

# Factores de riesgo asociados a la presencia de aborto y desempeño reproductivo en ganado lechero de Aguascalientes, México

## Abortion risk factors and reproductive performance of dairy cattle in Aguascalientes, Mexico

Rosa María Meléndez Soto<sup>a</sup>, Arturo Gerardo Valdivia Flores<sup>a</sup>, Erika Janeth Rangel Muñoz<sup>b</sup>, Efrén Díaz Aparicio<sup>c</sup>, José C. Segura-Correa<sup>d</sup>, Alma Lilián Guerrero Barrera<sup>e</sup>

### RESUMEN

Los objetivos del estudio fueron determinar el efecto de factores de riesgo sobre la ocurrencia del aborto, y su impacto sobre algunas medidas de eficiencia reproductiva en hatos de Aguascalientes. Se obtuvieron 353 sueros de vacas que abortaron y que no abortaron de 23 hatos con registros. La información de los hatos y animales se obtuvo por entrevistas. Además de factores relacionados con las condiciones de los hatos, se exploró la influencia de la seropositividad a rinotraqueitis infecciosa, diarrea viral bovina, neosporosis y brucelosis, determinada por pruebas comerciales de ELISA, y la última mediante las pruebas de rosa de bengala, rivanol e inmunodifusión radial. Se realizaron análisis de Ji-cuadrada, y posteriormente con las variables significativas ( $P < 0.10$ ) se realizaron análisis de regresión logística. Las variables relativas a la eficiencia reproductiva de los animales se evaluaron mediante análisis de varianza. La seronegatividad a rinotraqueitis infecciosa fue el único factor que incrementó el riesgo de aborto (RM=1.71). El aborto incrementó el número de servicios por concepción ( $3.09 \pm 0.25$  vs  $2.36 \pm 0.12$ ,  $P < 0.05$ ), los días abiertos ( $149.8 \pm 9.7$  vs  $262.3 \pm 18.7$ ,  $P < 0.01$ ) y el promedio de días en lactancia ( $192.4 \pm 9.1$  vs  $285.9 \pm 19.2$ ,  $P < 0.01$ ). Con los resultados encontrados no se logró determinar asociación entre los factores de riesgo relativos al hato e individuales relacionados con el aborto, pero es indudable que ocasiona un efecto detrimental sobre la eficiencia reproductiva de los hatos.

**PALABRAS CLAVE:** Ganado lechero, Aborto, Seroprevalencia, Factores de riesgo, Enfermedades abortivas.

### ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the effect of risk factors on the occurrence of abortion and their impact on select reproductive efficiency parameters in dairy herds in Aguascalientes, Mexico. Three hundred and fifty three (353) serum samples from aborted or non-aborted cows in 23 dairies with records were collected. Herd/animal information was collected through interviews. In addition to herd condition-related factors, the influence of positive serology to bovine infectious rhinotracheitis (IBR), bovine viral diarrhoea (BVD), neosporosis (Ne), and brucellosis (Br) was explored. ELISA tests were used for all diseases, with the exception of Br. Serology of the latter was analyzed using the Bengal pink, rivanol, and radial immunodiffusion tests. Results were subjected to  $\chi^2$  analysis and significantly-different ( $P < 0.10$ ) variables were subjected to logistic regression analysis. Reproductive efficiency-related variables were evaluated using analysis of variance. Negative IBR serology was the only factor increasing the risk of abortion (odds ratio, OR=1.71). Abortion resulted in increased number of services per conception ( $3.09 \pm 0.25$  vs  $2.36 \pm 0.12$ ,  $P < 0.05$ ), days open ( $149.8 \pm 9.7$  vs  $262.3 \pm 18.7$ ,  $P < 0.01$ ), and average number of days in lactation ( $192.4 \pm 9.1$  vs  $285.9 \pm 19.2$ ,  $P < 0.01$ ). Results were not enough to associate herd/ animal abortion risk factors, but there is no doubt that abortion has a detrimental effect on herd reproductive efficiency.

**KEY WORDS:** Dairy cattle, Abortion, Seroprevalence, Risk factors, Abortive diseases.

Recibido el 7 de abril de 2009. Aceptado para su publicación el 13 de mayo de 2010.

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Agropecuarias. Av. Universitaria 940, Cd. Universitaria, C. P. 20100, Aguascalientes, Ags., México. Tel/fax (449) 9650062. Correo electrónico: rmelende@correo.uaa.mx. Correspondencia al primer autor.

<sup>b</sup> Práctica privada.

<sup>c</sup> CENID-Microbiología, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).

<sup>d</sup> Universidad Autónoma de Yucatán.

<sup>e</sup> Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas.

El aborto se define como la pérdida del producto de la concepción a partir del periodo fetal (aproximadamente 42 días) hasta antes de los 260 días de la gestación en el caso del bovino<sup>(1)</sup>. La pérdida antes de ese periodo se denomina reabsorción embrionaria. De manera general se puede establecer que la pérdida de la gestación, independientemente de la etapa en que ocurre, es un fenómeno multicausal y complejo, lo cual dificulta de manera importante su diagnóstico<sup>(2)</sup>. Se ha estimado que en EE.UU. sólo se diagnostica del 25 al 40 % de las causas de aborto, aún cuando se remita el feto al laboratorio<sup>(2)</sup> y se ha observado que el 90 % de los casos diagnosticados son de origen infeccioso<sup>(3)</sup>. En México se estima que permanecen como desconocidas las causas de los abortos en más de un 70 % de las veces<sup>(4)</sup>.

