

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LOS VIRUS DEL
COMPLEJO RESPIRATORIO BOVINO EN GANADO LECHERO DEL MUNICIPIO
DE ZAPOTLANEJO, JAL.**

**TESIS PROFESIONAL QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO
VETERINARIO Y ZOOTECNISTA PRESENTA:**

PMVZ CÉSAR ALEJANDRO CONTRERAS GALLARDO

**DIRECTOR:
MC VICTOR BARRAGÁN CANO**

**ASESOR:
MVZ JUANITA ACERO ORTEGA**

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL., NOVIEMBRE DE 2008

AGRADECIMIENTOS:

A Dios; por permitir el Don de mi existencia.

A mis padres; por darme la vida.

A mis hermanos; por tenerlos a mi lado.

**A la Universidad de Guadalajara; por proporcionarme la oportunidad de ser
profesionista.**

Al Profesor M. C. Víctor Barragán Cano; por su invaluable apoyo.

**Al Arquitecto Rafael García Azuela; por la permanente amistad de él y su
familia.**

**A mis profesores y amigos en general; por los conocimientos y labor
académica conjuntos.**

**Al Centro Universitario de Ciencias Biológico-Agropecuarias; por el espacio
generosamente otorgado para mi formación.**

CONTENIDO

	PAG.
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30
JUSTIFICACIÓN	32
HIPÓTESIS.....	33
OBJETIVOS.....	34
MATERIAL Y MÉTODO.....	35
RESULTADOS.....	37
DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA	47

RESUMEN

Los bovinos desde su nacimiento hasta el fin de su producción se ven siempre amenazados por diferentes tipos de enfermedades, entre ellas las infecciosas que afectan al sistema respiratorio, siendo muchas de etiología bacteriana o viral. De estas últimas existen cuatro que por ser las más comunes son las más importantes: la Rinitis Infecciosa Bovina (IBR), la Parainfluenza 3 (PI3), el Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV) y la Diarrea Viral Bovina (BVD). Estas enfermedades virales junto con otras de etiología bacteriana forman el llamado Complejo Respiratorio Bovino (CRB), responsable de una gran cantidad de pérdidas económicas en las explotaciones de ganado bovino por la pérdida de animales, la baja en la producción y el gasto en tratamiento curativo (medicamentos y servicio veterinario). Se realizó un estudio en donde se muestreo al azar a vacas productoras de leche en el municipio de Zapotlanejo, Jal., provenientes de establos donde no se vacunara contra virus de CRB. Se obtuvo sangre de la vena yugular, dejándose coagular y obteniéndose el suero que se congeló hasta que se llevó a cabo la determinación de anticuerpos contra los cuatro virus más importantes del CRB. La técnica elegida fue la de ELISA con una variante cualitativa que solo da resultados positivos o negativos. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: porcentaje de animales positivos a anticuerpos contra IBR, PI3, BRSV y BVD fueron de 81.25 %, 56.25 %, 65.63 % y 50 % respectivamente. Todos los animales resultaron positivos a anticuerpos contra cuando menos uno de los virus del CRB. El 21.9 % de las muestras dieron positivo a la presencia de anticuerpos contra los cuatro virus analizados (combinación IPSD). La combinación IPS (IBR, PI3 y BRSV) fue la segunda más frecuente con el 16.6 %.

INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO

Las enfermedades respiratorias de ganado son la principal causa de muerte en las explotaciones bovinas a pesar que existe una gran variedad de productos antibacterianos para tratar este padecimiento y una gama amplia de biológicos para prevenirlos. Las enfermedades respiratorias continúan causando serios estragos en la ganadería en nuestro país, principalmente el llamado Complejo Respiratorio Bovino (CRB). Este complejo respiratorio no depende únicamente de la infección por un virus, una bacteria o ambos, si no de una serie de factores que condicionan la presentación de la enfermedad lo cual hace sumamente difícil controlar todas las variables presentes, teniendo en cuenta las detectadas en el laboratorio (Christensen, 1995).

Las neumonías constituyen uno de los principales problemas de salud en los bovinos, entre las pérdidas que ocasionan se incluyen la muerte de los animales enfermos, los elevados costos de los tratamientos, el bajo rendimiento de los animales con secuelas, decomisos en el rastro y además el costo derivado de la aplicación de biológicos y otros fármacos para controlar estas enfermedades. En los Estados Unidos de Norteamérica se estima que la pasteurelisis neumónica o más propiamente dicho, el Complejo Respiratorio Bovino, ocasiona pérdidas anuales por 800 millones de dólares, en otros países como Canadá y España, las pérdidas atribuidas la Complejo Respiratorio Bovino se incluyen también entre las más relevantes. En México, a pesar de que no existen evaluaciones al respecto, las

pérdidas se estiman igualmente considerables (Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994).

En este complejo intervienen varios agentes infecciosos, estos pueden ser diferenciados en primarios y secundarios, es decir, en aquellos que intervienen originalmente y en los que ocurren luego como oportunistas después que se ha desarrollado la infección inicial, por esto las investigaciones al respecto han demostrado que los virus pueden ser considerados como agentes primarios mientras que las bacterias como secundarios. Entre los principales agentes infecciosos de tipo viral son Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Parainfluenza-3 (PI3), Diarrea Viral Bovina (BVD), Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV) y Adenovirus, siendo estos los de mayor frecuencia y que se pueden diagnosticar a nivel laboratorio. Las bacterias detectadas durante la presencia de los síntomas virales en el CRB son *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida A*, *Haemophilus somnus*, *Actinobacillus pyogenes*, *Streptococcus spp*, siendo estas algunas de las que intervienen de forma eventual y otras de forma conjunta con los virus (Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994).

Las infecciones respiratorias del ganado bovino representan una grave pérdida para la industria ganadera, ya que debido a su complejidad y etiología multifactorial se pueden encontrar en animales muy jóvenes, hembras de reemplazo, sementales, vacas adultas así como en animales adultos al momento de transportarlos del centro de producción al corral de engorda o de éste al rastro. Aunque la mortalidad por neumonía sea el concepto que más impresiona al productor, las pérdidas

económicas en los animales afectados crónicamente, son también importantes debido a los gastos adicionales por los tratamientos, pérdida de peso, deficiente conversión alimenticia, decomiso en rastro y menor producción de carne (Miller, 1991).

Las enfermedades virales en ganado bovino son una causa de problemas como abortos, repetición de estros, baja cantidad de becerros para engorda, muertes, tratamientos, servicio veterinario que son sin lugar a dudas cuantiosas pérdidas para la economía agropecuaria del país. La ganadería en México es uno de los recursos que abastece de alimento a la canasta básica de donde se obtienen alimentos como son la leche, carne, quesos, cremas, así como subproductos que se requieren en distintas industrias básicas. (Ávila-García, 1995, Herrera y Saldaña, 1995).

Debido a que los bovinos están en total desventaja comparativamente con otras especies animales en cuanto su capacidad respiratoria, donde el complejo de enfermedades respiratorias; es la patología con mayor significado económico para los animales que ingresan a los corrales de engorda intensiva; a pesar de los esfuerzos que realiza la industria para minimizar este problema, el estrés por el acopio de animales, su embarque y adaptación al nuevo ambiente, hacen que muchos de ellos requieran cuando menos de un tratamiento contra la enfermedad respiratoria durante las tres primeras semanas después de su llegada. Adicionalmente debido a que una porción significativa de los becerros para engorda existen en los pequeños hatos distribuidos en muy diversas áreas, lo habitual es que estos animales se adquieran en pequeñas cantidades y se agrupen con otros que

presenten características similares de tamaño, peso, sexo, etc., y se envíen a sitios de engorda localizados a grandes distancias, donde el CRB es la patología que más perjuicio económico causa en los animales de engorda intensiva. Los costos asociados con los antimicrobianos, el trabajo, la mortalidad, animales enfermos de forma crónica y las pérdidas asociadas en la producción de los animales recuperados hacen que los costos se eleven de forma drástica en los costos producción hasta en un 40%, solo por algunos enfermos en corrales de media producción (Avila-Garcia, 1995).

En los corrales de explotaciones lecheras, el problema radica principalmente en las repeticiones marcadas, abortos en vacas productoras, apariciones de enfermedades como síntoma secundario de las virales, morbilidad de la enfermedad, contagio en explotaciones intensivas con una propagación en horas. Pérdidas de hasta un 60%, y más importante es una baja en la producción láctea para el consumo humano de la cual estas explotaciones subsisten generando pérdidas por la falta de prevención por parte de los ganaderos de esta actividad (Herrera y Saldaña, 1995).

En resumen se puede decir que el complejo respiratorio bovino es un padecimiento sumamente común que se debe a una serie de factores que interactúan entre sí como son el estrés, virus, y bacterias y que pueden ser controlados mediante la utilización de programas de manejo y vacunación adecuados, pero en caso de brote se recomienda la aplicación de antibióticos de amplio espectro de acuerdo a las indicaciones del médico veterinario, buscar la causa del brote, una vacunación inmediata con un virus vivo de buena calidad (vacuna) y en el caso de una

explotación de mediana producción, eliminar los sementales visitantes como posibles causantes de la infección (Avila-Garcia, 1995).

Parainfluenza-3 Bovina

Sinonimias: neumonía enzótica de los terneros, neumonía vírica de los terneros o PI3.

