

**APLICACIÓN DE LA TÉCNICA
INMUNOENZIMÁTICA DE ELISA PARA ESTUDIOS
EPIDEMIOLÓGICOS DE ENFERMEDADES DE
GANADO BOVINO
EN EL TRÓPICO DE MÉXICO**

JOSE ALFONSO BARAJAS ROJAS

*Departamento de Microbiología e Inmunología
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad Universitaria, 04510, México, D.F.
email: jabr@servidor.unam.mx*

| | |
|------------------------------------|------------|
| Resumen | 85 |
| I Introducción | 87 |
| n. Material y Métodos | 92 |
| III. Resultados | 101 |
| IV. Discusión | 123 |
| Referencias | 144 |

Resumen

El estudio consistió en un muestreo de 3 años en el trópico mexicano en ganado bovino determinando por técnicas inmunoenzimáticas, la seroepidemiología contra 21 enfermedades virales, bacterianas, riquetsiales y parasitarias a nivel subclínico en estudios de corte de

sección (prevalencia), de cohorte o longitudinales prospectivos (de incidencia) así como de los parámetros reproductivos en bovinos y por diferencias de edad y de genotipo relacionadas a la respuesta inmune contra agentes infecciosos. Para esto se realizaron 80,000 pruebas serológicas analizadas en forma semiautomática, contando con la ayuda de una lector de ELISA en interfase con una computadora. Estos estudios se realizaron en el Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical CIEEGT de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se realizó un estudio seroepidemiológico en ganado bovino Holstein-Cebú en el trópico de México de diciembre de 1986 a diciembre de 1989. Se encontró una alta seroprevalencia (40% 75%) para Virus de la Lengua Azul (BTV), *Anaplasma marginale* (AM), *Leptospira interrogans* serovar hardjo (LH) y *Mycoplasma bovis* (MB). Mediana seroprevalencia (20% - 27%) se observó para *Coxiella burnetii* (CB), Rotavirus (RV), *Haemophilus somnus* (HS), *Campylobacter fetus* (CF), *Chlamydia psittacii* (CL), *Pasteurella multocida* (PM) y Virus Respiratorio Sincitial Bovino (BRSV). Baja seroprevalencia (10% 17%) se encontró para *Toxoplasma gondii* (TG), Virus de Parainfluenza 3 (PI3), *Salmonella typhimurium* (ST), Virus de la Leucosis Bovina (BLV), *Mycobacterium paratuberculosis* (MP), *Salmonella dublin* (SD) y *Listeria monocytogenes* (LM). Muy baja prevalencia (3% - 5%) se encontró para Virus de la Diarrea Viral Bovina (BVD), Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR). Cero prevalencia se observó en el caso *Brucella abortus* (BA).

Se encontró una tendencia positiva de seroprevalencia para BLV, MB, AM, CB, PI3, IBR, MP, ST, BRSV, LM Y CL. Se encontró una tendencia negativa para BVD, SD, HS, CF, BTV y TG. No se observó ninguna tendencia en el caso de LH, RV Y PM. Se observó un patrón estacional diferente de los anticuerpos IgG entre los

diferentes agentes infecciosos. La prevalencia global de resultados positivos fue baja en animales jóvenes (4 meses), mediana para animales en desarrollo (4 - 36 meses) y alta para animales en producción (>36 meses). Entre los 3 genotipos estudiados G 1 1/2 Holstein X 1/2 Cebú), G2 (3/4 Holstein X 1/4 Cebú) y G3 (5/8 Holstein X 3/8 Cebú), solo se encontraron diferencias de respuesta serológica entre dos de ellos.

El porcentaje de ELISA para detectar IgG fluctuó con patrones regulares durante los meses de gestación en las vacas, observándose una disminución en el cuarto mes, seguido de un incremento hasta el noveno mes con una caída súbita después del parto para elevarse de nuevo un mes posterior al parto. Los becerros fueron los animales que proporcionaron la mejor información sobre el estado inmunológico del hato.

I. Introducción

El diagnóstico epidemiológico que permite una «acción directa» en el control de enfermedades requiere de una vigilancia de estos padecimientos seleccionados con base a la importancia para cada país (1). Se requiere de un monitoreo constante que permita obtener más información sobre estas enfermedades en forma primaria en áreas de alta prevalencia e incidencia o en donde existe una transmisión activa del agente infeccioso por lo que se deben implementar estrategias para tratar de cambiar la frecuencia de enfermedades que pueden ser controladas considerando el costo-beneficio de estos padecimientos.

En México la producción ganadera representa el 3.5 % al 6.3 % del producto interno bruto. La población bovina es de 24,456,000 de cabezas dentro de los cuales 948,000 son considerados como ganado especializado en producción de leche y 4,213,000 producen leche en forma estacional, especialmente donde existe mayor

disponibilidad de forraje (2). La mayoría del ganado de las regiones tropicales dedicados a producción de leche son cruza con ganado cebuino. Existe la necesidad en México de incrementar la producción de leche a un costo razonable para la población (3). El estado de Veracruz posee 2,780,000 cabezas de ganado que representa el 11.36 % del total de la población bovina y el número más alto entre los 32 estados de la República. El producto interno bruto por producción ganadera ha disminuido durante los últimos 10 años. México importó 280,000 toneladas de leche en polvo en 1990, y se ha convertido en uno de los primeros importadores de leche del mundo, absorbiendo el 30 % de la oferta mundial. Actualmente México importa 6 millones de litros de leche por día para mantener la demanda de 16.5 millones de litros por día que demanda el país (3,4). Asimismo México exporta a los EVA un promedio de 1,300,000 cabezas de ganado bovino al año que requieren actualmente certificarse de estar libres de brucelosis, tuberculosis y garrapatas y probablemente en un futuro se amplíe la lista de enfermedades que requieran certificación.

El diagnóstico de los padecimientos que en forma subclínica o clínica ocurren en los animales, repercuten principalmente en la falta de crecimiento, trastornos reproductivos y de producción de leche así como en la conversión de alimento para la producción de carne.

Ante la necesidad de conocer la frecuencia y distribución de padecimientos del ganado en México, y ante la carencia de esta información principalmente en el trópico, se decidió realizar un estudio serológico en una población de animales no expuestos a ninguna vacunación y con registros confiables para el análisis epidemiológico.

La Universidad Nacional Autónoma de México a través del Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical- CIEEGT dependiente de la Facultad de Medicina

Veterinaria y Zootecnia inició en 1979 junto con el Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD) de la Organización para la Agricultura y Alimentación (FAO) un proyecto de capacitación en las áreas del centro que se ha difundido a los productores y profesionales interesados en el área de estudio. Esta información esta relacionada con el clima (existen 3 estaciones marcadas durante todo el año: Caliente y Seca, CS (marzo a junio), Caliente y Húmeda, CH (julio a octubre) y Fría y Húmeda, FH (noviembre a febrero) y topografía de 1a región (terreno ondulado con áreas pantanosas y de sabana), los programas de producción de forrajes, de población animal en sus áreas de genética, reproducción, alimentación, manejo, sanidad y economía; en sus programas de extensión y la producción de leche y carne en el trópico (5,6,7,8,9,10,11,12,13,14).

El ganado bovino del CIEEGT se identifica de acuerdo a su etapa productiva como becerros (< 4 meses de edad), animales en desarrollo (4 - 36 meses de edad) y animales en producción (> 36 meses de edad, edad promedio del primer parto). Asimismo los animales pertenecen a tres genotipos G1 (1/2 Holstein X 1/2 Cebú), G2 (3/4 Holstein X 1/4 Cebú) y G3 (5/8 Holstein X 3/8 Cebú). Cabe señalar que el 95 % de los animales en producción son hembras, existiendo pocos machos adultos utilizados como detectores de celo o para dar servicio a vacas que no quedan gestantes por inseminación artificial. El hato esta en pastoreo constante, los becerros se mantienen estabulados recibiendo leche de la madre como se hace tradicionalmente en la zona y auxiliando su crecimiento con concentrado. Los animales en producción se les administra al momento del ordeño 2 Kg. de melaza con 3% de urea. Los animales en desarrollo se mantienen en los potreros hasta que los machos alcanzan el peso para el abasto en el rastro y las hembras son inseminadas artificialmente. Los partos ocurren durante todo el año con un ligero aumento en los meses de mayo y junio. El promedio de meses de intervalo entre partos es de 15

meses con rangos de 11 a 22 meses. Los períodos de lactación varían de 8 a 15 meses con un promedio de 11 meses, la producción promedio de leche por animal por lactancia es de 2500 Kg., con un rango de 2000 a 3100 Kg. El estado de salud de los animales es aparentemente bueno.

La técnica de ELISA aplicada en forma masiva en las poblaciones ayuda a detectar la «punta del témpano» de las enfermedades y que con estudios complementarios se puede confirmar el diagnóstico por aislamiento del agente etiológico concentrando los esfuerzos de diagnóstico en los animales detectados previamente por serología ahorrando material y tiempo y garantizando una mayor certeza en el diagnóstico definitivo. Esta forma de realizar el diagnóstico viene a revolucionar los sistemas de vigilancia epidemiológica en México. Tradicionalmente para efectuar el diagnóstico se hacen cultivos y aislamientos usando medios sintéticos, cultivo de tejidos o animales vivos para la identificación del agente etiológico, sin embargo, este recurso es muy costoso y hay poca disponibilidad de medios y reactivos; además los diagnósticos se hacen con base en el individuo que presenta signos clínicos y no en las poblaciones a nivel subclínico.

El éxito del estudio epidemiológico no radica exclusivamente en la realización de la prueba diagnóstica (ELISA) sino en la interpretación correcta de los resultados y su evaluación epidemiológica. La base del éxito en la realización de la técnica de diagnóstico radica en la calidad del antígeno, la calidad del conjugado y la calidad de los sueros testigos positivos y negativos a utilizar, independientemente de la certeza, confiabilidad y repetibilidad de los resultados en los que intervienen el técnico y equipo utilizado.

El uso del conjugado marcado con una enzima ha venido a simplificar la técnica de ELISA por la gran cantidad de productos comerciales que existen y que ahorran tiempo y que cuentan con

una garantía de muchos usuarios que comparan su eficiencia y realizan un control de calidad constantemente.

El estudio consistió en parte del sangrado de los animales, transporte al laboratorio, producción del 30% de los antígenos utilizados, la inmunización de animales, la selección de sueros de animales de zonas exóticas y endémicas del agente, la realización de la prueba de ELISA, la participación en la elaboración del programa de lectura e interfase de la lectora con la computadora para el análisis de las lecturas de densidad óptica, su transformación a porcentaje de ELISA, la transferencia y estadística de los resultados individuales y en forma global, la elaboración de los informes (con números y gráficas) y por último la evaluación epidemiológica por edad, sexo, genotipo, época del año, estado reproductivo y de estandarización de la misma técnica de ELISA.

El objetivo fue conocer la seroprevalencia a nivel subclínico de padecimientos de origen viral, bacteriano, riquetsial y parasitario en bovinos en el trópico de México mediante la utilización de la técnica inmunoenzimática de ELISA para proporcionar información que permita sugerir los programas de control y erradicación de estos padecimientos e incrementar la productividad animal para abastecer de alimentos sanos a la población Mexicana (leche y carne).

Los objetivos específicos a investigar fueron conocer los sistemas de producción ganadera y salud animal en el trópico húmedo Mexicano, realizar un muestreo serológico contra enfermedades infecciosas en un Centro de Producción Ganadera en el Trópico Mexicano, conocer la estacionalidad y las tendencias de seroprevalencia contra agentes infecciosos del ganado bovino en un estudio prospectivo (de cohorte), determinar la prevalencia de anticuerpos en ganado bovino por estratificación de edad y genotipo, determinar las fluctuaciones en la prevalencia de anticuerpos en ganado bovino con relación a su estado reproductivo.

II. Material y Métodos

El estudio se realizó en el trópico húmedo de México en el Centro de Investigación, Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical CIEEGT de la FMVZ de la UNAM, ubicado en el municipio de Tlapacoyan estado de Veracruz; en este centro se tiene ganado bovino de doble propósito (productor de leche y carne). El promedio de temperatura anual en el área del CIEEGT es de 24.7° C y la precipitación promedio anual es de 1500 mm.

Para la recopilación de información epidemiológica se analizaron los registros de producción del CIEEGT así como del laboratorio de diagnóstico para conocer la morbilidad, mortalidad y recurrencia de eliminación de animales «desechos». Para el tamaño de la muestra se muestrearon todos los animales existentes en el CIEEGT de 1986 a 1989 mediante sangrados bimensuales. La sangre fue colectada mediante punción en la vena yugular o caudal con tubos vacutainer, se anotó la identificación del animal, edad, sexo, genotipo y estado fisiológico (para hembras gestantes o no). El suero se separó por centrifugación a 2500 rpm y se le añadió un crioprotector (glicerol 50%) para evitar la acción mecánica de los cristales de agua sobre las inmunoglobulinas al momento de la congelación así como un inhibidor enzimático (E ácido amino caprónico y mertiolate 1:1000) para evitar la producción de metabolitos bacterianos en sueros contaminados (15,16). Los sueros fueron almacenados en envases de plástico y congelados a - 20° C hasta el momento de su uso en el laboratorio.

La prueba de laboratorio primaria fue ELISA descrita por varios autores (17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29). La razón de su uso fue el potencial de su amplia aplicación para estudios epidemiológicos por su simplicidad, conveniencia, economía, confiabilidad y alta sensibilidad (30,31,32). Se utilizaron antígenos virales, bacterianos, riquetsiales y parasitarios - Virus de Lengua

Azul, Virus de Leucosis Bovina, Virus de Rinotraqueítis Infecciosa Bovina, Virus de Diarrea Viral Bovina, Virus de Parainfluenza 3, Virus Respiratorio Sincitial Bovino, Rotavirus, *Mycoplasma bovis*, *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*, *Campylobacter fetus*, *Brucella abortus*, *Haemophilus somnus*, *Pasteurella multocida*, *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Chlamydia psittaci-trachomatis*, *Anaplasma marginale*, *Coxiella burnetii* y *Toxoplasma gondii*. Para el diagnóstico de Virus de la Leucosis Bovina se utilizó la prueba de inmunodifusión en agar (AGID) (33) y algunos de los resultados se confirmaron con pruebas como fijación de complemento, inmunodifusión en agar y aglutinación.

La preparación de los antígenos se realizó de acuerdo a las experiencias de otros investigadores y también de lo investigado en la recopilación bibliográfica. Estos antígenos se prepararon utilizando: Antígeno celular completo, antígeno viral purificado en solución cushion de sucrosa, lipopolisácarido extraído por calentamiento, vacunas de virus muerto, derivado protéico purificado, glicoproteína viral y antígeno celular purificado (Cuadro 1).

Los sueros positivos y negativos para la realización de la prueba de ELISA se obtuvieron en parte inmunizando animales susceptibles con el agente infeccioso o su subproducto lo cual fue costoso y como segunda opción realizamos la selección de sueros de poblaciones de animales de zonas exóticas, hipoendémicas, mesoendémicas o hiperendémicas.

La técnica de ELISA consistió en:

- 1) Sensibilización de la placa de fondo plano con el antígeno. Preparación de la dilución óptima del antígeno (predeterminado por titulación) en buffer carbonato/bicarbonato pH 9.6. Después añadir 50 ml por pozo en una

CUADRO 1

ORIGEN DE LOS ANTIGENOS UTILIZADOS
PARA LA PRUEBA ELISA¹

| Clave | Antígeno | Preparación* | Fuente** |
|-------|---|--------------|----------|
| AM | <i>Anaplasma marginale</i> | ACC | 1 |
| BA | <i>Brucella Abortus</i> | ACC | 1 |
| BLV | <i>Virus de la Leucosis Bovina</i> | GP | 2 |
| BVD | <i>Virus de la Diarrea Viral Bovina</i> | APCS | 1,3 |
| BTV | <i>Virus de la Lengua Azul</i> | APCS | 4 |
| CB | <i>Coxiella burnetti</i> | ACP | 4 |
| CL | <i>Chlamydia psittacci-trachomatis</i> | ACEIE | 5 |
| CF | <i>Campylobacter fetus</i> | LPEC | 4 |
| HS | <i>Haemophilus sommus</i> | LPEC | 4 |
| IBR | <i>Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina</i> | VVM | 3 |
| LH | <i>Leptospira interrogans serovar hardjo</i> | ACC | 6 |
| LM | <i>Listeria monocytogenes</i> | ACEIE | 6 |
| MB | <i>Mycoplasma bovis</i> | ACC | 4 |
| MP | <i>Mycobacterium paratuberculosis</i> | PT | 1 |
| PI3 | <i>Virus de la Parainfluenza 3</i> | VVM | 3,5 |
| PM | <i>Pasteurella multocida</i> | LPEC | 3,4 |
| RV | <i>Rotavirus</i> | ACEIE | 5 |
| SD | <i>Salmonella dublin</i> | ACC | 4 |
| ST | <i>Salmonella typhimurium</i> | ACC | 4 |
| BRSV | <i>Virus Respiratorio Sincitial Bovino</i> | ACEIE | 5 |
| TG | <i>Toxoplasma gondii</i> | ACEIE | 5 |

* Preparación: ACC= Antígeno Celular Completo; APCS = Antígeno purificado en Cushion de Sucrosa; LPEC = Lipopolisacárido Extraído por calentamiento; VVM = Vacuna Virus Muerto; PT = Paratuberculina; ACEIE = Antígeno Comercial para ensayo Inmunoenzimático; GP = Glicoproteína; ACP = Antígeno Celular Purificado

** Fuente: 1 = Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Laboratorios de Servicios Nacionales Veterinarios; 2 = Pitman-Moore, Inc., Washington, N. I. 08560; 3 = TechAmerica Group, Inc., Biologics Corp., Animal Health Division, P.O. Box 34325, Omaha NE. 68134; 4 = Departamento de Epidemiología y Medicina Preventiva, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de California, Davis, CA. 95616; 5 = Virion, 4 Upperfield Road, Morristown, N.J., 07960; 6 = Difco Laboratories, P.O. Box 1058A, Detroit, MI 48232.

