

Prevalencia de anticuerpos contra *H. somnus* en el ganado bovino del estado de Chiapas, México*

Marcelino Güiris Andrade**
María Eugenia Rosales***
Gabriela Bárcenas Morales***
Virginia Lara Sagahon***
Juan Antonio Montaraz Crespo***

Abstract

In order to establish the possible prevalence and distribution of bovines with antibodies to *Haemophilus somnus* in the state of Chiapas, 787 serum samples from three geographic zones (central, north and coast) were obtained and classified according to sex and type of operation (extensive or intensive). Samples were tested in an immunoenzymatic assay (ELISA) developed as part of this study. Fifty two samples gave a positive result - 6.6% of total prevalence for the state. The highest seroprevalence corresponded to the central zone (15.5%). Seroprevalence in intensive operations was 7.1%, while in extensive ones the figure was 5.94%. With regard to sex, 5.2% females and 23.7% males were positive; most of the latter came from abroad. Out of 198 females with a reproductive failure, 10 (5.0%) were seropositive to *H. somnus*, 23 (11.6%) to infectious bovine rinotracheitis, and 17 (8.5%) to leptospirosis.

Key words: PREVALENCE *HAEMOPHILUS SOMNUS*, BOVINES, CHIAPAS.

Resumen

Con el propósito de conocer la posible prevalencia y distribución de bovinos con anticuerpos contra *Haemophilus somnus* en Chiapas, México, se obtuvieron 787 muestras séricas en tres zonas geográficas: Centro, costa y norte; las muestras también fueron clasificadas de acuerdo con el sexo y tipo de explotación (extensiva o intensiva). Las muestras fueron probadas en un ensayo inmunoenzimático (ELISA) desarrollado como parte de este estudio. Se encontraron 52 muestras positivas, lo que equivale a 6.6% de seroprevalencia global para el estado; la mayor seroprevalencia se encontró en la zona centro (15.5%). La seroprevalencia en explotaciones intensivas fue de 7.1% y en las extensivas 5.9%. Asimismo, la seroprevalencia para las hembras fue de 5.2% y en los machos de 23.7%, la mayor parte de estos últimos eran de procedencia extranjera. De 198 hembras con historial clínico de disfunción reproductiva se encontraron diez (5.0%) seropositivas a *H. somnus*, 23 (11.6%) a rinotraqueítis infecciosa bovina y 17 (8.5%) a leptospirosis.

Palabras clave: PREVALENCIA *HAEMOPHILUS SOMNUS*, BOVINOS, CHIAPAS.

Recibido el 24 de agosto de 2000 y aceptado el 26 de enero de 2001.

* Estos resultados constituyen parcialmente la tesis de maestría del primer autor.

** Departamento de Ciencias Médico-Veterinarias, Universidad Autónoma de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

*** Laboratorio de Inmunología, Coordinación de Estudios de Posgrado, Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 54700, México.

Autor responsable: Juan Antonio Montaraz Crespo, Laboratorio de Inmunología, Coordinación de Estudios de Posgrado, Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 54700, México. Teléfono-Fax (01) 58 70 56 71. E-mail: montaraz@servidor.unam.mx

Introducción

A partir de 1970 *Haemophilus somnus* ha sido comúnmente asociado a septicemia y meningoencefalitis tromboembólica (TEME) en ganado de abrevadero; en forma similar, al aborto en el ganado bovino también se le asocia con este microorganismo;¹ asimismo, se le ha descrito en casos de mastitis bovina.² En este contexto, a esta bacteria se le identifica con el síndrome del becerro débil, conjuntivitis, vulvovaginitis granular aguda, cervicitis y fiebre de embarque.^{1,3-5} Como se aprecia, las infecciones del ganado por *H. somnus* involucran a gran variedad de sistemas, por esta razón se le denomina síndrome de hemofilosis bovina.⁶

En México, Correa *et al.*⁷ realizaron el primer estudio relacionado con *H. somnus* y detectaron anticuerpos en suero de bovinos con historia clínica de padecimientos reproductivos y respiratorios.