La neumonía enzoótica de los terneros es una enfermedad infecciosa que afecta sobre todo a los terneros estabulados y que se caracteriza en la clínica por grados variables de la gravedad de la neumonía viral, con o sin bronconeumonía bacteriana secundaria, la enfermedad también se presenta ocasionalmente en terneros de engorda que están al aire libre (Blood y Radostits, 1992).

Etiología.

La neumonía enzoótica es un complejo patológico causado por la combinación de uno o varios virus respiratorios, lo que con frecuencia se complica por invasión bacteriana secundaria, junto con los factores predisponentes como son los de tipo ambiental, por lo general ventilación y albergue inadecuados. Las pruebas de que los virus son los microorganismos etiológicos primarios se basa en el aislamiento de los virus, evidencia serológica de infección y las lesiones patológicas de neumonía viral, en este caso el virus de la parainfluenza (PI3) se ha aislado con mayor frecuencia de terneros afectados. La participación del virus de PI3 en terneras privadas de calostro causa neumonía que recuerda la enfermedad que ocurre de forma natural.

Un estudio sobre infecciones víricas del tracto respiratorio de los terneros durante un período de 3 años reveló que tan solo el virus bovino respiratorio sincitial, el virus PI3 y el de la diarrea viral bovina estaban asociados con la enfermedad de forma significativa. Se sabe de hecho que el virus respiratorio sincitial bovino origina una neumonía vírica grave y tanto en ganado lechero como en el de engorda de todas las edades, pero principalmente en terneros jóvenes en crecimiento (Mohanty y Dutta 1983).

Algunos de los agentes secundarios que pueden recuperarse de los pulmones de terneros con neumonía incluyen *Mycoplasma bairhiny*, *Mycoplasma dispar*, *Mycoplasma bovis* y especies de *Ureplasma* sp. con menor frecuencia, así como *Pasteurella haemolytica*, que se asocia más a menudo con casos graves que con casos subclínicos, también se han asociado especies de Clamydias con la enfermedad respiratoria en terneros, generalmente, formando parte de una infección mixta de virus y bacterias (Blood y Radostits 1992).

Epidemiología.

La neumonía enzoótica ocurre con mayor frecuencia en terneros de dos a cinco meses de edad, pero puede presentarse en estos animales durante la primera semana de vida y en bovinos en crecimiento de incluso 8 a 12 meses de edad. La incidencia según la edad tal vez coincida con la disminución de la inmunidad calostrual, aproximadamente, a los dos meses de edad y la aparición de inmunidad adquirida a la edad de 3 a 5 meses, en algunos casos la aparición de neumonía en terneros estabulados ocurre entre las dos y cuatro semanas de edad, cuando la

concentración de IgG1 sérica e IgG2 e IgA son más bajas, cuando las concentraciones de IgG2 sérica comienzan a aumentar puede declinar la tasa de incidencia de nuevos casos de neumonía. La enfermedad ocurre en terneros que se crían estabulados para reemplazos del hato (Blood y Radostits, 1992).

Es también común en terneros para carne que se crían estabulados en condiciones intensivas, los terneros se compran, aproximadamente, a los diez días de edad, se les reúne en grandes grupos de 25 a 50 y se les alimenta con una dieta con sustitutos lácteos durante unas 16 semanas, tras la cual se envían al matadero. En estos terneros la incidencia máxima de la enfermedad ocurre, aproximadamente cinco semanas después de la llegada de los animales al establo (Blood y Radostits, 1992).

Se requiere una combinación de microorganismos para producir la enfermedad. Los pases de laboratorio de los patógenos, necesarios para su purificación, los atenúan. Para la enfermedad se requiere, aparte de los patógenos identificados en el material de la secreción respiratoria, otros agentes que no se detectan por las técnicas rutinarias de cultivo (Dubovi, 1996).

Se piensa que la infección por aerosoles y el contacto directo son los métodos de transmisión, y ambos se acentúan en condiciones de hacinamiento con ventilación inadecuada. La morbilidad y mortalidad varían considerablemente, dependiendo del estado del alojamiento, la calidad de las medidas de manejo aplicadas, así como el tipo y número de virus y bacterias que predominan en un momento dado, la

morbilidad puede alcanzar el 100%, y el índice de mortalidad suele ser menor del 5%. Las pérdidas económicas asociadas con la neumonía enzoótica pueden ser considerables (Blood y Radostits, 1992)

La incidencia máxima de la neumonía de los terneros ocurre cuando las concentraciones de Ig séricas se encuentran en su nivel más bajo, entre las 2 y las 4 semanas de edad. El inicio de la neumonía puede también estar relacionado con las concentraciones más bajas de IgG e IgA en las secreciones nasales. La mayoría de los terneros que se recuperan de la neumonía enzoótica clínica parecen ser resistentes a nuevos ataques de la enfermedad, originados por los mismos agentes infecciosos. Los anticuerpos nasales y séricos se desarrollan tras la infección, pero el papel de estos anticuerpos en la protección frente a la enfermedad clínica es incierto. El espectro de anticuerpos colostrales que existen en terneros estabulados depende del espectro de infección en vacas adultas (Blood y Radostits, 1992).

Hallazgos en la necropsia.

Los virus respiratorios son capaces de causar una neumonía intersticial vírica que afecta a los lóbulos craneales del pulmón y que puede ser subclínica, clínica, grave o mortal. Es por lo general poco frecuente la neumonía vírica subclínica asociada con el virus PI3, y no complicada por invasión bacteriana secundaria. En la infección subclínica por PI-3 en terneros ocurrirá seroconversión, y en la necropsia se observan lesiones microscópicas que consisten en bronquiolititis, hiperplasia del epitelio bronquial y bronquiolar, epitelización alveolar y formación sincitial de células gigantes. En la forma leve hay signos clínicos ligeros, como tos y polipnéa. En la

forma grave de neumonía vírica, hay disnea grave, con respiración bucal y gruñido respiratorio, pero con ausencia notable de toxemia, a diferencia de lo que ocurre en las neumonías bacterianas. Puede ocurrir la muerte sin que aparezca bronconeumonía bacteriana secundaria. La atelectasia y la consolidación de los lóbulos anteriores de los pulmones son características, y explican los fuertes ruidos bronquiales que se escuchan por auscultación sobre la cara anteroventral del tórax (Busas, 1986).

El exudado bronquiolar se organiza en fibroblastos, y predominan células mononucleares en el exudado alveolar. La bronquiolitis obliterante es generalizada, pero existe reepitelización de la mucosa bronquiolar y de los alvéolos dañados (Blood y Radostits, 1992; Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994).

Manifestaciones clínicas

Sea cual fuere la identidad del virus causal, el cuadro clínico en todas las neumonías graves de los terneros es muy parecido. En la enfermedad experimental se comprueba reacción febril hacia el quinto día, seguida de rinitis, neumonía y diarrea leve. La fiebre es moderada (40 a 45.5°C). Es característica una tos seca y ronca que se estimula fácilmente por pellizcamiento o presión sobre la traquea. En los casos de campo, el cuadro clínico es casi idéntico, aunque la temperatura suele ser más alta. Esto podría deberse a la invasión bacteriana en etapas muy tempranas. La secreción nasal es moderada en cantidad, y mucopurulenta. Los ruidos respiratorios son fuertes y roncós, y representan tonos bronquiales transmitidos a través del pulmón endurecido. El latido cardíaco puede oírse más claramente que en animales sanos,

debido al arrugamiento del tejido pulmonar en el área cardiaca. Algunos casos sobreagudos de neumonía vírica no complicada los becerros mueren en pocas horas, mientras que en los de gravedad media suelen curar en 4 a 7 días (Blood y Radostits, 1992; Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994).

Cuando ocurre invasión secundaria por *Pasteurella multocida* se eleva la temperatura hasta 41 a 41.5°C, es mayor el área de pulmón afectada y los ruidos respiratorios aumentados consecutivos a la congestión y edema son sustituidos por estertores crepitantes y roce pleural. Cuando actúa *Actinomyces (Corynebacterium) pyogenes* como invasor secundario es intensa la consolidación, hay toxemia profunda y ruidos respiratorios muy fuertes. En casos con participación de *Fusobacterium necrophorus*, los signos clínicos son similares y es muy probable la formación de abscesos en los pulmones (Blood y Radostits, 1992; Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994).

Diagnóstico.

No suele ser difícil el diagnóstico de neumonía, pero la determinación de la causa de la neumonía es más difícil. Generalmente, se asume que los agentes causales pueden ser el virus PI-3 y/o el virus respiratorio sincitial bovino. La neumonía por nemátodos pulmonares suele ocurrir en terneros jóvenes que viven al aire libre y se caracteriza por disnea intensa, tos y muertes esporádicas. Puede haber antecedentes de enfermedad respiratoria en el grupo afectado aproximadamente unos 10 días antes (Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994).

Tratamiento

No es probable que la neumonía vírica no complicada responda al tratamiento, pero es esencial la terapéutica antibacteriana, debido a la probabilidad de invasiones secundarias. Deben utilizarse antimicrobianos de amplio espectro. Se han obtenido buenos resultados con sulfadimidina (sulfametacina) en dosis de 150 mg/kg. Es adecuada, una mezcla de penicilina y estreptomina, que tiene la ventaja de su bajo costo y facilidad de administración cuando es necesario tratar gran número de animales jóvenes no controlados. Las oxitetraciclinas de corta o larga duración, el cloránfenicol o las sulfamidas potenciadas con trimetopim también son eficaces y se recomiendan (Blood y Radostits, 1992).