¹ Modificación del Cuadro usado por Behymer D. Richm<In HP Utterback, W. *et al*

microplaca usando pipeta de 12 canales. Cubrir las placas con cinta o tapas de plástico e incubar a 4° C 18 horas. Las placas pueden mantenerse en el refrigerador hasta por 30 días dependiendo de la estabilidad del antígeno usado. Lavar dos veces con solución de NaCl 0.85% en agua destilada y tween 20 (0.5ml).

- 2) Los sueros a probarse se pueden diluir (normalmente 1:40) en una placa de fondo oval, para luego ser transferidos a la placa sensibilizada con el antígeno.
- 3) Depositar los sueros a monitorearse y los testigos en las placas sensibilizadas de la siguiente forma: a) Columna 1 (A-H) será el testigo sin suero. b) Columna 2, contendrá el suero testigo: pozos 2A y 2B fuertes positivos. Pozos 2C y 2D fuertes negativos. Pozos 2E y 2F débiles positivos y pozos 2G Y 2H débiles negativos. c) Los sueros a probarse se depositarán por duplicado (cabén 40 en la placa) y se inician con el suero número uno en los pozos 3A y 3B, seguidos del suero número 2 en los pozos 3C Y 3D y así hasta el suero 4 (3G Y 3H) continuando con el 5 en 4A y 4B, de esta forma la lectura del programa de ELISA puede identificar los sueros específicos de cada animal por el patrón de lectura y configuración de histogramas que se hace. d) Los sueros a agregaran diluidos 1:40 en solución buffer Tris pH 7.4. Agitar los sueros por 1 minuto.
- 4) Incubar las placas con su cubierta de plástico a 37° C durante 1 hora, y posteriormente lavar con solución lavadora (NaCl 0.85 %) 3 veces y secar en una toalla.
- 5) Agregar 50 ml de conjugado de conejo anti-IgG bovino^a (diluido 1 :8000 en solución Tris buffer). Cubrir con su tapa, agitar por un minuto, e incubar 30 minutos a 37 C.

^a Coppel Laboratories, Organon Teknica USA

- 6) Lavar 3 veces en sol. NaCl 0.85 %, secar en toalla.
- 7) Agregar 100 ml por pozo de sustrato(ABTS)^b mezclado con peróxido de hidrógeno en solución buffer con ácido cítrico. Previamente con una cantidad mínima de conjugado sobrante, se debe probar el sustrato para ver que reaccione en menos de 2 minutos con la aparición de un color verde. Se agitan las placas hasta por 10 minutos (tomando como criterio el cambio de color de los testigos positivos).
- 8) Para detener la reacción enzimática se agregan 100 ml por pozo de solución para parar la reacción (0.1 M de ácido fluorhídrico al 48%) usando una pipeta de 8 o 12 canales.
- 9) Colocar las placas en el lector de ELISA y hacer la lectura 405/450 nanómetros.
- 10) La expresión de resultados se realizó con un lector automático de ELISA (Dynatech modelo MR580)^c a una honda de absorbancia de 405/450 nm. Los resultados fueron copiados y almacenados por una computadora conectada en interfase con la lectora mediante un programa de computación elaborado para este propósito, este programa realiza evaluación del control de calidad de cada prueba mediante el análisis de las lecturas, la transformación a valores de ELISA, el cálculo de la media de absorbancia de los sueros trabajados por duplicado y el cálculo de la desviación estándar del promedio. En caso de que la desviación estándar exceda un valor de .05, se observa un asterisco en los valores de la lectura lo que indica la necesidad de repetir la prueba en ese suero pues probablemente existieron errores de

^b 2, 2' Azino-Di-(3 Ethylbenz-thiazoline sulfonic acid)

^c Dynatech Laboratories Inc. Alexandria, Va

pipeteo. Posteriormente fue calculado el radio Positivo/Negativo (PIN) determinado al dividirse el promedio de la densidad óptica del suero testigo positivo entre el promedio de la densidad óptica del suero testigo negativo (34,35,36). Este radio se considera como una medida de poder discriminatorio de la prueba. En casos en que el radio PIN fue menor de 5, se repitió la prueba con diferentes sueros testigos positivos. Los resultados de los sueros analizados son comparados con los valores del suero testigo positivo en una escala de 0 a >100% y provee una medida correspondiente a la concentración de IgG en el suero problema (Cuadro 2).

El reporte por placa individual mostró las lecturas de densidad óptica y sus valores transformados a porcentaje de ELISA así como un histograma de resultados por microplaca además de uno al final acumulado. En la Figura 1 se muestran los histogramas de poblaciones totalmente negativas, otras con positivos y negativos, otro totalmente seropositivos y por último poblaciones con infecciones crónicas. La determinación de los puntos de corte se establecieron teniendo como criterio el usar el valor correspondiente a dos veces la desviación estándar hacia la derecha de la media observada por los sueros negativos de la población muestreada.

Se realizó la exportación de estos datos a un programa de Data Base III plus para emitir los informes finales (Cuadro 3) en los que se incluye la especie animal, sexo, raza, función zootécnica, estado fisiológico, época y sitio de muestreo así como otras variables de prevalencia total así como resultado individual por antígeno por cada suero procesado además de los valores de puntos de corte para la interpretación de cada respuesta a determinado antígeno. Estos resultados globales e individuales permitieron el futuro análisis y evaluación epidemiológica de la información. Se realizaron informes de la prevalencia (estudios de cortes de sección-

A = Muestra una población seronegativa como en el caso de *Brucella abortus*; B = Muestra una población con animales seronegativos (izquierda) y otros con altos niveles de anticuerpos (derecha) como en el caso de *Mycobacterium paratuberculosis*; C = Muestra una población en la que todos los animales adultos son seropositivos como en el caso de Virus de la Lengua Azul; D = Muestra una población con infección endémica como en el caso de *Campylobacter fetus* en donde las concentraciones de anticuerpos estuvieron constantemente aumentando y disminuyendo. El valor del punto de corte de ELISA es 50%

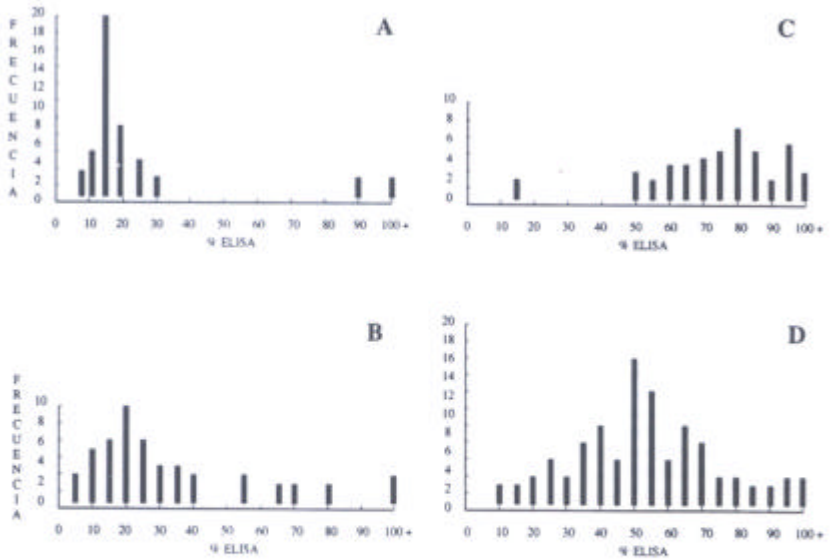


Fig. 1 Histogramas de los Resultados de pruebas de ELISA contra agentes infecciosos en ganado bovino.^b

^b Este es similar al publicado por Behymer D. Riemann HP. Utterback W, et al

CUADR03

INFORME DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA ELISA EN UN HATO

(Se incluye la clave del agente infeccioso, el valor del punto de corte como negativos y positivos y el valor del porcentaje de ELISA -niveles de anticuerpos- por cada animal. Asimismo se incluye la prevalencia de resultados globales seropositivos según el valor del punto de corte y el porcentaje de respuesta de ELISA igual o mayor al 80%)

ELISA

Especie y tipo de Animal: Bovino productor de leche

Fecha de sangrado: 08/30/89

Identificación: TroMexJul-Aug89

No. muestreado: 200

Agente infeccioso:

| | AM | BA | BLV | BVD | BTV | CB | CL | CF | HS | IBR | LH | LM | MB | MP | GE | PI3 | PM | RV | SD | ST | SV | TG |
|-----------|-----|----|-----|-----|-----|----|----|----|----|-----|-----|----|-----|----|----|-----|----|----|----|----|----|----|
| Tot. Pos. | 123 | 0 | 32 | 5 | 171 | 99 | 54 | 54 | 71 | 6 | 132 | 30 | 115 | 41 | 12 | 97 | 42 | 72 | 42 | 22 | 47 | 23 |
| % Pos. | 61 | 0 | 16 | 2 | 85 | 49 | 27 | 27 | 35 | 3 | 66 | 15 | 57 | 20 | 6 | 48 | 21 | 36 | 21 | 11 | 23 | 11 |
| Tot. >80% | 28 | 0 | 0 | 2 | 51 | 19 | 9 | 4 | 4 | 0 | 52 | 23 | 66 | 9 | 12 | 35 | 12 | 25 | 18 | 9 | 33 | 16 |
| % >80% | 14 | 0 | 0 | 1 | 25 | 9 | 4 | 2 | 2 | 0 | 26 | 11 | 33 | 4 | 6 | 17 | 6 | 12 | 9 | 4 | 16 | 8 |

Abreviaciones de los agentes infecciosos del informe de ELISA

| | |
|--|------------------|
| AM = <i>Anaplasma marginale</i> | Valores de corte |
| BA = <i>Brucella abortus</i> | Neg Pos |
| BLV = <i>Virus de la Leucosis Bovina</i> | 0-45 50+ |
| BVD = <i>Virus de la Diarreae Viral Bovina</i> | 0-45 50+ |
| BTV = <i>Virus de la Lengua Azul</i> | 0-1 2+ |
| CB = <i>Coxiella burnetii</i> | 0-45 50+ |
| CL = <i>Chlamydia psittaci</i> | 0-60 65+ |
| CF = <i>Campylobacter fetus</i> | 0-50 55+ |
| HS = <i>Haemophilus somnus</i> | 0-55 60+ |
| IBR = <i>Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa bovina</i> | 0-55 60+ |
| LH = <i>Leptospira interrogans serovar hardjo</i> | 0-45 50+ |
| LM = <i>Listeria monocytogenes</i> | 0-45 50+ |
| MB = <i>Mycoplasma bovis</i> | 0-60 75+ |
| MP = <i>Mycobacterium paratuberculosis (Johnes)</i> | 0-50 60+ |
| GE = <i>Gelatina (usada para detectar inespecificidad de sueros)</i> | 0-70 75+ |
| PI3 = <i>Virus de la Parainfluenza-3</i> | 0-70 80+ |
| PM = <i>Pasteurella multocida</i> | 0-60 65+ |
| RV = <i>Rotavirus</i> | 0-50 60+ |
| SD = <i>Salmonella dublin</i> | 0-55 60+ |
| ST = <i>Salmonella typhimurium</i> | 0-50 70+ |
| SV = <i>Virus Respiratorio Sincitial Bovin</i> | 0-50 70+ |
| TG = <i>Toxoplasma gondii</i> | 0-60 75+ |
| | 0-60 70+ |

estáticos), de incidencia (dinámicos y prospectivos longitudinales). Análisis de series de tiempo para ver la dinámica de anticuerpos en un estudio de cohorte o prospectivo longitudinal. También se efectuó el análisis de regresión logística usando paquetes estadísticos como «Statistical Analysis System» (SAS), «Bio Medical Data Package» (BMDP, PC90) (37) y «Statistical Package for Social Sciences» (SPSS); los estudios de análisis de series de tiempo para estacionalidad y tendencias se realizaron usando SOLO, BMDP software (38). Las gráficas y hojas de cálculo fueron generados usando «Quattro-pro» (39), «Excel» y «Lotus». Como procesador de palabras se usó para la elaboración de informes finales «Wordperfect 5.1». Algunas gráficas tridimensionales fueron elaboradas usando los programas de SAS y Systat (40).

Los Cuadros 4, 5 y 6 muestran dibujos y formatos de la realización de la prueba de ELISA. También se incluyen los cuadros que muestran el informe generado de ELISA por placa, el informe de prevalencia total del hato y por animal así como valores de los puntos de corte. El informe final por individuo y acumulado de los resultados se pueden presentar en su análisis de plano simple y tridimensional.

Para establecer pruebas de concordancia se compararon los resultados de algunos sueros del estudio de animales del CIEEGT evaluados por ELISA, con los resultados serológicos obtenidos utilizando las pruebas oficiales de los Servicios Nacionales de Diagnóstico Veterinario de los Estados Unidos de América (USDA).

III. Resultados

El estudio de evaluación de salud del hato del CIEEGT mostró que en un período de 10 años (1980 - 1989) se reportaron 1140 casos de enfermedad. La frecuencia de casos mayor fue de mastitis (218

CUADRO 4

REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA PRUEBA ELISA

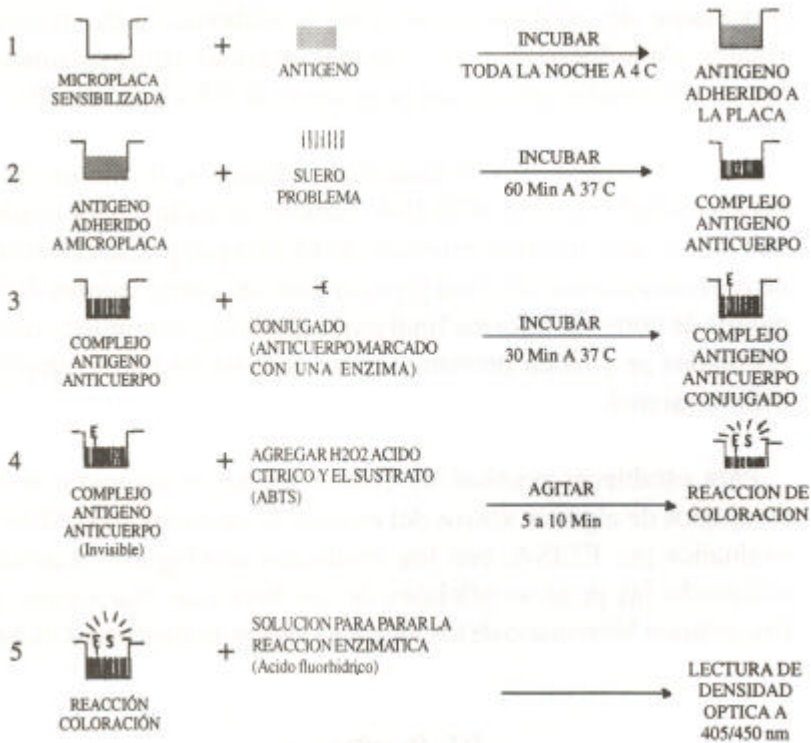
Etapa 1 Sensibilización de la microplaca con el antígeno

Etapa 2 Adición del suero problema a evaluar e incubación

Etapa 3 Adición del conjugado marcado con una enzima e incubación

Etapa 4 Adición del sustrato y agitación

Etapa 5 Detener la reacción enzimática y lectura de absorbancia



CUADR05

DIAGRAMA QUE MUESTRA LA POSICIÓN PARA EL ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES OPTIMAS DE ANTIGENO, SUERO Y CONJUGADO PARA LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE ELISA

Dilución del antígeno

| | | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:50 | 1:75 | 1:100 | 1:150 | 1:200 | 1:300 | 1:400 | | |
|---|---|------|------|------|------|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | |
| A | + | | | | | Sueros Positivos | | | | | | | |
| B | + | | | | | | | | | | | | |
| C | + | | | | | | | | | | | | |
| D | + | | | | | | | | | | | | |
| E | + | | | | | Sueros Negativos | | | | | | | |
| F | + | | | | | | | | | | | | |
| G | + | | | | | | | | | | | | |
| H | + | | | | | | | | | | | | |

↑
Sueros testigos

↑
Columna en blanco (sin suero)

El conjugado diluido 1.8000 se deposita en todos los pozos

CUADR06

CONFIGURACIÓN DE LA MICROPLACA
 PARA EL ANALISIS DE LOS SUEROS
 PROBLEMA A PROCESARSE POR DUPLICADO
 POR LA PRUEBA DE ELISA

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-------------------------------|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----------------------|
| A | Testigo Positivo fuerte | 1 | 5 | 9 | 13 | 17 | 21 | 25 | 29 | 33 | 37 | } Sueros problema |
| B | Testigo Positivo fuerte | 1 | 5 | 9 | 13 | 17 | 21 | 25 | 29 | 33 | 37 | |
| C | Testigo Positivo Dilúil | 2 | 6 | 10 | 14 | 18 | 22 | 26 | 30 | 34 | 38 | |
| D | Testigo Positivo Dilúil | 2 | 6 | 10 | 14 | 18 | 22 | 26 | 30 | 34 | 38 | |
| E | Testigo Positivo fuerte | 3 | 7 | 11 | 15 | 19 | 23 | 27 | 31 | 35 | 39 | |
| F | Testigo Positivo fuerte | 3 | 7 | 11 | 15 | 19 | 23 | 27 | 31 | 35 | 39 | |
| G | Testigo Positivo Dilúil | 4 | 8 | 12 | 16 | 20 | 24 | 28 | 32 | 36 | 40 | |
| H | Testigo Positivo dilúil | 4 | 8 | 12 | 16 | 20 | 24 | 28 | 32 | 36 | 40 | |



Columna en blanco (sin suero)

casos), seguida de neumonías (197), enteritis hemorrágica (150), problemas de nemátodos gastrointestinales (118) y anaplasmosis (56). Durante este decenio fueron eliminadas 164 hembras (remoción por motivos de productividad y pérdidas en las que se incluye mortalidad). La tasa de remoción se incrementó de 2.43% en 1980 a 17.1 % en 1989, observándose la mayor tasa de remoción (37%) en 1986. Del total de hembras removidas durante 10 años, más de la mitad (53%) fueron animales adultos (>36 meses de edad). Cuarenta por ciento fueron entre 4 a 36 meses de edad. En general del total de 164 animales eliminados, a 74 (45%) se les atribuyó la causa a problemas de manejo y accidentes; a 61 animales (37%) se les atribuyeron causas de problemas productivos (baja producción de leche) y reproductivos y a 29 animales (18%) se les atribuyó la eliminación por problemas infecciosos. En los años de 1986, 1987, 1988 Y 1989 la tasa cruda de mortalidad fue de 5.7%, 6.0%, 6.3% Y 5.8% respectivamente. Asimismo la tasa cruda de morbilidad para estos años fue de 43%, 45%, 35% Y 30%. Durante estos años las enfermedades clínicas de mayor frecuencia fueron: mastitis, neumonías, coccidiosis y anaplasmosis. La tasa global de desecho fue de 6.3% y las principales causas fueron problemas de producción, de reproducción, traumas, intoxicaciones por urea y mal comportamiento durante el ordeño (41).

