



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACION DE LA PREVALENCIA DE CAMPILOBACTERIOSIS GENITAL, A PARTIR DE LAVADOS PREPUCIALES EN TOROS DE LA ZONA SUR DEL VALLE DE MEXICO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
NEREO SANCHEZ CARRASCO

ASESORES:

M.V.Z. PH D. JORGE A. PEREZ MARTINEZ

M.V.Z. DR. MED. VET. ALEJANDRO PARRA CARRETERO

MEXICO, D. F.

1988





Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

C O N T E N I D O

	<i>Página</i>
<i>RESUMEN.....</i>	<i>1</i>
<i>INTRODUCCION.....</i>	<i>2</i>
<i>MATERIAL Y METODOS.....</i>	<i>19</i>
<i>RESULTADOS.....</i>	<i>22</i>
<i>DISCUSION.....</i>	<i>25</i>
<i>LITERATURA CITADA.....</i>	<i>29</i>
<i>CUADRO.....</i>	<i>33</i>

RESUMEN

Sánchez Carrasco Nereo. Determinación de la prevalencia de campilobacteriosis genital, a partir de lavados prepucales en toros de la zona sur del Valle de México (bajo la dirección de: Jorge A. Pérez Martínez y Alejandro Parra Carretero).

Se muestrearon 25 toros senentales para determinar la prevalencia de campilobacteriosis genital en 12 establos lecheros, con historia clínica de abortos, mediante estudios bacteriológicos tendientes a detectar toros portadores de *Campylobacter fetus* subespecie *veneralis* (*C. fetus* sub. *veneralis*). Cada animal fue sometido a 2 lavados prepucales con intervalo mínimo de 15 días entre cada uno. La presencia del *C. fetus* sub. *veneralis* fue negativa en todos los lavados. En ocho de las muestras se diagnosticó la presencia de *Streptococcus faecium* y en el resto de las mismas crecieron algunos contaminantes o el crecimiento no fue significativo. Se pudo concluir que el *C. fetus* sub. *veneralis* no se encuentra involucrado significativamente en los problemas clínicos de los hatos investigados, y se sugiere la presencia de otras causas infecciosas de infertilidad y abortos. Por otra parte, se propone que el estudio bacteriológico se debe complementar con pruebas serológicas tales como la técnica de anticuerpos fluorescentes, para tener un mayor margen de confiabilidad en el diagnóstico de la enfermedad.

I N T R O D U C C I O N

La campilobacteriosis genital bovina es producida por el *C. fetus sub. venerealis* y se le conoce desde 1913. Durante muchos años este padecimiento se mantuvo en un segundo plano debido a que existían otras enfermedades, las cuales se consideraban de mayor importancia, además de que la campilobacteriosis se diagnosticaba en contadas ocasiones. Sin embargo, ya se sabía que esta enfermedad provocaba abortos (20).

Al finalizar la década de los 40'S, se propuso al *C. fetus* como responsable de producir una enfermedad de tipo enzootico que se relacionaba con la infertilidad en vacas. En la actualidad está demostrado que la infección con esta bacteria se asocia con mayor frecuencia a la infertilidad que con los abortos (16,19,22).

A mediados de los 60'S, la campilobacteriosis genital adquirió gran interés por parte de los investigadores de diferentes países, particularmente en lo que se refiere a la enfermedad en el ganado productor de carne. Hoerlein et al., (17) estudiaron 83 hatos dedicados a la engorda de ganado en los Estados Unidos de Norteamérica, en los que se presentaban historias clínicas de infertilidad; en los resultados que se obtuvieron se mostraba que en 45 hatos (54%), la infertilidad era causada por *C. fetus fetus* (*C. fetus sub. venerealis*). En años recientes dichos investigadores han diagnosticado la enfermedad en 200 hatos

productores de carne en los estados de Colorado, Utah, Nuevo México, Texas y Arizona.

La información sobre campilobacteriosis genital bovina que se tiene en México es realmente escasa y por lo general la enfermedad no recibe la debida importancia. Considerando el número elevado de hatos infectados con *C. fetus sub. venerealis* en los estados del sur de la Unión Americana y tomando en cuenta que un gran número de bovinos de los estados fronterizos de la República Mexicana proceden del país vecino, es lógico pensar que en las regiones del norte de México la enfermedad está ampliamente difundida.

En 1965 Hidalgo (15) trabajó 50 muestras de semen y fetos abortados, logrando el aislamiento de una cepa. Así es como en México se inician las investigaciones sobre el *C. fetus fetus* (*C. fetus sub. venerealis*). Posteriormente se empezaron a realizar una serie de investigaciones tendientes a confirmar la presencia del microorganismo en la ganadería mexicana.

En 1971 Urquiza y Correa (30), trabajaron muestras de 123 bovinos procedentes de diferentes estados del interior de la República, encontrado sólo 4 toros positivos a la infección, de los cuales uno de ellos (0.81%) pertenecía al Edo. de Chiapas y los 3 restantes (2.43%) procedían de muestras tomadas en diferentes hatos del Edo. de México.

Por otra parte, en el Edo. de Sonora se hicieron otros

estudios tendientes a tratar de determinar la presencia del *C. fetus*, puesto que un número elevado de explotaciones ganaderas presentaban porcentajes de fertilidad inferiores al 35%, además de que en esta región es común la importación del pie de cría procedente de Arizona. También es frecuente observar que entre los ganaderos acostumbra prestarse a los sementales para efectuar los empadres. Estas prácticas propician la diseminación de la enfermedad, por lo que se hizo necesario realizar un estudio en 10 diferentes explotaciones en las cuales se presentaban signos clínicos de infertilidad. El estudio se efectuó a partir de muestras de exudado prepucial y moco cervico-vaginal. Las muestras de exudado prepucial se trabajaron en forma muy similar a las condiciones en que se procesaron en este trabajo. El moco cervico-vaginal fue sembrado en un medio de cisteína corazón agar selectivo e incubado con una mezcla de gases.