En algunos casos, tal vez sea suficiente tratar a los animales una sola vez, pero una proporción de los casos, probablemente, recaigan después de una respuesta inicial. Estos casos requieren tratamiento repetido durante 3 a 5 días. Si es excesivo el número de recaídas en una zona o en una granja, todos los casos deberían recibir tratamiento múltiple. Después del tratamiento de animales individuales puede usarse alimento medicado con tetraciclina a dosis de 10 a 20 mg/kg de peso corporal todos los días durante 3 semanas, para mejorar el rendimiento durante la convalecencia (Christensen, 1995).

El empleo de broncodilatadores y fármacos antiinflamatorios no esteroideos, como la terapia coadyuvante para la neumonía vírica en terneros, sé esta estudiando; el flunixin meglumine, resulto tener afecto benéfico en la neumonía por virus de PI-3 inducida de forma experimental en terneros de 10 a 12 semanas. Todo tratamiento

de un brote de neumonía enzoótica en terneros debe incluir la corrección de las condiciones ambientales adversas que pueden haber desencadenado la enfermedad (Christensen, 1995).

Control

El control de esta enfermedad en terneros estabulados depende principalmente de un buen manejo. Los terneros recién adquiridos deben aislarse durante varias semanas antes de incorporarlos al grupo. La temperatura más conveniente para los terneros jóvenes varía entre 13 y 21°C, con humedad relativa del 70%. Para lograr estas condiciones ambientales se necesita un material adecuado de aislamiento en las paredes y los techos, amplia cobertura de piso para absorber la humedad de las heces y la orina, y renovación suficiente del aire para eliminar las partículas de aerosol que puedan ser infecciosas. Ello implica un sistema adecuado de entrada y salida de aire y un sistema de ventiladores con capacidad suficiente y calor complementario durante los períodos de mucho frío. Cuando la economía lo permite, lo ideal es construir un corral completamente lejos de los principales establos de vacas adultas para reducir al mínimo la propagación de las infecciones procedentes de los adultos que puedan ser portadores asintomáticos (Blood y Radostits, 1992; Mohanty y Dutta, 1983).

Rinotraqueitis Infecciosa Bovina

Sinonimias: nariz roja, IBR, VVPI, balanopostitis infecciosa.

Etiología

La rinotraqueitis infecciosa bovina, o infección por herpesvirus bovino 1, es una enfermedad altamente infecciosa. En los animales enfermos se observa rinotraqueítis, conjuntivitis y fiebre; la evolución es corta con una elevada tasa de recuperación. El virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina es similiar al virus de la vulvovaginitis pustular infecciosa (VPI) de las vacas y de la balanopostitis de los toros (Mohanty y Dutta, 1983; Pastoret, *et al.*, 1998).

Las características típicas incluyen un brote bien delimitado de enfermedad respiratoria aguda en un grupo de animales. La morbilidad varía del 25 al 50%, pero la mortalidad suele ser menor del 5%. Los animales tosen, hay disnéa, derrames serosos y nasales, agalactia en vacas lecheras y, además, por lo general, hay fiebre. Esta última suele persistir durante 3 a 5 días a pesar del tratamiento con antibióticos. La toxemia no es característica, a menos que haya neumonía bacteriana secundaria. La mayoría de los animales se recupera en un periodo de 5 a 7 días (Mohanty y Dutta, 1983; Blood y Radostits, 1992; Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994).

Patogenia

En la enfermedad respiratoria, el virus se multiplica en cavidades nasales y vías respiratorias superiores, lo que causa rinitis, laringitis y traqueítis. Hay pérdida

extensa de cilios en la traquea, lo que deja al epitelio traqueal descubierto de microvellosidades. Puede ocurrir una neumonía grave y mortal causada por el virus de la rinotraqueitis infecciosa bovina. La propagación desde las cavidades nasales hacia los tejidos oculares, probablemente, ocurre a través de los conductos lagrimales, y causa conjuntivitis con edema e hinchazón de las conjuntivas, formación multifocal de placas en las conjuntivas, edema corneal periférico y vascularización profunda. Puede ocurrir propagación a partir de la mucosa nasal, a través del nervio trigémino periférico hacia el ganglio trigémino (Mohanty y Dutta, 1983; Blood y Radostits 1992; Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994; Pastoret, *et al.*, 1998).

Manifestaciones clínicas.

El comienzo es brusco con signos graves que incluyen anorexia, fiebre (hasta de 42°C), hiperemia intensa de la mucosa nasal con muchos nódulos de focos grisáceos de necrosis en las mucosas del tabique nasal y visibles en el interior de las fosas nasales, excreción ocular y lagrimal sialorréa e hipersensibilidad. Como signo temprano en bovinos productores de leche cabe citar descenso drástico de la producción láctea. Se comprueba aumento de la frecuencia respiratoria con respiración superficial pero los pulmones son normales a la auscultación. La incapacidad respiratoria se manifiesta durante el ejercicio. En algunos brotes, ha sido característica una tos explosiva y breve. Puede producirse muerte súbita 24 horas después de la aparición de los primeros signos, como consecuencia de bronquiolitis obstructiva extensa (Mohanty y Dutta, 1983; Pastoret, *et al.*, 1998).

En el ganado lechero, pueden detenerse los signos clínicos en esta etapa, se normaliza la temperatura en el día 6 y el animal cura por completo en 10 a 14 días. En animales de engorde, la enfermedad suele ser más prolongada, el periodo febril más largo, la secreción nasal más profusa y purulenta, y la convalecencia más duradera. Pueden ocurrir algunas muertes en el periodo febril agudo, pero la mayor parte de las mismas se debe a bronconeumonía secundaria, y se observa después de una enfermedad prolongada, hasta de 4 meses, en que destacan como signos principales disnea intensa, anorexia y finalmente, decúbito. Algunos animales que curan quedan con respiración ruidosa persistente y engrosamiento de la mucosa nasal que se acompaña de secreción abundante (Mohanty y Dutta 1983; Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero 1994).

Patología clínica.

La rinitis aguda con lesiones nasales características, conjuntivitis bilateral, fiebre y recuperación gradual en pocos días debe sugerir la forma respiratoria de rinitis infecciosa bovina. La forma digestiva de la enfermedad en terneros produce lesiones bucales que pueden presentar algunos problemas de diferenciación con las enfermedades víricas de las vías digestivas del ganado. La difteria bovina puede parecerse a la rinitis infecciosa bovina por la disnea inspiratoria, pero las lesiones bucales y faríngeas, y la toxemia grave son típicas (Mohanty y Dutta, 1983).

Hallazgos de necropsia.

Las lesiones microscópicas quedan restringidas a hocico, cavidad nasal, faringe, laringe y tráquea, para terminar en los grandes bronquios. Puede haber enfisema pulmonar o bronconeumonía secundaria, pero en la mayor parte de los casos, los pulmones están sanos. En las vías respiratorias superiores se advierten grados variables de inflamación, pero las lesiones son esencialmente las mismas en todas las regiones anatómicas. En los casos leves, hay inflamación y congestión de mucosas, petequias y cantidad moderada de exudado catarral. En los graves, la inflamación es más intensa y el exudado profuso y fibrinopurulento. Cuando se retira el exudado, la mucosa aparece intacta, excepto por un pequeño número de focos necróticos en la mucosa nasal y denudación difusa del epitelio en la parte superior de la tráquea. Los ganglios linfáticos faríngeos y de la región cervical suelen estar inflamados y edematosos. Histológicamente, se advierte inflamación catarral aguda de la mucosa. No se registran cuerpos de inclusión en casos naturales, transitoriamente en células epiteliales respiratorias (Mohanty y Dutta, 1983; Blood y Radostits, 1992; Pastoret, *et al.*, 1998).

Diagnóstico.

El aislamiento del virus de frotis nasales usando cultivo tisular, combinado con un aumento de títulos de anticuerpos entre las fases aguda y convaleciente, son esenciales para el diagnóstico positivo del padecimiento. Se recomienda usar hisopos de algodón y poliéster y no los de alginato cálcico, que son viricidas en un plazo de 2 horas. Un hisopo nasofaríngeo modificado con cerdas de nylon tiene ciertas ventajas para la toma de muestras del tracto respiratorio bovino cuando se

buscan virus, en comparación con el hisopo de algodón. El virus puede detectarse en hisopos nasales mediante la utilización de la prueba de ELISA, técnicas de inmunofluorescencia directa e indirecta, inmunoperoxidasa y mediante microscopía electrónica que puede revelar partículas víricas similares a herpes. La sensibilidad de las técnicas de inmunofluorescencia directa es comparable a la técnica del cultivo celular. La prueba de ELISA se considera muy sensible. Se incrementará la recuperación del virus mediante una combinación de la prueba de inmunofluorescencia indirecta y aislamiento del virus, a partir de hisopos oculares y nasales de varios animales. En terneros infectados de forma experimental, el aislamiento del virus de cultivos celulares fue más sensible y eficaz incluso días después de la inoculación. La prueba de inmunofluorescencia directa, la de inmunoperoxidasa y la de ELISA son muy sensibles durante la fase piróxica, pero menos fiables en los últimos estadios de la enfermedad (Herring *et al.*, 1980; Busas *et al.*, 1986).

Tratamiento.

El tratamiento de los animales afectados, generalmente, no modifica el curso de la enfermedad. Se han empleado sin efecto alguno la mayor parte de los antibióticos, incluyendo la oxitetraciclina (Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994; Christensen, 1995).