La epizootiología y patogénesis de *H. somnus* ha sido mal documentada y excesivamente hipotética, extrapolando esta información de estudios de infecciones naturales o experimentales que se centran en aspectos clínicos y bacteriológicos.⁴ En la actualidad el tracto reproductivo debería ser considerado el reservorio más común de *H. somnus*, ya que puede eliminar el organismo en la orina o en descargas que contaminan el ambiente; los machos podrían ser infectados por inhalación de partículas en aerosol conteniendo a la bacteria.

La presencia de *H. somnus* como habitante normal de la vagina de los bovinos no ha recibido la atención debida, porque normalmente se le considera un germen saprofita, y porque raramente se le ha aislado del útero u otras estructuras del tracto genital. Sin embargo, en investigaciones recientes se ha demostrado que esta bacteria afecta útero, placenta, feto y ovarios; su presencia en el prepucio y semen de los toros es importante.^{6,8,9} De igual manera, la importancia de este microorganismo en la infertilidad de los bovinos no ha sido evaluado y se requiere urgentemente de investigaciones epidemiológicas en el ámbito regional, en particular de hatos lecheros con problemas de infertilidad crónica en donde las descargas vaginales normalmente se atribuyen a *Corynebacterium pyogenes*, y a efectos normales del puerperio; y en ganado productor de carne en el que las descargas vaginales después de la monta se le atribuyen a otras infecciones virales y bacterianas.^{10,11}

La ganadería bovina representa una de las principales actividades económicas y pecuarias en Chiapas, México, por lo que el objetivo principal del presente trabajo fue realizar un estudio de seroprevalencia a *H. somnus* en el ganado bovino.

Material y métodos

Diseño de muestreo

El muestreo se realizó durante mayo a agosto de 1993. En Chiapas las explotaciones de ganado bovino pueden ser intensivas o extensivas. Las primeras tienen más de 50 animales de razas puras que cuentan con programas de mejoramiento genético mediante inseminación artificial o monta natural con sementales importados o hijos de animales importados, así como con prácticas de manejo zootécnico y sanitario. En cambio, las segundas constituyen sistemas de producción de doble propósito (carne y leche) con menos de 50 animales, practicados por productores de escasos recursos económicos, carentes de programas de mejoramiento genético y de prácticas de manejo zootécnico y sanitario, con animales criollos (encastados con alguna raza europea), cebúes o cruzamiento de criollo con cebú. Por lo anterior, se decidió tomar una muestra estratificada por tipo de explotación. Se tomaron muestras tanto de hembras como de machos, por lo que un segundo criterio de estratificación fue el sexo.

El muestreo de los bovinos se realizó por conglomerados en tres etapas, se consideraron conglomerados en una primera etapa los municipios, en una segunda etapa las explotaciones dentro de los municipios y, por último, los animales dentro de cada explotación. Se seleccionaron aleatoriamente 12 municipios y en cada municipio se seleccionó una explotación intensiva, dentro de cada explotación intensiva se seleccionó una muestra de aproximadamente 30 bovinos. Se muestrearon las explotaciones extensivas de los alrededores de las explotaciones extensivas seleccionadas, en este caso se tomaron muestras de todos los animales de cada explotación hasta alcanzar 30 animales por municipio. Se tomaron muestras séricas de todos los machos encontrados en cada explotación. El tamaño mínimo de 30 animales por explotación, se determinó de acuerdo con la fórmula $n = \text{Log}(1 - c) / \text{Log}(1 - p)$,¹² en donde n es el tamaño de la muestra, c es la probabilidad de encontrar al menos un animal seropositivo (0.95) y p es la probabilidad de que un animal sea seropositivo (0.1). Supusimos un valor de p de 0.1 como un valor intermedio entre lo informado por Correa *et al.* y Aguilar *et al.*^{7,13}

Chiapas se divide en tres zonas geográficas (costa, centro y norte). De los municipio seleccionados en la muestra, cuatro pertenecen a la costa, cinco al centro y tres a la norte. Se colectaron 787 muestras de bovinos adultos (de tres a siete años), de ellas 417 muestras séricas corresponden a explotaciones intensivas y 370 a extensivas.