El resultado general de prevalencia en estudios bimensuales de corte de sección muestra que de un total de 3847 sueros muestreados de una población promedio de ganado bovino de 296, se observó una seroprevalencia alta para Virus de la Lengua Azul, BTV (73.4%), *Anaplasma marginale*, AM (60.6%), *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*, LH (45.4%) y *Mycoplasma bovis*, MB (41.8%). Se observó una mediana seroprevalencia para *Coxiella burnetii*, CB (26.4%), Rotavirus, RV (22.6%), *Haemophilus somnus*, HS (21.8%), *Campylobacter fetus*, CF (21.3%), *Chlamydia psittacii-trachomatis*, CL (20.5%), *Pasteurella multocida*, PM (20.1 %) Y Virus Respiratorio Sincitial Bovino, BRSV (19.9 %).

Baja seroprevalencia se presentó para *Toxoplasma gondii*, TG (17.0%), Virus de Parainfluenza 3, PI3 (15.6%), *Salmonella typhimurium*, ST (14.9%), Virus de la Leucosis Bovina, BLV diagnosticado por inmunodifusión en agar (14.8%), *Mycobacterium paratuberculosis*, MP (12.4%), *Salmonella dublin*, SD (12.0%) y *Listeria monocytogenes*, LM (10.0%). Muy baja seroprevalencia se encontró en el caso de Virus de la Diarrea Viral Bovina, BVD (5.4%) y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, IBR (2.5%). El único caso en que se encontró cero seroprevalencia fue para *Brucella abortus*, BA (Cuadro 7 y Figura 2). Los resultados de concordancia de sueros del CIEEGT analizados por ELISA comparados con los resultados oficiales del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos se muestran en el Cuadro 8.

En el estudio de cohorte (prospectivo longitudinal) en el que se seleccionaron animales existentes al principio del estudio en 1986 y que se encontraban vivos en el CIEEGT al final de 1989 para estudiar la dinámica de respuesta serológica en los mismos animales a través del tiempo, se encontró una seroprevalencia similar con ligeras variantes a los de la población general. Se encontró una alta seroprevalencia para BTV, AM, LH Y MB. Mediana seroprevalencia se encontró para CB, RV, CF, BRSV, CL, PM, PI3, HS, ST, BLV Y SD. Baja seroprevalencia se encontró para TG, MP, LM, BVD e IBR. La seroprevalencia contra BA fue cero (Cuadro 9). Al comparar los resultados de las dos primeras pruebas serológicas con las dos últimas pruebas, se observó que no existió mucho cambio con excepción de *Mycoplasma bovis* que cambió en rango de secuencia de seroprevalencia con *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* así como Virus de la Leucosis Bovina que cambió rango con el Virus de la Parainfluenza 3. Aquí se observó un considerable aumento en la prevalencia de *Anaplasma marginale* (Cuadro 10). Con respecto a las tendencias de seroprevalencia en los animales se observó una tendencia positiva para BLV MB, AM, CB, PI3, IBR, MP, ST, BRSV, LM y CL. Se

CUADRO 7

PORCENTAJE DE PREVALENCIA DE SUEROS POSITIVOS DE BOVINOS EN EL TRÓPICO DE MEXICO DETERMINADOS MEDIANTE LA PRUEBA ELISA(1986, 1988, 1989)

| | DE86 | EF88 | MA88 | MJ88 | JA88 | SO88 | ND88 | EF89 | MA89 | MJ89 | JA89 | SO89 | ND89 | PROM |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| PROMEDIO | | | | | | | | | | | | | | |
| BITV | 70 | 85 | 49 | 80 | 49 | 92 | 98 | 48 | 47 | 80 | 85 | 87 | 85 | 73.4 |
| AM | 57 | 36 | 42 | 65 | 65 | 60 | 92 | 42 | 42 | 77 | 61 | 70 | 79 | 60.6 |
| LH | 43 | 50 | 30 | 57 | 28 | 50 | 43 | 52 | 61 | 47 | 66 | 33 | 31 | 45.4 |
| MB | 30 | 31 | 31 | 36 | 29 | 40 | 51 | 52 | 54 | 39 | 57 | 52 | 42 | 41.8 |
| CB | 24 | 35 | 40 | 19 | 10 | 14 | 15 | 22 | 11 | 34 | 49 | 35 | 36 | 26.4 |
| RV | 13 | 10 | 11 | 32 | 25 | 9 | 22 | 40 | 38 | 27 | 36 | 15 | 17 | 22.6 |
| HS | 18 | 30 | 19 | 30 | 16 | 23 | 12 | 17 | 16 | 18 | 35 | 22 | 28 | 21.8 |
| CF | 19 | 36 | 10 | 35 | 23 | 10 | 6 | 20 | 30 | 18 | 27 | 16 | 27 | 21.3 |
| CL | 17 | 33 | 9 | 7 | 16 | 12 | 12 | 23 | 7 | 25 | 27 | 52 | 27 | 20.5 |
| PM | 24 | 22 | 11 | 10 | 24 | 19 | 20 | 22 | 27 | 28 | 21 | 14 | 20 | 20.1 |
| BRS | 26 | 18 | 9 | 15 | 13 | 19 | 18 | 35 | 20 | 18 | 23 | 15 | 30 | 19.9 |
| TG | 9 | 22 | 17 | 28 | 19 | 18 | 19 | 23 | 12 | 19 | 11 | 12 | 13 | 17.0 |
| PI3 | 11 | 4 | 9 | 11 | 18 | 15 | 0 | 22 | 26 | 23 | 48 | 5 | 12 | 15.6 |
| ST | 16 | 12 | 3 | 12 | 10 | 13 | 21 | 12 | 14 | 17 | 11 | 35 | 18 | 14.9 |
| BLV | 9 | 7 | 9 | 13 | 12 | 12 | 12 | 24 | 22 | 18 | 16 | 26 | 13 | 14.8 |
| MP | 7 | 21 | 4 | 4 | 11 | 18 | 0 | 10 | 12 | 20 | 20 | 15 | 20 | 12.4 |
| SD | 10 | 13 | 3 | 9 | 4 | 9 | 30 | 11 | 7 | 15 | 21 | 11 | 13 | 12.0 |
| LM | 6 | 13 | 12 | 5 | 9 | 4 | 5 | 12 | 13 | 12 | 15 | 11 | 13 | 10.0 |
| BVD | 2 | 16 | 2 | 16 | 12 | 4 | 2 | 4 | 5 | 5 | 2 | 0 | 1 | 5.4 |
| IBR | 1 | 5 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 9 | 6 | 4 | 3 | 0 | 1 | 2.5 |
| BA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Núm | 400 | 320 | 315 | 320 | 280 | 316 | 260 | 290 | 280 | 296 | 200 | 290 | 280 | 296 |
| Total | | | | | | | | | | | | | | |

BIT = Virus de la Lengua Azul

SD = Salmonella Dublin

AM = Anaplasma marginale

TG = Toxoplasma gondii

LH = Leptospira interrogans serovar hardjo

PB = Virus de la Parainfluenza 3

MB = Mycoplasma bovis

ST = Salmonella typhimurium

CB = Coxiella burnetii

BLV = Virus de la Leucosis Bovina

RV = Rotavirus

MP = Mycobacterium paratuberculosis

HS = Haemophilus somus

LM = Listeria monocytogenes

CF = Campylobacter fetus

BVD = Virus de la Diarrea Viral Bovina

CL = Chlamydia psittaci-trachomatis

JBR = Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina

PM = Pasteurella multocida

BA = Brucella abortus

BRSV= Virus Respiratorio Sincital Bovino

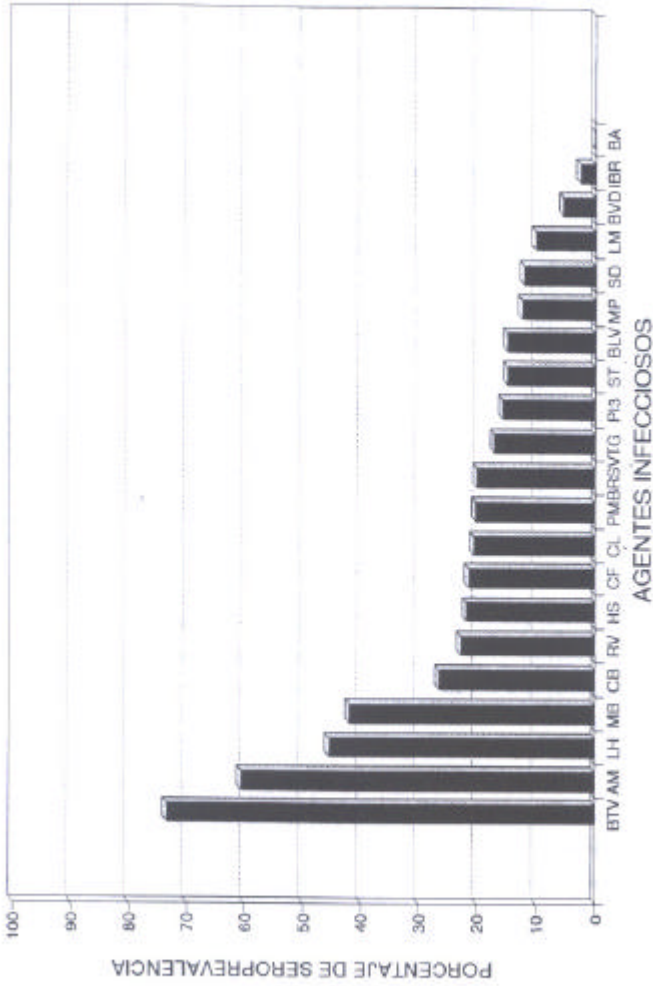


Fig. 2 Porcentaje de seroprevalencia determinada por prueba de ELISA contra agentes infecciosos de bovinos en el trópico de México (1988, 1989)

CUADRO 8

COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS SEROLÓGICOS
EFECTUADOS POR LOS LABORATORIOS DE LOS SERVICIOS
NACIONALES DE LABORATORIOS VETERINARIOS (NVSL)
(PRUEBAS OFICIALES) Y LOS REALIZADOS EN EL
DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGÍA Y MEDICINA
PREVENTIVA DE UCD (ELISA)¹

| <i>Antígeno</i> | <i>No.de muestras</i> | <i>Prueba oficial</i> | <i>Concordancia %</i> | <i>Sensibilidad %</i> | <i>Especificidad %</i> |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| <i>BTVT</i> | 22 | AGID | 91 | 87 | 100 |
| <i>LH</i> | 23 | MAT | 92 | 89 | 100 |
| <i>BA *</i> | 17 | CF | 83 | 90 | 75 |
| <i>IBR</i> | 22 | SN | 82 | 86 | 75 |
| <i>PI3</i> | 24 | HI | 75 | 68 | 83 |
| <i>MP</i> | 21 | CF | 52 | 100 | 43 |
| <i>BVD</i> | 23 | SN | 48 | 70 | 31 |
| <i>AM</i> | 21 | CF | ** | ** | ** |

Antígenos

*BIT= Virus de la Lengua Azul**BA = Brucella abortus**LH = Leptospira interrogans serovar hardjo**PI3 = Virus de Parainfluenza 3**IBR=Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina**AM = Anaplasma marginale**MP = Mycobacterium paratuberculosis**BVD= Virus de la Diarrea Viral Bovina*

PRUEBA OFICIAL

AGIO =Inmunodifusión en agar. MAT = Microaglutinación

CF = Fijación de complemento. SN = Sero neutralización

HI = Inhibición de la hemoaglutinación.

* Los sueros anticomplementarios fueron omitidos en los resultados de comparación con *Brucella. abortus*.

** Todos los sueros fueron anticomplementarios.

La sensibilidad y especificidad de ELISA fue calculado usando los resultados del NVSL que representan el estandar ideal o "estado en la naturaleza".

¹ Es la es una modificación del cuadro usado par Behy mer D. Riemann HP, Utterback W. et al.

CUADRO 9

SEROPREVALENCIA DE AGENTES INFECCIOSOS DE
BOVINOS EN EL TRÓPICO DE MEXICO UTILIZANDO
LA PRUEBA DE ELISA. ESTUDIO DE COHORTE
DE 159 ANIMALES (1986,1988, 1989).

| | DEC86 | EF88 | MA88 | MJ88 | JA88 | S088 | ND88 | EF89 | MA89 | MJ89 | JA89 | S089 | ND89 |
|------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| <i>BTV</i> | 76 | 92 | 66 | 74 | 81 | 95 | 98 | 31 | 40 | 75 | 88 | 85 | 91 |
| <i>AM</i> | 50 | 43 | 53 | 65 | 72 | 65 | 93 | 47 | 42 | 80 | 70 | 91 | 82 |
| <i>LH</i> | 50 | 52 | 56 | 64 | 51 | 56 | 59 | 77 | 62 | 54 | 70 | 37 | 39 |
| <i>MB</i> | 20 | 36 | 41 | 44 | 46 | 44 | 69 | 67 | 58 | 56 | 75 | 64 | 49 |
| <i>CB</i> | 16 | 40 | 34 | 23 | 25 | 18 | 17 | 28 | 15 | 43 | 67 | 41 | 32 |
| <i>RV</i> | 28 | 25 | 27 | 41 | 25 | 23 | 32 | 31 | 34 | 29 | 38 | 26 | 18 |
| <i>CF</i> | 31 | 41 | 38 | 39 | 29 | 15 | 10 | 30 | 36 | 18 | 24 | 21 | 19 |
| <i>SV</i> | 27 | 19 | 24 | 21 | 28 | 34 | 23 | 38 | 26 | 16 | 30 | 27 | 33 |
| <i>CL</i> | 28 | 35 | 23 | 7 | 25 | 15 | 15 | 16 | 9 | 29 | 45 | 53 | 32 |
| <i>PM</i> | 30 | 31 | 26 | 10 | 21 | 21 | 34 | 22 | 18 | 31 | 28 | 19 | 21 |
| <i>PI3</i> | 9 | 13 | 16 | 12 | 18 | 19 | 20 | 4 | 30 | 37 | 33 | 62 | 14 |
| <i>HS</i> | 29 | 27 | 24 | 37 | 16 | 20 | 17 | 8 | 13 | 11 | 23 | 23 | 32 |
| <i>ST</i> | 25 | 21 | 22 | 16 | 18 | 15 | 22 | 10 | 18 | 24 | 15 | 43 | 24 |
| <i>BLV</i> | 3 | 10 | 11 | 14 | 14 | 15 | 18 | 21 | 31 | 33 | 35 | 39 | 28 |
| <i>TG</i> | 8 | 20 | 15 | 31 | 17 | 23 | 28 | 26 | 11 | 13 | 14 | 19 | 10 |
| <i>MP</i> | 6 | 22 | 20 | 4 | 20 | 21 | 10 | 11 | 9 | 26 | 33 | 13 | 17 |
| <i>SD</i> | 9 | 11 | 12 | 17 | 16 | 12 | 25 | 9 | 11 | 20 | 32 | 14 | 9 |
| <i>LM</i> | 10 | 8 | 8 | 3 | 7 | 3 | 4 | 12 | 13 | 13 | 18 | 5 | 18 |
| <i>BVD</i> | 5 | 17 | 6 | 25 | 5 | 8 | 6 | 8 | 10 | 5 | 3 | 4 | 3 |
| <i>IBR</i> | 3 | 10 | 2 | 2 | 4 | 1 | 3 | 12 | 6 | 9 | 6 | 0 | 1 |
| <i>BA</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