Control.

Se recomienda el aislamiento de los bovinos afectados, pero el valor de esta medida es muy dudoso, en virtud del ritmo lento de propagación y por la incertidumbre en

cuanto se refiere al modo de transmisión. Debido a la observación de campo, en el sentido de que los ovinos son un medio importante para propagar la enfermedad, se ha recomendado la separación de bovinos y ovinos en los rebaños y se ha logrado de este modo la erradicación de la enfermedad en algunos casos. Debe evitarse la incorporación de ovinos procedentes de zonas infectadas. Los animales curados son inmunes a una nueva infección por una cepa homóloga durante 4 a 8 meses (Millar, 1991; Avila-García, 1995; Kelling, 1996).

Diarrea Viral Bovina (BVD)

El virus de la diarrea vírica bovina (DVB) origina varias enfermedades diferentes, entre las cuales se incluyen la infección benigna de la diarrea vírica bovina que suele ser subclínica; la enfermedad de las mucosas, que suele ser mortal y ocurre en animales que presentan viremia persistente, e inmunotolerancia específica, como consecuencia de una infección congénita adquirida al principio de la vida fetal y anomalías congénitas en terneros, debidas a la infección del feto (Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994; Christensen, 1995).

Etiología.

El virus de la diarrea vírica bovina es un Pestivirus de la familia flaviviridae (Mohanty y Dutta, 1983).

Epidemiología .

Las enfermedades originadas por el virus de la DVB se han registrado en la mayoría de los países donde se crían bovinos. Las investigaciones epidemiológicas establecen que un 60 a 80% de los bovinos de más de 1 año pueden tener anticuerpos séricos neutralizantes contra el virus. La introducción de vacas o novillas con infección persistente en un rebaño susceptible puede originar importantes pérdidas económicas (Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero, 1994; Dubovi, 1996).

Las hembras con viremia persistente pueden permanecer clínicamente normales durante varios años, pudiendo en este periodo de tiempo criar con éxito, y su descendencia también puede ser aparentemente normal, aunque se encuentren todos invariablemente con viremia persistente, ya que el feto puede infectarse por transmisión transplacentaria del virus a partir de la madre infectada. De esta forma se puede establecer una familia con viremia materna que puede persistir varias generaciones, proporcionando uno de los principales mecanismos para mantener el virus de forma endémica en el rebaño (Blood y Radostits, 1992; Dubovi, 1996).

Patogenia.

La patogenia de la enfermedad debida a la infección por el virus de la DVB se debe a varios hechos de la infección. Entre estos se incluyen la frecuencia de viremia, la capacidad del virus para comprometer el sistema inmunológico, la frecuencia de infección transplacentaria, la inducción de inmunotolerancia y la aparición de la inmunocompetencia fetal, aproximadamente a los 180 días de gestación. Aparte de los bovinos infectados por el virus *in útero*, la mayoría de los animales son

inmunocompetentes al virus y controlarán de forma satisfactoria en una infección natural, desarrollando anticuerpos y eliminando el virus de tal forma que no exista latencia, ni excreción del mismo. En consecuencia, la infección puede originar cualquiera de los siguientes cuadros: Infecciones postnatales, inmunosupresión, diarrea de terneros neonatos, fallo reproductivo, viremia persistente y enfermedad de las mucosas, enfermedad congénita, enfermedad de las mucosas aguda y crónica (Herring, 1980; Herrera y Saldaña, 1995).

Patología clínica.

El diagnóstico de la enfermedad de las mucosas suele hacerse con base en los hallazgos clínicos y patológicos característicos. Una leucopenia grave es característica de la enfermedad de las mucosas aguda. La disminución suele estar por debajo del 50% de las cifras normales y son frecuentes recuentos de leucocitos totales de 1000 a 3000/uL pudiendo persistir durante varias semanas (Blood y Radostits, 1992; Dubovi, 1996).

Hallazgos de necropsia.

Las lesiones encontradas en la necropsia suelen ser las mismas para la mayor parte de las formas conocidas de la enfermedad. Las anomalías microscópicas se localizan en el sistema gastrointestinal. Existen erosiones superficiales características con muy escasa inflamación en torno a las mismas y base roja descarnada en hocico y cavidad bucal y en menor grado en faringe, laringe y parte posterior de las fosas nasales, pero donde se hayan en mayor número es en el esófago, adoptando forma lineal y situadas en la dirección de los pliegues de la

mucosa esofágica. Pueden observarse lesiones análogas en los estómagos anteriores, casi siempre limitadas a los pilares del rumen y a las hojas del omaso. Histológicamente, las lesiones de las células escamosas de la mucosa del tracto alimentario comienzan por necrosis de células individuales, con pequeña inflamación o sin inflamación de la lámina propia. Si estos focos necróticos se rozan, se desarrollan erosiones y úlceras, yendo acompañadas de ulceraciones del epitelio escamoso e inflamación de la lámina propia. En el abomaso hay un eritema marcado de la mucosa, que se acompañan de múltiples hemorragias submucosas y de edema macroscópico de la pared. Las erosiones y úlceras son frecuentes en los lados de los pliegues del abomaso y pueden ser desde puntuales hasta de 1 cm o más de diámetro. Las lesiones tienen márgenes elevados con un halo pálido bien diferenciado (Mohanty y Dutta, 1983; Woodard, 1994).

En la diarrea vírica bovina crónica el epitelio necrótico puede no presentar erosiones causadas por movimientos del alimento y observarse en su lugar placas friables amarillas ligeramente elevadas, especialmente, entre las vellosidades de la lengua y el rumen. En los casos subagudos que evolucionan con curso muy prolongado pueden observarse muy pocas lesiones en la cavidad bucal, algunas en el esófago, en los estómagos y el intestino. Los defectos congénitos de los terneros consisten en hipoplasia cerebelosa, formación de cataratas, degeneración de la retina e hipoplasia, y neuritis de los nervios ópticos (Busas *et al.*, 1986; Woodard, 1994).

Diagnóstico

Los métodos serológicos utilizados para detectar virus no citopáticos en cultivo celular, virus o antígeno en tejidos como intestino, riñón o bazo de animales afectados, tejidos de fetos abortados, incluyen inmunofluorescencia directa o indirecta, tinción de anticuerpos ligada a enzimas o inmunodifusión. Las células epiteliales nasales recogidas con hisopos de algodón se tiñen por el método de anticuerpos fluorescentes para el diagnóstico de casos de campo del virus de la DVB en terneros y, utilizando una técnica similar. La detección de antígenos vírales en células obtenidas de la nasofaringe mediante hisopos de Belmont, resulta un método rápido y eficaz para la identificación de bovinos infectados de forma persistente, coincidiendo perfectamente con el aislamiento del virus de leucocitos y de sangre coagulada (Busas, *et al.* 1986; Woodard, 1994).

La prueba de precipitación por difusión en gel (GDP) se basa en un antígeno soluble asociado al virus. Como los antígenos comparables, asociados con diferentes pestivirus, incluyendo todas las cepas conocidas del virus de la DVB, son (mediante las técnicas utilizadas hasta la fecha) indistinguibles; una prueba GDP basada en ese antígeno reconocería las respuestas de los anticuerpos a todos los serotipos del virus de la DVB, y se dice que la prueba es específica de grupo. Otras técnicas serológicas, incluyendo la fijación del complemento (CF), inmunofluorescencia (IFA) o ensayos de inmunoabsorción ligada a enzima (ELISA), pueden, según como está preparado el antígeno, detectar anticuerpos frente a un número indeterminado de antígenos, y todas lo hacen realmente, aunque generalmente parecen reaccionar con todos los serotipos implicando que los antígenos o determinantes comunes a un

serotipo o específicos de grupo son los que dominan en estas reacciones. Dos pruebas de ELISA recientemente descritas son de gran sensibilidad serológica y es probable que también sean específicas de grupo (Herring *et al.*, 1980; Busas *et al.*, 1986; Dubovi, 1996).

El diagnóstico definitivo de la DVB crónica entraña problemas, porque a menudo los enfermos no tienen anticuerpos neutralizantes específicos, debido a inmunosupresión o incapacidad para secretar anticuerpos. Puede hacerse un diagnóstico de presunción con base a las manifestaciones clínicas de la enfermedad en su forma aguda, la falta de otras lesiones que expliquen la forma crónica de la enfermedad y la presencia de pancitopenia. El aislamiento del virus deberá siempre intentarse al mismo tiempo que el estudio histopatológico detallado del caso (Dubovi, 1996).

Tratamiento.

No existe tratamiento específico alguno para la enfermedad de las mucosas. El pronóstico de los casos graves acompañados de diarrea acuosa profusa y lesiones intensas de la boca es desfavorable, y debe considerarse la posibilidad de sacrificar al animal en beneficio de la economía. Los animales que sufren la forma crónica deberán ser sacrificados y destruidos. No hay informes de tratamientos con éxito de estos animales (Mohanty y Dutta, 1983; Blood y Radostits, 1992).

Control y prevención.

El control y prevención con éxito del complejo de diarrea vírica bovina o enfermedad de las mucosas dependerá de la identificación y erradicación de los animales con viremia y de la inmunización de los animales para cría antes de la etapa de reproducción. Detección y eliminación de animales con viremia persistente. Aquí, la estrategia básica es detectar y eliminar animales portadores. Al estudiar un rebaño, antes de eliminar la infección, a veces, puede no resultar práctico intentar aislar el virus de animales individuales para identificar directamente a los portadores. Bajo estas circunstancias puede obtenerse información en la que podría basarse una estrategia de control, a partir de un análisis cuidadoso de las pruebas serológicas para anticuerpos (Kelling, 1996; Dubovi, 1996).

