UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS





DETECCION DE ANTICUERPOS CONTRA RINOTRAQUEITIS
INFECCIOSA BOVINA (IBR), EN GANADO DEL RASTRO
MUNICIPAL DE SAN PEDRO TLAQUEPAQUE

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PRESENTA

P.M.V.Z. DAVID RODRIGUEZ GOMEZ

DIRECTOR DE TESIS M.V.Z. JUANITA ACERO ORTEGA
ASESOR DE TESIS M.V.Z. MA. EUGENIA LOEZA CORICHI
LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO MAYO DE 1996

AGRADECIMIENTO

A mis Padres, Esposa e Hijos Por su apoyo y comprensión en todo momento y etapa de mi vida.

A mis Amigos

Luis y Rafael Aguirre M., por su ayuda incondicional para realizar este trabajo.

A mi compañero y amigo

M.V.Z. Luis Bautista M., que sin su colaboración no se hubiera llevado a cabo este objetivo.

A la familia Flores Pérez

Por su aportación en tiempo ilimitado para lograr un Desarrollo Profesional.

A mi Director y Asesor

M.V.Z. Juanita Acero Ortega.

M.V.Z. Ma. Eugenia Loeza Corichi.

A mi Jurado

M.V.Z. Luis Roberto Bourguetts López.

Q.F.B. Yolanda Maravilla Nuñez.

M.V.Z. Victor Barragán Cano.

A la Universidad de Guadalajara

Quién me dió las bases y me formó como Profesionista.

Y a todas aquellas personas

Que de una u otra forma contribuyeron para realizar este estudio.

David Rodríguez Gómez.

CONTENIDO

RESUMEN	X
INTRODUCCION	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
JUSTIFICACION	6
OBJETIVOS	7
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	10
DISCUSION	15
CONCLUSION	16
BIBLIOGRAFIA	17



AINCIDITECY CENTRAL

RESUMEN

i

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina es producida por un virus de la familia Herpes Viridae, el cual permanece activo durante 10 días a 37 grados centígrados pero se inactiva en 21 minutos a 56 grados centígrados. El objetivo del trabajo es la detección de anticuerpos contra (IBR) para lo anterior se realizó un muestreo serológico de 200 bovinos en el Rastro Municipal de San Pedro Tlaquepaque, Jal. Siendo procesadas las muestras mediante la técnica de Elisa Modificada.

Los resultados fueron los siguientes: el 48% de los sueros resultaron positivos, siendo el 52% negativos.

Por sexo: en hembras el 54.4% negativos y el 45.6% positivos, los machos el 38.7% negativos y el 61.3% positivos.

Estos resultados muestran que la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) se encuentra presente en porcentaje importante en ganado bovino que ingresa al Rastro Municipal de Tiaquepaque, Jal.

i

INTRODUCCION

La Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), es producida por un virus de la familia Herpesviridae (BNHV-I), el cual permanece activo durante diez días a 37 grados centígrados pero se inactiva en 21 minutos a 56 grados centígrados.

La familia Herpesviridae son virus de tamaño medio que contienen DNA (centro de ácido nucleico) con doble tira, la nucleocápside viral es de cerca de 100 nm de diámetro, posee simetría cúbica con 162 capsómeros y está rodeada por una cubierta que contiene lípidos. El virión cubierto mide 150-200 nm de diámetro.

El virion cubierto mide 150-200 fini de diametr

Esta familia viral es sensible al éter (5, 14).

La IBR, es una enfermedad a la que son susceptibles todos los BOVINOS de cualquier edad y raza, ocurre en forma natural en animales que en su mayoría hayan cumplido 6 meses de edad.

Esta enfermedad afecta no solo a rumiantes, también ha sido reportada en venado mula, antílope, el ñu y otros animales silvestres (11, 15).

El virus puede persistir en un animal recuperado y ser eliminado intermitentemente hasta por 17 meses después de la infección, pudiendo permanecer latente indefinidamente después de la infección natural (1,20). La introducción de animales nuevos a un rebaño procede con frecuencia a un brote de ésta enfermedad.