Las principales causas de desecho involuntario son las afecciones reproductivas y dentro de las mismas, un porcentaje alto se relaciona con el aborto. En un trabajo realizado en Aguascalientes<sup>(5)</sup> la tasa de desecho anual fue de 22.2 %, del cual el 34 % correspondió a causas reproductivas; 3 de cada 10 vacas se eliminaron debido al aborto y prácticamente el resto a problemas que pudieran estar relacionados, por ejemplo infertilidad y metritis (14 y 6.4 %, respectivamente).

La pérdida de la gestación tiene un costo alto, calculado en 555 USD (dólares americanos), en un trabajo donde se observó que éste se incrementa a medida que avanza la duración de la misma<sup>(6)</sup>. En un estudio más reciente<sup>(7)</sup> se calcularon pérdidas de 2,333 USD promedio por aborto debido principalmente a un mayor intervalo entre partos y un incremento en la tasa de desecho, consecuencia de una disminución en la fertilidad, que se manifestó como endometritis en un 22.3 % de los animales abortados y un 46.6 % de animales eliminados del hato como consecuencia del aborto.

Existen algunas investigaciones sobre la prevalencia de neosporosis<sup>(8,9)</sup>, DVB<sup>(10)</sup> y brucelosis<sup>(11)</sup> en Aguascalientes, y es evidente que estas enfermedades están ampliamente distribuidas en el Estado y aunque se les considera enfermedades abortivas, su prevalencia no siempre ha estado asociada con un

In cattle, abortion is defined as loss of the conception product between the fetal period (42 d) and 260 d of gestation. Losses occurring before this period are known as embryo resorption<sup>(1)</sup>. It can be generally stated that gestation loss –regardless of the stage when it occurs– is a multi-causal, complex phenomenon, making diagnosis extremely difficult<sup>(2)</sup>. Only 25 to 40 % abortion causes have been estimated to be diagnosed in the US even if the fetus is submitted to the laboratory<sup>(2)</sup>. Ninety (90) percent of cases diagnosed have been observed to have an infectious origin<sup>(3)</sup>. In Mexico, it is estimated that >70 % abortion causes pass unknown<sup>(4)</sup>.

The main causes of involuntary cow culling are reproductive disorders, a high percent of which is related with abortion. A study in Aguascalientes<sup>(5)</sup> reported an abortion yearly culling rate of 22.2 %, 34 % of which was attributed to reproductive causes. Three (3) of every 10 cows are culled due to abortion and practically all the rest is attributed to abortion-related problems, including infertility and metritis (14 and 6.4 %, respectively.)

The cost of one single gestation loss was reported to be as high as US \$555 in a study that also observed that abortion incidence increases as gestation progresses<sup>(6)</sup>. A more recent study<sup>(7)</sup> estimated an average loss of \$ 2,333/abortion mostly due to extended calving intervals and increased culling rates, resulting from decreased fertility expressed as endometritis in 22.3 % of aborted animals, and 46.6 % of animals culled due to abortion.

Few studies have been published on the prevalence of neosporosis (Nc)<sup>(8,9)</sup>, bovine viral diarrhea (BVD)<sup>(10)</sup>, and brucellosis (Br)<sup>(11)</sup> in Aguascalientes, making it evident that these diseases are broadly distributed in the State. Even though they are considered as abortive diseases, their prevalence has not always been associated with increased abortions. The purpose of this study was to analyze if some dairy herd-/animal-related factors are associated with increased abortion occurrence and the effect of these factors on reproductive efficiency.

The study was carried out from October 2006 to February 2007 in the dairy valley of Aguascalientes,

porcentaje elevado de abortos. El objetivo de este estudio fue analizar si algunos factores relativos al hato o a los animales de hatos lecheros en la zona están vinculados a un incremento en el porcentaje de abortos y cómo influyen estos sobre la eficiencia reproductiva.

La investigación se realizó durante los meses de octubre de 2006 a febrero de 2007, en el valle de la cuenca lechera de Aguascalientes, situado en el altiplano central de México en la zona Centro-Norte del País, el cual presenta un clima semiseco templado y extremo, BS<sub>1</sub>kw (w)(e), altitud promedio de 1,855 (1,650-2,000) msnm, temperatura media anual de 16.5 °C, precipitación promedio de 455 mm al año, que se presenta en el verano y en el invierno<sup>(5)</sup>.

Las explotaciones lecheras estaban manejadas con diversos grados de tecnificación, pero en todos los casos mantenían ganado de raza Holstein-Friesian de manera predominante con un régimen de estabulación libre que consistió de corrales abiertos con piso de tierra, áreas sombreadas y sala de ordeño. Se incluyeron en el estudio 353 vacas lecheras procedentes de 23 hatos con registros actualizados, que se seleccionaron mediante un muestreo no estadístico por conveniencia<sup>(12)</sup>.

Se utilizó un diseño de casos y testigos<sup>(13)</sup>, considerando como caso (n=110) a los animales que habían presentado aborto 12 meses antes de la fecha del muestreo, mientras que los animales testigo (n=243) correspondieron a vacas, elegidas al azar, del mismo hato que no habían presentado abortos. Se colectó sangre por punción de la vena coccígea con equipo vacutainer y se aplicó una encuesta a los productores con el propósito de explorar los factores de riesgo, tanto individuales como de hato, que pudieran estar asociados con la ocurrencia del aborto.

Las muestras de sangre se centrifugaron a 1,500 xg por 10 min para obtener el suero que fue mantenido a -20 °C en tubos identificados. Se utilizaron estuches comerciales de ELISA para la detección de animales seropositivos a rinotraqueitis infecciosa bovina (HerdChek IBRgB, IDEXX Laboratories; 100% sensibilidad y 99.8% especificidad), diarrea viral bovina (HerdChek

located in Mexico's central highlands, in the Central-North area of the country, with temperate, semi-arid extreme weather, BS<sub>1</sub>kw (w)(e), an average altitude of 1,855 (1,650-2,000) m asl, a mean annual temperature of 16.5 °C, and an average rainfall rate of 455 mm/annum, occurring during summer and winter<sup>(5)</sup>.