Sueros de referencia

Se utilizaron diez becerros de la raza Holstein, clínicamente sanos, de cuatro a seis meses de edad. Ocho de ellos fueron sangrados, los sueros se mezclaron, este pool se usó como suero testigo negativo. Los dos becerros restantes fueron inmunizados con una bacterina de *H. somnus*, preparada con la cepa de referencia ATCC-43625, la cual una vez cultivada y cuantificada mediante el método de placa difusa,¹⁴ se ajustó a 1×10^9 ufc/ml, se inactivó con formaldehído al 0.5% y se emulsificó con adyuvante incompleto de Freund. Los becerros recibieron tres dosis de 5 ml por vía subcutánea con intervalos de dos semanas entre cada inmunización.¹⁵ Los sueros hiperinmunes de estos animales se mezclaron y fueron considerados como testigo positivo.

ELISA

Preparación del antígeno

La cepa de referencia de *H. somnus* descrita anteriormente, se cultivó en placas de agar BHI-suplementado y se incubó en condiciones microaerofílicas a 37 °C durante 48 horas.¹⁶ Posteriormente se llevó a cabo el cosechado del crecimiento bacteriano con SSF, realizándose dos lavados a 900 g durante diez minutos con SSF; el paquete bacteriano se resuspendió en 5 ml de SSF y se sometió al proceso de sonicación a 90 hertz durante cinco minutos, seguido de una centrifugación a 900 g por 15 minutos. Se llevó a cabo la concentración del sobrenadante mediante precipitación en frío, adicionándole lentamente cinco volúmenes de acetona e incubando 15 minutos; finalmente se centrifugó durante 15 minutos a 900 g y el precipitado se resuspendió en 3 ml de SSF. La concentración de proteína se evaluó mediante el método de Bradford.¹⁷

Montaje de la prueba

Las microplacas de poliestireno* se sensibilizaron con el antígeno (10 µg/ml) disuelto en solución amortiguadora de carbonatos, pH 9.6 y se incubaron durante 18 horas a 37 °C; después de varios lavados con PBS-Tween 20 al 0.1%, se bloquearon con leche descremada** al 5%, durante una hora a 37 °C. Luego los pozos de las microplacas se lavaron tres veces con PBS-Tween; los sueros problemas y testigos positivo y negativo se probaron por triplicado con cinco dilucio-

nes dobles seriadas (a partir de 1:100) y se incubaron a 37 °C durante una hora. Después de la serie de lavados, la reacción se manifestó con el uso de un conjugado peroxidado anti-IgG de bovino,*** incubándose a 37 °C durante una hora. Al término de la incubación se lavaron las placas y se utilizóufenilendiamina como sustrato revelador de acuerdo con las instrucciones del fabricante;† la reacción se detuvo con una solución de H₂SO₄ al 4 N y se leyó a 550 nm.

Para el análisis de prevalencia se trabajó con la dilución 1:200 porque esta última constituyó aquella en que se obtuvo una diferencia significativa ($P < 0.01$) entre los testigos positivos y negativos. Una muestra de suero se consideró positiva si la densidad óptica (DO) era mayor a 0.627, este valor es el límite superior del intervalo de confianza de 99% de la DO promedio de los ocho sueros testigos negativos.

Identificación de disfunciones reproductivas

En las explotaciones intensivas se determinó si las hembras bovinas multigestas tuvieron un historial clínico de haber padecido disfunciones reproductivas: Periodo de días abiertos prolongados (DAP), repetición de celos (RC) y abortos (Ab).