BTV = Virus de la Lengua Azul

AM = *Anaplasma marginale*

LH = *Leptospira interrogans serovar. hardjo*

MB = *Mycoplasma bovis*

CB = *Coxiella burnetii*

RV = Rotavirus

HS = *Haemophilus somnus*

CF = *Campylobacter fetus*

CL = *Clamidia psittaci-trachomatis*

PM = *Pasteurella multocida*

BRSV = Virus Respiratorio Sincital Bovino

SD = *Salmonella Dublin*

TG = *Toxoplasma gondii*

PI3 = Virus de la Parainfluenza

ST = *Salmonella typhimurium*

BLV = Virus de la Leucosis Bovina

MP = *Mycobacterium paratuberculosis*

LM = *Listeria monocytogenes*

BID = Virus de la Diarrea Viral Bovina

IBR = Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina

BA = *Brucella abortus*

CUADRO 10

PORCENTAJE PROMEDIO DE SEROPREVALENCIA
ENTRE LAS DOS PRIMERAS Y LAS DOS ÚLTIMAS
PRUEBAS EN 159 BOVINOS DURANTE EL PERIODO DE
ESTUDIO (1986, 1988, 1989)

PROMEDIO DE LAS DOS PRIMERAS Y LAS DOS ULTIMAS PRUEBAS
SEROLÓGICAS DE ELISA (1986,1988,1989)

| | DEC86 | EF88 | PROMEDIO | S089 | ND89 | PROMEDIO |
|------------|-------|------|----------|------|------|----------|
| <i>BTV</i> | 76 | 92 | 84 | 85 | 91 | 88 |
| <i>AM</i> | 50 | 43 | 47 | 91 | 82 | 87 |
| <i>LH</i> | 50 | 52 | 51 | 37 | 39 | 38 |
| <i>HB</i> | 20 | 36 | 28 | 64 | 49 | 57 |
| <i>CB</i> | 16 | 40 | 28 | 41 | 32 | 37 |
| <i>RV</i> | 28 | 25 | 27 | 26 | 18 | 22 |
| <i>CF</i> | 31 | 41 | 36 | 9 | 19 | 14 |
| <i>SV</i> | 27 | 19 | 23 | 27 | 33 | 30 |
| <i>CL</i> | 28 | 35 | 32 | 53 | 32 | 43 |
| <i>PM</i> | 30 | 31 | 31 | 19 | 21 | 20 |
| <i>PI3</i> | 9 | 13 | 11 | 62 | 14 | 38 |
| <i>HS</i> | 29 | 27 | 28 | 23 | 32 | 28 |
| <i>ST</i> | 25 | 21 | 23 | 43 | 24 | 34 |
| <i>BLV</i> | 3 | 10 | 7 | 39 | 28 | 34 |
| <i>TG</i> | 8 | 20 | 14 | 19 | 10 | 15 |
| <i>MP</i> | 6 | 22 | 14 | 13 | 17 | 15 |
| <i>SD</i> | 9 | 11 | 10 | 14 | 9 | 12 |
| <i>LM</i> | 10 | 8 | 9 | 5 | 18 | 12 |
| <i>BVD</i> | 5 | 17 | 11 | 4 | 3 | 4 |
| <i>IBR</i> | 3 | 10 | 7 | 0 | 1 | 1 |
| <i>BA</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

BTV - Virus de la Lengua Azul

AM - *Anaplasma marginale*

LH = *Leptospira interrogans serovar hardjo*

MB = *Mycoplasma Boris*

CB = *Coxiella burnetii*

RV = Rotavirus

HS = *Haemophilus somnus*

CF = *Campylobacter fetus*

CL = *Clamidia psittaci-trachomatis*

PM = *Pasteurella multocida*

BRSV- Virus Respiratorio Sincitial Bovino

SD = *Sanonella dublin*

TO = *Toxoplasma gondii*

PI3 = Virus de la Parainfluenza 3

ST = *Salmonella typhimurium*

BLV - Virus de la Leucosis Bovina

MP = *Mycobacterium paratuberculosis*

LM = *Listeria monocytogenes*

BVD = Virus de la Diarrea Viral Bovina

IBR = Virus de la Rntraqueitis infecciosa Bovina

BA = *Brucella abortus*

encontró una tendencia negativa para BVD, SD, HS, CF, BTV Y TG. No se observó ninguna tendencia en el caso de LH, RV y PM (Cuadro 11). Se observó un patrón estacional diferente de los anticuerpos IgG entre los diferentes agentes infecciosos (Cuadro 12 y Figura 3).

Con relación al estudio de seroprevalencia por edad y genotipo de animales, se encontró una prevalencia global de resultados positivos baja en animales jóvenes (4 meses de edad), mediana para animales en desarrollo (4 - 36 meses de edad) y alta para animales en producción (>36 meses de edad) (Cuadro 13). Entre los 3 genotipos estudiados solo se encontraron diferencias de respuesta serológica entre dos de ellos. En el caso de 14 antígenos se observó un incremento en seroprevalencia en los animales de las etapas de desarrollo a producción. El incremento en serorespuesta de becerros a animales en desarrollo fue menos pronunciado para los agentes infecciosos con una alta seroprevalencia comparado con los agentes de una baja seroprevalencia. Esto se esperaba con posibles excepciones como en el caso de AM que tiene una alta prevalencia como resultado de una exposición temprana en animales jóvenes al agente o como en el caso de BLV en el que los niveles de anticuerpos encontrados se deben seguramente a anticuerpos calostrales. Para los tres grupos de diferente edad, la seroprevalencia más alta se observó para BTV, AM, MB, RV, LH Y BRSV. Los valores de seroprevalencia más bajos se encontraron para BLV, BVD e IBR (Cuadro 14 y Figura 4). La seroprevalencia contra BA fue cero en todos los grupos. La comparación de seroprevalencia entre animales en desarrollo y producción mostró que los animales en producción tienen una frecuencia más alta de pruebas positivas para 14 de 19 agentes: BRSV, AM, MB, RV, ST, CF, TG, LM, PI3, PM, CB, BLV, BVD Y IBR. Los animales en desarrollo tuvieron una alta seroprevalencia en 5 de 19 antígenos: BTV, LH, SD, CL Y HS. Se observó que el promedio relativo de incremento en seroprevalencia entre becerros

CUADRO 11

**TENDENCIA SECULAR DE SEROPREVALENCIA DE
AGENTES INFECCIOSOS EN GANADO BOVINO DEL
TRÓPICO DE MEXICO**

| Agente | Tendencia | R ² | Valor de p |
|---|-----------|----------------|------------|
| <i>Virus de La Leucosis Bovina Mycoplasma</i> | POSITIVA | .83 | .00003 |
| <i>bovis</i> | POSITIVA | .43 | .0197 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | POSITIVA | .35 | .0401 |
| <i>Virus de la Parainfluenza 3 Anaplasma</i> | POSITIVA | .31 | .0594 |
| <i>marginale Chlamydia psittaci-trachomatis</i> | POSITIVA | .27 | .0846 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | POSITIVA | .20 | .1423 |
| <i>Virus Respiratorio Sincitial Bovino Coxiella</i> | POSITIVA | .14 | .2333 |
| <i>burnetti</i> | POSITIVA | .12 | .2783 |
| <i>Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina</i> | POSITIVA | .10 | .3052 |
| <i>Mycobacterium paratuberculosis</i> | POSITIVA | .016 | .6917 |
| <i>Virus de la Diarrea Viral Bovina</i> | POSITIVA | .015 | .7014 |
| <i>Campylobacter fetus</i> | NEGATIVA | .38 | .0326 |
| <i>Toxoplasma gondii</i> | NEGATIVA | .33 | .0503 |
| <i>Salmonella dublin</i> | NEGATIVA | .21 | .1308 |
| <i>Haemophilus somnus</i> | NEGATIVA | .03 | .5568 |
| <i>Virus de Lengua Azul</i> | NEGATIVA | .025 | .6245 |
| <i>Leptospira interrogans serovar hardjo</i> | NEGATIVA | .000005 | .9941 |
| <i>Rotavirus</i> | NO | .06 | .4454 |
| <i>Pasteurella multocida</i> | NO | .011 | .7414 |
| | NO | .001 | .9175 |

POSITIVO = Tendencia de incremento

NEGATIVO = Tendencia de decremento

NO = No hubo tendencia

CUADRO 12

**ESTACIONALIDAD AJUSTADA POR TENDENCIA
SECULAR DE AGENTES INFECCIOSOS DE 159 BOVINOS
DEL TRÓPICO DE MÉXICO (1986, 1988, 1989)**

| <i>Agente</i> | <i>Estación con mayor prevalencia</i> | <i>R²</i> | <i>Valor de p</i> |
|---|---|----------------------|-------------------|
| <i>Campylobacter fetus</i> | Tardío FH y Temprano CS | .93 | .00208 |
| <i>Anaplasma marginale</i> | Temprano FH | .90 | .00366 |
| <i>Virus de Lengua Azul</i> | Temprano FH | .88 | .00589 |
| <i>Virus de Leucosis Bovina</i> | Tardío FH | .80 | .01466 |
| <i>Haemophilus somnus</i> | Temprano FH | .79 | .01930 |
| <i>Virus de la Diarrea Viral Bovina</i> | Tardío CS | .65 | .05232 |
| <i>Mycoplasma bovis</i> | early CW | .64 | .05609 |
| <i>Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina</i> | Tardío FH | .63 | .06102 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | Tardío CH | .46 | .14078 |
| <i>Virus de la Parainfluenza 3</i> | Tardío CH | .32 | .24564 |
| <i>Rotavirus</i> | Tardío CS | .23 | .33910 |
| <i>Salmonella dublin</i> | Temprano CH | .22 | .35137 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | Tardío FH | .16 | .44381 |
| <i>Virus Respiratorio Sincitial Bovino</i> | Tardío FH | .12 | .49692 |
| <i>Coxiella burnetti</i> | Tardío FH | .12 | .49797 |
| <i>Chlamydia psittaci -trachomatis</i> | Tardío FH | .04 | .70705 |
| <i>Toxoplasma gondii</i> | Tardío CH | .03 | .76085 |
| <i>Leptospira interrogans serovar hardjo</i> | Tardío FH | .03 | .75084 |
| <i>Pasteurella multocida</i> | Temprano FH | .002 | .92802 |
| <i>Mycobacterium paratuberculosis</i> | Temprano CH | .0005 | .96768 |

Estaciones: CS = Caliente y Seco (Marzo a Junio)
 CH = Caliente y Húmedo (Julio a Octubre)
 FH = Frío y Húmedo (Noviembre a Febrero)

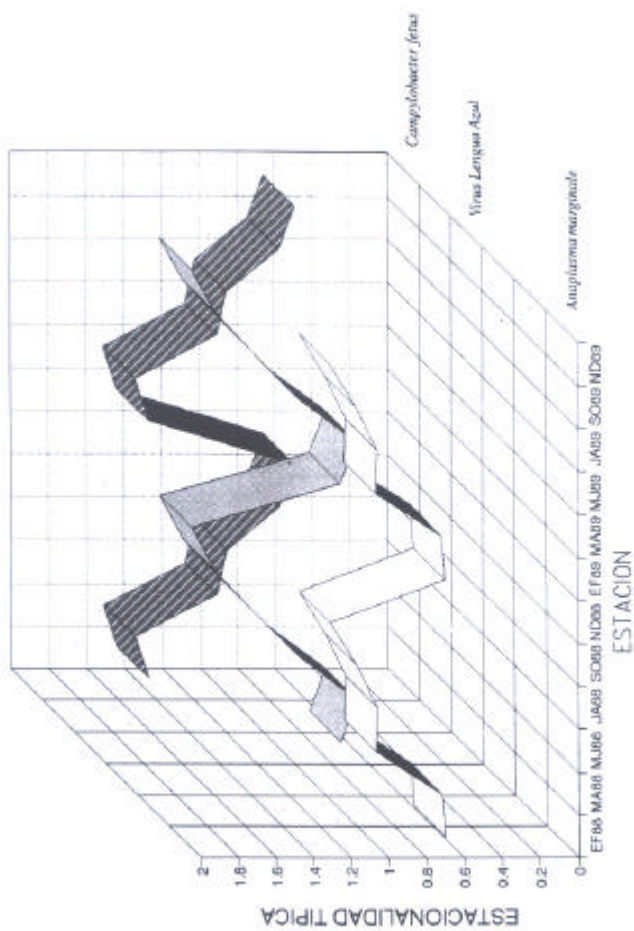


Fig. 3 Seroprevalencia por estación del año, corregida por tendencia en ganado bovino del Trópico Cohorte de 159 animales (1986, 1988, 1989)

CUADR013

PORCENTAJE PROMEDIO DE SEROPREVALENCIA
CONTRA AGENTES INFECCIOSOS DE BOVINOS DEL
TRÓPICO DE MEXICO, ESTRATIFICADOS POR EDAD
(1986, 1988, 1989)

| | <i>Edad</i> | | <i>Grupo</i> |
|-------------|-----------------|------|-------------------|
| | <i>Becerras</i> | | <i>Desarrollo</i> |
| | | | <i>Producción</i> |
| <i>BTV</i> | 76.3 | 90.3 | 87.7 |
| <i>AM</i> | 34.3 | 59.0 | 59.7 |
| <i>SD</i> | 28.7 | 43.0 | 38.0 |
| <i>LH</i> | 28.3 | 46.7 | 41.0 |
| <i>MB</i> | 26.3 | 39.3 | 59.0 |
| <i>ST</i> | 26.3 | 33.7 | 47.3 |
| <i>TG</i> | 22.7 | 38.7 | 40.0 |
| <i>PM</i> | 22.3 | 28.0 | 36.0 |
| <i>BRSV</i> | 21.3 | 34.0 | 60.3 |
| <i>CF</i> | 19.7 | 30.7 | 41.0 |
| <i>RV</i> | 17.0 | 51.3 | 54.0 |
| <i>LM</i> | 14.0 | 30.0 | 37.3 |
| <i>CB</i> | 10.7 | 23.7 | 34.3 |
| <i>CL</i> | 8.33 | 38.7 | 34.3 |
| <i>HS</i> | 6.33 | 23.0 | 20.3 |
| <i>BLV</i> | 5.33 | 7.33 | 17.3 |
| <i>PI3</i> | 1.67 | 15.0 | 37.3 |
| <i>BVD</i> | 1.67 | 7.33 | 10.0 |
| <i>IBR</i> | 1.0 | 1.8 | 2.67 |
| <i>BA</i> | 0 | 0 | 0 |

BTV = *Virus de la Lengua Azul*

AM = *Anaplasma marginale*

LH = *Leptospira interrogans serovar hardjo*

MB = *Mycoplasma bovis*

CB = *Coxiella burnetii*

RV = *Rotavirus*

HS = *Haemophilus somnus*

CF = *Campylobacter fetus*

CL = *Chlamydia psittaci-trachomatis*

PM = *Pasteurella multocida*

IBR = *Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina*

BRSV = *Virus Respiratorio Sincitial Bovino*

SD = *Salmonella dublin*

TG = *Toxoplasma gondii*

PB = *Virus de la Parainfluenza 3*

ST = *Salmonella thyphimurium*

BLV = *Virus de la Leucosis Bovina*

LM = *Listeria monocytogenes*

BVD = *Virus de la Diarrea Viral Bovina*

BA = *Brucella abortus*

CUADRO 14

**PORCENTAJE PROMEDIO DE SEROPREVALENCIA
CONTRA AGENTES INFECCIOSOS DE GANADO BOVINO
EN EL TRÓPICO DE MEXICO, ESTRATIFICADOS POR
EDAD Y GENOTIPO**

GRUPO ESTRATIFICADO POR EDAD

| GENOTIPO | Becerras | | | Animales en desarrollo | | | Animales en producción | | |
|----------|----------|----|----|------------------------|----|----|------------------------|----|----|
| | G1 | G2 | G3 | G1 | G2 | G3 | G1 | G2 | G3 |
| BTV | 67 | 85 | 77 | 85 | 94 | 92 | 86 | 89 | 88 |
| AM | 33 | 38 | 32 | 52 | 62 | 63 | 57 | 64 | 58 |
| SD | 33 | 30 | 23 | 42 | 46 | 41 | 37 | 41 | 36 |
| LH | 33 | 27 | 25 | 65 | 40 | 35 | 45 | 54 | 24 |
| MB | 33 | 22 | 24 | 22 | 46 | 50 | 53 | 59 | 65 |
| ST | 33 | 28 | 18 | 29 | 37 | 35 | 51 | 45 | 46 |
| TG | 33 | 18 | 17 | 41 | 39 | 36 | 37 | 41 | 42 |
| CF | 33 | 12 | 14 | 32 | 30 | 30 | 39 | 40 | 44 |
| PM | 33 | 21 | 13 | 33 | 25 | 26 | 46 | 35 | 27 |
| BRSV | 0 | 33 | 31 | 26 | 39 | 37 | 62 | 59 | 60 |
| RV | 0 | 30 | 21 | 63 | 47 | 44 | 52 | 56 | 54 |
| LM | 0 | 21 | 21 | 30 | 31 | 29 | 32 | 34 | 46 |
| CB | 0 | 14 | 18 | 21 | 21 | 29 | 29 | 30 | 44 |
| CL | 0 | 12 | 13 | 44 | 35 | 37 | 27 | 34 | 42 |
| HS | 0 | 8 | 11 | 22 | 26 | 21 | 18 | 20 | 23 |
| BLV | 0 | 5 | 11 | 11 | 7 | 4 | 18 | 22 | 12 |
| PI3 | 0 | 2 | 3 | 11 | 16 | 18 | 38 | 43 | 31 |
| BVD | 0 | 2 | 3 | 11 | 6 | 5 | 9 | 13 | 9 |
| IBR | 0 | 1 | 2 | 4 | .8 | .6 | 3 | 5 | 0 |
| BA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