The dairies were managed using varying levels of technology, but in all cases the Holstein-Friesian breed prevailed, under a free confinement regime, consisting of open pens with earthen floors, shades, and milking parlors. Three hundred and fifty three (353) dairy cows from 23 herds with updated records were included. Animals were selected by convenience, non-statistical sampling<sup>(12)</sup>.

A case-control design<sup>(13)</sup> was used. One case (n=110) consisted of animals that had aborted 12 mo prior to sampling date, while controls (n=243) were randomly-selected cows in the same herd that had not aborted. Blood samples were collected by coccigeous vein puncture using Vacutainer™ devices. Animal/herd risk factors possibly associated with the occurrence of abortion were explored by a survey among producers.

Blood samples were centrifuged at 1,500 xg for 10 min in order to obtain serum. Serum was then maintained at -20 °C in properly-labeled tubes. Commercially available enzyme-linked immunosorbant assay (ELISA) kits were used for the detection of animals serologically positive to IBR (HerdChek IBRgB, IDEXX Laboratories; 100% sensitivity/99.8% specificity), BVD (HerdChek BVDV, IDEXX Laboratories; 100% sensitivity/99.5% specificity), and Nc (HerdChek Anti-Neospora, IDEXX Laboratories; 98.6% sensitivity/98.8% specificity) in accordance with manufacturer's specifications. Plates were read using a Labsystems Multiskan Multisoft reader (Helsinki, Finland), using a 450 nm filter for both IBR and BVD, while for Nc a PR2100 BIO-RAD reader with a 630-nm filter was used.

The Bengal pink test was used as a Br antibody screen test, while the rivanol test was used for confirmatory purpose<sup>(14)</sup>. All samples positive to

BVDB, IDEXX Laboratories; 100% de sensibilidad y 99.5% de especificidad) y neosporosis (HerdChek Anti-Neospora, IDEXX Laboratories; 98.6% de sensibilidad y 98.8% de especificidad) según las especificaciones del fabricante. La lectura de las placas se hizo con un lector Labsystems Multiskan Multisoft (Helsinki, Finlandia) utilizando un filtro de 450 nm en el caso de RIB y DVB. Para leer las placas de Nc se utilizó un lector PR2100 BIO-RAD utilizando un filtro de 630 nm.

Para el diagnóstico de anticuerpos contra Br se utilizó la prueba de rosa de bengala como prueba tamiz y la de rivanol como prueba confirmatoria<sup>(14)</sup>. Todas las muestras positivas a cualquiera de las dos pruebas se sometieron a una prueba de inmunodifusión radial<sup>(15)</sup>.

Los factores de riesgo individuales y de hato evaluados fueron considerados como variables aleatorias dicotómicas (Sí, no), excepto para aquellas donde se especifica. Los factores individuales explorados fueron: *status* serológico de DVB, Nc, RIB y Br, número de enfermedades a las que fueron positivos los animales (1, 2-4 enfermedades; variable reactor), antecedentes de aborto y paridad (número de lactancia: 1,2-3, >3). Las variables de hato fueron: origen de los reemplazos, presencia de perros, presencia de hatos vecinos, utilización de secuestrante de micotoxinas, antecedentes de inmunización contra Br y contra los virus de DVB y RIB, antecedentes de diagnóstico de enfermedades abortivas y reproducción por monta directa.

El análisis de asociación de los factores de riesgo previamente descritos con la ocurrencia de aborto, se realizó en dos fases. En la primera se realizaron pruebas de Ji-cuadrada y aquellos factores que riesgo que fueron significativos ( $P < 0.10$ ) se incluyeron en un modelo de regresión binomial logística<sup>(16)</sup>, mediante el procedimiento LOGISTIC del SAS<sup>(17)</sup>.

A partir de los registros de los animales se calcularon los siguientes indicadores de eficiencia reproductiva y productiva:

Días abiertos. Para las vacas gestantes se consideró el periodo entre la fecha de parto y la fecha del

any of these two tests were subjected to the radial immunodiffusion test<sup>(15)</sup>.

Animal and herd risk factors evaluated were considered as dichotomous (Yes/No) variables, except when specified. Individual factors explored included: BVD, Nc, IBR, and Br serological status, the number of diseases to which animals were positive (1, 2-4 diseases; i.e., variable reactor), abortion history, and parity (number of lactations: 1, 2-3, >3). Herd variables included: replacement heifer origin, presence of dogs, presence of neighboring herds, use of mycotoxin binders, Br/BVD/IBR vaccination history, abortive disease diagnostic background, and reproduction using natural service.

Analysis of the association of the above-mentioned risk factors with abortion occurrence was performed in two phases. Phase one included  $\chi^2$  tests and then risk factors statistically-significant ( $P < 0.10$ ) were included in a binomial logistic regression model<sup>(16)</sup> using the LOGISTIC procedure of SAS<sup>(17)</sup>. Using animal records, the following productive/reproductive efficiency indicators were calculated:

Days open. For pregnant cows, the time period between calving and last service was considered. For non-pregnant (open) cows or for inseminated cows, the period from calving/abortion to sampling date was considered.

Days in milk. The time period between calving/abortion and sampling date was considered for all cows.

Services per conception. Number of services from calving/abortion to sampling date.

The influence of abortion and positive serology on reproductive variables was explored using a one-way analysis of variance. Least square mean differences ( $P < 0.05$ ) were declared significant. The analysis was performed using the GLM procedure (SAS)<sup>(17)</sup>.

The number of animals per herd ranged from 7 to 216, with a median of 28. The yearly abortion

último servicio. Para las vacas no gestantes (abiertas) o inseminadas, se consideró el periodo transcurrido entre la fecha del parto o aborto y el día de la obtención de muestras.

