

AISLAMIENTO DE *Haemophilus somnus* DE BOVINOS DE CARNE EN EL ESTADO DE CHIHUAHUA, MEXICO ^a

Rosalina Acosta Hernández ^b

Cristina Franco Terrazas ^b

Lucia Rodríguez Alarcón ^b

Socorro Terán Barrera ^b

Efrén Díaz Aparicio ^c

Francisco Aguilar Romero ^c

RESUMEN

Con objeto de demostrar la presencia de *Haemophilus somnus* en procesos neumónicos y en prepucio de bovinos clínicamente sanos en el estado de Chihuahua, se colectaron porciones de 103 pulmones neumónicos de bovinos provenientes de 22 municipios del estado de Chihuahua, y se tomaron muestras de lavado prepucial de 100 toretes provenientes de 12 municipios del estado de Chihuahua. De las muestras de pulmones se aislaron cuatro cepas de *H. somnus* en bovinos procedentes del municipio de Chihuahua, y a partir del lavado prepucial se aislaron tres cepas de *H. somnus* en toretes de un mismo rancho del municipio de Satevó. La identificación de *Haemophilus somnus* se basó en la morfología del microorganismo, características de las colonias y requerimientos del cultivo e incubación.

PALABRAS CLAVE: *Haemophilus somnus*, Bovinos, Chihuahua, México.

Tec. Pecu. Mex. Vol.33 No.1, (1995)

Haemophilus somnus es el causante de la meningoencefalitis tromboembólica (METE) (1,2), problemas reproductivos (3, 4, 5, 6, 7) y también asociado con la neumonía bovina (8,9). En México el primer estudio al respecto se realiza en 1975, y se informa de la presencia de anticuerpos en sueros de bovinos con historia clínica de padecimientos respiratorios y reproductivos (10); posteriormente, se informa del aislamiento del microorganismo a partir de lavados prepuciales de toros clínicamente sanos (11), de procesos neumónicos de bovinos productores de leche (12), así como de reactores positivos en diversos estados de la República Mexicana (13,14).

H. somnus es un cocobacilo pleomórfico, gram negativo, aerobio o microaerofílico, no

forma esporas y es inmóvil. La morfología de las colonias son convexas, circulares, lisas, de consistencia mantequillosa y de color amarillo grisáceo. Los medios de cultivo más utilizados para el crecimiento de esta bacteria son el agar infusión cerebro corazón y el agar chocolate, suplementados con 10% de suero de equino, 10% de sangre desfibrinada y 0.5% de extracto de levadura (12, 15). El aislamiento de este microorganismo se ha realizado en diversas partes del mundo (1, 16).

Aunque no se conoce con certeza la forma de entrada del microorganismo al huésped, sí se sabe que puede producir gran variedad de afecciones, las cuales pueden presentarse como producto de una baja de defensas (1,9). Se han descrito cuadros clínicos que incluyen: Meningoencefalitis tromboembólica, neumonías, artritis, aborto, infertilidad, mastitis, conjuntivitis, síndrome del becerro débil, orquitis, epididimitis y muerte embrionaria temprana (1, 5, 6, 16). El proceso patológico es poco conocido; se menciona que es similar al producido por las

- a Recibido para su publicación el 31 de enero de 1994.
- b Departamento de Bacteriología. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- c Proyecto de Epidemiología, Campo Experimental "La Campana" y proyecto Brucelosis Caprina CENID-Microbiología. INIFAP-SAGDR.
- d Proyecto Complejos Neumónicos de Rumiantes. CENID-Microbiología. INIFAP-SAGDR.

bacterias gram negativas, es decir, que se debe a la invasividad del germen, por la producción de una toxina o bien ambas cosas. Dependiendo del tipo de infección, los signos clínicos pueden ser: fiebre, incoordinación, depresión, temblor muscular, ptialismo, somnolencia, miembros rígidos, ataxia, andar en círculo, excitación e irritabilidad, ceguera, desórdenes respiratorios y reproductivos (1, 2, 5, 16, 17). Finalmente sobreviene la muerte, aunque ésta puede presentarse repentinamente, sin que el bovino presente signos de enfermedad (16).