Los resultados obtenidos mostraron que se pudo diagnosticar campilobacteriosis genital en 3 de los 10 hatos investigados (20).

Es importante señalar que el estudio bacteriológico aunque es definitivo, posee muchas dificultades que limitan su aplicación. Por un lado, la bacteria es sumamente susceptible a cambios de pH, temperatura, luz solar y en especial a la presencia de oxígeno y a las modificaciones en el contenido de nitrógeno y dióxido de carbono en la atmósfera (20).

Con respecto a la técnica de anticuerpos fluorescentes,

ésta posee la ventaja de obtener rápidamente el diagnóstico, pero tiene la desventaja de presentar reacciones cruzadas con otros serotipos. Sin embargo, al observar campilobacters fluorescentes en muestras procedentes de animales de un hato con historias clínicas de infertilidad, podría ser suficiente para establecer el diagnóstico (20,27,28).

En 1972 Cortés Castro (11), trabajó un total de 86 muestras, de las cuales 24 eran de moco cerviceo-vaginal y 52 eran de lavados prepuciales. Dichas muestras fueron centrifugadas durante 15 minutos a 3018 RPM. Posteriormente las muestras se sembraron en un medio muy parecido al agar de Dufty, el cual se incubó de 3 a 6 días con mezcla de gases.

Los resultados obtenidos por Cortés Castro fueron negativos. Cabe mencionar que en su investigación se trabajaron muestras congeladas, debido a la lejanía del lugar del muestreo al laboratorio; posiblemente esto impidió el obtener crecimiento de campilobacters, ya que en estudios anteriores el uso de muestras frescas permitió el aislamiento del microorganismo.

En 1975 Suárez, Flores y Pijoan (29) realizaron estudios sobre campilobacteriosis genital bovina mediante la técnica de anticuerpos fluorescentes. El conjugado se elaboró en el INIP y con éste se procesaron 109 muestras provenientes de los estados de Veracruz (24 muestras), Querétaro (12 muestras), Edo. de México (36 muestras) y Sonora (37 muestras). Absolutamente todas las muestras se trabajaron

mediante la técnica de anticuerpos fluorescentes y estudio bacteriológico. La técnica de anticuerpos fluorescentes permitió encontrar un número mayor de hembras positivas, siendo los resultados los siguientes: Edo. de México con 6 muestras positivas, Querétaro con 8 muestras positivas y por último el Edo. de Sonora con 12 muestras positivas. Sólo en un caso fue posible encontrar resultados positivos mediante las dos técnicas y cuya muestra pertenecía al Edo. de Querétaro.

La campilobacteriosis genital bovina es una enfermedad infecto-contagiosa de curso agudo o crónico, de transmisión venérea, la cual afecta tanto a hembras como a machos y es producida por una bacteria denominada *Campylobacter fetus* subespecie *venerealis* (*C. fetus* sub. *venerealis*). La enfermedad también se conoce como: Vibriosis Genital Bovina, Aborto Vibriónico, Aborto Espiral, Esterilidad Enzotica, etc (6,12,14,16,20,25,26,28).

La campilobacteriosis genital ha tomado gran interés por parte de los investigadores debido a las pérdidas económicas que ocasiona. La enfermedad ha sido diagnosticada en todo el mundo y se presenta en cualquier época del año (20).

El uso de la inseminación artificial es una medida que, entre otras cosas, se ha tomado con el fin de aumentar los porcentajes de fertilidad, además de tratar de evitar la propagación de la infección, pero en algunos casos se ha observado que los microorganismos han creado resistencia a

los antibióticos utilizados en esta práctica, lo cual podría indicar un falso sentido de seguridad. En los centros de inseminación artificial, la infección puede difundirse de toro a toro por medio de vaginas artificiales infectadas, camas contaminadas, servicios accidentales con las hembras utilizadas como maniqués y prácticas homosexuales. Una vez que la infección se establece en el toro, ésta permanece por períodos prolongados e incluso puede llegar a ser permanente, razón por la cual el macho juega un papel importante en la diseminación de la campilobacteriosis (12,16,20,23,24,26).

En cuanto a la transmisión como ya se ha dicho, está demostrado que para que suceda la infección en vacas y vaquillas, es necesaria la monta natural o el uso de semen y material contaminado. Está bien esclarecido que el contacto entre un lote de hembras infectadas y otro de hembras clínicamente sanas no favorece la diseminación de la infección. En 1964 se intentó reproducir la enfermedad colocando una cepa de *C. fetus* sub. *venerealis* en los labios vulvares, sin obtenerse resultados favorables. Sin embargo, al colocar la misma cepa a nivel vaginal se logró reproducirla en un 90% de los animales inoculados (14, 20,26,28). Es un hecho que las hembras adultas que no han sido expuestas a la enfermedad, son en todo momento susceptibles a la infección (14,28).

Con respecto a las hembras portadoras, éstas también son de gran trascendencia en la diseminación de la infección dentro de un hato, aunque hasta cierto punto la enfermedad es

autolítante después de un lapso de 3 a 6 meses, como consecuencia del desarrollo de algún tipo de inmunidad (10,14,20,26,28).