Una consideración final debe ser el rebaño que ya se ha vacunado de forma natural. Mientras que en un rebaño con una prevalencia muy alta de anticuerpos naturales, los animales virémicos podrían reconocer como aquellos que todavía presentan defectos de anticuerpos. En el rebaño vacunado existe una complicación más, y es que los animales virémicos pueden responder a la cepa vacunal (si difiere serotípicamente de la del virus persistente) y producir anticuerpos que se reconocerían en la prueba de neutralización viral si existe alguna relación serológica entre las cepas de la vacuna y la prueba (Dubovi, 1996; Woodard, 1994).

Inmunización de hembras para la cría.

La prevención de la enfermedad de las mucosas en bovinos jóvenes de 6 a 24 meses era imposible hasta hace muy poco, ya que no se comprendía su patogenia. La prudencia convencional sugirió que los terneros debían vacunarse en el momento del destete o en sus proximidades, cuando el nivel de anticuerpos calostrales disminuía hasta un punto donde no interferían con la vacuna. En los últimos 20 años había vacunas vivas modificadas con el virus de la DVB, utilizándose con diversos grados de éxito aparente. Sin embargo, pocas pruebas clínicas, si acaso alguna, han examinado la eficacia de las vacunas en condiciones de campo (Woodard, 1994).

Virus Sincitial Respiratorio Bovino

Sinonimias: BRSV, Neumonía vírica en terneros mayores, añojos y bovinos adultos.

Etiología

Además de la neumonía enzoótica, que es una neumonía vírica de los terneros estabulados, puede ocurrir neumonía intersticial vírica aguda en terneros de 3 a 8 meses de edad criados a la intemperie, animales de un año, y bovinos adultos criados tanto estabulados como a la intemperie. Los virus, que, por lo general, se aíslan de los animales afectados, son el de parainfluenza 3, los adenovirus y el virus respiratorio sincitial bovino (un neumovirus de la familia *Paramyxoviridae*). La infección por el virus respiratorio sincitial bovino al parecer esta muy difundida, pero es mucho menor la incidencia de enfermedad clínica debida a este virus. Sin embargo, su presencia en las vías respiratorias y los datos de seroconversión frente

a los virus en bovinos de corta edad, no siempre se asocian con enfermedad clínica. Un alto porcentaje (71%) de los bovinos de los lotes de engorde pueden seroconvertirse al virus respiratorio sincitial bovino, lo que puede guardar relación con un aumento del riesgo al tratamiento subsecuente de enfermedad respiratoria. Los factores que predisponen a algunos bovinos a sufrir neumonía aguda, y a menudo mortal, no se han descrito, pero se consideran importantes los factores de stress asociados con la enfermedad respiratoria bovina aguda (Blood y Radostits, 1992).

La enfermedad ocurre en terneros de engorde de 3 a 6 meses de edad, que se encuentran en los pastizales junto con sus madres, sin que haya antecedentes de stress previo. En el caso del ganado lechero se cree que las introducciones recientes de bovinos de corta edad comprados en una exhibición pública, introducen la infección a bovinos de la granja que no habían tenido exposición previa al virus o que habían sufrido disminución de su inmunidad. Las vacas lecheras adultas son susceptibles. La enfermedad, con frecuencia, aparece en terneros de engorde de 6 a 8 meses de edad en el transcurso de 2 a 3 semanas después del destete y de mezclarlos en confinamiento. Son también susceptibles los bovinos de 1 año en cebaderos. La patología aún no se comprende bien del todo. El virus de la parainfluenza tipo 3, el adenovirus y el virus respiratorio sincitial de los bovinos son ubicuos y capaces de producir neumonía intersticial vírica. Sin embargo, por lo común los virus son relativamente inocuos y de forma experimental producen una enfermedad respiratoria transitoria (Blood y Radostits, 1992; Christensen, 1995).

No se han descrito los factores que causan neumonía mortal y aguda en 1 a 2 % de los animales en riesgo. Las características típicas incluyen un brote bien delimitado de enfermedad respiratoria aguda en un grupo de animales. La morbilidad varía del 25 al 50%, pero la mortalidad suele ser menor del 5%. Muchos animales tosen, hay disnea, derrames serosos y nasales, agalactia en vacas lecheras y por lo general, hay fiebre. Esta última suele persistir durante 3 a 5 días a pesar del tratamiento con antibióticos. La toxemia no es característica a menos que haya neumonía bacteriana secundaria. A la auscultación de los pulmones se aprecia aumento de los ruidos bronquiales en las caras ventrales (lo que indica endurecimiento) y sibilancias (lo que indica bronquiolitis). Estos son los hallazgos de la neumonía intersticial viral. La mayoría de los animales se recupera en un periodo de 5 a 7 días. Cerca del 1 al 2 % de los terneros sufren una neumonía vírica mortal, caracterizada por disnea grave, fiebre persistente e insuficiencia respiratoria grave, con respiración bucal después del inicio. Se escuchan fuertes ruidos bronquiales sobre los dos tercios ventrales de ambos campos pulmonares, lo que indica endurecimiento extenso. La enfermedad respiratoria aguda, debido a la infección por el virus respiratorio sincitial bovino en terneros para engorde destetados, se caracteriza por disnea intensa, anorexia, respiración bucal, fiebre, enfisema subcutáneo y muerte en pocos días. Además, puede haber antecedentes de enfermedad respiratoria en el grupo afectado varios días antes (Blood y Radostits 1992; Chamizo-Pestaña y Ramírez-Romero 1994).

Hallazgos de necropsia

En la necropsia, los hallazgos macroscópicos son los de neumonía. Se deben administrar antibióticos de amplio espectro en dosis diarias durante 3 a 5 días en el tratamiento de la neumonía bacteriana secundaria. La recuperación suele ocurrir gradualmente en un periodo de 3 a 5 días. Los animales gravemente afectados empeoran a pesar del tratamiento (Mohanty y Dutta 1983; Blood y Radostits 1992).

Diagnostico

Normalmente, no puede establecerse un diagnóstico etiológico definitivo basándose en los hallazgos clínicos. Sin embargo, la combinación de los hallazgos epidemiológicos y clínicos, normalmente, sugieren una enfermedad respiratoria vírica y aguda. Por lo general, no es posible ser más específico, sino que hay que limitarse a indicar el diagnóstico clínico de enfermedad respiratoria aguda no diferenciada causada por uno o más de los virus respiratorios. La enfermedad debe diferenciarse clínicamente de la rinotraqueitis infecciosa bovina, en la que las lesiones nasales son frecuentes y la neumonía no lo es, y de la pasteurelisis neumónica, en la que hay una bronconeumonía bacteriana y toxémica. Con frecuencia, hay leucopenia y neutropenia, lo que ayuda al diagnóstico. Las muestras obtenidas mediante hisopos nasofaríngeos para el aislamiento del virus y las muestras pareadas del curso son necesarias para establecer un diagnóstico etiológico definitivo. La tinción directa de los frotis nasofaríngeos con suero hiperinmune inmunofluorescente es útil para el diagnóstico de infección por el virus respiratorio sincitial bovino. También se dispone de la prueba indirecta de anticuerpo fluorescentes para detectar el virus respiratorio sincitial bovino (Mohanty y Dutta 1983; Blood y Radostits 1992).

Control

El control se fundamenta en reducir al mínimo los factores de stress asociados con la enfermedad respiratoria en bovinos de corta edad (Blood y Radostits 1992).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los virus del Complejo Respiratorio Bovino (CRB) producen enfermedades altamente contagiosas, que aunque no presentan mortalidad elevada en los animales adultos, si causan bajas en la producción y la reproducción. Epidemiológicamente se ha demostrado que su diseminación se da a través de animales portadores sanos, que eliminan los virus en sus secreciones, incluyendo el semen (Mohanty y Dutta 1983; Blood y Radostits 1992).

En México se ha demostrado su presencia en varios estados y en diferentes razas de ganado bovino de engorda o lechero. En algunas regiones del país estas enfermedades con signología muy parecida no son diagnosticadas correctamente, y no se les da la importancia que deberían de tener, por lo que no se promueve su diagnóstico correcto, ni su vacunación, propiciando con esto la posibilidad de un brote epizootico mayor.

Los virus del CRB tienen varias formas de presentación clínica, pero las formas respiratorias son muy similares por lo que pueden confundirse entre sí o con cualquier otra infección respiratoria de origen bacteriano. Esto hace que algunos brotes sean confundidos con otras enfermedades o simplemente no se detecten en las etapas iniciales, provocando un daño severo al hato al afectar a los animales jóvenes y a los que están en producción. Para lograr el diagnóstico de las enfermedades que producen los virus del CRB se deben considerar las lesiones y la historia clínica individual y del hato, pero esto en muchas ocasiones no es suficiente

por lo que es necesario el empleo de técnicas de laboratorio para lograr un diagnóstico preciso (Herring *et al.* 1980; Dubovi 1996; Pastoret *et al.* 1998).

Actualmente no existe un estudio en México en el que se haya determinado en un mismo animal y simultáneamente la presencia de anticuerpos contra las cuatro enfermedades virales del Complejo Respiratorio Bovino.