Los problemas respiratorios prevalecen en primavera y verano, particularmente en becerros en pastoreo menores de cuatro meses y becerras de establos lecheros (18). La bacteria ha sido aislada de cavidad nasal y tráquea de bovinos sanos y becerras; ésto se considera como evidencia de transmisión horizontal vaca-becerra lactante. La alta prevalencia de *H. somnus* en tracto reproductor de bovinos machos, sugiere a la excreción urinaria como posible forma de diseminación de la bacteria hacia el medio ambiente, lo que puede ser un factor importante en la transmisión de enfermedades asociadas a este microorganismo (9, 18, 19).

El presente trabajo se realizó con objeto de demostrar la presencia de *H. somnus* en procesos neumónicos y en prepucio de bovinos clínicamente sanos en el estado de Chihuahua.

Muestreo de toretes por lavado prepucial.

Se muestrearon 100 toretes de uno a dos años de edad, de las siguientes razas: Hereford, Angus, Limousine, Brangus, Beefmaster, Charolais y Angus rojo, provenientes de 12 municipios del estado de Chihuahua: Aldama, Buenaventura, Casas Grandes, Chihuahua, Coyame, Namiquipa, Nuevo Casas Grandes, Riva Palacio, San Francisco de Borja, Satevó, Temosachic y

Villa Ahumada. El muestreo se llevó a cabo en el Campo Experimental "La Campana" del INIFAP-SAGDR, a donde estos animales habían sido llevados para una prueba de comportamiento. Se tomaron muestras de lavado prepucial, mediante el uso de solución salina estéril con una jeringa con un tubo de goma. Las muestras se mantuvieron en refrigeración para posteriormente realizarles el estudio bacteriológico.

Muestreo a partir de pulmones neumónicos de bovinos.

Esta parte del estudio se llevó a cabo en el rastro Tipo Inspección Federal (TIF) # 22 de la Ciudad de Chihuahua, donde se revisaron 893 pulmones bovinos, de los cuales 103 presentaron lesión neumónica lobar. Los bovinos provenían de 22 municipios del Estado de Chihuahua: Aquiles Serdán, Aldama, Bachiniva, Belisario Domínguez, Buenaventura, Chihuahua, Coyame, Cuauhtémoc, Cusiuriachi, Delicias, Galeana, General Trias, Gran Morelos, Guerrero, Julimes, Matachic, Ocampo, Ojinaga, Riva Palacio, Rosales, San Francisco de Borja y Satevó. Las muestras fueron refrigeradas y transportadas para su estudio bacteriológico.

Las muestras de lavados prepuciales y de pulmones neumónicos se inocularon en cajas de petri con placa de agar chocolate, base agar cistina corazón, suplementado con 0.5% de extracto de levadura, 10% de suero estéril de equino y 10% de sangre desfibrinada de ovino (13, 15, 20). Las cajas de petri fueron incubadas a 37 C con una atmósfera de 5-10% de CO₂ durante 24 y 48 horas. A las colonias que por su morfología y tinción resultaron cocobacilos Gram negativos, se les realizaron pruebas bioquímicas y reacciones de fermentación de carbohidratos, haciendo la mención de que dichas pruebas fueron suplementadas con 10% de suero estéril de equino y 0.5% de extracto de levadura (13).

Las pruebas bioquímicas que se realizaron fueron: Motilidad-indol-ornitina (MIO), urea, triple azúcarhierro (TSI), citrato de Simmons, gelatina, nitrato, rojo de metilo/Voges Proskauer (MR/VP), oxidación-fermentación (O-F), catalasa y oxidasa (13, 15). Se hicieron las reacciones de fermentación de carbohidratos al 10% utilizando base caldo rojo de fenol; los carbohidratos usados fueron: xilosa, galactosa, sacarosa, manosa, glucosa, manitol y maltosa (15). Las pruebas bioquímicas y las reacciones de fermentación de carbohidratos se incubaron a 37 C en condiciones parciales de CO₂. De los 100 toretes muestreados por lavado prepucial, en 47 se aislaron cepas bacterianas que tenían morfología cocobacilar y tinción Gram negativa. De la identificación con base a las pruebas bioquímicas y reacciones de fermentación se obtuvieron tres cepas de *H. somnus*; estas cepas se aislaron de animales de un mismo rancho y raza, del municipio de Satevó y fueron de raza Charolais.

De los 893 pulmones revisados, 103 presentaron lesiones neumónicas sugerentes de afección por *H. somnus*. Después del aislamiento y con base en los

resultados de tinción y morfología colonial, se identificaron 44 cepas, de las que cuatro resultaron de *H. somnus*, procedentes todas de bovinos del municipio de Chihuahua.