Análisis serológico diferencial hacia diversos agentes etiológicos que ocasionan disfunciones reproductivas

Se realizó un serodiagnóstico diferencial hacia problemas reproductivos mediante las técnicas estandarizadas en el Centro Nacional de Salud Animal, en Tecamac, Estado de México, México. Los agentes etiológicos investigados fueron: Rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR), mediante la prueba de virus seroneutralización; leptospirosis, mediante microaglutinación en placa; y brucelosis con la prueba rosa de bengala-rivanol.^{18,19}

Análisis estadístico

Se utilizó la prueba Ji-cuadrada para comparar las proporciones de seropositivos entre zonas, entre tipo de explotación y entre sexos. Para comparar las proporciones de seropositivos entre machos importados y machos nativos, se utilizó la prueba exacta de Fisher.²⁰

Resultados

Prevalencia de anticuerpos contra *H. somnus* en bovinos del estado de Chiapas

Se detectó por primera vez la presencia de anticuerpos contra *H. somnus* mediante la técnica de ELISA; de un

* Nunc-Intermed., Dinamarca.

** Sveltes, Dinamarca.

*** Sigma, Chemicals.

† Sigma, Immunochemicals.

total de 12 municipios muestreados, sólo nueve presentan seropositividad de anticuerpos contra esta bacteria, ello representa 75% de los municipios estudiados, al municipio de Tuxtla Gutiérrez le corresponde la más alta seroprevalencia, 29.23% (Cuadro 1). De 787 muestras séricas, 52 resultaron positivas; esto último representa 6.60% de seroprevalencia global. En cuanto a la distribución por zonas geográficas, se observó 15.5% en la zona centro, que fue significativamente mayor ($P < 0.0001$) a la observada en las zonas costa y norte, 3.37% y 1.14%, respectivamente (Cuadro 2).

Cuadro 1
DISTRIBUCIÓN Y PREVALENCIA ESTIMADA DE ANTICUERPOS CONTRA *H. somnus* POR MUNICIPIO ESTUDIADO EN CHIAPAS, MÉXICO

Núm.	Municipio	Total de animales muestreados	Número de animales positivos	Prevalencia (%)
1	Huixtla	60	4	6.66
2	Tapachula	65	2	3.07
3	Villacomaltitlán	82	3	3.65
4	Tuzantan	60	0	0.00
5	Cintalapa	63	7	11.11
6	Ocozocuaútl	35	6	17.14
7	Tuxtla Gutiérrez	65	19	29.23
8	Villacorzo	65	5	7.69
9	Villaflores	30	3	10.00
10	Ocosingo	90	0	0.00
11	Ostuacán	80	0	0.00
12	Palenque	92	3	3.26
	Total	787	52	6.60

*Prevalencia = Número de animales positivos/número total de animales.

Cuadro 2
DISTRIBUCIÓN POR ZONAS GEOGRÁFICAS DE ANIMALES REACTORES POSITIVOS A *H. somnus* EN CHIAPAS, MÉXICO

Zona	Número de animales positivos	Número de animales negativos	Número total de animales	Prevalencia* (%)
Costa	9	258	267	3.37
Centro	40	218	258	15.50
Norte	3	259	262	1.16

*Prevalencia = Número de animales positivos/número total de animales.

Seroprevalencia de *H. somnus* estimada por el tipo de explotación y sexo

Los resultados se muestran en el Cuadro 3. La seroprevalencia entre los sementales de explotaciones intensivas fue 32.25%, significativamente mayor ($P < 0.001$) que en las hembras en las que se obtuvo 5.18%; asimismo, el riesgo relativo de que un macho presente anticuerpos contra *H. somnus* es 8.71 veces mayor que la de una hembra en explotaciones intensivas. Sin embargo, en las explotaciones extensivas no se observó diferencia significativa ($P = 0.07$) entre la seroprevalencia en sementales (14.29%) y hembras (5.26%).

En forma global la prevalencia de anticuerpos contra *H. somnus* encontrada en las explotaciones intensivas fue de 7.19%, considerando que de 417 muestras, 30 de éstas resultaron positivas; en tanto que de 370 muestras procedentes de las explotaciones extensivas, 22 fueron positivas; lo anterior representa 5.94% de prevalencia para este tipo de explotaciones, no se halló

Cuadro 3
PREVALENCIA ESTIMADA DE ANTICUERPOS CONTRA *H. somnus* POR SEXO EN EXPLOTACIONES INTENSIVAS Y EXTENSIVAS DE CHIAPAS, MÉXICO