JUSTIFICACIÓN

Las técnicas serológicas son una buena opción para realizar monitoreos en hatos donde no se ha vacunado, ya que la identificación de anticuerpos contra los virus de CRB en los animales demuestra que los animales estuvieron en contacto específicamente con uno o varios de estos virus.

Los pequeños productores del Municipio de Zapotlanejo no tienen por costumbre vacunar contra los virus del CRB, por lo que la presencia de anticuerpos contra uno o varios de estos virus indica que estos están o estuvieron en contacto con animales del establo y que han de ser responsables de un buen número de problemas de salud en el establo.

En la actualidad, se ha establecido que el virus de IBR es el más frecuente de los virus del CRB que se detecta, desconociéndose la situación existente para los otros virus. Por ello se hace necesario realizar el presente trabajo que permite conocer la presencia de anticuerpos contra virus del CRB en ganado bovino del Municipio de Zapotlanejo, Jal., permitiendo con ello sentar bases para proponer medidas de control y profilaxis contra las enfermedades del CRB.

HIPOTESIS

Si existe la presencia de enfermedades respiratorias en el ganado bovino del Municipio de Zapotlanejo, Jal., entonces es probable que por lo menos uno de los virus del CRB también este presente.

OBJETIVOS

General:

1. Determinar la presencia de anticuerpos contra los virus del Complejo Respiratorio Bovino en el ganado bovino del Municipio de Zapotlanejo, Jal.

Particulares:

1. Determinar el porcentaje de presentación de anticuerpos contra el de IBR, BVD, PI3 y RSV en el ganado muestreado.
2. Determinar las combinaciones en que se presentan los virus del Complejo Respiratorio Bovino en Zapotlanejo, Jal.

MATERIAL Y METODO

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Virología del Centro de Investigaciones en Patología Animal del Departamento de Medicina Veterinaria de la Universidad de Guadalajara.

Se realizó el muestreo al azar de 96 animales hembras, de establos del Municipio de Zapotlanejo, que tuvieran como antecedente el no haber sido vacunados contra IBR, BVD, PI3 o BSRV que son los virus que forman el CRB.

Se tomaron las muestras por punción en la vena coccígea y se depositó la sangre en un tubo sin anticoagulante, se identificaron con números progresivos a los animales y las muestras que se obtuvieron. Se dejó reposar la sangre por cinco minutos y después con un aplicador de madera se separó el coágulo de las paredes del tubo para que se pudiera retraer. En el laboratorio de Virología del Departamento de Medicina Veterinaria las muestras se centrifugaron a 1500 r. p. m. por 5 min., al finalizar en tiempo, se separó el suero que se congeló a -20°C hasta su uso.

Se utilizaron 4 kits de diagnóstico de ELISA para 96 pruebas cada uno. En cada kit se determinó la presencia de un anticuerpo sérico para un tipo de virus diferente. Las muestras ya recolectadas, se descongelaron y se procedió a efectuar la técnica de ELISA de acuerdo con el procedimiento establecido por el fabricante de los kits de diagnóstico (Svanova Biotech).

Cada kit para el diagnóstico de anticuerpos séricos contra IBR, BVD, PI3 o VSRB consta de:

1. Reja con 96 pocillos
2. Conjugado enzimático de IBR, BVD, PI3 o VSRB
3. Tabletas de PBS
4. Solución sustrato
5. Solución de interrupción
6. Suero de referencia positivo
7. Suero de referencia negativo

La lectura de los resultados se hizo de manera visual detectando los cambios de color en los pocillos de la placa donde se realizó la prueba. Un color azul en el pocillo determinó que la muestra es negativa a la presencia de anticuerpos en sangre. Un pocillo incoloro determinó que la muestra es positiva a la presencia de anticuerpos contra alguno de los virus del CRB en el suero.

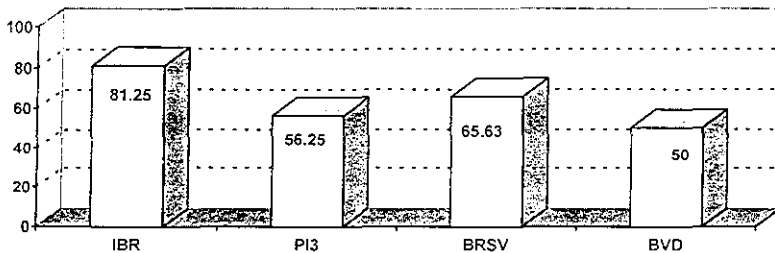
Una vez procesadas las muestras, los resultados obtenidos fueron organizados y presentados tablas o graficas.

RESULTADOS

Después de realizar las pruebas de ELISA para determinar en el suero la presencia de anticuerpos contra los virus de IBR, PI3, BRSV y BVD, se obtuvieron los resultados que a continuación se mencionan.

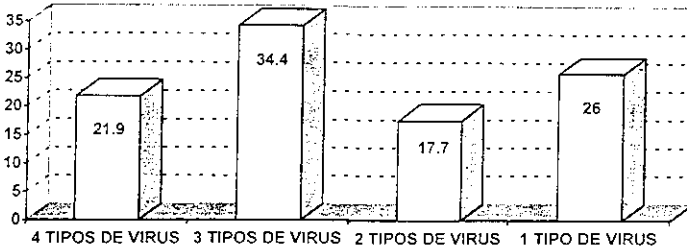
De las 96 muestras obtenidas, 78 (81.25 %) resultaron positivas a anticuerpos contra IBR, 54 (56.25 %) fueron positivas a anticuerpos contra PI3. Positivas a anticuerpos contra BRSV se obtuvieron 63 (65.63 %) y anticuerpos contra BVD se obtuvieron en 48 (50.0 %) muestras (fig. 1).

Fig. 1 Porcentaje de muestras positivas a la presencia de anticuerpos contra virus del CRB



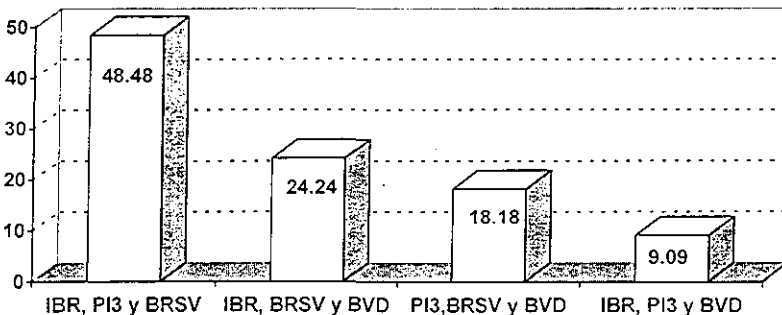
Se encontró que 21 (21.9 %) muestras fueron positivas a anticuerpos contra los cuatro virus de Complejo Respiratorio Bovino, 33 (34.4%) contra tres; 17 (17.7%) contra dos y 25 (26%) tuvieron anticuerpos contra uno de los virus del Complejo Respiratorio Bovino. Ninguna de las 96 muestras resultó completamente negativa (Fig. 2).

Fig. 2 Porcentaje de muestras positivas a la presencia de anticuerpos contra los diferentes tipos de virus.



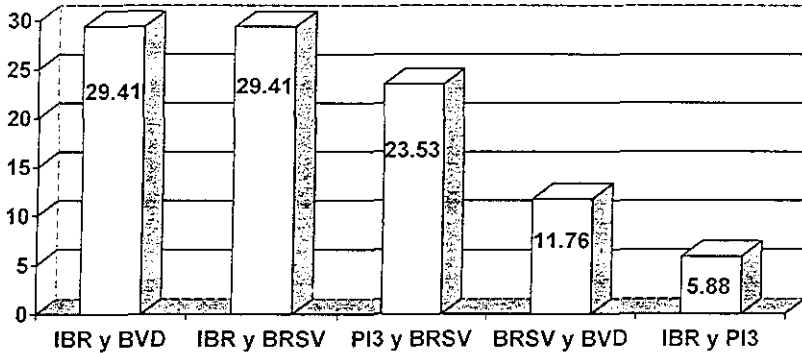
De las 33 muestras positivas a tres tipos de virus se encontraron 16 (48.48%) con anticuerpos contra los virus de IBR, PI3 y BRSV; 8 (24.24%) contra IBR, BRSV y BVD; 6 (18.18%) contra PI3, BRSV y BVD; y 3 (9.09%) contra IBR, PI3 y BVD. (Fig. 3)

Fig. 3 Porcentaje de muestras positivas a la presencia de anticuerpos contra tres tipos de virus.



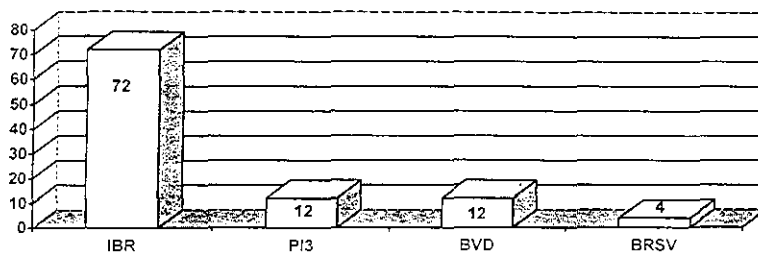
De los 17 sueros positivos contra dos de los cuatro virus del Complejo Respiratorio Bovino se encontraron 5 (29.41%), con anticuerpos contra IBR y BVD; 5 (29.41%) contra IBR y BRSV, 4 (23.53%) contra PI3 y BRSV, 2 (11.76%) BRSV y BVD; y 1 (5.88%) contra IBR y PI3 (Fig. 4)

Fig. 4 Porcentaje de muestras positivas a la presencia de anticuerpos contra dos tipos de virus.