Los resultados de las pruebas bioquímicas para identificación de *H. somnus* coincidieron con lo notificado en la literatura (13, 15, 21). Las variaciones que presentan las cepas en los resultados de algunas de las pruebas bioquímicas y de fermentación de carbohidratos se presentan en el cuadro 1. Los resultados de este estudio demuestran la presencia de *H. somnus* en bovinos productores de carne en Chihuahua, ya que fue aislado a partir de lavado prepucial de toretes clínicamente sanos de un 3% de los animales muestreados y en 3.9% de animales con lesión neumónica. El porcentaje de aislamientos a partir de prepucio se considera bajo, ya que de acuerdo a trabajos previos (4, 22), se mencionan cifras de hasta el 71% de aislamiento, logrando a partir de prepucio de toros clínicamente sanos. Por lo anterior se considera al tracto reproductor como reservorio de *H. somnus*, pues se ha observado que aunque no causa enfermedad en machos, puede contaminar el semen y

CUADRO 1
RESULTADOS DE ALGUNAS PRUEBAS BIOQUIMICAS Y DE FERMENTACION
REALIZADAS A LAS CEPAS DE *Haemophilus somnus* AISLADAS DE BOVINOS
DE CARNE EN CHIHUAHUA, MEXICO

PRUEBA	MANUAL BERGEY'S	CARBOZ* GARCIA **	NUMERO DE CEPA						
			A	B	C	D	1	2	3
Ureasa	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalasa	-	V*	-	+	-	+	+	+	+
Ornitina	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sacarosa	-	**	-	+	-	-	+	-	-
Xilosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Manosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactosa	V	-	+	+	+	+	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- (+) 90% o más de las cepas son positivas.
- (-) 10% o menos de las cepas son positivas.
- (V) 11-89% de las cepas son positivas.

transmitirse por contacto sexual a las hembras, en las que puede causar vaginitis, endometritis, infertilidad y aborto (3, 5, 23, 24). El bajo porcentaje de aislamientos puede deberse a diferentes causas tales como: La presencia de bacterias contaminantes del género *Proteus*, que fué constante en gran cantidad de muestras, lo cual, pudo inhibir el crecimiento de *H. somnus*. El tiempo que transcurrió entre la toma de la muestra y la inoculación del medio de cultivo, fué en algunos casos de hasta ocho horas, lo que pudo también haber afectado la viabilidad del microorganismo.

Con respecto a los aislamientos a partir de pulmones neumónicos colectados en rastro, se sabe que *H. somnus* es capaz por sí solo de causar bronconeumonía supurativa, o puede ser parte del clásico complejo "fiebre de embarque", en donde puede ser el patógeno, aunque usualmente se aíslan organismos del género *Pasteurella*, debido a que crecen más rápidamente, o a que son más resistentes a los antimicrobianos cuando se da tratamiento a los animales (16).

Es necesario recalcar la importancia de los estudios sobre esta bacteria en nuestro país, ya que permitiría conocer la frecuencia y extensión de *H. somnus* en México y evaluar las posibles repercusiones que pudiera tener en nuestra ganadería.

***Haemophilus somnus* ISOLATION OF BEEF CATTLE IN CHIHUAHUA, MEXICO.**

SUMMARY

This study was conducted in order to demonstrate the presence of *Haemophilus somnus* in beef cattle from Chihuahua state in Mexico. One hundred and three pneumonic lungs from the slaughter-house from 22 municipalities and one hundred prepuccial exudates from bovines of 12 municipalities were sampled for this work. The identification of *Haemophilus somnus* was done by standard methods. Four colonies from the pneumonic lungs and three from the prepuccial samples were isolated, all of them identified as *Haemophilus somnus*.

KEY WORDS: *Haemophilus somnus*, bovines, Chihuahua, Mexico.