Tipo de explotación	Sexo	Número total de muestras	Número de animales positivos	Número de animales negativos	Prevalencia* (%)
Intensiva	Macho	31	10	21	32.25
	Hembra	386	20	366	5.18 **
Extensiva	Macho	28	4	24	14.28
	Hembra	342	18	324	5.26 ***

** $P < 0.001$.

*** $P = 0.07$.

*Prevalencia = Número de animales positivos/número total de animales.

diferencia significativa ($P = 0.48$) entre la seroprevalencia de estos dos grupos de explotaciones. Por otra parte, al estimar la seroprevalencia global por sexo, se encontró que de 728 hembras bovinas, sólo 38 fueron positivas, lo que corresponde a 5.21%; mientras que de 59 machos, 14 resultaron positivos, ello significa 23.72%, observándose una diferencia significativa ($P < 0.001$) entre ambos grupos de animales.

Seroprevalencia en sementales nativos e importados

Se determinó la seroprevalencia en machos nativos e importados, considerando la posibilidad de la importación como un factor de riesgo. Los resultados se muestran en el Cuadro 4; el porcentaje de positividad en los machos importados fue 57.14, significativamente mayor ($P = 0.047$) que el 19.23 observado en los sementales nativos.

Análisis serológico diferencial hacia diversos agentes etiológicos y distribución proporcional de las disfunciones reproductivas

De 198 hembras bovinas con historial clínico registrado con disfunciones reproductivas en explotaciones intensivas, se detectaron diez seropositivas a hemofilia (Hs); es decir, 5.05%; 23 a rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) y 17 a leptospirosis, correspondiendo a 11.61% y 8.58%, respectivamente. No se detectaron animales positivos a brucelosis.

Adicionalmente de diez hembras con disfunciones reproductivas seropositivas a *H. somnus*, seis (60%) presentaron periodos de días abiertos prolongados (DAP), tres (30%) repetición de celos (RC) y uno (10%) aborto (Ab); mientras que de 23 hembras seropositivas a IBR, 12 (52.17%) presentaron DAP, diez (43.47%) RC y una (4.34%) Ab; y de 17 hembras seropositivas a *L.*

interrogans, nueve (52.94%) presentaron DAP, cinco (29.41%) RC y tres (17.64%) Ab (Cuadro 5).

Por último, en el Cuadro 6 se muestra el número de hembras con disfunciones reproductivas que reaccionaron a uno, dos o los tres microorganismos probados; se encontró que de 198 hembras con problemas de reproducción, diez (5.05%) resultaron positivas a más de un agente etiológico. Asimismo, sólo cinco (2.52%) hembras presentaron exclusivamente anticuerpos contra *H. somnus*, mientras que 13 (6.56%) y 11 (5.55%) contra rinotraqueítis infecciosa bovina y *L. interrogans*, respectivamente.

Discusión

H. somnus ha sido comúnmente asociado con meningoencefalitis tromboembólica;^{1,21} no obstante, otras manifestaciones de la infección han aumentando en prevalencia y nuevas presentaciones se han identificado; por ello, actualmente se le atribuye a *H. somnus* un complejo de enfermedades genéricamente denominadas hemofilia.⁸

El presente estudio confirma la presencia de anticuerpos contra *H. somnus* en ganado bovino de México y aporta nuevos datos en cuanto a su distribución en particular; de esta manera se encontró una seroprevalencia de 6.6% global para la entidad. Este resultado es muy similar al obtenido en otro trabajo (6% de seropositividad) utilizando la prueba de inmunodifusión en gel; asimismo, considerando el aislamiento en pulmones de becerros con problemas

Cuadro 4 PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA <i>H. somnus</i> EN SEMENTALES IMPORTADOS Y NATIVOS DE CHIAPAS, MÉXICO				
Procedencia de los sementales	Número de animales positivos	Número de animales negativos	Número total de animales	Prevalencia* (%)
Importados	4	3	7	57.14
Nativos	10	42	52	19.23
P = 0.047				
* Prevalencia = Número de animales positivos/número total de animales.				