BTV= *Virus de la Lengua Azul*

AM = *Anaplasma marginale*

LH = *Leptospira interrogans serovar. hardjo*

MB = *Mycoplasma Boris*

CB = *Coxiella burnetii*

RV = *Rotavirus*

HS = *Haemophilus somnus*

CF = *Campylobacter fetus*

CL = *Chlamydia psittaci-trachomatis*

PM = *Pasteurella multocida*

BRSV = *Virus Respiratorio Sincitial B ovino*

SD = *Salmonella dublin*

TG = *Toxoplasma gondii*

PI3= *Virus de la Parainfluenza 3*

ST = *Salmonella thyphimurium*

BLV= *Virus de la Leucosis Bovina*

LM = *Listeria monocytogenes*

BVD= *Virus de la Diarrea Viral Bovina*

BA = *Brucella abortus*

IBR = *Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina.*

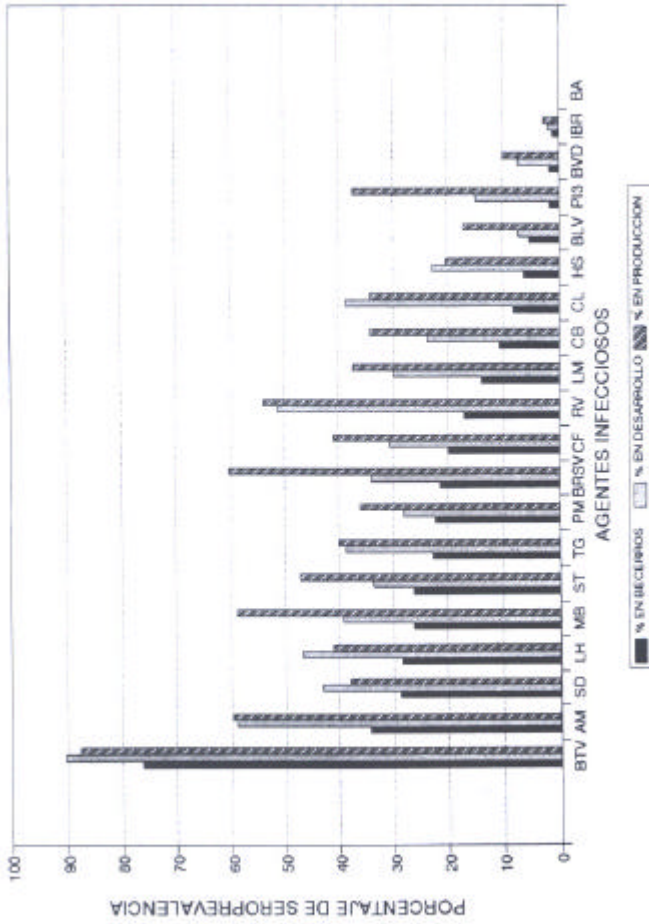


Fig. 4 Porcentaje promedio de seroprevalencia contra agentes infecciosos de ganado bovino estratificado por edad del trópico de México

y animales en desarrollo fue de 139%, el observado entre becerros y animales en producción fue de 240%, y el observado entre animales en desarrollo y animales en producción fue de 17%. El incremento general relativo en seroprevalencia entre becerros y animales en desarrollo mostró que la diferencia más alta ocurrió en el caso de PI3 (650%), CL (388%), HS (283%) y BVD (250%). Las diferencias más bajas se encontraron para BTV (16%), PM (27%), ST (31 %) Y BLV (40%) (Figura 5). Estos valores reflejan un incremento en exposición en animales en desarrollo. El incremento relativo en seroprevalencia entre becerros y animales en producción mostró una mayor diferencia para PI3 (1750%), BVD (400%), CL (325%) y BLV (240%). La diferencia más baja fue para BTV (17%), SD (31%), LH (46%) y PM (64%). (Figura 6). Los valores en becerros reflejan inmunidad materna o exposición temprana al agente infeccioso.

El incremento relativo en seroprevalencia entre animales en desarrollo y en producción mostró una diferencia más alta para BLV (59%), PI3 (50%), BRSV (43%) Y MB (34%). La menor diferencia se observó para HS (-15), CL (-15), LH (-15) y SD (-13). (Figura 7). No se encontraron diferencias en seroprevalencia entre los diferentes genotipos con excepción de entre los animales en producción G1 Y G2, en donde se encontró menor serorespuesta para el Genotipo 1 comparado con el Genotipo 2; no se encontró diferencia entre los genotipos G1 Y G3 o entre los G2 y G3.

Con relación al estudio sobre las fluctuaciones de inmunoglobulinas G durante el estado reproductivo de hembras gestantes se observó que la respuesta para cada agente infeccioso aumentó durante el primer mes de gestación; esto fue seguido por un decremento de los niveles en el tercero y cuarto mes de gestación para incrementar de nuevo en el quinto y sexto mes para disminuir ligeramente en el séptimo mes y subir en el octavo y noveno, decayendo después del parto para volver a subir un mes después

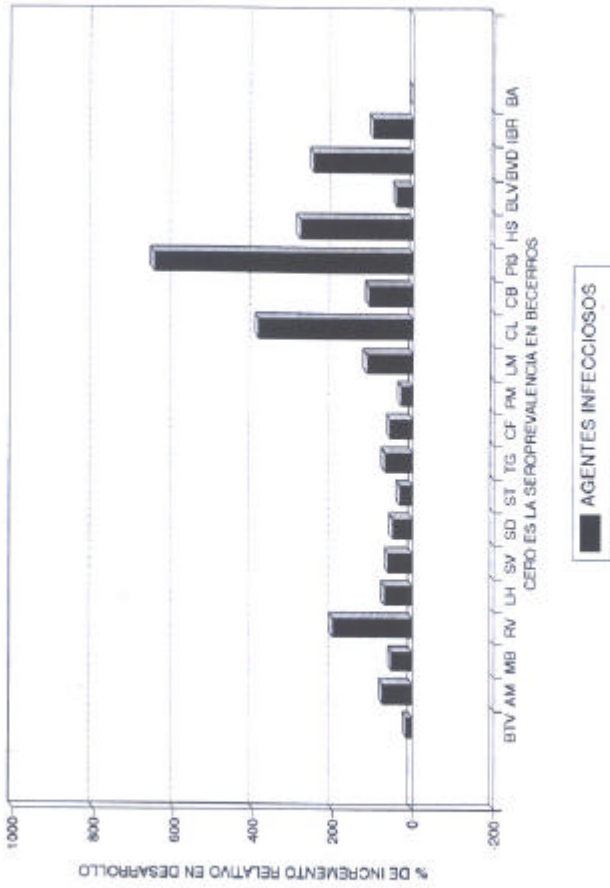


Fig. 5 Diferencia en seroprevalencia entre becerros (< 4 meses) y bovinos en desarrollo (4-36 meses) en el trópico de México

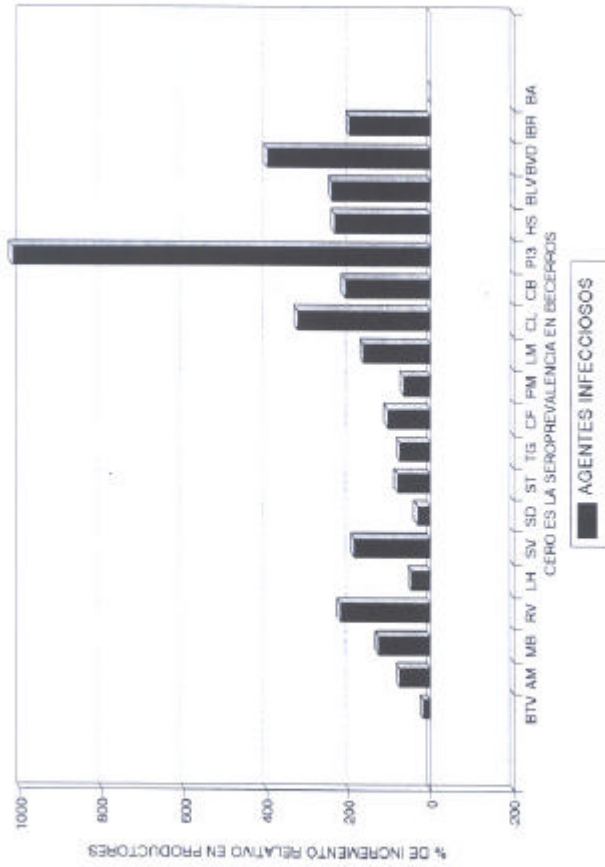


Fig. 6 Diferencia en seroprevalencia entre becerros (< 4 meses) y animales en producción (> 36 meses) en el trópico de México

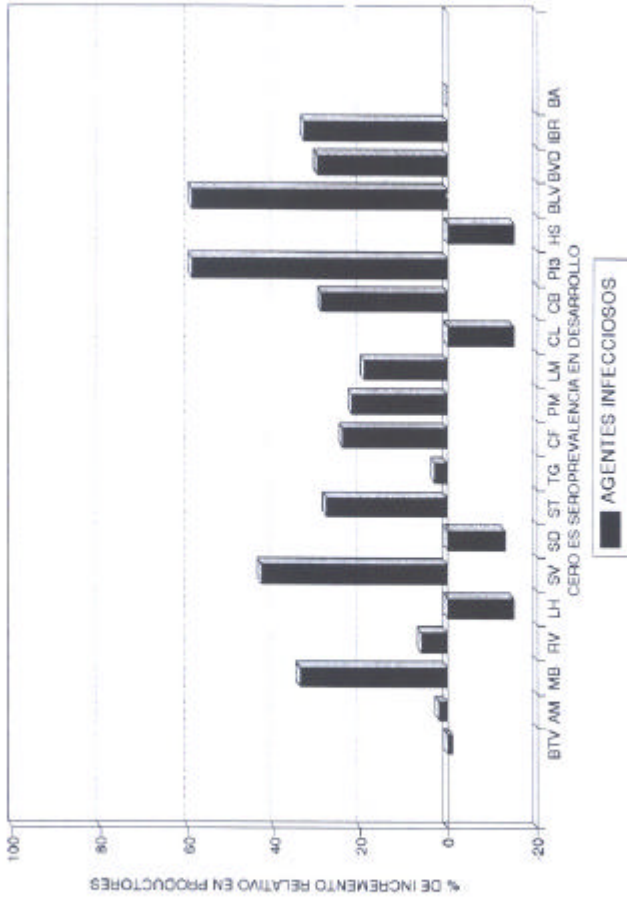


Fig. 7 Diferencia en seroprevalencia entre bovinos en desarrollo (4-36 meses) y animales en producción (> 36 meses) en el trópico de México

del parto (Cuadro 15 y Figura 8). Estas fluctuaciones son independientes de la época del año ya que el efecto de estacionalidad fue removido del análisis mediante pruebas estadísticas. Cuando se comparó la respuesta inmune entre vacas gestantes y no gestantes durante todo el año se observó que los animales gestantes mostraron valores más altos que los no gestantes para 9 de los 22 antígenos. Esta diferencia puede deberse a la diferencia de edad en los animales, ya que los animales gestantes son de mayor edad, pues algunos de los no gestantes no habían parido. Se encontró un patrón regular de perfiles de IgG para los 21 antígenos más o menos homogéneo para todos como se puede observar en el Cuadro 15. Asimismo se estudio la dinámica de seroprevalencia de agentes de alta y mínima actividad (Cuadros 16, 17, Y Figuras tridimensionales 9 y 10).

IV. Discusión

Con base a los resultados del análisis de los registros de salud de los animales del CIEEGT se debe hacer una evaluación económica y mejorar el sistema de clasificación de padecimientos y causas de desecho pues estos han variado en el período de 10 años. Se requiere además realizar un estudio constante de monitoreo para detectar el estado subclínico de enfermedad en los animales y establecer políticas de eliminación del hato con certificados de laboratorio o clínicos que los justifiquen. Los criterios de desecho de animales por baja productividad y problemas reproductivos deben ser complementados con estudios de laboratorio pues solo se hace por apreciación personal.

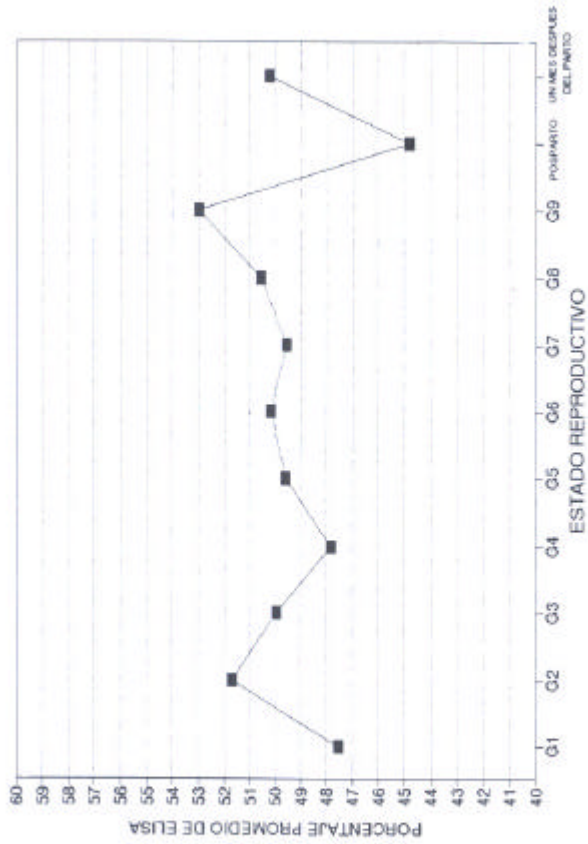
Los estudios transversales o de corte de sección de prevalencia se usan como medida epidemiológica en las poblaciones (período de prevalencia). Esto determina que los animales que seroconvierten en un período de tiempo determinado son identificados, este período

CUADRO 15

PORCENTAJE PROMEDIO DE LOS VALORES DE ELISA DE 21 AGENTES INFECCIOSOS DE 125 VACAS DE ACUERDO A SU ESTADO REPRODUCTIVO EN EL TRÓPICO DE MEXICO (1988, 1989)

| AGENTE | MES DE GESTACION (G1 - G7) PARTO Y PRIMERA PRUEBA | | | | | | | DESPUES DEL PARTO | | | PRIMERA PRUEBA |
|--------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------------|-------|-------|----------------|
| | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 | G8 | G9 | PARTO | |
| CF | 49.29 | 44.09 | 46.67 | 42.74 | 48.19 | 47.45 | 44.84 | 45.78 | 51.62 | 37.95 | 45.30 |
| LH | 51.80 | 48.63 | 49.01 | 41.20 | 56.71 | 50.27 | 47.94 | 57.16 | 54.70 | 50.72 | 46.44 |
| BTV | 59.50 | 76.54 | 77.36 | 71.52 | 67.93 | 80.92 | 71.08 | 71.14 | 63.03 | 66.04 | 73.34 |
| MB | 65.12 | 57.24 | 64.34 | 54.26 | 60.25 | 58.87 | 54.05 | 59.51 | 66.18 | 50.51 | 56.10 |
| AM | 53.54 | 57.00 | 56.33 | 63.61 | 52.29 | 65.53 | 50.22 | 56.57 | 56.41 | 54.36 | 61.94 |
| PM | 40.85 | 47.79 | 48.64 | 49.72 | 45.86 | 50.79 | 49.69 | 49.64 | 62.52 | 44.99 | 48.54 |
| CB | 43.92 | 85.28 | 41.57 | 39.37 | 39.51 | 43.89 | 41.44 | 44.20 | 48.58 | 35.92 | 45.61 |
| TG | 43.35 | 51.99 | 44.57 | 47.91 | 43.94 | 35.97 | 47.06 | 48.74 | 49.28 | 36.14 | 40.54 |
| ST | 40.32 | 52.45 | 50.64 | 39.07 | 53.03 | 48.24 | 49.62 | 44.85 | 60.87 | 46.89 | 54.83 |
| SD | 33.30 | 45.09 | 42.64 | 36.53 | 42.69 | 44.80 | 45.34 | 43.18 | 43.66 | 38.04 | 44.05 |
| BRSV | 58.80 | 58.96 | 49.81 | 51.48 | 56.47 | 51.88 | 58.68 | 58.41 | 59.84 | 56.53 | 53.81 |
| BB | 46.00 | 47.87 | 46.18 | 50.78 | 37.86 | 43.93 | 44.68 | 50.65 | 43.17 | 38.95 | 45.10 |
| CL | 42.72 | 43.67 | 42.58 | 40.66 | 49.73 | 42.57 | 44.19 | 37.63 | 37.18 | 33.47 | 43.97 |
| BVD | 48.27 | 52.71 | 51.14 | 48.84 | 50.52 | 51.47 | 50.33 | 51.81 | 53.78 | 46.05 | 51.19 |
| BA | 47.97 | 53.05 | 51.32 | 49.48 | 50.01 | 51.57 | 50.53 | 51.36 | 53.71 | 45.66 | 51.58 |
| PI3 | 47.01 | 51.09 | 49.15 | 47.64 | 48.51 | 49.13 | 48.82 | 49.71 | 52.93 | 43.96 | 49.77 |
| IBR | 45.50 | 50.58 | 47.88 | 47.09 | 47.53 | 48.31 | 48.38 | 48.90 | 51.83 | 43.41 | 49.24 |
| HS | 44.83 | 50.04 | 47.18 | 45.71 | 47.14 | 46.88 | 48.23 | 48.26 | 51.45 | 42.50 | 48.19 |
| RV | 45.17 | 50.23 | 47.05 | 45.38 | 47.25 | 46.55 | 48.11 | 48.14 | 50.52 | 42.29 | 48.16 |
| LM | 15.27 | 50.64 | 47.51 | 45.88 | 47.89 | 46.76 | 48.66 | 48.47 | 50.68 | 42.82 | 48.37 |
| MP | 45.43 | 50.53 | 47.75 | 45.71 | 48.22 | 47.68 | 48.80 | 48.45 | 50.80 | 43.38 | 49.02 |
| TOTAL | 47.52 | 51.69 | 49.97 | 47.84 | 49.60 | 50.17 | 49.56 | 50.60 | 52.99 | 44.79 | 50.24 |