La patogenia en las hembras es variable puesto que depende de su sensibilidad y posiblemente de la virulencia de la cepa infectante. El aparato reproductor de las hembras no reacciona siempre igual ante la presencia del *C. fetus sub. venerealis* y hasta el momento no se explica satisfactoriamente porqué hay vacas que se recuperan rápidamente de la infección, mientras que otras presentan repetición de calores con endometritis, otras logran mantener a la bacteria en la vagina sin perturbar la gestación y unas cuantas abortan. Generalizando, se puede decir que el *C. fetus sub. venerealis* al ser depositado en la vagina, se multiplica y logra alcanzar el útero al 5o. día, llegando a los cuernos uterinos entre el 12avo y el 14avo día y es posible detectarlo en los oviductos de algunas hembras hacia el 20avo día post-infección. Es importante mencionar que aún cuando la bacteria esté presente en el moco vaginal en el momento del celo, no quiere decir necesariamente que ésta va a interferir con la concepción (14,20).

La presencia del microorganismo en el útero se acompaña de ciertas modificaciones a nivel del endometrio. Esta endometritis se describe como benigna, la cual se inicia alrededor del día 20 post-infección en la capa epitelial, para después avanzar a estratos celulares más profundos. La

endometritis se caracteriza por presentar una infiltración linfocitaria, plasmocítica y neutrofílica difusa, que rápidamente se vuelve focal, afectando a continuación a las capas compacta y esponjosa, especialmente en la zona periglandular, con proliferación de tejido conectivo. Existe cierta afinidad por parte de la bacteria hacia la luz de las glándulas uterinas, en donde provoca un aumento en su actividad secretora dando como resultado un exudado blanco-grisáceo. Este exudado cubre la luz de dichas glándulas y al útero mismo; está compuesto por neutrófilos, eosinófilos y células epiteliales necróticas y además es posible encontrar células plasmáticas e histiocitos en menor proporción (5,28).

Los cambios patológicos se manifiestan con mayor intensidad entre la 8ava y 12ava semana post-infección, recuperándose el endometrio hacia el 4o. a 5o. mes. Las lesiones encontradas en las hembras con campilobacteriosis genital, no son patognomónicas de la enfermedad, pero la endometritis con la presencia del *C. fetus sub. venerealis* producen el síndrome de infertilidad, mientras dura la invasión.

Con respecto al semen, a pesar de que se encuentre contaminado con *C. fetus sub. venerealis* no pierde su capacidad fecundante y la gestación da inicio. Aproximadamente 20 días después, el microorganismo invade el útero y provoca cambios inflamatorios que conducen a la muerte embrionaria. Como los cambios patológicos persisten durante varias semanas más, las hembras pueden retornar al

astro pero presentan problemas de infertilidad (14,20,28).

Por otro lado, resulta difícil comprender el porque de los abortos, pues está comprobado que el *C. fetus sub. venerealis* puede pasar de la vagina al útero en cualquier momento de la gestación, pero aún no se demuestra si la bacteria pasa de la vagina al útero entre el 5o. o el 6o. mes de la gestación para interrumpirla, o permanece todo ese tiempo en la cavidad uterina hasta provocar el aborto. Los animales que abortan representan el 3-5% de los animales enfermos y la gestación se interrumpe entre el 5o. y el 6o. mes (14,18,20,26,28).

La placenta es expulsada junto con el feto en los abortos tempranos, mientras que en los tardíos puede ser retenida. También se presentan reabsorciones embrionarias, con la muerte del embrión entre el 12avo y el 20avo día de gestación (14).

Algunos investigadores mencionan que el aborto vibrónico probablemente se deba a la reacción alérgica que provoca la endotoxina termolabile. Experimentalmente, está demostrado que la endotoxina es un excelente promotor del aborto. Una probable alternativa es que el aborto puede ser causado por una placentitis bacteriana. Por otra parte, otros estudios proponen la migración del *C. fetus sub. venerealis* al útero en la fase lútea del ciclo estral, lo que ocasiona que haya una falta de aporte de oxígeno al embrión preimplantado, lo cual causa daño al embrión y retarda su desarrollo. La presencia del embrión dañado en el útero previene la regresión del cuerpo lúteo y también evita el retorno al astro. Asimismo, sugieren que la campilobacteriosis en el

útero previene la estabilización del cuerpo lúteo por los blastocistos ováricos, conduciendo así a la muerte embrionaria (14).

Con referencia a los signos y lesiones que se observan en las hembras, se mencionan dos cuadros; el cuadro agudo y el cuadro crónico. La infertilidad está asociada comúnmente con el cuadro agudo y el aborto se relaciona con la forma crónica, aunque ocasionalmente éste se presente en la fase aguda de la infección. Los ciclos estrales son irregulares y se prolongan hasta un mes, hay repetición de calores, lo que ocasiona un incremento en el número de servicios necesarios para lograr la preñez, con el consiguiente gasto del semental. En el curso de la enfermedad, la vaginoscopia muestra comúnmente vaginitis catarral como resultado de la hipersécración de moco. Esto puede terminar en 3 ó 4 meses. El moco por lo general es claro al inicio de la enfermedad, después cambia a un color blanco-grisáceo, posteriormente es opaco y a veces al final es purulento. Tanto la región del cérvix como la mucosa vaginal pueden estar hiperémicas. Además hay salpingitis y cervicitis (7,12,14,16,20,26,28).

