS, Cardoso JD, Dorantes CEJ, Gutiérrez CJG. Dual Purpose cattle production in Mexico. *Tropical Animal Health and Production* 2009; 41: 715-721.
71. SAGARPA., 2006. Situación actual y perspectiva de la producción de carne de bovino en México 2006. *Coordinación General de Ganadería, Secretaría de Agricultura Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.*
72. Samartino LE, Fort M, Gregoret R, Schurig GG. Use of *Brucella abortus* vaccine strain RB51 in pregnant cows after calfhood vaccination with strain 19 in Argentina. *Preventive Veterinary Medicine* 2000; 45: 193-199.
73. Sánchez MB, Nahed TJ, Ruiz RLJ, Pérez VE, Solís ZR. Seroprevalencia de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina en ganado lechero del sistema de transición orgánica de Tecpatán Chiapas. *ITEA* 2010; 106 (2): 89-99.
74. Segura CJC, Solirio RJL, Sánchez GLG. Seroconversion to bovine viral diarrhoea virus and infectious bovine rhinotracheitis virus in dairy herds of Michoacan, Mexico. *Tropical Animal Health and Production* 2010; 42: 233-238.
75. Segura CVM, Solís CJJ, Segura CJC. Seroprevalence of and risk factor for leptospiral antibodies among cattle in the state of Yucatan, Mexico. *Tropical Animal Health and Production* 2003; 35: 293-299.

76. SENASICA., 2014. Dirección general de salud animal. Dirección de campañas zoonositarias, datos de frecuencias. *Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. SAGARPA.*
77. Serrano PJD, Villa GMR, Franco GFJ, Memije AF. Frecuencia de brucelosis bovina en hatos lecheros del Valle del Valsequillo Puebla. Memorias del XXXI Congreso Nacional de Buiatría; 2007 Agosto 9-11; Acapulco, Guerrero, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2007.
78. Shandian G, Junzheng D, Yangfan L, Youquan L, Junjun S, Tong L, Gouzheng C, Furong Z. Phylogenetic analysis of bovine viral diarrhoea virus of subgenotype 1c. *Infections, Genetics and Evolution* 2014; 26: 168-171.
79. SHCP., 2014. Panorama de la carne y leche de bovino. *Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero, Secretaría de Hacienda y Crédito Público.*
80. SIAP., 2013. Bovinos carne y leche, Población ganadera 2004-2013 cabezas. *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera.*
81. Solís CJJ, Segura CVM, Segura CJC. Bovine viral diarrhoea virus in beef cattle herds of Yucatan, Mexico: Seroprevalence and risk factors. *Preventive Veterinary Medicine* 2005; 72: 253-262.
82. Solís CJJ, Segura CVM, Segura CJC, Alvarado IA. Seroprevalence of and risk factors for infectious bovine rhinotracheitis in beef cattle herds of Yucatan, Mexico. *Preventive Veterinary Medicine* 2003; 57: 199-208.
83. Thiry J, Keuser V, Muylkens B, Meurens F, Gogev S, Vanderplasschen A, Thiry E. Ruminant alphaherpesviruses related to bovine herpesvirus 1. *Vet. Res.* 2006; 37: 169-190.
84. Tikoo SK, Campos M, Babiuk LA. Bovine herpesvirus 1 (BHV-1): Biology, Pathogenesis and control. *Advances in Virus Research* 1995; 45: 191-223.
85. Varguez ZJ, Cruz TA, Encalada ML. Seroprevalencia y factores de riesgo de vDVB en hatos ganaderos del estado de Campeche. Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Buiatría; 2012 Agosto 2-4; Mérida, Yucatán, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 2012: 315-322.
86. Xavier MN, Paxião TA, Poester FP, Lage AP, Santos RL. Pathological, immunohistochemical and bacteriological study of tissues and milk of cows and fetuses experimentally infected with *Brucella abortus*. *Elsevier* 2009; 140: 149-157.