Las operaciones obstétricas, el coito y el lamido de los órganos genitales de animales susceptibles a animales portadores se considera el medio común de transmisión de la forma genital, lo mismo instrumental contaminado, semen de sementales portadores (23).

En los hatos afectados la enfermedad se presenta entre 10 y 20 días después de la introducción de ganado susceptible. La latencia es el principal mecanismo de prevalencia del virus de la IBR (BHV-1), en la naturaleza, en su huésped natural (Bos Taurus), la reactivación viral se lleva a cabo bajo diversos estímulos como son: stress, tratamientos con fármacos inmunosupresores, por la acción específica de la dexametazona (15).

En un estudio epizootiológico realizado en 1985, por el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (INIP) y la Dirección Nacional de Sanidad Animal; se detectó que el Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) se encuentra ampliamente difundida en el país causando en la ganadería grandes pérdidas económicas (1). Un estudio realizado por Vilchis (24), reporta que de 157 muestras sanguíneas de ganado productor de carne en el estado de Jalisco, el 59.9 %, fueron reactores positivos a anticuerpos de IBR, con un título de 1:2, 1:4, 1:8.

El muestreo realizado por Acero (1), reporta que de 235 sueros sanguíneos el 31.49% fueron positivos con un título de 1:2, el 10.21%, presentó títulos de 1:4 y el 12.77% de 1:8. Existen otros estudios realizados en los que muestran positividad a IBR, sin mencionar títulos.

Esta enfermedad ha sido identificada en México, Estados Unidos y Canadá, países de Sudamérica, Nueva Zelandia, Australia, Reino Unido, Sudáfrica, Zimbabwe, Japón, Europa (17, 11).

La forma respiratoria de la enfermedad fue observada por vez primera en los lotes de engorda en Colorado en 1950.

Poco después en ganado lechero de California. El primer informe publicado de su presentación apareció en 1954 (1,20).

En México el primer reporte de IBR fue en 1971 de un brote en el Estado de México en ganado lechero (1).

La Afección respiratoria, es probablemente la más importante y de mayor impacto económico, caracterizada por inflamación, edema, hemorragia, necrosis de las membranas mucosas del tracto respiratorio, depresión, anorexia, respiración rápida y rítmica, fiebre (40 grados centígrados - 41 grados centígrados), tos, secresión nasal, salivación espumosa, lagrimeo excesivo, conjuntivitis catarral, pérdida de peso (1, 10, 11, 13, 18, 23).

El virus ataca primero las mucosas de la traquea y pulmones, ocasiona inflamación del sistema nervioso central, provoca ocasionalmente abortos en vacas gestantes (6, 18). La inflamación edematosa de mucosas, puede transformarse en necrosis, esto motiva una secresión al principio serosa o mucosa, luego mucopurulenta (flujo lagrimal, nasal, salivación abundante) (5, 11,20).

En los pulmones se instaura una bronconeumonía catarral que puede ser supurada si participan, además bacterias. La forma respiratoria se transmite por vía directa, las principales fuentes de infección se consideran el exudado nasal, aerosoles respiratorios (5,6,15,20).

Forma conjuntiva: La inflamación de la conjuntiva palpebral y de la membrana hictitante puede ser leve, por lo general hay bastante edema por debajo de la conjuntiva, se forma una membrana necrótica grisácea sobre las áreas prominentes de la conjuntiva (esto da un aspecto granular) (1, 23). Con frecuencia hay un exudado ocular y ensuciamiento del pelo facíal, secreción nasal serosa y después mucopurulenta (11, 21, 23).

Forma genital: Esta forma de IBR se conoce como vulvovaginitis vesicular coital (aún cuando no se formen vesículas). Los signos son elevación y fustigamiento de la cola, micción frecuente, apelmasamiento del pelo vulvar con exudado sanguinolento, y una tumefacción edematosa de la vulva, lesiones pustulosas en órganos genitales tanto en machos como hembras (11, 21).