En los sementales la enfermedad no provoca ningún cambio en el comportamiento, ni modificaciones en su libido o en la capacidad fecundante del semen. Sin embargo, otros estudios contemplan cambios a nivel histológico, como es una infiltración de mononucleares (plasmocitos) en la lámina propia, o bien modificaciones en las características del

semen (14,28).

Al finalizar el servicio y empadre los sementales pueden presentar como única alteración, cierto grado de agotamiento o apatía sexual que se refleja en una pérdida del estado físico (28).

La mayor incidencia de toros portadores, ocurre en animales de cinco años de edad o mayores. Esto ha sido atribuido al aumento en el tamaño y número de criptas en el epitelio del pene y sobre todo en la región del fórnix, ya que en general estas zonas proveen las condiciones favorables para la persistencia del microorganismo, aún con los tratamientos locales (5,8,9,12,14,26).

Los sementales infectados disminuyen su valor zootécnico y económico, pues debido a su capacidad infectante no deben utilizarse en la monta natural ni en la inseminación artificial.

En el campo de la inmunología existe una amplia evidencia que muestra que el *C. fetus* sub. *veneralis* es eliminado rápidamente del útero, por factores inmunes, pero que puede establecerse en la vagina por más de 2 años (10). El estado de portador vaginal asintomático puede presentarse de 2 formas que son:

- 1.- Hembras que han recuperado su fertilidad pero que continúan albergando al microorganismo en la vagina.
- 2.- Hembras convalescientes que han eliminado a la

bacteria y se tornan susceptibles a una reinfección como resultado de una baja en la inmunidad.

Aunque algunos aspectos sobre la inmunidad y la colonización de la vagina por parte del *G. fetus sub. venerealis* han sido aclarados, aún se desconocen otros mecanismos tales como la adherencia, quimiotaxis, especificidad de huésped y tropismo por los tejidos (14).

Corbeil et al., (10), experimentalmente inocularon por vía intrauterina a vacas susceptibles, pero la infección sólo duró 3 días en el útero, estableciéndose posteriormente en el cérvix y en la vagina. La eliminación temprana de la infección uterina puede ser atribuida ya sea a una respuesta secundaria de un órgano previamente sensibilizado, o a una reacción primaria hacia la endotoxina (10,14).

En cuanto a la estructura y variación antigénica del *G. fetus sub. venerealis*, algunos investigadores han demostrado que estos microorganismos poseen por lo menos 7 antígenos termolábiles en la superficie. Uno de estos antígenos, identificado como antígeno somático a, es una glicoproteína que está presente en la estructura superficial del flagelo. Esta glicoproteína tiene la capacidad de inhibir la fagocitosis por macrófagos en ausencia de anticuerpos que actúan como opsoninas (20).

Se ha confirmado que el *G. fetus* es capaz de presentar variaciones antigénicas en sus antígenos superficiales termolábiles. Esto hace suponer que las variaciones

antigénicas se originan como resultado de la presión selectiva que ejerce la respuesta inmune. Este proceso ya ha sido reproducido *in vitro*, cultivando a los microorganismos en presencia de antisueros específicos. La capacidad que manifiesta el *C. fetus* de variar antigénicamente, le brinda la oportunidad de evitar la acción específica de la respuesta inmune (10,14,20,28).

Uno de los aspectos con mayor interés clínico es el hecho de que las hembras infectadas con *C. fetus* sub. *veneralis*, desarrollan cierta resistencia ante la enfermedad, quedando fértiles después de sufrir la infección, pero se considera que quedan como portadoras. Es necesario recordar que los microorganismos en forma natural, son introducidos en el tracto genital en la fase ovulatoria del ciclo estral, cuando los neutrófilos están presentes en la secreción. En el animal no inmune estos neutrófilos pueden proveer alguna protección ya que una pequeña cantidad de fagocitosis ocurre en ausencia de anticuerpos. Las bacterias que escapan de la fagocitosis son capaces de multiplicarse e invadir al útero durante la fase lútea, cuando la respuesta neutrofilica está limitada. Esta acción provoca un estímulo antigénico que da como resultado la producción de anticuerpos (14,20,28).

Como anteriormente se mencionó, las hembras después de sufrir la infección con *C. fetus* sub. *veneralis* logran recuperar su fertilidad, quedando como portadoras del microorganismo, pero después de cierto tiempo éstas se vuelven a ser susceptibles a la reinfección, aún cuando

existan anticuerpos específicos en el moco vaginal. En muchas hembras puede ocurrir la concepción e incluso la gestación satisfactoria aún estando presente el *C. fetus* sub. *veneralis* en la vagina (20,26,28).

Una vez que se da la infección natural, los primeros anticuerpos que aparecen son las IgM, a continuación se presentan las IgA y por último las IgG.

Las IgM permanecen por períodos muy cortos, las IgG desaparecen varias semanas después de que la enfermedad fue superada, y las IgA logran persistir hasta 10 meses en la vagina. Las IgG son las que predominan en la mucosa uterina y aparecen en cuanto se presentan las lesiones inflamatorias (10,20). Tanto las IgA como las IgG son capaces de inmovilizar al *C. fetus* sub. *veneralis*. Las IgA actúan sobre células individuales ejerciendo su acción inmovilizante en tan sólo 3 minutos. Las IgG logran inmovilizar a la bacteria mediante procesos de aglutinación.

Ninguno de los anticuerpos antes mencionados posee la capacidad bacteriolítica en presencia del complemento cuando la cepa en cuestión es un cultivo infectante, sin embargo, si producen lisis de cepas rugosas y encapsuladas (28). Por otra parte, al parecer las IgG actúan como opsoninas tanto a nivel de secreciones uterinas como en moco vaginal, mientras que las IgA carecen de esta propiedad. Como resultado de lo anterior se deduce que el tracto genital de las hembras posee una respuesta mediada por las IgG, las cuales actúan a un nivel más profundo, mientras que las IgA actúan en áreas

cercanas al exterior (10,28).