Cuadro 5 NÚMERO DE ANIMALES Y PORCENTAJES DE SEROPOSITIVIDAD HACIA DIFERENTES AGENTES ETIOLÓGICOS QUE OCASIONAN DISFUNCIONES REPRODUCTIVAS			
Agente	Número de animales positivos (%)	Disfunciones reproductivas	Número de animales (%)
<i>H. somnus</i>	10 (5.05)	DAP	6 (60)
		RC	3 (30)
		Ab	1 (10)
Rinotraqueítis infecciosa bovina	23 (11.61)	DAP	12 (52.17)
		RC	10 (43.37)
		Ab	1 (4.34)
<i>L. interrogans</i>	17 (8.58)	DAP	9 (52.94)
		RC	5 (29.41)
		Ab	3 (17.64)
<i>Brucella</i>	0	---	---
DAP = Periodo de días abiertos prolongados. RC = Repetición de celos. Ab = Aborto.			

Cuadro 6

NÚMERO DE ANIMALES QUE REACCIONARON A UNO, DOS O TRES AGENTES ETIOLÓGICOS ASOCIADOS CON DISFUNCIONES REPRODUCTIVAS

Número de animales positivos a más de un agente infeccioso (n = 198)	Agente etiológico
4	<i>H. somnus</i> - IBR
1	<i>H. somnus</i> - IBR - <i>L. interrogans</i>
5	IBR - <i>L. interrogans</i>
Número de animales positivos a sólo un agente infeccioso (n = 198)	
5	<i>H. somnus</i>
13	IBR
11	<i>L. interrogans</i>

IBR = Rinotraqueítis infecciosa bovina

neumónicos, se notificaron 7% en Chihuahua, 4.5% en Tamaulipas y 9.2% en Hidalgo.¹³

En otro estudio realizado en bovinos del municipio de Tuxtepec, Oaxaca, la seropositividad contra *H. somnus* encontrada fue bastante menor, 2%; es importante señalar que las muestras séricas se colectaron de animales clínicamente sanos, las cuales fueron procesadas mediante la prueba de inmunodifusión en gel.²² De igual manera, contrasta el estudio de Correa *et al.*,⁷ en donde fueron analizados 47 sueros de bovinos con problemas reproductivos y respiratorios provenientes de la ciudad de México, Estado de México, Puebla y Yucatán, en donde se encontró 25% de seropositividad, utilizando la prueba de fijación de complemento.

Es interesante comparar estos datos con los obtenidos en dos países de América; Sanfacon y Higgings²³ notificaron que de 1 795 bovinos lecheros de la provincia de Quebec, Canadá, 55.4% resultaron serorreactores a *H. somnus* empleando la prueba de microaglutinación; en tanto que Behymer *et al.*²⁴ utilizando la técnica de ELISA, notifican una prevalencia de anticuerpos de 23% de un total de 880 bovinos lecheros de California, en Estados Unidos de América.

En cuanto a la seroprevalencia por zonas geográficas de Chiapas, se encontraron diferencias entre las tres regiones estudiadas. La zona centro presentó la mayor prevalencia (15.5%) en comparación con las zonas norte (1.16 %) y costa (3.37 %). Esto último puede atribuirse a que las explotaciones de la zona

centro del estado adquieren con mayor frecuencia ganado importado y llevan a cabo un manejo más intensivo que incluye programas de mejoramiento genético, mediante inseminación artificial y el programa de canje de sementales del gobierno del estado; todo ello amplía las posibilidades de introducir microorganismos a la zona.

Respecto de las diferencias en seroprevalencia por sexo, se observó que en explotaciones intensivas la tasa en los sementales (32.25%) es mucho mayor que en las hembras (5.18%); estas diferencias fueron bastante menos marcadas en las explotaciones extensivas (14.28% y 5.26%, respectivamente). Aquí nuevamente pueden estar influyendo las prácticas de manejo y en especial la introducción de animales de reemplazo, que ya en otros estudios se identifica como un factor de riesgo.²⁵ En este contexto, la seroprevalencia en sementales importados fue de 57.14% comparada con 19.23% en sementales nativos. Es importante agregar que *H. somnus* fue aislado del lavado prepucial de uno de los sementales importados y que el patrón electroforético de este aislamiento (resultados no mostrados) fue idéntico al de la cepa de referencia ATCC usada en este trabajo para la preparación de antígeno y sueros hiperinmunes. Estos resultados destacan la importancia de los sementales en la difusión de la hemofilia y la conveniencia de concentrar la atención en ellos cuando se instrumenten medidas para el control de esta infección.