De las 25 muestras que resultaron positivas a anticuerpos contra un solo virus de los cuatro que componen el Complejo Respiratorio Bovino, 18 (72.0%) resultaron positivas contra IBR, 3 (12.0%) contra PI3, 3 (12.0 %) contra BVD y solo uno (4.0%) contra BRSV (Fig. 5)

Fig. 5 Porcentaje de muestras positivas a la presencia de anticuerpos contra un tipo de virus.



Con los resultados se realizó una prueba de asociación de variables mediante un análisis de regresión y se determinó que existe correlación entre la presencia de anticuerpos de IBR y PI3, IBR y DVB, PI3 y VSRB, PI3 y DVB, VSRB y DVB. No se encontró correlación entre IBR y VSRB.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos a partir de los estudios realizados por distintos investigadores de diferentes universidades o institutos de investigación, la mayoría de ellos utilizando pruebas de ELISA, dejan de manifiesto la presencia de anticuerpos, en distintas partes del mundo, contra uno, varios o todos los virus que forman el complejo respiratorio bovino.

Con respecto a los resultados que se obtuvieron en la seroprevalencia para el virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) que en el presente trabajo fue de 81.25 %, en la bibliografía consultada el único estudio que encontró una seroprevalencia mayor fue el realizado en Hungría por Kudron (1996), él encontró un 97.7 % de seropositividad.

Un resultado que se podría considerar igual o muy parecido (10% +/- al que se obtuvo) son los de Biuk-Rudan *et al.* (1999) realizado en Croacia, en donde se obtuvo una prevalencia de 85.8%, y el de Rinaldi *et al.* (2004) realizado en Italia se encontró un 77.5 % de anticuerpos séricos contra IBR. Las cifras anteriores solo son 4% mayores o menores que las encontradas en este muestreo.

Investigaciones con resultados menores (10% menor que lo obtenido) fueron las realizadas por Tekes *et al.* (1997) en Hungría con 64.1%, Yavru *et al.* (2005) en Turquía con 57.8%, en la India, Renukaradhya (1996) encontró una seroprevalencia de 50.29%, Rusvai y Fodor (1998), Miklos *et al.* (1999) ambos en Hungría

encontraron 45% de presentación de anticuerpos sanguíneos. El estudio de Noordegraaf *et al.* (1993) realizado en Holanda encontró un 42%. En Venezuela Riedermann *et al.* (1996) obtuvieron 41% de seropositividad. Mas recientemente en Zambia Mweene y *et al.* (2003) encontraron un 48%, en Polonia Rola *et al.* (2005) encontraron 37.7% de prevalencia. Tan *et al.* (2006) y Ata *et al.* (2006) ambos en Turquía encontraron 19.5% y 12.5% respectivamente.

Son de hacer notar las seroprevalencias con valores tan bajos que encontraron investigadores como Achour y Mousa (1996) quienes reportaron un 20.5% de prevalencia de IBR en Argelia; este porcentaje resulta muy bajo comparado el del presente estudio, esto puede deberse a que ese país es mas grande que México, con menor población y con una ganadería poco desarrollada que depende mucho de productos importados ya que pocos animales en una extensión amplia de terreno no favorecen la diseminación de enfermedades.

Cifras significativamente bajas son las de Kampa *et al.* (2004) que en Tailandia encontraron 5% de prevalencia. Los autores explican el porcentaje tan bajo debido a un proceso de eliminación de los animales importados que presentaban la infección y a las medidas que evitaron su distribución a mas zonas geográficas, se espera que con el tiempo y que en caso de continuar con las medidas adecuadas de bioseguridad, la prevalencia vaya disminuyendo aun mas.

En el caso del Virus Sincitial Respiratorio Bovino (BRSV) se han hecho varios estudios serológicos, algunos de ellos con resultados muy parecidos, pero que se

podrían considerar con una prevalencia alta si se comparan con los obtenidos en este estudio (65.63%), por ejemplo Costa *et al.* (2000) en Uruguay encontraron 95% de seroprevalencia, muy similar al de Woldemeskel *et al.* (2000) en Etiopia con 95.2%. Resultados un poco menores a los anteriores pero todavía por encima de los que se obtuvieron en el presente estudio fueron los de Elvander (1996) y Kudron (1996) el primero con 84.89% y el segundo con 80.0%, uno realizado en Suecia y el otro en Hungría.

Resultados que se podrían considerar como similares o muy parecidos (10% +/-) a los obtenidos en el presente estudios serían los que reportaron Peinhopf *et al.* (1996) con un 71.7% en Alemania, Grubbs *et al.* (2001) en Estados Unidos de Norteamérica con 56.6% y Obando *et al.* (2002) en Venezuela con 56.9 %.

Resultados que se encontraron por debajo de los reportados en el presente análisis fueron realizados por Riedermann *et al.* (1996) en Alemania con 51.8%, Hazari *et al.* (2002) con 46% en la India y Yavru *et al.* (2005) con 46.06% en Turquía. Hagglund *et al.* (2006) en Suecia encontró 30% de bovinos con anticuerpos séricos contra BRSV.

Con respecto a la Diarrea Viral Bovina (BVDV) el porcentaje encontrado en este estudio fue de 50%. Los estudios realizados por Braun *et al.* (1997) en Austria, los de Biuk-Rudan *et al.* (1999) en Croacia y los de Tan *et al.* (2005) en Turquía, fueron de un porcentaje mayor, ya que estas fueron seroprevalencias de 83.7%, 79.2% y 86% respectivamente.

Resultados de muestreos realizados que obtuvieron un porcentaje muy parecido al aquí realizado (10% más o menos), fueron los de Riederman *et al.* (1996) en Venezuela con 50.9%, Yavru *et al.* (2005) en Turquía con 44.09% y los de Rola *et al.* (2005) en Polonia con 47.2%.

Seroprevalencias más bajas fueron las encontradas por Sadharshana *et al.* (1999) en la India con un 15.29%, Kudron (1996) en Hungría con el 17.9%, Peinhopf *et al.* (1996) con 28.3% estudio realizado en Alemania. Kampa *et al.* (2004) en Tailandia reportan un porcentaje de 24%, en Europa Niza-Ribeiro (2005) con un estudio realizado en Portugal reportan 27% de prevalencia, en ese mismo año, pero en Canadá, VanLeeuwen *et al.* (2005) reportan 29.2% y en un nuevo estudio también en Canadá pero realizado por Scott *et al.* (2006) encontraron 37.3% de animales seropositivos a BVDV.

Un porcentaje que llama mucho la atención es el reportado por Hagglund *et al.* (2006) en un estudio que se realizó en Suecia, en donde se reporta una seroprevalencia de 8% que es realmente muy baja, pero se explica este resultado debido al buen éxito del programa de control voluntario contra la Diarrea Viral Bovina.

En los resultados obtenidos en otros estudios para la Parainfluenza-3 del bovino, que en el presente estudio fue de 56.25%, se observa en general una prevalencia mucho mayor, así es el caso de Peinhopf *et al.* (1996) que en Alemania encontraron 88.3%, Riedermann *et al.* (1996) que encontraron 97.1% en estudio realizado en Venezuela,

también en ese año Kudron (1996) en Hungría encontró una prevalencia elevada de 93.7%. Rusvai y Fodor (1998) y Miklos *et al.* (1999) ambos en Hungría encontraron un mismo resultado que fue de 76%. Yavru *et al.* (2005) obtuvieron en Turquía 53.93% de prevalencia para PI3. En un estudio mas reciente, Hagglund *et al.* (2006) reportan 48% de animales seropositivos a PI3.

CONCLUSIONES

1. Los virus del CRB están o estuvieron presentes en el área muestreada y tuvieron contacto con los bovinos. debido a esto los animales respondieron produciendo anticuerpos contra ellos.
2. Todas las muestras analizadas fueron positivas por lo menos a uno de los virus del CRB.
3. Los anticuerpos mas frecuentes en el suero fueron los de IBR con el 81.25%.
4. Las muestras con mayor presencia de anticuerpos contra los virus del CRB fueron aquellas que se encontraron positivas a 3 de los 4 virus en estudio y representaron el 34.4%.
5. La combinación de anticuerpos séricos mas frecuentemente encontrada fue la de IBR-PI3-RSBV-BDV con 21.9% y después la de IBR-PI3-BRSV con 16.6%.

BIBLIOGRAFIA

Achour, H. A.; Moussa, A. Serological and virological studies on the infectious bovine rhinotracheitis in Algeria. *Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health.* 43:251-256; 1996.

Ata, A.; Kale, M.; Yavru, S.; Bulut, O.; Buyukyoruk, U. The effect of subclinical bovine herpesvirus 1 infection on fertility of cows and heifers. *Acta Veterinaria-Beograd.*56:267-273;2006.

Avila-Garcia, J. Abortos, causas y prevención. *Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatria.* 1995. FMVZ UNAM. pp. 58- 68.

Biuk-Rudan, N.; Svetnic, S.; Madic, J.; Rudan, D. Prevalence of antibodies to IBR and BVD viruses in dairy cows with reproductive disorders. *Theriogenology.* 51(5):875-871. 1999.