El *C. fetus* sub. *veneralis* logra sobrevivir en la vagina y de ésta manera es como se originan las vacas portadoras. Sin embargo, la acción inmovilizante de las IgA impide el paso de dichas bacterias hacia el útero y es por esta razón que se presentan gestaciones y partos normales (10,16,26).

La presencia de polimorfonucleares (neutrófilos), es una defensa más ya que poseen la habilidad de atacar al *C. fetus* sub. *veneralis* cuando están en presencia de IgG, pero no lo pueden fagocitar cuando el anticuerpo es IgA. Los mononucleares en presencia de IgG también logran aniquilar al microorganismo y tienen importancia en los últimos estadios de la infección que es cuando son más abundantes. La presencia de linfocitos T entre los mononucleares que se presentan en las zonas inflamadas del útero, sugiere que las células mediadoras de la inmunidad celular (CMI) también tienen participación (20).

En cuanto al mecanismo hormonal éste no se ve afectado, pues se producen ciclos normales de ovulación (28).

La campilobacteriosis comúnmente es diagnosticada con base en la historia clínica del hato, resultados de los cultivos del laboratorio y resultados de las pruebas serológicas. Las muestras que se toman para su estudio en el laboratorio son: lavado prepucial, mucosa vaginal y fetos abortados.

El *C. fetus* sub. *veneralis* es una bacteria muy delicada

en su crecimiento, pues crece muy lentamente y frecuentemente es necesario intentar su aislamiento a partir de zonas bastante contaminadas. Además los medios de cultivo deben ser sometidos a una mezcla especial de gases, ya que el *Campylobacter* es un germen microaerofílico estricto al que la concentración normal de Oxígeno en la atmósfera le resulta tóxico (6,25).

El *C. fetus* en el aislamiento primario tienen forma de " coma " o de " S ". En cultivos viejos la morfología cambia, observándose formas alargadas y filamentosas. El tamaño varía entre 0.2 y 0.5 μ m de ancho, por 1.5 a 5.0 micras de largo (6,25).

Las colonias en el agar de Duffly son de 1 a 3 mm. de diámetro, redondas, lisas, de bordes regulares, convexas, translúcidas, con un olor característico a ácido butírico, y poseen un halo rosado pero no son hemolíticas. Al examinarse con luz reflejada estas aparentan tener un patrón de proyecciones blancas de tipo filamentosas, las cuales se extienden en forma radial hacia la periferia. Para la diferenciación entre las diversas especies de *C. fetus* es indispensable la utilización de pruebas bioquímicas (6,20,25,26).

H I P O T E S I S

Tomando en cuenta los signos clínicos que se observan en algunos de los establos lecheros de la zona sur del D.F., y Chalco, Edo. de México, se espera encontrar una alta prevalencia de campilobacteriosis genital bovina en los sementales de dichas zonas.

O B J E T I V O

Determinar la prevalencia de la campilobacteriosis genital en toros sementales de la zona sur del Valle de México, que incluye las delegaciones de Xochimilco, Milpa Alta, Tláhuac y Chalco Edo. de México.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

SEMENTALES

El estudio se realizó en 25 sementales bovinos que contaban con un promedio de 1.5 a 4 años de edad y que formaron el total de la población de 12 establos lecheros de la zona sur del Valle de México, los cuales fueron escogidos al azar. Los sementales estaban distribuidos de la siguiente manera:

Delegación Xochimilco: 7 sementales en 3 establos.

Tulyehualco: 4 sementales en 2 establos.

Delegación Milpa Alta: 2 sementales en 1 establo.

Delegación Tláhuac: 10 sementales en 5 establos.

Chalco Edo. de México: 2 sementales en 1 establo.

TOMA DE MUESTRA

Las muestras colectadas fueron trabajadas en el Laboratorio de Bacteriología de la Fac. de Med. Vet. y Zoot., de la UNAM.

A cada uno de los 25 sementales se les practicaron dos lavados prepucciales con un intervalo mínimo de 15 días entre cada uno, utilizando una combinación de las técnicas de Abelein y de Bartlett (1,2,4). Fue necesaria la sujeción de los sementales mediante el uso de sogas y el narigón.

Para cada lavado se infiltraron 50 ml. de caldo nutritivo estéril mediante una jeringa unida a un cateter. El cateter fue introducido hasta el fibrnix del pene para depositar dicho caldo y dar masaje a lo largo del prepucio durante un lapso de 5 a 10 minutos, a fin de provocar una hiperemia local sin sacar el cateter y evitando la salida del liquido. El siguiente paso consistió en recolectar el caldo, aplicando presión negativa con la misma jeringa. Obtenida la muestra, se procedió a dejarla reposar de 15 a 20 minutos con el fin de que se sedimentaran las células epiteliales. Posteriormente se tomaron 2 ml. de la superficie de dicha muestra y se depositaron en 20 ml. del medio de transporte de Clark y Dufy envasado en viales de 50 ml. con atmósfera de microaerobiosis (6). Veinticinco de los 50 lavados fueron filtrados con membranas Millipore de poros de 0.65 micras de diámetro antes de inocular el medio de transporte.

Las muestras obtenidas fueron trabajadas en el laboratorio dentro de las 12 horas siguientes a su recolección.