- BTV = Virus de la fiebre aftosa
- MB = *Mycobacterium paratuberculosis*
- AM = *Amesbury virus*
- PM = *Paratuberculosis*
- CB = *Coxsackie B virus*
- TG = *Togavirus*
- ST = *Salmonella typhimurium*
- SD = *Salmonella dublin*
- IG = *Toxoplasma gondii*
- PI = *Pasteurella multocida*
- MP = *Mycobacterium paratuberculosis*
- PI3 = *Parainfluenza 3*
- IBV = *Influenza B virus*
- BVD = *Bovine viral diarrhoea virus*
- BA = *Bovine adenovirus*
- PI3 = *Parainfluenza 3*
- RV = *Rotavirus*
- LM = *Listeria monocytogenes*
- HS = *Haemophilus somnus*
- BA = *Bruceella abortus*
- BB = *Borrelia burgdorferi*



acuerdo

Fig. 8 Porcentaje promedio de valores de elisa de 22 agentes infecciosos en 125 vacas del trópico de México, de acuerdo al mes de gestación, posparto y un mes después del parto (1988, 1989)

3)

CUADRO 16

**PORCENTAJE PROMEDIO DE VALORES DE ELISA DEL
VIRUS DE LENGUA AZUL EN 125 VACAS DE ACUERDO A SU
ESTADO REPRODUCTIVO EN EL TRÓPICO DE MEXICO
(1988, 1989)**

ESTADO REPRODUCTIVO

| BTV MES | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 | G8 | G9 | 1ª PRUEBA DESPUÉS DEL PARTO | | PROMEDIO |
|------------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-----------------------------------|-----------|----------|
| | | | | | | | | | | PARTO | DEL PARTO | |
| 1 | 51.60 | 77.67 | 64.89 | 58.89 | 57.29 | 60.00 | 63.00 | 55.41 | 52.40 | 53.86 | 57.00 | 59.27 |
| 2 | 55.00 | 84.69 | 75.50 | 64.50 | 58.22 | 108.36 | 108.00 | 76.29 | 44.67 | 113.80 | 92.10 | 80.10 |
| 3 | 68.33 | 75.50 | 72.50 | 60.25 | 57.94 | 79.00 | 68.67 | 74.50 | 63.38 | 51.50 | 80.00 | 68.32 |
| 4 | 48.42 | 62.00 | 65.88 | 53.17 | 57.83 | 70.00 | 58.89 | 59.25 | 53.20 | 60.43 | 59.86 | 58.99 |
| 5 | 45.42 | 59.46 | 61.80 | 56.09 | 52.00 | 55.00 | 54.90 | 52.77 | 49.91 | 56.40 | 56.12 | 54.33 |
| 6 | 72.00 | 95.00 | 87.00 | 80.91 | 67.83 | 94.86 | 72.00 | 69.00 | 69.50 | 79.83 | 79.92 | 78.90 |
| 7 | 54.00 | 60.00 | 70.62 | 71.00 | 58.80 | 76.66 | 73.00 | 58.33 | 57.03 | 60.26 | 77.00 | 65.15 |
| 8 | 54.61 | 67.00 | 97.00 | 67.45 | 56.00 | 71.40 | 66.01 | 69.29 | 75.25 | 65.50 | 59.25 | 68.07 |
| 9 | 52.00 | 93.67 | 75.00 | 69.75 | 75.50 | 78.00 | 59.40 | 66.05 | 67.67 | 54.60 | 92.00 | 71.24 |
| 10 | 75.00 | 65.96 | 68.56 | 72.00 | 50.00 | 77.00 | 49.50 | 62.50 | 55.37 | 58.50 | 61.00 | 63.22 |
| 11 | 70.86 | 81.15 | 86.05 | 92.07 | 91.25 | 92.57 | 76.38 | 90.92 | 74.43 | 65.42 | 75.61 | 81.52 |
| 12 | 66.73 | 96.33 | 103.55 | 112.14 | 132.50 | 108.14 | 103.25 | 119.33 | 93.50 | 72.33 | 90.23 | 99.82 |
| PROMEDIO | 59.50 | 76.54 | 77.36 | 71.52 | 67.93 | 80.92 | 71.08 | 71.14 | 63.03 | 66.04 | 73.34 | 70.76 |

CUADRO 17

PORCENTAJE PROMEDIO DE VALORES DE ELISA DE *Brucella abortus* EN 125 VACAS DE ACUERDO A SU ESTADO REPRODUCTIVO EN EL TR6PICO DE M6XICO (1988, 1989)

ESTADO REPRODUCTIVO

| BA MES | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 | G8 | G9 | 1ª PRUEBA DESPUES DEL PARTO | PROMEDIO |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------------------------|----------|
| 1 | 10.22 | 9.27 | 10.26 | 9.24 | 10.20 | 9.28 | 11.20 | 8.35 | 8.35 | 8.59 | 9.96 |
| 2 | 13.16 | 11.06 | 8.72 | 8.15 | 8.47 | 16.32 | 12.41 | 39.87 | 5.40 | 13.36 | 13.58 |
| 3 | 8.35 | 10.91 | 8.97 | 14.20 | 9.90 | 7.44 | 18.25 | 5.06 | 8.80 | 6.27 | 9.43 |
| 4 | 7.20 | 9.25 | 8.57 | 6.47 | 8.20 | 10.39 | 7.48 | 7.33 | 7.20 | 8.02 | 7.94 |
| 5 | 8.10 | 8.84 | 9.48 | 8.10 | 10.34 | 6.22 | 9.90 | 7.20 | 7.20 | 9.75 | 8.48 |
| 6 | 9.76 | 10.36 | 13.02 | 10.30 | 9.21 | 10.13 | 9.77 | 8.18 | 6.24 | 9.16 | 9.74 |
| 7 | 7.15 | 5.43 | 6.35 | 8.16 | 5.48 | 7.20 | 7.05 | 4.85 | 4.80 | 5.40 | 6.62 |
| 8 | 9.14 | 13.18 | 4.22 | 9.44 | 9.09 | 13.18 | 11.49 | 9.01 | 12.48 | 8.88 | 10.02 |
| 9 | 16.48 | 11.09 | 13.28 | 8.95 | 16.47 | 12.43 | 8.58 | 7.56 | 8.41 | 8.11 | 10.56 |
| 10 | 9.40 | 7.10 | 7.11 | 7.31 | 8.02 | 7.21 | 8.95 | 4.19 | 5.60 | 6.30 | 7.14 |
| 11 | 8.50 | 8.50 | 9.47 | 7.50 | 9.50 | 9.50 | 10.38 | 7.46 | 8.30 | 7.15 | 8.61 |
| 12 | 8.25 | 10.33 | 11.08 | 8.38 | 11.28 | 12.01 | 11.41 | 9.74 | 11.46 | 7.68 | 10.17 |
| PROMEDIO | 9.64 | 9.61 | 9.21 | 8.85 | 9.68 | 10.11 | 10.57 | 9.90 | 7.85 | 8.22 | 9.35 |

CUADRO 18

**CORRELACIONES ENTRE LOS VALORES DE ELISA
POSITIVOS Y NEGATIVOS AL MOMENTO DEL PARTO Y
EN EL SIGUIENTE INTERVALO ENTRE PARTOS EN
VACAS DEL TROPICO DE MEXICO (1988, 1989)**

| <i>Agente</i> | <i>Pruebas Positivas</i> | | | | <i>Pruebas Negativas</i> | | | |
|---|--------------------------|----------|-----------|-----------------|--------------------------|----------|-----------|-----------------|
| | <i>Número de vacas</i> | <i>R</i> | <i>R2</i> | <i>Prueba t</i> | <i>Número de vacas</i> | <i>R</i> | <i>R2</i> | <i>Prueba t</i> |
| Mycoplasma bovis | 18 | -0.34 | 0.12 | 1.45 | 9 | 0.51 | 0.26 | 1.56 |
| Campylobacter fetus | 19 | -0.39 | 0.15 | 0.92 | 11 | 0.16 | 0.02 | ().49 |
| Listeria monocytogenes | 18 | 0.35 | 0.12 | 1.49 | | 0.33 | 0.11 | 0.78 |
| Rotavirus | 12 | 0.47 | 0.22 | 1.68 | 12 | 0.44 | 0.19 | 1.55 |
| Virus de Rinotraquitis Infecciosa Bovina | 23 | -0.33 | 0.11 | 1.60 | NO APLICABLE | | | |
| Salmonella dublin | 21 | -0.16 | 0.03 | 0.71 | 8 | -0.60 | 0.37 | 1.85 |

CUADRO 19

SEROVARIACIONES DE INCREMENTO DE PORCENTAJE DE ELISA SEGUIDO DE UN DECREMENTO Y DESPUÉS DE UN INCREMENTO DEL INTERVALO ENTRE PARTOS EN VACAS SERO-NEGATIVAS Y SERO-POSITIVAS EN EL TRÓPICO DE MÉXICO

VACAS SERO-NEGATIVAS

| Incremento de ELISA, seguido de una disminución del intervalo entre partos | Incremento de ELISA seguido un aumento del intervalo entre partos |
|--|---|
| - <i>Mycoplasma bovis</i> | - <i>Listeria monocytogenes</i> |
| - <i>Campylobacter fetus</i> | - <i>Rotavirus</i> |
| - <i>Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina</i> | |
| - <i>Salmonella dublin</i> | |

V ACAS SERO-POSITIVAS

| Incremento de ELISA seguido de una disminución del intervalo entre partos | Incremento de ELISA, seguido de aumento del intervalo entre partos |
|---|--|
| - <i>Salmonella dublin</i> | - <i>Mycoplasma bovis</i> |
| | - <i>Campylobacter fetus</i> |
| | - <i>Listeria monocytogenes</i> |
| | - <i>Rotavirus</i> |

CUADRO 20

ASOCIACIONES UTILIZANDO LA PRUEBA EXACTA DE FISHER ENTRE PARES DE RESPUESTA (+/-) A ELISA CONTRA AGENTES INFECCIOSOS EN 27 VACAS AL PARTO DEL TRÓPICO DE MÉXICO

| Pares de agentes infecciosos con ELISA (+ / -) | Valor de p |
|--|------------|
| <i>Mycoplasma bovis/Campylobacter fetus</i> | .36 |
| <i>Mycoplasma bovis/Rotavirus</i> | .18 |
| <i>Mycoplasma bovis/Listeria monocytogenes</i> | .11 |
| <i>Mycoplasma bovis/Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina</i> | .54 |
| <i>Mycoplasma bovis/Salmonella dublin</i> | .48 |
| <i>Campylobacter fetus/Listeria monocytogenes</i> | .03* |
| <i>Campylobacter fetus/Rotavirus</i> | .09* |
| <i>Campylobacter fetus/Salmonella dublin</i> | .48 |
| <i>Campylobacter fetus/Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina</i> | .60 |
| <i>Listeria monocytogenes/Rotavirus</i> | .63 |
| <i>Rotavirus/Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina</i> | .21 |
| <i>Rotavirus/Salmonella dublin</i> | .50 |
| <i>Listeria monocytogenes/Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina</i> | .28 |
| <i>Listeria monocytogenes/Salmonella dublin</i> | .55 |
| <i>Virus de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina/Salmonella dublin</i> | .45 |

CUADRO 21

**PORCENTAJE DE RESULTADOS POSITIVOS DEL TOTAL
DE PRUEBAS DE ELISA DURANTE DOS AÑOS (1988,1989)
EN BOVINOS DEL TRÓPICO DE MÉXICO**

| <i>Agente</i> | <i>Animales</i> | | |
|--|-------------------|-------------------|-----------------|
| | <i>Producción</i> | <i>Desarrollo</i> | <i>Becerras</i> |
| <i>Campylobacter fetus</i> | 44.24 | 27.78 | 4.41 |
| <i>Leptospira interrogans serovar hardjo</i> | 52.61 | 44.44 | 26.47 |
| <i>Virus de Lengua Azul</i> | 87.02 | 87.37 | 76.19 |
| <i>Mycoplasma bavis</i> | 67.42 | 57.29 | 9.26 |
| <i>Anaplasma marginale</i> | 58.97 | 69.95 | 18.03 |
| <i>Coxiella burnetii</i> | 32.88 | 29.17 | 12.28 |
| <i>Toxoplasma gondii</i> | 38.16 | 38.97 | 20.37 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | 44.51 | 34.03 | 11.11 |
| <i>Chlamydia psittaci-trachomatis</i> | 31.22 | 38.16 | 8.96 |
| <i>Pasteurella multocida</i> | 50.79 | 13.86 | 15.38 |
| <i>Salmonella dublin</i> | 44.72 | 35.78 | 24.59 |
| <i>Virus Respiratorio Sincitial Bovino</i> | 67.79 | 32.84 | 34.38 |
| <i>Virus de Diarrea Viral Bovina</i> | 10.93 | 8.52 | 1.72 |
| <i>Brucella abortus</i> | 0.24 | 0.49 | 1.61 |
| <i>Rotavirus</i> | 52.18 | 44.28 | 14.29 |
| <i>Virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina</i> | 4.58 | 0.55 | 1.75 |
| <i>Virus de Parainfluenza 3</i> | 44.09 | 15.15 | 15.38 |
| <i>Haemophilus somnus</i> | 16.43 | 24.51 | 9.23 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 30.92 | 31.05 | 16.92 |

CUADRO 22

**FRECUENCIA DE CAMBIOS EN LOS RESULTADOS DE
PRUEBAS SEROLÓGICAS DE ELISA DE POSITIVAS A
NEGATIVAS Y VICEVERSA EN PRUEBAS REALIZADAS A
DIFERENTES SUEROS DE LOS MISMOS BOVINOS EN EL
TRÓPICO DE MEXICO (1988, 1989)**

| Agente | Animales | | |
|--|------------|------------|----------|
| | Producción | Desarrollo | Becerras |
| <i>Campylobacter fetus</i> | 36.69 | 22.73 | 8.61 |
| <i>Leptospira interrogans serovar hardjo</i> | 32.44 | 34.85 | 27.54 |
| Virus de Lengua Azul | 19.24 | 7.07 | 24.1 |
| <i>Mycoplasma bovis</i> | 25.06 | 34.34 | 10.33 |
| <i>Anaplasma marginale</i> | 37.37 | 30.88 | 22.38 |
| <i>Coxiella burnetii</i> | 29.75 | 32.43 | 17.21 |
| <i>Toxoplasma gondii</i> | 40.84 | 42.93 | 24.1 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | 27.64 | 33.34 | 8.61 |
| <i>Chlamydia psittaci -trachomatis</i> | 33.71 | 38.65 | 13.43 |
| <i>Pasteurella multocida</i> | 28.76 | 22.28 | 13.85 |
| <i>Salmonella dublin</i> | 51.01 | 38.24 | 31.15 |
| Virus Respiratorio Sincitial Bovino | 36.71 | 40.2 | 40.63 |
| Virus de Diarrea Viral Bovina | 13.66 | 14.77 | 3.45 |
| <i>Brucella abortus</i> | 0.24 | 0.49 | 1.61 |
| Rotavirus | 39.32 | 43.28 | 19.05 |
| Virus de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina | 5.85 | 0.55 | 1.75 |
| Virus de Parainfluenza 3 | 45.57 | 22.22 | 15.38 |
| <i>Haemophilus somnus</i> | 22.1 | 26.96 | 12.31 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 38.15 | 33.84 | 35 |

• Los becerros fueron muestreados solo durante sus 4 primeros meses de vida

Los números representan los cambios en porcentaje del total del número de pruebas realizadas