Días en leche. En todas las vacas se consideró el periodo transcurrido entre la fecha de parto o aborto y la fecha de muestreo.

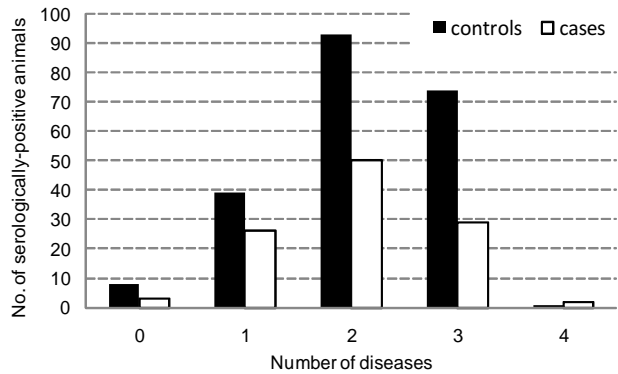
Servicios por concepción. Número de servicios desde el parto o aborto hasta la fecha de muestreo. La influencia del aborto y de la seropositividad sobre las variables reproductivas fue explorada con análisis de varianza de una vía; diferencias de las medias de cuadrados mínimos con valores de  $P < 0.05$  fueron declaradas significativas. El análisis se realizó mediante el procedimiento GLM del SAS<sup>(17)</sup>.

Los hatos incluidos en el estudio estuvieron comprendidos en una escala de 7 a 216 animales con una mediana de 28. La frecuencia anual de abortos en los hatos analizados fue de 4.0 a 29.0 % con una mediana del 14.0 %. La mayor parte de los abortos (47.1 %) ocurrieron durante el segundo tercio de la gestación, en segundo lugar durante el primero (19.2 %) y el resto en el tercero (17.3 %). Solamente el 2.9 % de los casos fueron mortinatos. Puesto que es frecuente que sólo se observe el retorno al estro, no siempre se supo con exactitud cuando ocurrió el final de la gestación ni tampoco el porcentaje real de pérdidas durante el primer tercio, puesto que el diagnóstico temprano de gestación por palpación rectal normalmente se hizo a los 45 días post-servicio. De tal manera que el porcentaje de abortos pudiera estar subestimado.

El 100 % de los hatos tuvo por lo menos un animal seropositivo a DVB, RIB y Nc, mientras que sólo el 21.7 % (5/23) tuvo por lo menos un animal seropositivo a Br. En relación a la variable reactor, no se encontraron diferencias entre casos y controles ( $P > 0.05$ ) en el promedio del número de enfermedades a las que fue seropositivo cada animal ( $2.02 \pm 0.08$  vs  $2.07 \pm 0.06$ ). En la Figura 1 se muestra el número de animales entre los casos y testigos que no reaccionaron a ninguna de las enfermedades y que reaccionaron a una, dos, tres o cuatro.

Figura 1. Número de animales seropositivos a las enfermedades evaluadas (0= ninguna, 4=todas,  $P > 0.05$ )

Figure 1. Number of animals with positive serology to select diseases (0= none, 4=all,  $P > 0.05$ )



frequency in the herds ranged from 4.0 to 29.0 %, with a median of 14.0 %. The occurrence of abortions was as follows: Second trimester of gestation, 47.1 %, first trimester of gestation, 19.2 % and third trimester of gestation, 17.3 %. Only 2.9 % of the cases were stillbirths. Given that frequently the only sign observed is return to estrus, the precise date of gestation end or the actual percent losses during the first trimester of gestation was not always determined, given that the early rectal palpation for pregnancy check was typically performed at 45 d post-service. Therefore, abortion percent could be underestimated.

All herds (100 %) had at least one animal with positive serology to BVD, IBR, or Nc, while only 21.7 % (5/23) of the herds had at least one animal with positive serology to Br. As far as the variable reactor is concerned, no statistically-significant differences were found between cases and controls ( $P > 0.05$ ) in the average number of diseases to which each animal was serologically positive ( $2.02 \pm 0.08$  vs  $2.07 \pm 0.06$ ). Figure 1 shows the number of animals among both cases and controls showing no reaction to any of the diseases, as well as those reacting to one, two, three, or four diseases.

The  $\chi^2$  analysis of animal intrinsic variables (Table 1) showed association between the IBR serological

Cuadro 1. Número y porcentaje de exposición a los factores de riesgo individuales explorados en un estudio caso-testigo para aborto en ganado lechero en 110 vacas con antecedentes de aborto

Table 1. Number of and exposure percent to individual animal risk factors explored in a case-control study of abortion in 110 dairy cows with history of abortion

Risk factor	Categories	No. of cows	Frequency (%)
Bovine viral diarrhea	Seropositive	95	32.8
	Seronegative	15	35.7
<i>Neospora caninum</i>	Seropositive	61	35.1
	Seronegative	49	31.6
Brucellosis	Seropositive	5	50.0
	Seronegative	105	32.8
Rhinotracheitis <sup>a</sup>	Seropositive	60	29.0
	Seronegative	50	40.6
Reactor	One disease	29	38.1
	> one disease	81	32.4
Parity	1 parity	37	36.0
	2-3 parities	42	32.3
	>3 parities	28	34.6

<sup>a</sup>  $P < 0.05$ ,  $\chi^2$  test for abortion occurrence.

El análisis de Ji-cuadrada de las variables intrínsecas al animal (Cuadro 1) mostró asociación entre el status serológico de RIB y la ocurrencia del aborto ( $P < 0.05$ ).

Así mismo, los análisis de Ji-cuadrada para evaluar el efecto de la seropositividad a RIB y otra de las enfermedades de manera simultánea y la ocurrencia del aborto (Cuadro 2), mostraron un mayor porcentaje de abortos cuando los animales eran seropositivos a RIB y Br simultáneamente.