ANALISIS BACTERIOLOGICO

El estudio bacteriológico se llevó a cabo de acuerdo al diagrama de flujo indicado en el cuadro 1.

Como primer paso, se realizó una preparación húmeda a partir del medio de transporte de Clark y Dufy para buscar microorganismos sugestivos de *Campylobacter* spp. por medio

del microscopio de campo oscuro. Posteriormente, se hicieron siembras a partir del medio de transporte en agar selectivo de Duffy (agar infusión de cerebro y corazón con 5% de sangre de bovino, adicionado con bacitracina 15 U.I./ml., polimixina B sulfatada 1 U.I./ml., novobiocina 5 μ g/ml., y ciclohexanida 20 μ g/ml.) (6,20). Estos medios de cultivo fueron incubados de 2 a 5 días a 37°C en una atmósfera de microaerobiosis obtenida ya sea mediante el uso de sobres de " Gas-pack " en jarras de anaerobiosis sin catalizador, o mediante el uso de una mezcla de gases (5% O₂, 10% CO₂, 85% N₂) en jarras de Mac Intosh (6,25,26).

En cuanto a los medios de transporte, estos también fueron incubados durante un período de 2 a 5 días a 37°C con el fin de utilizarlos para una posible resiembra en medios sólidos.

Al término de la incubación, se realizaron observaciones en el microscopio de campo oscuro a partir de las colonias desarrolladas en el agar sangre selectivo y una segunda observación a partir de los medios de transporte. Si la observación a partir del agar sangre selectivo fuera positiva, se realizaría una resiembra en agar sangre no selectivo para que después de una incubación en microaerobiosis se realizara la identificación del microorganismo mediante pruebas bioquímicas. Si la 2a. observación en campo oscuro realizada a partir del medio de transporte fuera positiva, se realizaría primero una resiembra en agar sangre selectivo y después se procedería en la misma forma antes descrita.

R E S U L T A D O S

- 1.- *Observación directa del medio de transporte de Clark y Duffy al microscopio de campo oscuro en el mismo día de su recolección.*

*Todas las muestras resultaron negativas a la presencia de bacterias sugestivas de *Campylobacter* spp. Únicamente se observaron detritus celulares, formas cocoides y cocobacilares, bacterias con cápsula y restos de proteínas.*

- 2.- *Observación directa del medio de transporte de Clark y Duffy al microscopio de campo oscuro después de 2 a 5 días de incubación a 37°C en microaerobiosis.*

En esta segunda observación, también todas las muestras fueron negativas. Los cambios que se presentaron en los medios de transporte después de dicha incubación consistieron en una mayor carga bacteriana, replicándose más las formas cocoides agrupadas en cadenas cortas y largas. Por esta razón, no se realizaron nuevas resiembras en agar sangre selectivo.

- 3.- *Observación directa de los agares selectivos después de 2 a 5 días de incubación a 37°C en microaerobiosis.*

En términos generales, las observaciones realizadas sobre los primeros 25 cultivos en agar sangre selectivo pueden

resumirse en 3 grupos:

a) Ocho de las muestras presentaron crecimiento escaso a moderado con colonias convexas, grises de 2 a 3 mm. de diámetro, circulares, no hemolíticas. En la mayoría de los casos este crecimiento fue observado como cultivo puro. Debido a la frecuencia con que se observó este crecimiento, se decidió realizar la identificación bioquímica del microorganismo aislado, aún cuando resultó evidente que las colonias no eran sugestivas de *Campylobacter* spp. A continuación se enlistan las pruebas realizadas, mismas que permitieron llegar a la identificación de la especie *Streptococcus faecium* (25).

Motilidad en agua.....Crecen en cadenas cortas, Gran positivo
 Motilidad en agua oscura.....Negativa
 Catalasa.....Negativa
 Producción de hidrógeno soluble.....Negativa
 Crecimiento en presencia de 6.5% de NaCl.....Positivo
 Fermentación de lactosa, arabinosa y sucrosa.....Negativa
 Cambios en leche lactosada.....Defectivo

b) Seis de las muestras tuvieron crecimiento escaso a moderado de por lo menos dos tipos diferentes de colonias. Ninguna de estas colonias mostró morfología o motilidad sugestiva de *Campylobacter* spp. a la observación en campo oscuro por lo que no fue necesaria

la identificación bioquímica, considerándose como muestras "contaminadas".

c) Las once muestras restantes no presentan crecimiento alguno o por lo menos éste era escaso o moderado de colonias irrelevantes de acuerdo a la observación en campo oscuro y se consideraron como muestras de crecimiento "no significativo".

Con base en los resultados de las primeras 25 muestras trabajadas, las muestras correspondientes al segundo lavado prepuccial de los 25 toros sujetos de este estudio, fueron filtradas con membranas Millipore previo a su inoculación en el medio de transporte, como se señaló en Material y Métodos. Este procedimiento disminuyó significativamente el crecimiento de aquellos gérmenes contaminantes que no fueron completamente inhibidos por el medio de transporte y el agar sangre selectivo durante el primer muestreo. Así pues, todos los cultivos fueron negativos a la presencia de *Campylobacter* spp. y el desarrollo de gérmenes fue insignificante.

D I S C U S I O N

Dentro de los elementos más importantes que intervienen en el mantenimiento de una fertilidad elevada en el ganado lechero se encuentran el control de las enfermedades, la nutrición y el buen manejo del hato.