En el macho, la forma genital de IBR, se conoce como balanopostitis pustular infecciosa (BPI), hay inflamación del recubrimiento prepucial y del glande del pene. Puede presentarse edema del pene y del prepucio, lo cual causaría parafimosis (2, 23).

Aborto: En muchos casos, hay antecedentes de infección respiratoria no diagnosticada o de exposición del rebaño uno o dos meses antes de la presentación de los abortos (11, 21).

Forma Encefálica: Esta forma de incidencia de IBR, es baja al parecer. Sin embargo la vigilancia más estrecha de las encefalitis bovinas puede hacer cambiar esta opinión. Se observa por lo general en terneros menores de seis meses, se caracteriza por ataxia y depresión, seguida de movimientos frenéticos, espuma en la boca, convulsiones, agitación de las patas y rechinido de los dientes. El curso es rápido y por lo general fatal (2, 11, 13).

El diagnóstico se realiza en primer lugar por el cuadro clínico, la situación epizootiológicas y las lesiones anatomopatológicas, importante dato es el aumento de títulos de anticuerpos al analizar muestras de suero tomadas a intervalos de dos a tres semanas (1, 19, 22).

El virus se aisla a partir de la secresión nasal o de líquido lagrimal de animales con la enfermedad en fase aguda (4, 11, 12). La IBR puede ser controlada manteniendo niveles protectores de anticuerpos en un rebaño y reduciendo al mínimo el número de animales susceptibles (17).

Se dispone de dos tipos básicos de vacunas con virus vivos modificados. La vacuna intramuscular (IM), se usa en ganado de engorda y la vacuna intranasal en los rebaños de cría. La vacuna IM puede causar abortos pero puede usarse tanto en las hembras jóvenes como las que ya han parido.

La vacuna intranasal no causa aborto y se afirma que proporciona una protección más rápida que la vacuna IM (solo se debe vacunar al ganado sano) (11).

Aunque no existe un tratamiento específico para la infección viral, los antibióticos, las sulfonamidas, y el antisuero bovino son de utilidad para controlar las infecciones bacterianas secundarias. La inyección de agentes enzimáticos directamente dentro de la traquea ayuda a eliminar la acumulación excesiva de exudado en las vías respiratorias. También está indicado el tratamiento de sostén para mejorar la deshidratación y la inanición (11, 18).

La literatura nos indica técnicas inmunológicas para el diagnóstico de IBR, como: Seroneutralización (2, 20, 22), Elisa (8), Microinmunodifusión (9, 16), Inmunoprecipitación (2), Inmunofluorescencia (1). Elisa modificado, se eligió esta última por ser una técnica que se puede realizar a nivel de campo, no requiere de equipo especializado, los resultados se obtienen en poco tiempo.



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En virtud de que los abortos son un problema para la ganadería del Estado de Jalisco y se sabe que son producidos en un porcentaje por la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina.

Esto nos indica que se debe estudiar la IBR mucho más, muestreando ganado en las diferentes zonas (23).

En base que estudios anteriores reportan títulos de anticuerpos que van de 1:2, 1:4, 1:8, otros solo dicen la positividad o negatividad de los sueros (1).

JUSTIFICACION

La enfermedad de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina causa pérdidas económicas a la ganadería por varias causas, ejemplo: Por la falta de reemplazos, abortos, muerte de crías, la disminución de peso de los animales, falta de desarrollo, prolongación del periodo de engorda, costo por tratamientos y profilaxis (1, 12, 23).



OBJETIVOS

GENERAL.

Detección de anticuerpos contra Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en ganado del rastro municipal de San Pedro Tlaquepaque.