REFERENCIAS

1. Humphrey J D, Stephens L R. *Haemophilus somnus*: A review. Vet. Bull. 1983; 53:987.
2. Stephens L R, Little P B, Wilkie B N. Infectious thromboembolic meningoencephalitis in cattle: A review. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1981; 178:378.
3. Chladek D W. Bovine abortion associated with *Haemophilus somnus*. Am. J. Vet. Res. 1975; 36:1041.
4. Humphrey J D, Little P B, Stephens L R, Barnum D A, Doig P A, Thorsen J. Prevalence and distribution of *Haemophilus somnus* in the male reproductive tract. Am. J. Vet. Res. 1982; 43:791.
5. Kwiecien J M, Little B P. *Haemophilus somnus* and reproductive disease in the cow: A review. Can. Vet. J. 1991; 32:595.
6. Kwiecien J M. Isolation of pathogenic strains of *Haemophilus somnus* from the female bovine. Can. J. Vet. Res. 1992; 52:127.
7. Miller R B, Lein D H, Mc Entee K E, Hall C E, Shin S. *Haemophilus somnus* infection of the reproductive tract of cattle: A review. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1983; 182:1390.
8. Andrews J J, Anderson T F, Slife L N, Stevenson G W. Microscopic lesions associated with isolation of *Haemophilus somnus* from pneumonic bovine lungs. Vet. Pathol. 1985; 22:131.
9. Crandell A R, Smith R A, Kissil M. Colonization and transmission of *Haemophilus somnus* in cattle. Am. J. Vet. Res. 1977; 38:1749.
10. Correa G P, Brown L N, Bryner J H. Presencia de anticuerpos contra rinotraqueitis infecciosa, diarrea viral bovina, parainfluenza 3, brucelosis, leptospirosis, vibriosis y *Haemophilus somnus* en sueros de bovinos con problemas patológicos reproductores y respiratorios. Tec. Pecu. Méx. 1975; 29:26.
11. Aguilar R F, Trigo T E, Merino M M, Jaramillo M L, Sánchez-Mejorada P H. Aislamiento e identificación de *Haemophilus somnus* en México. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. SARH-UNAM. México, D. F. 1985;
12. Aguilar R F, Trigo T E, Sánchez-Mejorada H, Jaramillo M L. Aislamiento de *Haemophilus somnus* a partir de los pulmones neumónicos. Tec. Pecu. Mex. 1986; 52:68.
13. Aguilar R F, Jaramillo M L, Trigo T F. *H. somnus* Aislamiento en neumonías de becerros y estudio seroepidemiológico. Memorias del VI Congreso Latinoamericano de Buiatría. Méx. D. F., 1987; 296.
14. Rodríguez A M, Martínez M J, Aguilar R F, Salas T E. Detección de anticuerpos contra *Haemophilus somnus* en bovinos del municipio de Tuxtepec, Oaxaca, México. Vet. Mex. 1993; 24:305.
15. García-Delgado G A, Little P B, Barnum D A. A comparison of various *Haemophilus somnus* strains. Can. J. Comp. Med. 1977; 41:380.
16. Harns W F, Janzen D E. The *Haemophilus somnus* disease complex (haemophilosis): A review. Can. Vet. J. 1989; 30:816.
17. Pritchard D G, Shreeve J, Bradley R. The experimental infection of calves with a British strains of *Haemophilus somnus*. Res. Vet. Sci. 1979; 26:7.

18. Saunders JR, Thiessen WA, Janzen ED.: *Haemophilus somnus* infections. I. A ten years (1969-1978) retrospective study of losses in cattle herds in western Canada. *Can. Vet. J.* 1980; 21:119.
19. Stephens L R, Little P P, Wilkie B N, Barnum D A. Humoral immunity in experimental thromboembolic meningoencephalitis in cattle caused by *Haemophilus somnus*. *Am. J. Vet. Res.* 1981. 42:468.
20. Carboz L, Nicolet J. Infektionen mit sogenannten "*Haemophilus somnus*" beimrind: Isolierung and Charakterisierung von stammen aus respirations- 778 undgeschlechtsorganen. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 1975. 117:493.
21. Buchanan R E, Gibbons N E: *Bergey's Manual of Determinative bacteriology*, Eighth edition. The Williams and Wilkins, Company. USA. 1974.
22. Humphrey J D, Little P B, Barnum D A, Doing P A, Stephens L R, Thorsen J. Occurrence of *Haemophilus somnus* in bovine semen and in the prepuce of bulls and steers. *Can. J. Comp. Med.* 1982; 46:215.
23. Klavano G G. Observations on *Haemophilus somnus* infection as an agent producing reproductive disease: infertility and abortion. *Soc. Theriogenology Nebraska.* 1980; 139.
24. Patterson R M. Isolation of *Haemophilus somnus* from vaginitis and cervicitis in dairy cattle. *Aust. Vet. J.* 1984; :301.