Sólo la seropositividad a RIB resultó significativa ( $P < 0.05$ ) en el análisis de regresión logística. Como puede observarse en el Cuadro 3, la probabilidad de aborto fue 1.7 veces mayor en los animales seronegativos que en los seropositivos.

Como era de esperarse, el aborto incrementó el número de servicios por concepción de manera significativa ( $P < 0.05$ ) entre las vacas que abortaron ( $3.09 \pm 0.25$ ) en comparación con las que no tuvieron antecedentes de aborto ( $2.36 \pm 0.12$ ). De

status and the occurrence of abortion ( $P < 0.05$ ); the effect of simultaneous positive serology to IBR and one additional disease on the occurrence of abortion, showed a higher percent of abortion among those animals with positive serology to both IBR and Br simultaneously.

Only IBR-positive serology was significant ( $P < 0.05$ ) in the logistic regression analysis. As shown in Table 3, the probability of abortion was 1.7 times higher in serologically-negative animals than in serologically-positive animals.

As expected, abortion resulted in significantly-increased ( $P < 0.05$ ) numbers of services per conception among the cows that aborted ( $3.09 \pm 0.25$ ) than in those with no history of abortion ( $2.36 \pm 0.12$ ). Similarly, loss of gestation also caused a 75 % increase in the calving-to-conception interval since in the cows with history of abortion this parameter was much longer ( $262.3 \pm 18.7$ ) than in those that completed gestation successfully ( $149.8 \pm 9.7$ ,  $P < 0.01$ ).

Cuadro 2. Efecto de la seropositividad a rinotraqueítis infecciosa bovina (RIB sola o en combinación con brucelosis, diarrea viral bovina y neosporosis; Br, DVB y Nc) sobre la ocurrencia del aborto

Table 2. Effect of positive serology to infectious bovine rhinotracheitis (IBR) alone or in combination with brucellosis (Br), bovine viral diarrhoea (BVD) or neosporosis (Nc) on the occurrence of abortion

Risk factor	Number of diseases with positive reaction			Cows (No.)	Frequency (%)
	0	1	2		
IBR-Br <sup>a</sup>	X			49	40.8
		X		57	28.5
			X	4	50.0
IBR-BVD	X			13	44.8
		X		39	37.1
			X	58	29.6
IBR-Nc	X			20	35.1
		X		59	36.4
			X	31	28.7

<sup>a</sup>  $P < 0.05$ , Chi<sup>2</sup> test for abortion occurrence.

la misma manera, la pérdida de la gestación también incrementó en un 75 % el intervalo del parto a la concepción ya que las vacas con antecedentes de aborto tuvieron un periodo más largo ( $262.3 \pm 18.7$ ) que las que concluyeron adecuadamente su gestación ( $149.8 \pm 9.7$ ,  $P < 0.01$ ).

Como consecuencia de un periodo abierto más largo debido al aborto y sus complicaciones, también se incrementó el promedio de días en lactancia casi en 100 días ( $192.4 \pm 9.1$  vs  $285.9 \pm 19.2$ ,  $P < 0.01$ ). En todas las variables hubo diferencia significativa entre hatos ( $P < 0.01$ ).

Pese a que las pruebas de ELISA utilizadas para el diagnóstico de RIB, DVB y Nc se caracterizan por tener una alta sensibilidad y especificidad, tienen la limitante de ser pruebas indirectas (detectan anticuerpos). Eso impide que con base en los resultados se pueda discriminar si los animales son seropositivos debido a una infección de campo o a la vacunación; sin embargo, de la población en estudio sólo en el 24.2 % de las explotaciones (3/23) existieron antecedentes de vacunación contra

Cuadro 3. Análisis de regresión logística para la ocurrencia de aborto en 353 vacas lecheras de 23 hatos de Aguascalientes, México (2007)

Table 3. Logistic regression analysis for the occurrence of abortion in 353 dairy cows in 23 herds in Aguascalientes, Mexico (2007)

Risk factor	<i>b</i>	S.E.	OR	CI 95%	<i>P</i>
<b>IBR</b>					
Seronegative	0.5321	0.2506	1.7031	1.04, 2.78	0.03
Seropositive					
<b>BVD</b>					
Seronegative	-0.0353	0.3678	0.9651	0.47, 1.99	0.92
Seropositive					
<b>Brucella</b>					
Seronegative	-0.8191	0.6509	0.4411	0.12, 0.47	0.21
Seropositive					
<b>Neospora</b>					
Seronegative	-0.0304	0.2387	0.878	0.55, 1.40	0.58
Seropositive			1		

IBR= Infectious bovine rhinotracheitis; BVD= Bovine viral diarrhoea, SE= standard error; OR= Odds ratio.

As a result of an extended open period due to abortion and abortion complications, the average number of lactation days was also increased in nearly 100 d ( $192.4 \pm 9.1$  vs  $285.9 \pm 19.2$ ,  $P < 0.01$ ). All variables showed significant ( $P < 0.01$ ) differences among dairies.