Blood, D. C.; Radostits O. M. *Medicina Veterinaria. Séptima Edición Volumen II.* 1992. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana pp.

Braun, U.; Landolt, G.; Brunner, D.; Giger, T. Epidemiological survey of the seroprevalence of bovine virus diarrhoea mucosal disease in 2892 cows and heifers from 95 dairy farms. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde.* 139(4): 172-176; 1997.

Busas, M. H.; Westcott, D. G. F., Edwards, S. R. H., Swallow, C.: Immunofluorescence and cell culture techniques in the diagnosis of infection of aborted bovine fetuses. *The Veterinary Record.* 118: 242-243; 1986.

Chamizo-Pestaña, E. G. ; Ramírez-Romero, R. *Memorias de: Curso Teórico-Practico sobre los principales padecimientos del ganado bovino en corral de engorda..* Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, Baja California. Abril 5-8 de 1994.

Christensen, C. R. ; Complejo Respiratorio Infeccioso Bovino XIX Congreso Nacional de Buiatria 1995.. Houston, Texas. U.S.A. pp.1-8.

Costa, M.; Garcia, L.; Yunus, A. S.; Rockemann, D. D.; Samal, S. K.; Cristina, J.: Bovine respiratory syncytial virus: first serological evidence in Uruguay. *Veterinary Research.* 31: 241-246; 2000.

Dubovi, E. J. Laboratory diagnosis of bovine viral diarrhoea virus infections. *Vet. Med.* 97: 867-874; 1996.

Elvander, M. Severe respiratory disease in dairy cows caused by bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Record.* 138:101-105; 1996.

Fenner, F.; Bachmann, p. A.; Gibbs, e. P. J.; Murphy, F. A.; Studdert, M. J.; White, D. O. *Virología Veterinaria*. Ed, Acribia S.A. Zaragoza, España. Pp 358-363, 477-480, 510-511, 519-521. 1992.

Grubbs, S. T.; Kania, S. A; Potgieter, L. N. D. Prevalence of ovine and bovine respiratory syncytial virus infections in cattle determined with a synthetic peptide-based immunoassay. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 13:128-132; 2001.

Hagglund, S.; Svensson, C.; Emanuelson, U.; Valarcher, J. F.; Alenius, S. Dynamics of virus infections involved in the bovine respiratory disease complex in Swedish dairy herds. *Veterinary Journal*. 172:320-328; 2006.

Hazari, S.; Panda, HK.; Kar, BC.; Das, BR. Comparative evaluation of indirect and sandwich ELISA for the detection of antibodies to bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in dairy cattle. *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Disease*. 25:59-68; 2002.

Herring, A. J.; Nettleton, P. F.; Burrells, C. A. Micro-enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus. *Veterinary Record* 10:155-156; 1980.

Herrera y Saldaña, R.; El problema de los Abortos en la comarca Lagunera. Gerencia de asistencia Técnica. Grupo La La, 1995. pp.10 – 22.

Kampa, J.; Stahl, K.; Moreno-Lopez, J.; Chanlun, A.; Aiumlamai, S. A.; Alenius, S. BVDV and BHV-1 infections in dairy herds in northern and northeastern Thailand. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 45:181-192; 2004.

Kelling, C. L.; Planning bovine viral diarrhoea virus vaccination programs. *Vet. Med*. 97:873-877; 1996.

Kudron, E. Prevalence of seropositivity against certain viral diseases in cattle in the western transdanubian region of Hungary between 1972-1996. *Magyar Allatorvosok Lapja*. 121(5): 264-266; 1999.

Miklos, R.; Izadpanah, R.; Laszlo, F. Etiology of respiratory disease complex in some hungarian ruminant livestock. *Magyar Allatorvosok Lapja*. 121(5):255-259; 1999.

Miller, J. M.; The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. *Vet. Med* 86:95-99; 1991.

Mohanty, S. B.; Dutta, S. B., *Virologia Veterinaria Primera Edición*. Editorial Interamericana; pp.103-123 1983:

Mweene, A. S.; Fukushi, H.; Pandey, G. S.; Syakalima, M.; Simuunza, M.; Malamo, M.; Nambota, A.; Samui, K. L.; Tsubota, T.; Nakazato, Y.; Onuma, M.; Yasuda, J. The prevalence of bovine herpesvirus-1 in traditional cattle in Southern Province,

Zambia. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*. 22:873-877; 2003.

Niza-Ribeiro, J.; Pereira, A.; Souza, J.; Madeira, H.; Barbosa, A.; Afonso, C. Estimated BVDV-prevalence, -contact and -vaccine use in dairy herds in Northern Portugal. *Preventive Veterinary Medicine*. 72:81-85; 2005.

Noordegraaf, A. V.; Buijtsels, J. A. A. M.; Franken, P.; Stegemen, J. A.; Verhoeff, J. An epidemiological and economic simulation model to evaluate the spread and control and control of infectious bovine rhinotracheitis in the Netherlands. *Preventive Veterinary Medicine*. 36:219-238; 1998.

Obando, C.; Hidalgo, M.; Rodriguez, J.; Montoya, A. Serological evaluation of bovine respiratory syncytial virus in cattle herd of Venezuela. *Revista Científica-Facultad de Ciencias Veterinarias*. 12:308-312; 2002.

Pastoret, P. P.; Aguilar-Setin, A.; Gardart, M.; Lamy, M. E.; Schoenaers, F. Comparison between strains of infectious bovine rhinotracheitis virus from respiratory origin. *Journal of Veterinary Diagnostic & investigation*, 10:331-337; 1998.

Peinhopf, W.; Deutz, A.; Kofer, J.; Schuller, W.; Hinterdorfer, F.; Mostl, K. Microbiological, serological and clinical examinations of crowding diseases in cattle. *Tierärztliche Umschau*. 51(12): 747-753; 1996.

Renukaradhya, G. J.; Rajasekhar, M.; Raghavan, R. Prevalence of infectious Bovine Rhinotracheitis in southern India. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*. 15:1021-1028; 1996.

Riedemann, S.; Reinhardt, G.; Tadich, N.; Aguilar, M.; Aguilar, R.; Montecinos, M. I.; Miranda, J. C. Seroprevalence of BVDV, BHV-1, PI-3 and BRSV in 12 dairy farms in the province of Valdivia. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 28(1):121-124; 1996.

Rinaldi, L.; Pacelli, F.; Iovane, G.; Pagnini, U.; Veneziano, V.; Fusco, G.; Cringoli, G.; Survey of *Neospora caninum* and bovine herpes virus 1 coinfection in cattle. *Parasitology research*. 100:359-364; 2007.

Rola, M.; Polak, M.; Rola, J.; Bicka, L.; Zmudzinski, J. F.; Kuzmak, J. Bovine immunodeficiency virus (BIV) infection in respect to BHV-1, BLV and BVDV coinfections. *Medycyna Weterynaryjna*. 61:286-289; 2005.

Rusvai, M.; Fodor, L. Occurrence of some virus and bacteria involved in respiratory diseases in ruminant in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*. 46:405-414; 1998.

Sadharshana, K. J.; Suresh, K. B.; Rajasekhar, M. Prevalence of bovine viral diarrhoea virus antibodies in India. *Revue Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*. 18:667-671. 1999.

- Scott, H. M.;** Sorensen, O.; Wu, J. T. Y.; Chow, E. Y. W.; Manninen, K.; VanLeeuwen, J. A. Seroprevalence of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, Neospora caninum, Bovine leukemia virus, and Bovine viral diarrhoea virus infection among dairy cattle and herds in Alberta and agroecological risk factors associated with seropositivity. *Canadian Veterinary Journal-Revue Veterinaire Canadienne*. 47:981-991; 2006.
- Tan, M. T.;** Karaoglu, M. T.; Erol, N.; Yildirim, Y. Serological and virological investigations of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in dairy cattle herds in Aydin province. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 30:299-304; 2006.
- Tan, M. T.;** Yildirim, Y.; Erol, N.; Gungor, A. B. The Seroprevalence of bovine herpes virus type 1 (BHV-1) and bovine leukemia virus (BLV) in selected dairy cattle herds in Aydin Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 30:353-357; 2006.
- Tekes, L.;** Markos, B.; Kecskemeti, S.; Mehesfalvi, J.; Mate, Z.; Kudron, E. Prevalence of bovine herpesvirus 1 (BHV-1) infection in Hungarian cattle herds. *Acta Veterinaria Hungarica*. 47(3):303-309; 1999.
- VanLeeuwen, J. A.;** Forsythe, L. A.; Tiwari, A.; Chartier, R. Seroprevalence of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and Neospora caninum in dairy cattle in Saskatchewan. *Canadian Veterinary Journal-Revue Veterinaire Canadienne*. 46:56-58; 2005.
- Woldemeskel, M.;** Kebede, E.; Yigesu, L.; Potgetier, L. N. D. Prevalence of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine herpesvirus-4 in cattle from Ethiopia. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 107:464-466; 2000.
- Woodard, L. F.** BVD virus associated with outbreaks of abortion, stillbirths, and weak calves. *Vet. Med*. 92:379-388; 1994.
- Yavru, S.;** Simsek, A.; Yapkic, O.; Kale, M. Serological evaluation of viral infections in bovine respiratory tract. *Acta Veterinaria-Beograd*. 55:219-226; 2005.