Algunos de los establos de bovinos dedicados a la producción de leche que están ubicados en la zona sur del Valle de México, los porcentajes de fertilidad se encuentran por debajo de los niveles normales y se ignora la etiología del problema. Esto se conoce sin cifras exactas. Por otra parte, no se había realizado ningún estudio sobre campilobacteriosis genital bovina y su prevalencia.

Tanto los porcentajes de fertilidad como el diagnóstico de la enfermedad y su diferenciación de otros padecimientos son de gran importancia para el pequeño ganadero, ajidatarios y campesinos, ya que esta enfermedad repercute directamente en su economía.

Con respecto a la selección de la población estudiada, cabe mencionar que se presentaron una serie de inconvenientes por parte de los propietarios de algunos establos, puesto que no quisieron prestar sus animales para que se muestrearan. Es necesario mencionar que un número considerable de pequeños establos o campesinos están siendo desplazados por Liconsa, ya que como es muy sabido la actividad que desempeña ésta

empresa, es la distribución de leche subsidiada a nivel nacional, por lo tanto el campesino o pequeño establero se ven directamente afectados en su economía, razón por la cual la producción de leche no les es redituable y por ello se ven obligados a dejar las actividades pecuarias para dedicarse a otras actividades. Por lo anterior, el número de animales y establos varía de un lugar a otro.

Los resultados negativos obtenidos en el presente estudio pueden interpretarse de diferentes formas. Por un lado, la mayor incidencia de toros portadores se presenta en animales mayores a los 5 años de edad, debiéndose esto al aumento de tamaño y número de criptas del epitelio prepucial (12,14). Como los toros muestreados en el presente trabajo contaban con un rango de 1.5 a 4 años de edad, esto pudo haber sido la causa de que no estuvieran infectados.

La utilización del medio de transporte de Clark y Duffy, aunado al uso del agar de Duffy como se indica en el cuadro I, brindan una mayor oportunidad para detectar *C. fetus* presentes en una muestra de un toro (20).

En estudios realizados por Clark y Duffy se demostró que utilizando el medio de transporte que ellos elaboraron y siguiendo una metodología similar a la que se siguió en este trabajo de investigación, ellos obtuvieron un 86.5% de muestras positivas por aislamiento bacteriano. Lo anterior demuestra la confiabilidad que se puede esperar del medio de transporte para el aislamiento del *C. fetus* sub. *veneralis*

(9).

Es preciso mencionar que cada toro se sometió a dos lavados prepuciales con el fin de aumentar las probabilidades de lograr el aislamiento bacteriano. En un trabajo de investigación en el cual se procesaron 1260 muestras, se concluyó que los animales positivos a la infección pueden ser identificados con dos lavados prepuciales (5).

Probablemente sería necesario hacer un muestreo más completo, en el cual se incrementara el número de animales muestreados, a fin de poder determinar en forma más precisa si la campilobacteriosis genital bovina existe o no con una prevalencia baja en la zona sur del Valle de México.

Es necesario señalar que en el futuro si se desean realizar estudios encaminados al diagnóstico de la campilobacteriosis genital bovina, el análisis bacteriológico se debe complementar con pruebas serológicas tales como la técnica de anticuerpos fluorescentes. Esta técnica según Soto y Di Rocco (27), permite identificar al microorganismo en las secreciones prepuciales con una mayor rapidez y además proporciona un margen de confiabilidad más amplio en el diagnóstico de la enfermedad, pues permite detectar hasta un 95% de toros portadores (27).

Por otra parte, se ha demostrado claramente la influencia de cada nutriente sobre la capacidad reproductora del bovino.

La mala nutrición durante la maduración folicular, ovulación y fecundación provocan esterilidad (3).

Los establos lecheros de pequeños propietarios y/o campesinos, de la zona sur del Valle de México se caracterizan por tener prácticas inadecuadas de manejo. Su alimentación básicamente consiste en rastrojo y sólo unos cuantos proporcionan alfalfa y concentrado a sus animales.

Generalmente son animales confinados, sumamente sucios y que viven rodeados de estiércol. Únicamente se sueltan para tomar agua y unos cuantos salen a pastorear. Dentro del establo hay diferentes especies animales. Las condiciones de las instalaciones son poco favorables. Estos establos no llevan ningún tipo de registro, no tienen el más mínimo programa de medicina preventiva y todo se hace en forma empírica.

Finalmente es necesario mencionar que existen otras causas infecciosas de infertilidad además del *C. fetus* sub. *venerealis*. En un estudio paralelo a este trabajo, se pudo detectar la presencia de *Trichomonas foetus*, parásito que también habita en la mucosa prepucial y que al igual que la campilobacteriosis genital bovina causa infertilidad y abortos. En dicho estudio la *T. foetus* se presentó con un 32% de frecuencia. Es preciso señalar que fueron utilizados los mismos toros para ambos estudios (21).