Despite of their high sensitivity/specificity the IBR, BVD, and Nc ELISA test kits used have the limitation of being indirect tests, since they detect antibodies. Therefore, serological positive results do not allow for discrimination between infection and vaccination. Nevertheless, only 24.2 % (3/23) of the dairies studied had been vaccinated against BVD and IBR, and none of them had been vaccinated against Nc. In contrast, at least one animal was serologically positive to each of these diseases, suggesting a broad distribution of the causative organisms in the area, in agreement with previous studies that have shown 57.5 %<sup>(8)</sup> or higher<sup>(9)</sup> neosporosis seroprevalence in the state of Aguascalientes. One additional study performed earlier in the region, including the States of Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, and

DVB y RIB y en ninguna contra neosporosis, lo que contrasta con el hallazgo de que por lo menos hubo un animal seropositivo a cada una de las enfermedades. Eso sugiere que la distribución de dichos microorganismos en la zona es amplia, lo que coincide con investigaciones previas que se han realizado en el estado de Aguascalientes para determinar la seroprevalencia de neosporosis donde se ha reportado de 57.5 %<sup>(8)</sup> o mayor<sup>(9)</sup>. En el caso de DVB existe un estudio previo en la zona (Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato y Zacatecas) en el que se analizaron sueros de animales no vacunados por medio de la técnica de seroneutralización, y se observaron prevalencias de 97.5 y 89.2 % para DVB I y DVB II<sup>(11)</sup>. En relación a RIB no se tienen datos del estado de Aguascalientes, pero se ha encontrado en otras regiones del país una seroprevalencia desde el 5.3 %<sup>(18)</sup> hasta el 54.5 %<sup>(19)</sup>. Aunque en este trabajo no se pudo establecer la prevalencia dado que la información está sesgada por ser un estudio caso-testigo, el porcentaje de animales seropositivos a Nc fue de 53.3 %, para RIB fue de 58.5 % y en el caso de DVB de 89.1 %, datos que son similares a los reportados.

En el caso de *Brucella abortus*, el 86.7 % de los hatos (19/23) tenían antecedentes de vacunación; sin embargo sólo el 21.7 % (5/23) tuvieron un animal seropositivo. Por otro lado, el haber empleado la prueba de inmunodifusión radial, en la que se detectan anticuerpos contra el hapteno nativo de la bacteria, además de las pruebas diagnósticas oficiales, permitió distinguir entre animales vacunados e infectados<sup>(15)</sup>. El porcentaje de animales positivos fue de 2.8 %, dato que está por debajo de lo que antes se ha reportado por otros investigadores para el Estado<sup>(11)</sup>.

Con los datos obtenidos en la presente investigación no se logró determinar asociación entre alguno de los factores de riesgo explorados a nivel de hato y un incremento en el porcentaje de abortos, lo que pudiera estar relacionado con condiciones de manejo relativamente homogéneas en las explotaciones incluidas en el estudio. A nivel individual la única variable asociada al aborto fue la seronegatividad a RIB, situación que es difícil de explicar; sin

Zacatecas<sup>(11)</sup>, showed 97.5 and 89.2 % prevalence for BVD I and BVD II, respectively, using the seroneutralization test in non-vaccinated cattle. Even though no information exists on IBR in the state of Aguascalientes, seroprevalence levels of 5.3 %<sup>(18)</sup> to 54.5 %<sup>(19)</sup> have been reported in other regions within the country. In our study, seroprevalence could not be established because of being a case-control study yielding biased information, but serologically-positive animals were as follows: Nc, 53.3 %; IBR, 58.5 %; BVD, 89.1 %, similar to previous results.

As far as *Brucella abortus* is concerned, 86.7 % (19/23) of the herds had been vaccinated, but only 21.7 % (5/23) dairies had one animal with positive serology. On the other hand, using the radial immunodiffusion test (that detects bacterial native hapten antibodies) in addition to the official diagnostic tests, led to discriminating between vaccinated and infected animals<sup>(15)</sup>. The incidence of positive animals was 2.8 %, lower than that reported in Aguascalientes by other workers<sup>(11)</sup>.

Our results did not determine the association between any of the herd risk factors explored and increased abortion incidence. This could be related to the similar management practices used in all dairies. The only individual variable associated with abortion was negative IBR serology, which can be hardly explained. Looking at BVD/IBR vaccination history in the aborted animals, out of those that were serologically negative to IBR only 4 % (2/50) had been vaccinated. In contrast, among the serologically-positive animals that aborted, 31.6 % (19/60) had been vaccinated. Based on these observations, abortion protection could partly be due to the fact that one third of the cases had been immunized. Type 1 bovine herpesvirus (BHV-1) can remain latent in the sensorial ganglions of infected animals, to be reactivated in the face of immunodepression<sup>(19)</sup>. In addition, BHV-1 effects on both the immune system and tracheal mucosa allow this virus to participate in mixed infections, as it occurs in the bovine respiratory complex<sup>(20)</sup>. In our study, no increased abortions were observed in those animals that showed simultaneous positive serology to both IBR and Br, a further evidence of



embargo si observamos los antecedentes de vacunación (DVB y RIB) en los animales abortados, de los que fueron seronegativos a RIB sólo el 4 % (2/50) estaban vacunados, en contraste, de los animales seropositivos abortados el 31.6 % (19/60) tenían antecedentes de vacunación. De acuerdo a lo anterior, parte del efecto de protección contra el aborto pudiera deberse a que la tercera parte de los casos estaban inmunizados. El HVB-I tiene la particularidad de mantenerse en estado de latencia en los ganglios sensoriales de los animales infectados y en condiciones de inmunodepresión se reactiva<sup>(19)</sup>; además de que sus efectos sobre el sistema inmune y la mucosa traqueal, le permiten formar parte de infecciones mixtas, como en el caso del complejo respiratorio bovino<sup>(20)</sup>; en este estudio se observó un incremento en el porcentaje de abortos en aquellos animales que fueron seropositivos a RIB y Br de manera simultánea, lo cual pudiera evidenciar que la etiología del aborto es compleja. La variable reactor fue creada partiendo de dicha hipótesis, y aunque en este estudio no se encontraron diferencias entre el número de enfermedades a las que fueron seropositivos animales abortados y no abortados, existe evidencia de que no siempre se encuentra asociación entre la prevalencia de una enfermedad abortiva y la ocurrencia del aborto, como en el caso de DVB y neosporosis<sup>(21)</sup>, y también que en algunos casos las interacciones entre microorganismos sí están relacionados con su ocurrencia, como en el caso de los mismos agentes<sup>(22)</sup>, DVB y agentes oportunistas como *Actinomyces pyogenes* y *Bacillus spp*<sup>(23)</sup>.