PARTICULARES:

- 1) Determinar frecuencia de anticuerpos contra Rinotraqueitis Infecciosa Bovina mediante la técnica de Elisa Modificado.
 - 2) Determinar frecuencia de anticuerpos contra IBR por sexo.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el Rastro Municipal de San Pedro Tlaquepaque, Jalisco, se muestrearon 200 bovinos elegidos al azar, para ello se sujetó al animal en la trampa, se extrajo la sangre por punción de la yugular con agujas y tubos vacutainer sin anticoagulante, con capacidad de 15 mililitros, cada una de las muestras se identificó, dejándose reposar al medio ambiente, de esta manera se transportaron al laboratorio de Virología del Departamento de Medicina Veterinaria, donde se procedió a la obtención del suero, centrifugando cada una de las muestras a 1500 r.p.m. por espacio de 5 minutos, posteriormente se transfirió los sueros a otros tubos previamente identificados y se inactivó en baño maría a 56 grados centígrados por 30 minutos, realízado lo anterior se inició a trabajar los sueros por la técnica de Elisa Modificado:

- 1.- Se disuelve un comprimido de solución amortiguada de fosfatos (PBS),¹ en 500 mililítros de agua bidestilada.
- 2.- Colocar 4 microlitros del control positivo a la línea "A" pozos 1 y 2.
- 3.- Colocar 4 microlitros del control negativo a la línea "B" pozos 1 y 2 .
- 4.- Agregar 100 microlitros de la dilución 1 a cada uno de los pozos a utilizar.
- Adicionar 4 microlítros de suero problema, excepto a los controles, a cada uno de los pozos utilizados.
- 6.- Incubar a 37° C por espacio de 60 minutos.

1 .

- 7.- Al cabo del tiempo se sacan y se lavan 3 veces con PBS agregando 300 microlitros por pozo incluyendo controles.
- 8.- Colocar 100 microlitros de conjugado por pozo incluyendo los controles.
- 9.- Incubar nuevamente a 37° C por 60 minutos.
- 10.- Repetir el paso número 7.
- 11.- Aplicar 200 microlitros de solución tetramethylbenzidine en sustrato buffer (TMB).¹

12.- Agregar 50 microlitros de solución de ácido sulfúrico (STOP). 1

13.- Lectura.

 $^{^1}$ Kit- SVANOVA Biotech: infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR- ab) EIA Cat. # 10020.

RESULTADOS

1

Debido a que no se cuenta con ningún estudio epidemiológico de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), en el Rastro Municipal de San Pedro Tlaquepaque, Jal. Se realizó un muestreo al azar en los meses de Octubre y Noviembre de 1995 para determinar la presencia de anticuerpos contra IBR. El cual se llevó a cabo en 200 bovinos.

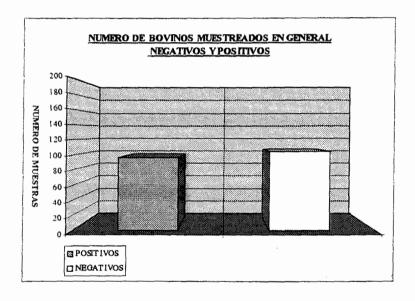
Las muestras se trabajaron por medio de la prueba de Elisa Modificado observándose los siguientes resultados. De las 200 muestras el 52% (104) fué negativo y el 48% (96) positivo. (Gráfica No. 1).

Con relación al sexo de los animales muestreados estos fueron en un 84.5% (169) hembras y un 15.5% (31) machos. (Gráfica No. 2).

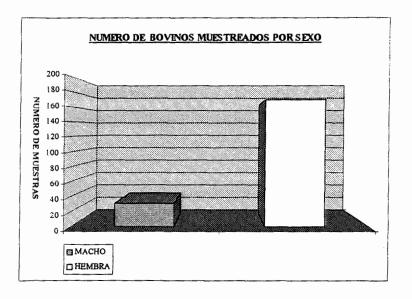
De 169 muestras correspondientes a animales hembras el 54.4% (92) resultó negativo y el 45.6% (77) resultó positivo. (Gráfica No. 3). Mientras que de las 31 muestras de animales machos el 38.7% (12) resultó negativo y el 61.3% (19) resultó positivo. (Gráfica No.4).