CUADRO 23

PORCENTAJE PROMEDIO DE VALORES DE ELISA Y SU DESVIACIÓN ESTANDAR (DE), DE PRUEBAS POSITIVAS Y NEGATIVAS EN GANADO BOVINO DEL TRÓPICO DE MÉXICO (1988, 1989)

| | | ANIMALES | | | | | |
|--------|----------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| Agente | | Producción | | Desarrollo | | Becerras | |
| | | Positivos | Negativos | Positivos | Negativos | Positivos | Negativas |
| CF | PROMEDIO | 65.78 | 35.5 | 64.22 | 29.98 | 69.67 | 25.22 |
| | DE | 15.38 | 13.18 | 36.53 | 18.77 | 9.5 | 9.58 |
| LH | PROMEDIO | 68.47 | 30.25 | 74.68 | 27.07 | 64 | 28.43 |
| | DE | 17.47 | 11.63 | 39.97 | 14.02 | 18.51 | 13.14 |
| BTV | PROMEDIO | 79.55 | 41.23 | 88.38 | 37.73 | 73.4 | 37.93 |
| | DE | 24.32 | 4.58 | 26.44 | 12.42 | 17.75 | 8.1 |
| MB | PROMEDIO | 73.83 | 36.66 | 67.83 | 33.15 | 59.8 | 23.25 |
| | DE | 43.15 | 19.39 | 15.53 | 12.47 | 7.05 | 15.09 |
| AM | PROMEDIO | 70.53 | 34.29 | 78.1 | 37.63 | 73.36 | 27.2 |
| | DE | 17.06 | 10.43 | 20.41 | 9.67 | 20.88 | 9.28 |
| CB | PROMEDIO | 65.66 | 32.28 | 64.46 | 30.88 | 61.56 | 24.84 |
| | DE | 14.97 | 7.34 | 17.42 | 9.6 | 11.13 | 10.29 |
| TG | PROMEDIO | 70.54 | 32.85 | 68.57 | 29.37 | 67.73 | 27.23 |
| | DE | 18.71 | 11.26 | 15.22 | 11.54 | 14.55 | 13.9 |
| ST | PROMEDIO | 69.06 | 35.05 | 66.57 | 30.42 | 60.4 | 23.55 |
| | DE | 19.46 | 9.16 | 14.35 | 11.44 | 9.81 | 11.01 |
| CL | PROMEDIO | 63.14 | 34.08 | 71.04 | 31.3 | 59.67 | 20.91 |
| | DE | 15.21 | 9.51 | 21.19 | 10.51 | 12.66 | 9.86 |
| PM | PROMEDIO | 74.77 | 31.64 | 65.32 | 27.74 | 70.4 | 24.76 |
| | DE | 23.76 | 11.27 | 15.08 | 12.17 | 14.07 | 10.61 |
| SD | PROMEDIO | 63.91 | 34.95 | 62.77 | 29.47 | 60.73 | 16.61 |
| | DE | 15.38 | 18.45 | 10.94 | 12.31 | 9.32 | 32.66 |
| BRV | PROMEDIO | 78.13 | 31.28 | 70.19 | 36.32 | 63.14 | 28.76 |
| | DE | 18.2 | 12.83 | 20.55 | 19.83 | 17.99 | 11.53 |
| BVD | PROMEDIO | 78.83 | 22.56 | 63.73 | 19.09 | 67 | 18.25 |
| | DE | 28.75 | 9.02 | 10.96 | 12.86 | 11.36 | 11.6 |
| BA | PROMEDIO | 0 | 18.14 | 0 | 9.29 | 0 | 7.97 |
| | DE | 0 | 7.81 | 0 | 5.73 | 0 | 6.29 |
| RV | PROMEDIO | 66.68 | 34.98 | 67.36 | 33.05 | 62.53 | 31.5 |
| | DE | 14.45 | 11.51 | 21.04 | 10.9 | 13.58 | 9.78 |
| IBR | PROMEDIO | 74 | 18.54 | 0 | 35.77 | 52.6 | 11.61 |
| | DE | 26.78 | 12.07 | 0 | 10.8 | 8.3 | 10.08 |
| PI3 | PROMEDIO | 70.8 | 33.75 | 65.73 | 25.47 | 57.7 | 25.44 |
| | DE | 19.97 | 27.53 | 15.94 | 12.86 | 7.01 | 12.65 |
| HS | PROMEDIO | 69.4 | 28.79 | 73.78 | 27.42 | 57.33 | 15.44 |
| | DE | 28.2 | 11.08 | 20.19 | 11.83 | 7.99 | 7.24 |
| LM | PROMEDIO | 69.25 | 30.36 | 66.32 | 28.89 | 62.55 | 27.29 |
| | DE | 19.93 | 11.62 | 16.63 | 12 | 12.9 | 12.55 |

CF = *Campylobacter fetus*
 BTV = *Virus de Lengua Azul*
 MB = *Mycoplasma bovis*
 AM = *Anaplasma marginale*
 CB = *Coxiella burnetii*
 TG = *Tylozotoma gondii*
 ST = *Salmonella typhimurium*
 PI3 = *Virus de parainfluenza 3*
 HS = *Haemophilus somni*

CL = *Chlamydia psittaci-trachomatis*
 LH = *Lepospira interrogans sensu lato*
 SD = *Salmonella dublin*
 BRV = *Virus respiratorio sincitial bovino*
 BVD = *Virus de la diarrea viral bovina*
 BA = *Bacillus abortus*
 RV = *Rovavirus*
 LM = *Listeria monocytogenes*

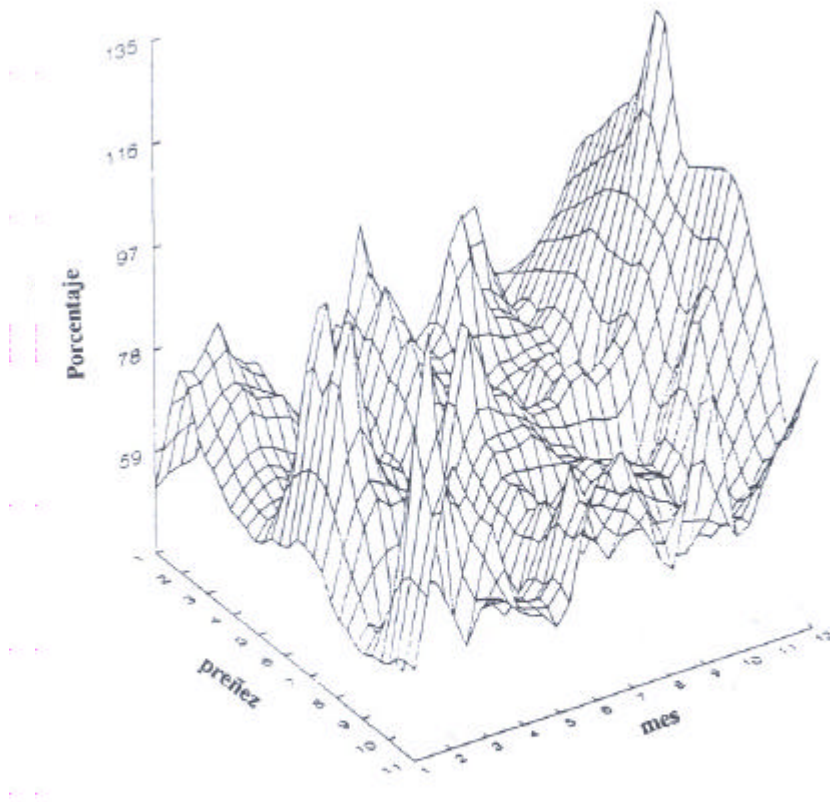


Fig.9 Promedio en porcentaje de valores de ELISA (Porcentaje) para el *Virus de Lengua Azul* en 125 vacas del trópico de México de acuerdo a su estado reproductivo; 1-9 representan los meses de gestación (preñez), 10 representa la primera prueba después del parto; el calendario anual por mes (mes) se representa del 1 al 12 correspondientes a los meses de enero a diciembre.(1988, 1989)

4)

3.

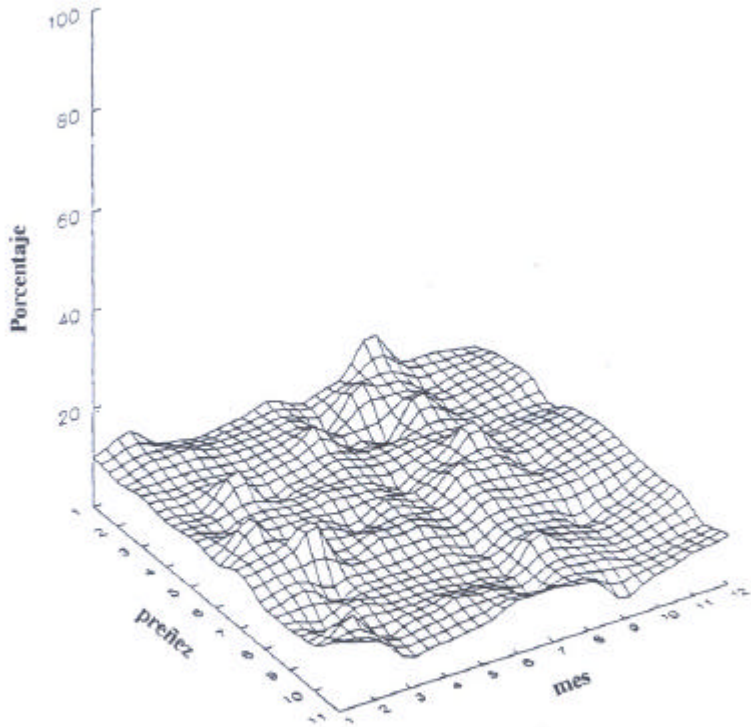


Fig. 10 Promedio en porcentaje de valores de ELISA (Porcentaje) para *Brucella abortus* en 125 vacas del trópico de México de acuerdo a su estado reproductivo; 1-9 representan los meses de gestación (preñez), 10 representa la primera prueba después del parto y 11 representa la prueba realizada un mes después del parto; el calendario anual por mes (mes) se representa del 1 al 12 correspondientes a los meses de enero a diciembre. (1988, 1989)

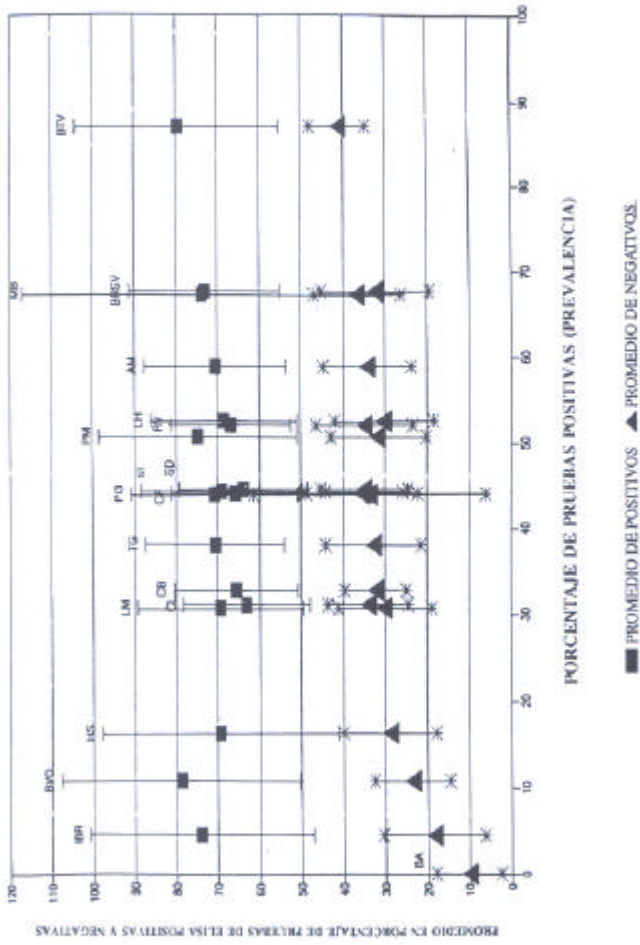


Fig. 11 Promedio y desviación estandar de resultados positivos y negativos de ELISA en sueros de bovinos en producción del Trópico de México. (1988, 1989)

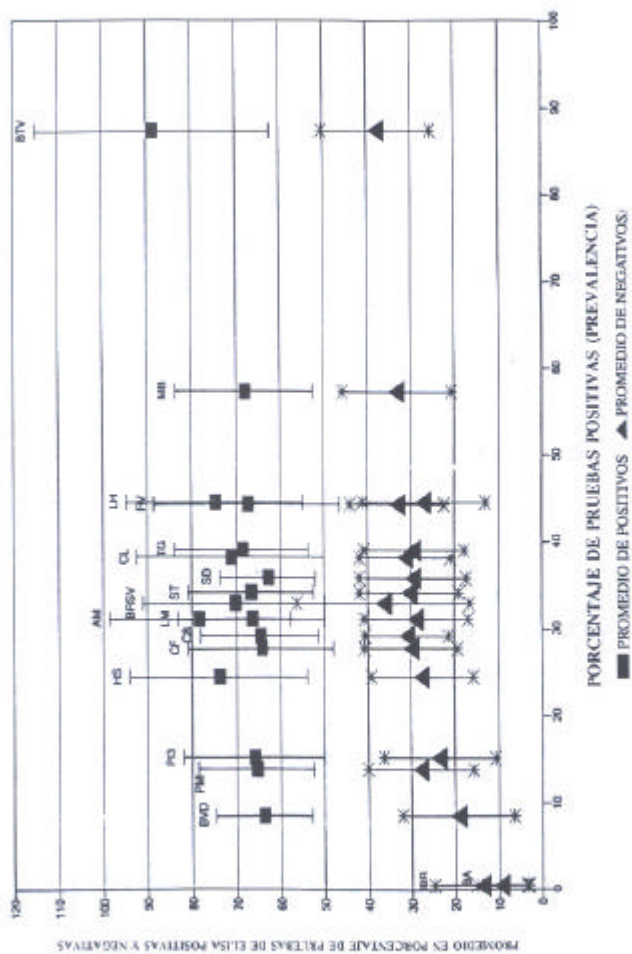


Fig. 12 Promedio y desviación estandar de resultados positivos y negativos de ELISA en sueros de bovinos en desarrollo del Trópico de México. (1989, 1989)

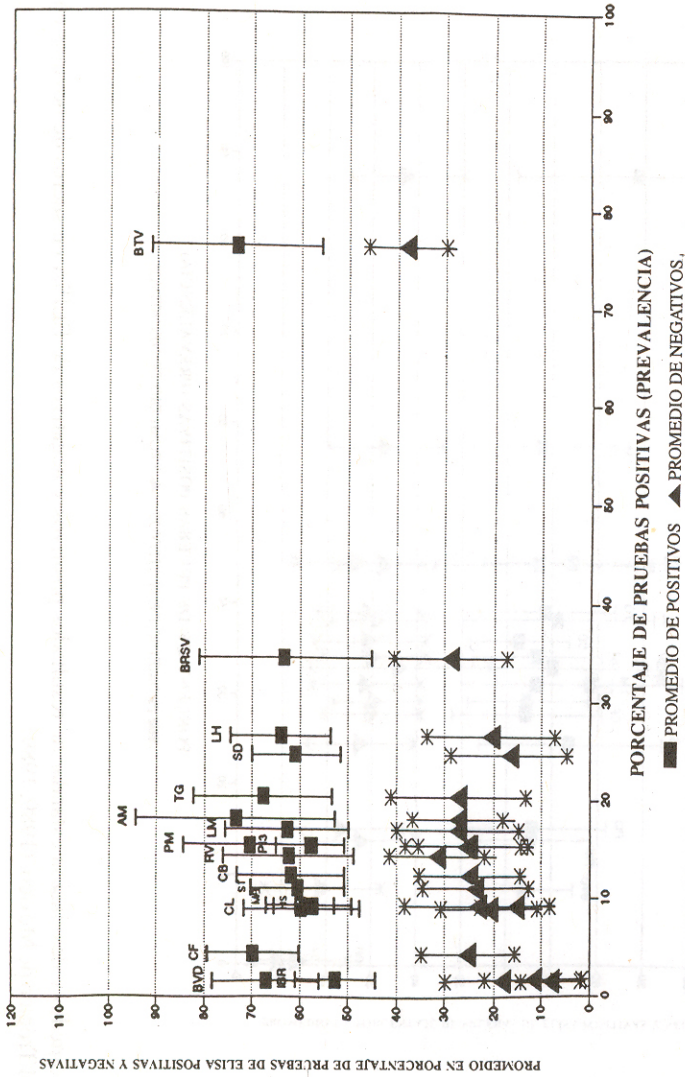


Fig. 13 Promedio y desviación estándar de resultados positivos y negativos de ELISA en sueros de becerros del Trópico de México. (1989, 1989)

esta determinado por la longevidad de los anticuerpos (con excepción de que haya exposiciones constantes como en el caso de BTV y AM). Por eso midiendo períodos de prevalencia tratamos a todas las respuestas serológicas como si fueran de agentes con curso crónico. El estudio seroepidemiológico mostró evidencia de exposición al antígeno en alguna etapa de la vida de los animales, cabe señalar que estos no recibieron ninguna vacuna contra los antígenos utilizados por lo que se elimina el factor de confusión de respuesta vacunal, se confirmó la presencia de anticuerpos contra agentes previamente reportados en la zona (AM, SD, ST, MP, PM) así como la presencia de otros notificada por primera ocasión (todos los restantes). En algunos casos se confirmó la presencia del agente infeccioso por su aislamiento en animales del ható así como la captura e identificación de sus vectores como *Culicoides sp* (BTV). Asimismo se confirmó la sospecha clínica que se tenía de serorreacción positiva a otros agentes (LH, CF, MB).

La mayor seroprevalencia encontrada en todo el estudio fue para BTV, lo cual confirma los reportes previos que hay con relación a este agente en México y Centroamérica (43,44,45), sin embargo no se encontraron signos clínicos de esta enfermedad. Se confirmó la alta prevalencia de AM endémico en el área y la presencia de anticuerpos contra LH y MB asociados a problemas reproductivos y probablemente de mastitis. También la detección de bajos niveles de anticuerpos contra IBR y BVD lo que sugiere la ausencia de estos agentes en la población bovina del CIEEGT, a diferencia de la alta frecuencia de serorreacción en bovinos del altiplano. El programa de control mediante el muestreo y eliminación de animales positivos por serología de BA permitió confirmar la consistencia de resultados de pruebas de ELISA como se demuestra en las gráficas tridimensionales para la interpretación de la estacionalidad, respuesta durante la preñez y por estratificación por edad y genotipo del animal (Figura 10).

Un problema común no siempre considerado en el monitoreo serológico de animales para efectuar programas de control es la importancia que tiene la sensibilidad y especificidad de las pruebas, que puede servir para estimar la prevalencia aparente (que es lo que se evalúa serológicamente) y la prevalencia real (que se confirma con el aislamiento del agente infeccioso de los animales), lo cual resulta costoso para un estudio de escrutinio primario. La especificidad de las pruebas serológicas usadas en la vigilancia epidemiológica en casos de baja prevalencia del agente es un problema frecuente. En programas de control donde la prevalencia de el agente es alta, el interés recae en que la prueba serológica tenga una alta sensibilidad que permita identificar la mayoría de los animales afectados. Cuando la prevalencia disminuye aún con pruebas de alta especificidad la mayoría de los animales con resultados seropositivos pueden llegar a ser falsos positivos (46).