En relación al efecto del aborto sobre el desempeño reproductivo, medido por los días abiertos, días en leche y servicios por concepción, se encontró un efecto detrimental. En un trabajo<sup>(24)</sup> en que se evaluó el efecto de diversos trastornos posparto sobre el desempeño reproductivo se encontró que en el caso del aborto y algunos trastornos asociados, como distocias, retención de placentas y metritis, los días abiertos y días a primer servicio se incrementaron, lo que coincide con los hallazgos de esta investigación.

Dado que idealmente una vaca debiera producir un becerro por año, es decir, su intervalo entre partos

the complexity of abortion etiology. The variable reactor was created based on such hypothesis and, even though in our study no differences were found in the number of diseases to which aborted and non-aborted animals showed positive serology, evidence exists that association between the prevalence of an abortive disease and the occurrence of abortion (i.e., BVD and Nc)<sup>(21)</sup> cannot always be found. Nevertheless, interactions between the occurrence of abortion and these same agents<sup>(22)</sup>, BVD virus, and opportunistic organisms such as *Actinomyces pyogenes* and *Bacillus spp*<sup>(23)</sup> have been reported.

A detrimental effect of abortion on reproductive performance (days open, days in milk, and services per conception) was found. Our study agrees with another report<sup>(24)</sup> that evaluated the effect of various post-partum disorders on reproductive performance, showing that abortion and abortion-associated disorders (dystocia, placental retention, and metritis) resulted in increased number of both, days open and days to first service.

Given that ideally one cow should produce one calf per year –in other words, calving interval should be 13.0-13.5 mo– the calving-to-conception interval should be 4.0-4.5 mo and a longer period could have economic implications. The cost of one day open was estimated considering different calving intervals<sup>(25)</sup> with variable values depending on milk yield. Positive values of US \$0.21 to \$0.40 were generally observed for 12-13 mo calving intervals, while for 13-15 mo, losses of \$0.04 to \$0.23 per day open were observed.

A study<sup>(26)</sup> that evaluated the effects of post-partum uterine infections on animal performance and predisposing factors, showed that abortion was significantly associated with increased number of infections post-partum, which in turn resulted in increased occurrence of conception failures and subsequent cow culling, estimating that 44 % culls were due to reproductive disorders. This agree with a study undertaken in Aguascalientes<sup>(5)</sup> that showed that 34 % of the cows were culled due to reproductive failure including metritis, infertility and abortion. In addition to resulting economic

debiera ser de 13 a 13.5 meses, la duración del intervalo parto-concepción debiera ser de 4 a 4.5 meses y un periodo mayor tendría implicaciones económicas. El costo de los días abiertos fue estimado considerando diversos intervalos entre partos<sup>(25)</sup> y se observó que estos variaron de acuerdo a los niveles de producción de leche; sin embargo, de manera general se observó que de los 12 a los 13 meses hubo un valor positivo por cada día abierto, que fue de 21 a 40 centavos de dólar, mientras que cuando el intervalo entre partos incrementó de 13 a 15 meses, cada día abierto implicó una pérdida de 4 a 23 centavos de dólar.

En un estudio<sup>(26)</sup> en que se evaluaron los efectos de las infecciones uterinas posparto sobre el desempeño de los animales y los factores predisponentes, se observó que el aborto estuvo asociado significativamente con un mayor número de infecciones posparto, y que esto a su vez incrementó los problemas de falla en la concepción y la subsecuente eliminación del animal; se calculó que el 44 % de las causas de desecho fueron afecciones de tipo reproductivo. Esto último coincide con trabajos realizados en el estado de Aguascalientes<sup>(5)</sup> en que se observó un 34 % de eliminación de animales por causas reproductivas que incluyeron metritis, infertilidad y abortos. Por lo que además de las pérdidas económicas que ocasiona, la ocurrencia del aborto pudiera ser un factor que determine una menor permanencia de los animales en el hato.

Es evidente que diferentes agentes infecciosos relacionados con el aborto como los virus de RIB, DVB, la bacteria *Brucella abortus* y el parásito *Neospora caninum* están ampliamente distribuidos en hatos lecheros de Aguascalientes. En esta investigación, la ausencia de asociación con una mayor ocurrencia del aborto pudiera explicarse por una etiología de tipo multicausal como la infección mixta de RIB y Br, o bien porque los microorganismos son endémicos, y ello resulta en cuadros clínicos menos aparentes, por lo que se debiera empezar a monitorear la presencia de agentes involucrados con el aborto que sean menos comunes. Sin embargo, dado que el impacto del aborto sobre el desempeño reproductivo es negativo, resulta de vital

losses, abortion can also be a factor for shorter permanence of animals in the herd.

Various abortion-related infectious agents including viruses (IBR, BVD), bacteria (*Brucella abortus*), and parasites (*Neospora caninum*) are broadly distributed among Aguascalientes dairies. In this study, the lack of association between these agents and increased abortion occurrence could be explained by the multicausal etiology of abortion, such as mixed IBR-Br infection, or by the endemic nature of organisms, resulting in less apparent clinical signs. Therefore, the presence of less common abortion-related agents should also be monitored. Nevertheless, given the negative impact of abortion on reproductive performance, continued research to determine the factors that when modified result in decreased abortion occurrence is of vital importance.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

Gratitude is expressed for the complementary financial support of CONACyT/ Aguascalientes State Government Mixed Funds (AGS-2006-C01-59736), and the Autonomous University of Aguascalientes (PIP/RA 06-2), CONCyTEA scholarship for graduate studies, and the facilities provided by the producers to carry out this study.