En virtud del efecto de la hemofilia sobre el comportamiento reproductivo de las hembras, se consideró conveniente determinar serológicamente la presencia de otras infecciones causantes de trastornos reproductivos; de 198 hembras con historial clínico de disfunción reproductiva (periodo de días abiertos, repetición de celo, aborto), diez fueron positivas a *H. somnus* (5.05%), 23 a rinotraqueítis infecciosa (IBR) (11.61%) y 17 a leptospirosis (8.58%); no se encontraron animales positivos a brucelosis. De estos animales positivos, cuatro tenían anticuerpos contra *H. somnus* e IBR, cinco contra IBR y *Leptospira interrogans* y uno contra *H. somnus*, *L. interrogans* e IBR. Llama la atención la ausencia de animales positivos a una infección tan común como brucelosis; sin embargo, resultados similares a éstos se han descrito en otros estudios realizados en Chiapas y Quintana Roo.²⁶⁻²⁸

Ya que de las diez hembras que presentaron anticuerpos contra *H. somnus*, cinco tenían también anticuerpos contra otro, por lo menos, de los microorganismos estudiados no es concluyente una asociación de *H. somnus* con disfunciones reproductivas.

En resumen, el presente trabajo demuestra la presencia de *H. somnus* en el ganado bovino de Chiapas y sugiere su probable asociación con trastornos reproductivos en la hembra. La distribución geográfi-

ca de la seroprevalencia, aunada al tipo de explotación donde ésta es mayor, apunta a la introducción de ganado, particularmente sementales, como un importante factor de riesgo.