GRAFICA N° 1

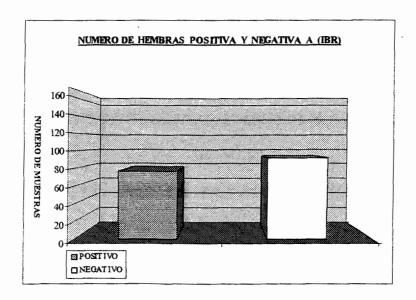




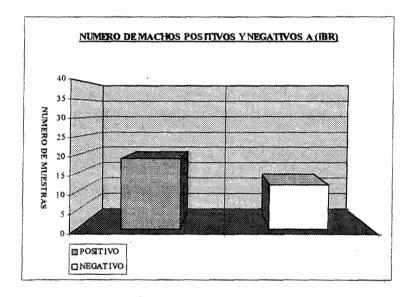
GRAFICA N° 2



GRAFICA N° 3



GRAFICA Nº 4



DISCUSION

Los resultados obtenidos en el trabajo desarrollado concuerdan con los resultados de trabajos realizados anteriormente en el Estado de Jalisco.

Dichos resultados confirman nuevamente que la enfermedad de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina se encuentra diseminada en un área importante en el Estado de Jalisco, ya que el estudio realizado correspondió al Rastro Municipal de San Pedro Tlaquepaque, Jal. Mientras que los estudios realizados por Avila (1991) en Arandas, Tepatitlán y Acatic, la de Campechano (1992) en el Municipio de Tonalá, la de Acero (1992) en el Municipio de Zapopan, los de González (1987) los realizó en el Rastro Municipal de Guadalajara en ganado de abasto, por lo que no fué posible determinar su procedencia (1,4,7,10).

Es importante considerar que no fué posible realizar la diferenciación de los títulos de anticuerpos encontrados entre los de origen vacunal y los correspondientes a un virus de campo, ya que la técnica usada en este estudio fué Elisa Modificado, por no contar con el equipo de Elisa que sería lo ideal para la diferenciación de anticuerpos vacunales y de campo. Así mismo es necesario considerar que los dueños de los animales no reportan si han sido vacunados o expuestos a la infección, o bien, la existencia de animales en sus hatos que hallan sido importados, lo que dificulta aún más la diferenciación de anticuerpos vacunales a los de virus de campo.

CONCLUSIONES

- 1) En el Rastro Municipal de San Pedro Tlaquepaque, Jal. de 200 animales muestreados se encontró un 48% de seropositivos a Rinotraqueitis Infecciosa Bovina.
- 2) El virus de IBR, se encuentra presente en los bovinos que ingresan a dicho Rastro no pudiendo precisar si el virus fué de campo o vacunal.
- 3) Estos resultados sugieren la continuación con estudios serológicos en bovinos para determinar la prevalencia de la enfermedad de (IBR) en el Estado de Jalisco.



BIBLIOGRAFIA

*

- 1.- Acero, O.J., Detección de Anticuerpos contra Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), en ganado productor de carne. Tesis profesional U. de G. 1991.
- 2.- Aguilar, S.A., Pastoret, P., Chwers, A., par Neutralization er Inmunoprecipitation, dereasction serologique croisées, entre el Virus Rhinotrachéite Intectieuse Bovine et celul de la maladie, Aujesky, Ann Med. Vet. 124-199: 1980.
- 3.- Alvarado, I.A. y Aguilar, S.A., Mejía, S.P., De Paz, V.O., Vilchis, M.C., Aislamiento y Tipificación de una cepa de Herpes Virus Bovino 1, del tipo Vulvovaginitis Pustular Infecciosa. Tec. Pec. Mex. 31. 72-74: 1993.
- 4.- Avila, F.D., Ramírez, M.A., Alvarado, I.A., Estudio Serológico de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR) en ganado de carne de tres Municipios del Estado de jalisco, Reunión Nacional de Investigación Pecuaria en México 92: 1986.
- 5.- Ayala, B.G., Patrón de Comportamiento de anticuerpos contra IBR en Becerros y Vaquillas Holstein-Friesian bajo un esquema de vacunación, Reunión de Investigación Pecuaria en México, 92: 1986.
- 6.- Barrera, M. Peralta, E. Noda, J., Técnicas para detectar anticuerpos contra el virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina., Rev. Salud animal, (9) 96-101: 1987.
- 7.- Campechano, P.J., Detección de la presencia de anticuerpos contra Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en ganado productor de leche del Municipio de Tonalá. Tésis Profesional U. de G. Julio 1992.
- 8.- Dagam, B., Elisa for detection of infections Bovine Rinotracheitis (IBR) Viral Antiboides. Congress "Rapid Diagnosis of pathogeneses Macromolecules by enzime inmunoassay and related Techniques" Israel: 1980.
- 9.- Ewards, S.E., An Evaluation of five Serological tests for the detection of antibody to bovine herpes virus 1- in Vaccinated and Experimentally Infected Catle. Research in veterinary science. (41), 378-382: 1986.