*End of english version*

---

importancia continuar investigando cuáles son aquellos factores que al modificarse disminuyan su ocurrencia.

#### AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero complementario recibido de Fondos Mixtos CONACyT Gobierno del Estado de Aguascalientes (AGS-2006-C01-59736) y a la Universidad Autónoma de

Aguascalientes (PIP/RA 06-2). El apoyo del CONCyTEA con la beca para estudios de posgrado y las facilidades otorgadas por los productores para la realización de este trabajo.

## LITERATURA CITADA

- Daniel GM, Marley MSD. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology* 2008;(70):270-285.
- Anderson ML. Infectious causes of bovine abortion during mid to late gestation. *Theriogenology* 2007;(68):474-486.
- Mickelsen D, Evermann JF. *In utero* infections responsible for abortion, stillbirth and birth of weak calves in beef cows. *Vet Clin North Amer Food Anim Practice* 1994;10(1):1-14.
- Ortiz GO. Causas más comunes de aborto en México. X Curso Internacional de Reproducción Bovina, México, DF. 2004:77-81.
- Vitela MI, Cruz VC, Ramos PM. Identificación de las causas de desecho en cinco establos lecheros de Aguascalientes, México. *Téc Pecu Méx* 2004;42(3):437-444.
- De Vries A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2006;(89):3876-3885.
- Lee JE, Kim LH. Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. *J Vet Sci* 2007;8(3):283-288.
- Gutiérrez GJ, Cruz VC, Medina EL, Valdivia FA, Islas OE, García-Vázquez Z. Factores de manejo asociados con la seroprevalencia a la infección por *Neospora caninum*, en ganado lechero de Aguascalientes, México. *Vet Méx* 2007;38(3):261-270.
- Medina EL, Cruz VC, Quezada TT, Morales E, García-Vázquez Z. Survey of *Neospora caninum* infection by nested PCR in aborted fetuses from dairy farms in Aguascalientes, Mexico. *Vet Parasitol* 2006;(136):187-191.
- Valdivia FA, Alvarez SR, Chávez GL, Díaz AE, Córdoba LD. Efecto de la vacunación sobre la prevalencia de la brucelosis en bovinos lecheros del Estado de Aguascalientes. VIII Seminario de Investigación, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Aguascalientes, Ags. 2007.
- Orozco GJJ, Meléndez SRM. Comparación de los títulos de anticuerpos de DVB II entre animales inmunizados con dos tipos de vacunas en hatos de la cuenca lechera de Aguascalientes. Congreso Nacional de Buiatría 2002. [en línea] <http://ammvbe.net/XXVI%20CNB/memorias/index.htm>. Consultado Mar 9, 2009.
- Segura-Correa JC, Honhold N. Métodos de muestreo para la producción y salud animal. Mérida, Yuc. México: Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán; 2000.
- Mikolon AB, Gardner IA, Hernández DAJ, Hietala SK. Risk factors for brucellosis seropositivity of goat herds in the Mexicali Valley of Baja California, Mexico. *Prev Vet Med* 1998;(37):185-195.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales. Diario Oficial. México, DF. 20 de agosto de 1996:43-66.
- González ME, Hernández AL, Díaz AE. Prueba de inmunodifusión radial con hapteno nativo para diferenciar bovinos con revacunaciones repetidas con la cepa S19 de *Brucella abortus*. *Téc Pecu Méx* 2006;44(2):269-276.
- Solís-Calderón JJ, Seguro-Correa JC, Aguilar-Romero F, Segura-Correa VM. Detection of antibodies and risk factors for infection with bovine respiratory syncytial virus and parainfluenza virus-3 in beef cattle of Yucatán, Mexico. *Prev Vet Med* 2007;(82):102-110.
- SAS, SAS User 's Guide: Statistics (versión 8.0 ed.). Cary, NC, USA: SAS Inst. Inc. 1999.
- Calderón VG, Alvarado IA, Vilchis MC, Setién AA, Batalla CD. Detección de seropositividad al virus de rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) en ganado del Municipio de Tizimín, Yucatán, México. *Téc Pecu Méx* 1997;(3):161-164.
- Vilchis MC, Susana MV, Rosales BC, Aguilar SA, Vargas LJ, Peña ML *et al.* Estudio epizootiológico de la rinotraqueitis infecciosa bovina en ganado productor de leche y productor de carne. *Téc Pecu Méx* 1985;(49):106-115.
- Muykens B, Thiry J, Kirten P, Schynts F, Thiry E. Bovine herpesvirus 1 infection and infectious bovine rhinotracheitis. *Vet Res* 2007;(38):181-209.
- Mainar-Jaime RC, Berzal-Herranz B, Arias P, Rojo-Vázquez FA. Epidemiological pattern and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in a non-vaccinated dairy-cattle population from the Asturias region of Spain. *Prev Vet Med* 2001;(52):63-73.
- Bjorkmann C, Alenius S, Manuelsson U, Uggla A. *Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish Dairy cows in relation to abortion. *Vet J* 2000;159:201-206.
- Kirkbride CA. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. *J Vet Diag Invest* 1992;(4):374-379.
- Maizon DO, Oltenacu PA, Gröhn YT, Strawderman RL, Emanuelson U. Effect of diseases on reproductive performance in Swedish Red and White dairy cattle. *Prev Vet Med* 2004;(66):113-126.
- Holmann FJ, Shumway R, Blake R, Schwart R, Sudweeks M. Economic value of days open for Holstein cows of alternative milk yields with varying calving intervals. *J Dairy Sci* 1984;(67):636-646.
- Bell MJ, Roberts DJ. The impact of uterine infection on dairy cow's performance. *Theriogenology* 2007;(68):1074-1079.