## Anexo 1

### Cepario utilizado en el diagnóstico de leptospirosis

**Cuadro 2: Cepario usado para el diagnóstico de leptospirosis bovina en la región de la Costa y el Istmo en el estado de Oaxaca**

<b>Especie</b>	<b>Serovariedad</b>	<b>Serogrupo</b>
<i>L. interrogans</i>	Wolffi	Serjõe
<i>L. interrogans</i>	Hardjo	Serjõe
<i>L. borgpetersenii</i>	Tarassovi	Tarassovi
<i>L. interrogans</i>	Hardjo*	Serjõe
<i>L. interrogans</i>	Icterohaemorrhagiae*	Icterohaemorrhagiae
<i>L. interrogans</i>	Canicola*	Canicola

\*Aislamientos nacionales

## **Anexo 2**

### ***Preparación del medio de cultivo y mantenimiento del cepario de leptospirosis.***

El cepario de diagnóstico que se usó fue sembrado en medio Cox. Para prepararlo en un litro de agua destilada se necesitaron: 2g de caldo triptosa o biotriptosa, 40 ml de Fosfato de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) al 1/15 mM, 1 ml de Rojo de fenol al 0.4% y debió tener un pH de 7.2-7.4, posteriormente el preparado se esterilizó en la autoclave a 121°C, 15 lb de presión durante 15 a 20 min. Una vez que se enfrió, se agregaron 10 ml del preparado en tubos de rosca previamente esterilizados, en seguida se agregó 10% de suero de conejo. El medio se dejó 24 a 48 hrs en la estufa bacteriológica a 30°C, para comprobar la esterilidad. Pasando este periodo y si el medio siguió estéril, se agregaron 2ml de la suspensión bacteriana a cada tubo, estos se incubaron por 4 a 7 días a 28-30°C. Una vez que pasó este periodo se comprobó el crecimiento y el estado de las cepas mediante microscopía de campo oscuro. Si las cepas crecieron bien estaban listas para usarse y lo demás se almacenó a temperatura ambiente, en un lugar fuera del alcance de los rayos solares. La resiembra se realizó cada 15 días.

### **Anexo 3**

#### Cuestionario Realizado a cada Productor

Todos los datos que usted proporcione son confidenciales y solamente serán utilizados con fines de investigación para el mejoramiento de la ganadería.

Por lo que le solicitamos atentamente que responda a las siguientes preguntas.

Fecha: \_\_\_\_\_ Encuestador: \_\_\_\_\_

Nombre del Propietario: \_\_\_\_\_

Nombre del Rancho: \_\_\_\_\_

Lugar donde se ubica el Rancho (Localidad) \_\_\_\_\_ Municipio: \_\_\_\_\_

1. **¿Cuántas vacas tiene en Ordeña?** \_\_\_\_\_
2. **¿Cuántas vacas cargadas tiene?** \_\_\_\_\_
3. **¿Cuántas vacas vacías tiene?** \_\_\_\_\_
4. **¿Sus vacas han presentado abortos en el periodo 2011-2014?**
5. **¿Acostumbra a ingresar bovinos a su rancho que hayan venido de otro lugar?**

Si             No             no recuerda.

6. **¿Dónde las adquirió?**

1( ) En la misma Comunidad            2 ( ) En el mismo municipio

3( ) En otro municipio            4 ( ) Otro estado \_\_\_\_\_

7. **¿Tiene vacas que hayan presentado abortos?**

1( ) Si            2( ) No            3 ( ) No sabe

**8. ¿De qué número de parto son las vacas que han abortado?**

1 ( ) Las de primer parto

2 ( ) Las de segundo parto

3 ( ) Las de tercer parto

4 ( ) Las de 4 o más partos

**9. ¿Acostumbra a vacunar a sus vacas y a sus becerros?**

1 ( ) Si

2 ( ) No

3 ( ) A veces

**10. ¿Qué vacunas aplica?\_\_\_\_\_ ¿A qué**

**edad?\_\_\_\_\_ ¿Con que frecuencia?\_\_\_\_\_**

**11. ¿Qué hace usted con la placenta o los fetos abortados?**

1 ( ) La deja tirada

2 ( ) Se la da a los perros

3 ( ) La quema

4 ( ) La entierra

**12. ¿Cuáles son las enfermedades más frecuentes que se presentan en su rancho?**

**13. ¿Qué otros animales conviven con sus vacas?**

**LE AGRADECEMOS SU PARTICIPACIÓN.**