La estacionalidad de seroprevalencia observada parece estar más influenciada por la temperatura que por la precipitación pluvial. Existen 3 estaciones marcadas durante todo el año: Caliente y Seca, CS (marzo a junio), Caliente y Húmeda, CH (julio a octubre) y Fría y Húmeda, FH (noviembre a febrero). La diferencia de tiempo entre los valores más altos de seroprevalencia durante el tiempo de estudio sugiere la transmisión activa del agente. Esto hay que evaluarlo en forma retrospectiva o sea antes de la presentación de estos valores de seroprevalencia cuando ocurre el fenómeno de exposición al agente y que se refleja serológicamente un tiempo después. Un incremento en la prevalencia de anticuerpos contra estos agentes infecciosos puede ocurrir como resultado de una continua transmisión de los agentes, resultando en una tendencia positiva a través del tiempo la cual puede ser mayor en el caso de infecciones crónicas. Los patrones de estacionalidad de seroprevalencia se presentan en el caso de algunos agentes infecciosos relacionados con la transmisión y proliferación por sus vectores en ciertas épocas del año. En el caso de agentes no

transmitidos por vectores la estacionalidad observada se puede deber a fluctuaciones generales por transmisión de los agentes de acuerdo a la edad del hospedador y manejo de los animales entre otras causas. Los patrones de seroprevalencia observados pueden estar influenciados por las acciones de manejo de movimiento de ganado para pesaje, aretado, desparasitación, baños garrapaticidas y exámenes reproductivos entre otros. Existen factores que son difíciles de controlar como la temperatura y precipitación pluvial que influyen directamente en la presencia de vectores de agentes infecciosos.

La baja seroprevalencia observada en becerros se debe a anticuerpos maternos ya que los animales se encuentran separados del resto del hato y solo tienen contacto al momento de amamantarse de sus madres, esto los hace ser el grupo ideal a considerarse como animales centinelas para mostrar seroconversión a los agentes infecciosos cuando termina la inmunidad por calostro. Los becerros revelan en forma indirecta el estado inmunológico de sus madres, los animales en desarrollo y producción tienen un mayor contacto por compartir potreros, baños garrapaticidas así como instalaciones de manejo. Los cambios dinámicos de seroprevalencia observados en general muestran un incremento de acuerdo a la edad, lo cual está relacionado con la posibilidad de exposición al agente con el tiempo mostrando un incremento de 139% de seroprevalencia global de becerros a animales en desarrollo y de 240 % de becerros a animales en producción. En el caso de diferencias de animales en desarrollo a animales en producción el cambio serológico no es tan drástico debido probablemente a que llega un momento en que todos son animales adultos y comparten o están expuestos a los mismos agentes al compartir instalaciones comunes, con excepción de agentes infecciosos relacionados con la etapa productiva como MB en animales en producción de leche, gestantes o ambos. La única diferencia estadística encontrada entre genotipos se observó para el G1 comparado con G2 en el cual los animales del G2 demostraron

una tendencia a una mayor seroprevalencia, esto probablemente se debe a que cuando los animales empiezan a producir leche y reproducirse, los que tienen más genes de Holstein (G2) pueden tener una capacidad mayor de serorespuesta o que son más susceptibles a infectarse, lo cual puede estar relacionado con factores de estrés o tensión por la mayor presencia de genes Holstein e intolerancia al medio ambiente y también a la posibilidad de existencia o carencia de antígenos de histocompatibilidad relacionados con susceptibilidad o resistencia a infecciones (47,48,49,50,51,52,53).

El sistema inmune del rumiante ha sido estudiado ampliamente por varios autores (54,55). La respuesta inmune de las hembras es más compleja que la del macho. Existen diversos procesos inmunológicos que ocurren en las hembras como la entrada del espermatozoide, la fertilización del óvulo, la implantación del embrión, su alimentación, desarrollo del feto, el parto de la hembra, período de lactancia y aún más en los animales de primer parto que aún demandan mayores requerimientos nutritivos para seguir creciendo además de los necesarios para producir leche. La relación de alergia entre la madre y el feto durante la gestación muestra que existen diferentes estadios de reactividad de acuerdo al estado de preñez (56). Estas investigaciones revelan que las reacciones alérgicas en las vacas se expresan con mayor intensidad en el último mes de gestación; esta reacción persiste por algún tiempo después del parto, aproximadamente por 30 días (57, 58). Las hormonas esteroidales involucradas en la actividad reproductiva de la hembra pueden ser progestágenos y estrógenos. La actividad fisiológica de la progesterona considerada como el más importante progestágeno y el estradiol como el más importante estrógeno, ha sido descrita en la literatura (59). Las fluctuaciones en niveles de hormonas durante la preñez también se han documentado en bovinos (60) pero no existen datos con relación a variaciones en niveles de anticuerpos durante la preñez, no obstante que se sabe que vacas gestantes se encuentran parcialmente inmunosuprimidas (60).

Estos datos muestran que los niveles de Ig G fluctúan durante la gestación. El cambio hormonal puede producir que los animales puedan reaccionar como seropositivos o seronegativos o viceversa de acuerdo a su estado de gestación. También se puede pensar que cuando el agente infeccioso no existe en los animales, la prueba dará siempre un resultado negativo no obstante la época del año o el estado de gestación como en el caso de BA. No se sabe a nivel molecular a que se puede deber estas fluctuaciones en niveles de IgG durante la gestación pero se piensa que puede ser por una disminución de la inmunocompetencia de la madre que se produce para evitar un rechazo y expulsión del feto. Se debe considerar el estado reproductivo de los animales para interpretar la prueba serológica por los posibles cambios que se pueden producir en inmunorreacción, asimismo estos datos confirman que la prueba de ELISA es más recomendable para estudios seroepidemiológicos que pretenden evaluar el estado de todo el hato a diferencia de un diagnóstico individual en el que el animal pudiera darse el caso de estar inmunosuprimido por estar gestante.

Las pruebas serológicas de uso masivo como ELISA son más recomendables para un diagnóstico primario que aquellas que requieren medios de cultivo y utilización de animales (61,62). La prueba de ELISA puede detectar enfermedad a nivel subclínico que es más común que las enfermedades clínicas. Conociendo la existencia de respuesta inmune contra estos agentes infecciosos, la siguiente recomendación será el desarrollo y estandarización en la producción de reactivos de diagnóstico que puedan usarse para evaluar el estado de salud de los animales. La biotecnología provee una excelente herramienta para la purificación de antígenos usados en las pruebas serológicas ya sea por afinidad cromatográfica de antígenos completos «crudos» purificados en columnas, mediante la utilización de anticuerpos monoclonales, policlonales o las sondas de DNA por reacciones en cadena de polimerasas.

Referencias

1. **FAO**:AnimalHealth YearBook, 1986.
2. **Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI)**.: Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. (SARH), México, 1989.
4. **Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH)**.:Programa especial de' fomento a la ganadería. México. Febrero, 1990.
4. **Soto, E., Haro, A., Frish, U. y Ruiz, J** .:Panorama de la Ganadería Mexicana. Secretaría de Educación Pública. México, 1988.
5. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT)**. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1979.
6. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT)**. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1980.
7. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT)**. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1981.
8. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT)**. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1982.

9. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT).** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1983.
10. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT).** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1984.
11. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT).** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1985-1986.
12. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT).** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1987-1988.
13. **Centro de Investigación Enseñanza y Extensión en Ganadería Tropical (CIEEGT).** Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. (UNAM). Boletín informativo. México, 1989-1990.
14. **Barajas, J.A.:** Informe de actividades, consultoría FAO para el CIEEGT. F .M.V. y Z. UNAM. Mexico, 1988.
15. **Skvaril, F., Grunberger, D.:** Inhibition of spontaneous splitting of 5- globulin preparations with E-amino-caproic acid. Nature 196:481-482, 1962.
16. **Moorehouse, P. D., and Hugh-Jones, M.E.:** Serum banks, Vet. Bull. 51:277-290, 1981.

17. **Avrameas, S.:** Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of The conjugates for the detection of antigens and antibodies. *Immunochemistry* 6: 43, 1969.
18. **Engvall, E. and Perlmann, P.:** Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8: 871-879, 1971.
19. **Engvall, E. and Perlmann, P.:** Enzyme-linked immunosorbent assay, (ELISA). III Quantitation of specific antibodies by enzyme-labelled anti-immunoglobulin in antigen coated tubes. *J. Immunol.* 109: 129-135, 1972.
20. **Snyder, M.L., Stewart, W.C.:** Applications of an enzyme labeled antibody test in pseudorabies. *Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn.* 20: 17-32, 1977.
21. **Barajas Rojas, J.A., Riemann, H.P. and Franti, C.E.:** Application of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for epidemiological studies of diseases of livestock in the tropics of Mexico. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 12: (1), 1993.
22. **Barajas Rojas, J.A., Riemann, H.P. and Franti, C.E.:** Serological screening for infectious cattle diseases. I. Impact reproductive status. *Ciencia Rural* 23 (1): 69-72, 1993.
23. **Barajas Rojas, J.A., Riemann, H.P. and Franti, C.E.:** Serological screening for infectious cattle diseases. II. Association between prevalence of positive tests and level of ELISA response. *Ciencia Rural* 23 (2): 193-196, 1993.
24. **Barajas Rojas, J.A., Riemann, H.P. and Franti, C.E.:** Serological screening for infectious cattle diseases. III. Choice of sentinel animals. *Ciencia Rural* 23 (2): 197-201, 1993.

25. **Barajas Rojas, J.A., Riemann, H.P. and Franti, C.E.:** Notes about determining the cut-off value in Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Letter to the editor. *Journal of Preventive Veterinary Medicine* 15: 231-233, 1993.
26. **Barajas Rojas, J.A., Riemann, H.P. and Franti, C.e.:** A study of association between ELISA response to infectious disease agents and calving interval in cattle in the tropics of Mexico. *Ciencia Rural*23 (3): 329-332, 1993.
27. **Voller, A., Bidwell, D.E., and Bartlett, A.:** The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). A guide with abstracts of microplate applications. Dynatech Europe, Guernsey, 1979.
28. **Behymer, D., Ruppner, R., Brooks, D., Williams, J.e. and Franti, C.E.:** Enzyme immunoassay for surveillance of Q fever. *Am. J. Vet. Res.* 46(11):2413-2417,1985.
29. **Behymer, D.E., Riemann, H.P., Utterback, W., D-Elmi, C. and Franti, C.E.:** Mass screening of cattle sera against 14 infectious disease agents, using ELISA system for monitoring health in livestock. *Am. J. Vet. Res.* 52 (10): 1699-1705, 1991.
30. **Ruppner, R., Meyer, M.E., Willeberg, P. and Behymer, D.:** Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay with other tests for Brucellosis, using sera from experimentally infected heifers. *Am. J. Vet. Res.* 41: 1329-1332, 1980.
31. **Granzer, W.:** Quality control of enzyme immunoassay, particularly ELISA, for bovine immunoglobulins. *Berliner and Munch. Tierarztl. Wochensch* 99:267-272, 1986.
32. **Barajas Rojas, J.A., Riemann, H. and Franti, C.E.:** Notes about determining the cut-off value in enzyme linked

immunosorbent assay (ELISA). Preventive Veterinary Medicine. Elseviers Sci. Publ., 1992.

33. **Miller, J. and Van Der Maaten M.J.:** Serological detection of Bovine Leukemia Virus Infection. Proceedings of the 2nd. CEC Seminar of Bovine Leukosis. Copenhagen oct. 17-18, 1975.
34. **Voller, A., Bidwell, D.E. and Bartlett, A.:** The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). A guide with abstracts of microplate applications. Dynatech Europe, Guernsey, 1979.
35. **Behymer, D., Ruppner, R., Brooks, D., Williams, J.e. and Franti, C.E.:** Enzyme immunoassay for surveillance of Q. fever. Am. J. Vet. Res. 46 (11): 2413-2417,1985.
36. **Behymer, D.E., Riemann, H.P., Utterback, W., D-Elmi, C. and Franti, C.E.:** Mass screening of cattle sera against 14 infectious disease agents, using ELISA system for monitoring health in livestock. Am. J. Vet. Res. 52 (10): 1699-1705, 1991.
37. **Biomedical Data Package (BMDP).** Statistical Software, Inc. University of California Press., 1990.
38. **SOLO, BMDP.** Statistical Software Inc. Ver. 2.0 Los Angeles California, 1988.
39. **Quattro Pro.** ver. 2.0, Borland International, 1990.
40. **Wilkinson,** Leland, Sygraph. Evanston, II:Systat, Inc. 1988.
41. **Barajas Rojas, J.A.:** Investigación personal y análisis de los registros del CIEEGT. 1986, 1988, 1989.

42. **Barajas Rojas, J.A.:** Application of Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for Epidemiological Studies of Diseases of Livestock in ~the Tropics of Mexico. Tesis de Doctorado. Ph. D. Disertation. University of Cali fornia, Davis, USA., 1991.
43. **Teclaw, R.F., McConnell, S., Wagner, C.G. et al.:** Serologic study of the incidence and prevalence of bluetongue infections in cattle in the Mexican states in Nuevo Leon, Tamaulipas, Coahuilaand San Luis Potosi.Pre. Vet. Med. 3: 347-433, 1985.
44. **Stott, J.L., Blanchard, Channell M. Osburn, B.I. Riemann, H.P. and Obeso, R.C.:** Serologic and virologic evidence of bluetongue virus infection in cattle and sheep in Mexico. Am J. Vet. Res. 50: 335-340, 1989.
45. **Homan, J.E., Mo, C.L., Thompson, L.H., Barreto, C., Oviedo, M. T. Gibbs, E.P. and Greiner, E.C.:** Epidemiologic study of bluetongue viruses in Central America and the Caribbean: 1986-1988.Am. J. Vet. Res. 51 (7):1089-1094,1990.
46. **Schwabe, C.W., Riemann, H.P., andFranti, C.E.:** Epidemiology in Veterinary Practice. Lea & Febiger, 1977.
47. **Lewin, H.A. and Bernoco, D.:** Evidence of BoLA-linked resistance and susceptibility to subclinical progression of bovine leukemia virus infection. Animal Genetics. 17: 197-207,1986.
48. **Stear, M.J., Hetzel, D.J., Brown, S.C., Gershwin, L.J., MacKinnon, M.J. and Nicholas, F.:** The relationships among ecto-and endoparasite levels class I antigen of the bovine major histocompatibility system, immunoglobulin E levels and weight gain. Veterinary Parasitology 34 (4): 303-321, 1990.

49. **Roberts, J.A.:** Resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). I. Development of ticks on *Bos taurus*. *J. Parasitol.* 54 (4):663-666, 1968.
50. **Stear, M.J., Nicholas, F. W., Brown, S.c. & Holroyd, R.G.:** Class I antigens of the bovine histocompatibility system and resistance to the cattle tick (*Boophilus microplus*) assessed in three different seasons. *Veterinary Parasitology* 31 (3-4): 303-315, 1989.
51. **Davis, W.C., Shelton, J.N. and Weems, C.W.:** Characterization of Bovine Immune System and the Genes Regulating Expression of immunity with Particular reference to their role in Disease Resistance. Proc. East- West Center. Hon. Hawaii. Published by Dep. Vet. Path. Coll. Vet. Med. Washington State Univ., 1985.
52. **Wu M.C., Shanks, R.D. & Lewin H.A.:** Milk and fat production in dairy cattle influenced by advanced subclinical bovine leukemia virus infection. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 83 (3): 993-996, 1989.
53. **Bernoco, D. and Lewin H.A.:** The bovine lymphocyte antigen (BoLA) system: importance and relationship to disease in cattle. *Rev. Brasil Genet.* 12 (3 Supplement): 107-122, 1989.
54. **Butler, J.E.** Ed.: The ruminant immune system. Plenum Press. New York and London, 1981.
55. **Morrison, I.** Ed.: The ruminant immune system in health and disease. Cambridge University Press, 1986.
56. **Bratanov, K.:** Immunological aspects in the reproductive process in the female, in *Immunology and Reproduction*. Proceed. offirst Symposium of International Coordination

Committee for the Immunology of Reproduction. Geneva, Ed. by Edwards, R.G. Published by the International Planned Parenthood Federation, London, SW1 and distributed in the USA by Collings Inc., International Publications, 303 Park Ave. South, New York, N.Y. 10010, 1968.

57. **Bratanov, K., Balchev, M. & Danov, D.:** Allergic interrelations between the foetus and the mother during the pregnancy period in cattle. *c.R. Acad. Bulg. Sci.* 18: 967-970, 1965.
58. **Thatcher, W.W., Wilco, c.J., Collier, R.J., Eley, D. and Head, H.H.:** Bovine Conceptus-Maternal interactions during the preandpostpartumperiods. *J. DairySci.* 63: 1530-1540, 1983.
59. **Stabenfeldt, G. and Edqvist. L.E.:** Female reproductive processes, in *Dukes' Physiology of Domestic Animals.* Swenson, J.J. (Ed). 10 th. edition. Cornell University Press. Chapter 49: 798-832.
60. **Bratanov, K.:** Antibodies in the reproductive process in the female, in immunology and reproduction. *Proceedings.* Geneva. Published by International Planned Parenthood Federation. London SW1, 1968.
61. **Saunders, G.C., Clinard, E.H. Bartlett, M.L. et al.:** Application of the indirect enzyme-labeled antibody microtest to the detection and surveillance of animal disease. *J. Infec. Dis.* 136: 258-266, 1977.
62. **Jeggo, M.H.:** Diagnosis of viral disease using ELISA techniques in nuclear and related techniques in animal production and health. In *Proceedings of a symposium.* Vienna, 17-21 March 1986, Vienna Austria, International Atomic Energy Agency 289-301, 1986.