Referencias

1. Van Dreumel AA, Kierstead MA. Abortion associated with *Haemophilus somnus* in a bovine fetus. *Can Vet J* 1975;16:367-370.
2. Hazlett MJ, Little PB, Barnum DA. Experimental production of mastitis with *Haemophilus somnus* in the lactating bovine mammary gland. *Can Vet J* 1983;24:135-136.
3. Waldhalm DG, Hall RF, Meinershagen BS, Card CS, Frank FW. *Haemophilus somnus* infection in cow as a possible contributing factor to weak calf syndrome: isolation and animal inoculation studies. *Am J Vet Res* 1974;35:1401-1403.
4. Humphrey JD, Little PB, Barnum DA, Doig PA, Stephens LR, Thorsen J. Prevalence and distribution of *Haemophilus somnus* in the male bovine reproductive tract. *Am J Vet Res* 1982;43:791-795.
5. Patterson RM, Hill JF, Shiel MJ, Humphrey JD. Isolation of *Haemophilus somnus* from vaginitis and cervicitis in dairy cattle. *Austr Vet J* 1984;61:301-302.
6. Miller RB, Lein DH, Hall CE, Shin S. *Haemophilus somnus* infection of the reproductive tract of cattle: a review. *J Am Vet Med Assoc* 1983;182:1390-1392.
7. Correa GP, Brown DLN, Bryner JH. Presencia de anticuerpos contra Rinotraqueitis Infecciosa, Diarrea Viral Bovina, Parainfluenza 3, Brucelosis, Leptospirosis, Vibriosis y *Haemophilus somnus* en sueros de bovinos con problemas patológicos reproductores y respiratorios. *Téc Pec Méx* 1975;29:26-33.
8. Harris FW, Janzen ED. The *Haemophilus somnus* disease complex (Hemophilosis): a review. *Can Vet J* 1989;30:816-822.
9. Humphrey JD, Stephens LR. *Haemophilus somnus*: a review. Commonwealth Bureau of Animal Health. *Vet Bull* 1983;53:987-1004.
10. Klastrup NO, Halliwell RW. Infectious causes of infertility/abortion of cattle in Malawi. *Nord Vet Med* 1977;29:325-30.
11. Radoslavov V, Savova-Burdarova S. Comparative clinical, bacteriological and pathohistological studies of the sex organs of infertile cows. *Vet Med Nauki* 1979;16:81-87.
12. Millan SF. Algunos procedimientos para determinar tamaño de muestra en estudios epidemiológicos. *Téc Pecu Méx* 1989;27:169-179.
13. Aguilar FR, Jaramillo RL, Trigo FJ. *Haemophilus somnus*: aislamientos en neumonías de becerros y estudio seroepidemiológico. Memorias del VI Congreso Latinoamericano de Buiatría; 1987 agosto 27-29; México (DF). México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos y Pequeños Rumiantes, 1987:296-307.
14. Seeley HW, Van-Demark PJ, Lee JJ. Microbes in action. A laboratory manual of microbiology. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Co., 1991.
15. Czuprynski CJ, Hamilton HL. Bovine neutrophils ingest but do not kill *Haemophilus somnus* "in vitro". *Infect Immun* 1985;50:431-436.
16. Garcia D, Little PB, Barnum DA. A comparison of various *Haemophilus somnus* strains. *Can J Comp Med* 1977;41:380-388.
17. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microquantities of protein. *Anal Biochem* 1976;72:248-254.
18. Cole JR, Sulzer CR, Pursell AR. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. *Appl Microbiol* 1973;25:976-980.
19. Graham DA, McShane J, Mawhinney KA, McLaren IE, Adair BM, Merza M. Evaluation of a single dilution ELISA system for detection of seroconversion to bovine viral diarrhoea virus, bovine respiratory syncytial virus, parainfluenza-3 virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus: comparison with testing by virus neutralization and hemagglutination inhibition. *J Vet Diagn Invest* 1998;10:43-48.
20. Daniel WW. Applied nonparametric statistics. 2nd ed. Boston (Ma): PWS-Kent Publishing Co., 1990.
21. Brewer RA, Corbeil MJ, Stuart FA. Development of improved methods for the transport and isolation of *Haemophilus somnus*. *Res Vet Sci* 1985;39:299-306.
22. Rodríguez AM, Martínez MJJ, Aguilar RS, Salas TE. Detección de anticuerpos contra *Haemophilus somnus* en bovinos del municipio de Tuxtepec, Oaxaca, México. *Vet Méx* 1993;4:303-305.
23. Sanfacon D, Higgins R. Epidemiology of *Haemophilus somnus*. Infection in dairy cattle in Quebec. *Can J Comp Med* 1983;47:456-459.
24. Behymer DE, Rtemann HP, Unerback W, Elmi CD, Franti CE. Mass screening of cattle sera against 14 infectious diseases agents, using an ELISA system for monitoring health in livestock. *Am J Vet Res* 1991;52:1699-1705.
25. Lees VW, Meek AH, Rusendal S. Epidemiology of *H. somnus* in young rams. *Can J Vet Res* 1990;54:331-336.
26. Cruz RJ. Estudio seroepizootológico de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), leptospirosis y brucelosis en vacas con problemas reproductivos del municipio de Villaflores, Chiapas (tesis de licenciatura). Tuxtla Gutiérrez (Chis) México: Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UACH, 1995.
27. Arteaga TG, Banda RV, Sanders M. Estudio epizootológico en algunas enfermedades del tracto reproductor en bovinos de trópico húmedo. Memorias del XXII Congreso Latinoamericano de Buiatría; 1998 julio 20-25; Acapulco (Gro) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 1998:42-43.
28. Rodríguez AF, Güiris ADM, Milo AR. Seroperfil reproductivo (HVR, leptospirosis y brucelosis) en hembras bovinas del municipio de Othón P. Blanco, Quintana Roo. Memorias del XXII Congreso Latinoamericano de Buiatría; 1998 julio 20-25; Acapulco (Gro) México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, A.C., 1998:21-22.