- 10.- González, P.C., Detección de anticuerpos circulantes de Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en bovinos de abasto, del Rastro Municipal de Guadalajara. Tesis Profesional de la U. de G.: 1987.
- 11.- Gibbons, C.S., Medicina y Cirugía de los Bovinos. 1984 Ed. La prensa Médica Mexicana
- 12.- Herrera, C.M.F., Presencia de IBR, en los corrales de engorda de los alrededores de Guadalajara. Tesis Profesional U. de G. 1984.
- 13.- Higgins, R.J., Systemic Neonatal Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus Infectión in Suckler Claves. The Veterinary Record; august (23), 177-178. 1986.
- 14.- Jawetz, E. Melnick, L.J., Adelberg, A.E., Manual de Microbiología Médica. (27) 314-323.
- Ed. manual moderno, S.A. 1981
- 15.- Jasso, R.B., Ensayo de reactivación del Virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (BOVID) Herpesvirus 1 (BHV 1, IBR), en cabras por medio de la Dexametazona. Reunión de Investigación Pecuaria en México. 1984.
- 16. Lejeune, J.M., Hart, L.T., Larson, A.D., Seger, C.L., Microinmunodifusión Test. for detection of antiboides to infections. Bovine Rhinotracheitis Virus in Bovine Serum., Am. J. Vet. Res, 38 (4) 459: 1977
- 17.- Noda, J., Nuñez A., García, J., Aislamiento del virus de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en terneros con queratoconjuntivitis. rev. Salud Animal 6 (4) 651-653. 1984.
- 18.- Obando., Estudio Serológico de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en el Estado de Portuguesa, Venezuela, Centro Nacional de Investigaciones Veterinarias. Septiembre, 5-10: 1984.
- 19.- Pastoret, P.P., Trhiry, E., Brochier, B. and Derbouen., Bovien Herpesvirus-1, Infection of cattle pathogenesis, latency consecuences of latency. Ann Rech. Vet. (13) 221-235: 1982.
 - 20.- Pierre, T., Bovine Herpesvirus-1 Strain Comparison of a Neutralization Epitope on the 90 Kilodalton hemagglutinin: 1982.

- 21.- Shulz, A.J., Rossow, N., Tratado de Enfermedades del Ganado Vacuno. 179-181, 1984. Ed. Acribia Tomo 2.
- 22.- Smith y Jones., Patología Veterinaria, Ed. Uthea, 305-307: 1980.
- 23.-Suzan, M.V., Aguilar, E., Estudio Serológico de algunas Infecciones Virales del Ganado Bovino en México, Rev., Lat., de Microbio. 25 (1) 57: 1983.
- 24.- Vilchis, M.C., Rosales, C., Aguilar, S.A., Vargas, L.J., Peña, M.I., Batalla, C.D., Estudio Epizootiológico de la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina en ganado productor de leche y ganado productor de carne. Tec. Pec. México., 49: 106-115: 1985.