ESTA TESTIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 1.- Abelein, R.: *Behandlung von bullen mit Trichomonaden. Deutsche Tierarztl. Wchnschr.* 44: 721-722 (1938).
- 2.- Abelein, R.: *Trichomonadenseuche beim bullen und ihre behandlung. Berl. Munch. Tierarztl. Wchnschr.* (july 25): 357-362 (aug. 1): 370-377 (1941).
- 3.- Avila Tellez, S.: *Produccion intensiva de ganado lechero. CEGSA. Mexico, D.F., 1986.*
- 4.- Bartlett, D.E.: *Procedures for diagnosing bovine venereal trichomoniasis and handling affected herds. J.A.V.M.A.* 144: 293-305 (1949).
- 5.- Bouters, R., P. De Keyser., M. Vandeplassche., A. van Aert., E. Brone. and P. Bonte.: *Vibrio fetus infection in bulls: Curative and preventive vaccination. Br. Vet. J.* 124: 52-57 (1973).
- 6.- Carter, G.R.: *Diagnostics Procedures in Veterinary Microbiology. Fourth Edition. Charles C. Thomas Pub. Springfield. Illinois, U.S.A., 1984.*
- 7.- Clark, B.L.: *Review of bovine vibriosis. Aust. Vet. J.* 47: 103-107 (1971).
- 8.- Clark, B.L. and J. H. Duffy.: *Isolation of Campylobacter fetus from bulls. Aust. Vet. J.* 54: 262-263 (1978).
- 9.- Clark, B.L., Mary Monsborough and J.H. Duffy.: *Isolation of Campylobacter fetus sub. venerealis and Campylobacter fetus sub. intermedius from the preputial secretions in bulls. Aust. Vet. J.* 50: 324 (1974).
- 10.- Corbell, L.B., Duncan, J.R., Schuring, B.D., Hall, C.E.

- and Winter, A.J.: Bovine venereal vibriosis: Variations in immunoglobulin class of antibodies in genital secretions and serum. *Infect. Immunity*. 10: 1084-1090 (1974).
- 11.- Cortés Castro, J. G.: Investigación sobre la presencia de vibriosis en una explotación de ganado productor de carne, localizada en un clima tropical tipo AF (C). Tesis de licenciatura. *Eac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.* 1972.
- 12.- Dawson, J.: Diagnosis, prevention, and control of Campylobacteriosis and Trichomoniasis. *The Bovine Practitioner*. 21: 180-183 (1986).
- 13.- Flores, C.R. y Ruiz, D.R.: Diagnóstico y control de vibriosis genital en un hato de ganado productor de carne. *Iec. Eca. Mèx.* 22: 21-25 (1975).
- 14.- Garcia, M.M., Eaglesome, M.D. and Rigby, C.: Campylobacters important in veterinary medicine. *Veterinary Bulletin*. 53: 793-818 (1983).
- 15.- Hidalgo, M.A.: Aislamiento y clasificación de *Vibrio fetus* de ganado lechero en México. *Memorias de la III Reunión Anual del INIP. México, D.F.* (1965).
- 16.- Hoerlein, A.B. Vibriosis. En: Gibbons, W. J., Catcott, E. J., Smithcors, J. F. (editors). *Bovine Medicine and Surgery and Herd Health Management. American Veterinary Publications, Inc. 1st Edition.* 1970.
- 17.- Hoerlein, A.B., Kramer, T., Carrol, E. J., Brown, W. W., Scott, J. A. and Ball, L.: Vibriosis in range cattle. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 144: 146-151 (1964).

- 18.- Laing, J. A.: *La vibriosis genital de los bovinos. Estudio Agropecuario. EAQ, Roma. 51: 1-67 (1960).*
- 19.- Mc Entee, K., Hughes, D. E. and Gilman, H. L.: *Experimentally produced vibriosis in dairy heifers. Cornell Vet. 44: 376 (1954).*
- 20.- *Memorias del curso sobre Vibriosis ovina y bovina. Organizado por INIP, SARN y la Escuela de Estudios Profesionales "Cuautitlan." Universidad Nacional Autonoma de Mexico. 1979.*
- 21.- Mouret Rodriguez, C. E. E.: *Prevalencia de tricomoniasis en lavados prepuciales de toros de 12 establos lecheros de la zona sur del Valle de Mexico mediante estudio citologico. Tesis de licenciatura. Esc. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autonoma de Mexico, D.F. 1988.*
- 22.- Plastringe, W. N., Williams, L. F. and Petrie, D.: *Vibrionic abortion in cattle. Amer. J. Vet. Res. 8: 178 (1947).*
- 23.- Prescott, J. F. *Campylobacter.* En: Carlton L. Gyles and Charles O. Thoen (editors). *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Iowa State Univ. Press. USA. 1986.*
- 24.- Samuelson, J. D. and Winter, A. J.: *Bovine vibriosis. The nature of the carrier state in the bull. J. Inf. Dis. 116: 581-592 (1966).*
- 25.- Seibert, R. M. *Campylobacter.* En: Brenner, D. J., Bryant, M. P., (editors). *Bergey's Manual of Bacteriology. Williams and Wilkins. Vol. I. Baltimore/London. 1984.*
- 26.- Seibert, R. M.: *The Genus Campylobacter. Ann. Rev.*

Microbiol. 32: 673-709 (1978).

- 27.- Soto, P. y Di Rocco, M. J.: Diagnóstico de campylobacteriosis en toros por la técnica de anticuerpos fluorescentes. Gac. Vet. Buenos Aires. 42: 37-49 (1982).
- 28.- Stoessel, F.: Las enfermedades venéreas de los bovinos: Tricomoniasis y Vibriosis Genital. Acribia. Buenos Aires, Argentina. 1982.
- 29.- Suarez, G. F., Flores, C. R. y Pijoan, A. C.: Empleo de la técnica de anticuerpos fluorescentes para el diagnóstico de vibriosis genital bovina en México. Rec. Pecu. Mex. 30: 80-84 (1975).
- 30.- Urquiza, R. F. y Correa, G. P.: Aislamiento e identificación de *Vibrio fetus venerealis*, *Vibrio fetus intestinalis* y *Vibrio bubulus*. Rec. Pecu. Mex. 22: 19-21 (1972).

CUADRO I

Diagrama de flujo utilizado para el cultivo e identificación de Corynebacterium fetus.

