

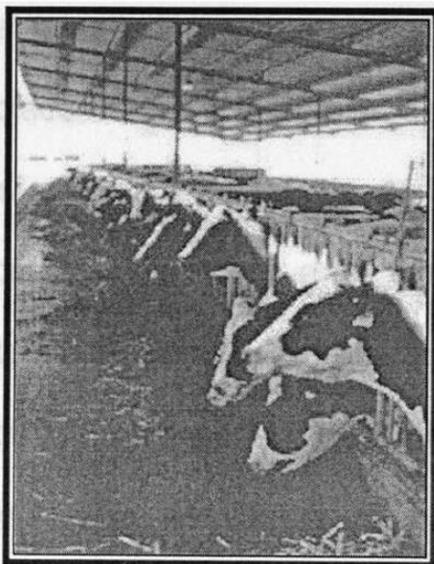
# CAPITULO 1

## INTRODUCCIÓN

Uno de los principales objetivos del hombre moderno a través de la historia de la humanidad ha sido tratar de aplicar sus conocimientos científicos en cuanto salvaguardar la salud animal. Esto nos ha llevado a optimizar los resultados en la explotación de especies animales que le son útiles a la sociedad. Dentro de las principales herramientas que tenemos para el estudio de las enfermedades están los análisis epidemiológicos, puesto que con estos se pueden determinar la presencia y frecuencia de agentes infecciosos que inciden directa o indirectamente en la producción pecuaria. Así, con los datos obtenidos de los análisis se pueden establecer medidas para controlarlos y/o erradicarlos. Por ejemplo podríamos observar en los programas de la erradicación de algunas enfermedades como la Fiebre Aftosa, Exantema Vesicular y la identificación de otras enfermedades que antes eran desconocidas y vemos con optimismo los avances médicos que se tienen y se logran contra de las enfermedades que medran los resultados económicos en los distintos tipos de explotación animal.

Comúnmente el ganado lechero (Figura 1) por su alta especialización en producción láctea y el manejo que esto implica, está predispuesta a un alto y variado rango de enfermedades que incluso pueden ser de carácter zoonótico, por lo cual es sumamente relevante identificar y delimitar cada una de estas enfermedades para establecer tanto diagnósticos precisos y concisos como tratamiento, control y erradicación de dichas enfermedades, dada la importancia

de la industria lechera para la humanidad en el mundo. Lo anterior debido a que el mercado económico del ganado lechero es pilar de trascendental importancia pues su producción no únicamente es leche ( que es fundamental en la nutrición infantil ) si no que sus derivados como son mantequillas, quesos, cremas, dulces entre otros.



**Figura 1.** Ejemplar de ganado Holstein-Friesian

Las pérdidas económicas que resultan de los trastornos reproductivos y/o abortos en bovinos, son elevadas. Las causas de estos padecimientos son multifactoriales, sin embargo se destacan las de origen infeccioso y en forma menor de origen parasitario.

*Neospora caninum* (*N. caninum*) es un protozoo patógeno que ha sido implicado fuertemente como causa de aborto en ganado bovino de carne y leche en diversos países. En Estados Unidos de América (E.U.A.) esta enfermedad se considera como la principal causa de aborto con pérdidas económicas considerables de

hasta 35 millones de dólares anuales en la industria lechera. Por otra parte se desconocen algunos aspectos sobre la epidemiología de éste parásito en el mundo. Dentro de los agentes infecciosos, los virus constituyen un grupo, que en virtud de sus características biológicas, tal vez sean más difíciles de prevenir, detectar y erradicar. El virus de la Leucosis Bovina (VLB) es un *Oncornavirus* ubicado en la familia *Retroviridae* y es el causante de la neoplasia más maligna y común de los bovinos. En el ganado lechero se ha demostrado como el agente causal que más los ha afectado debido a la pérdida de mercados que solicitan animales libres de VLB, así como a los costos de diagnóstico, tratamiento, mortalidad y decomiso de canales. En cuanto a las enfermedades bacterianas que afectan a los bovinos tenemos como una de las más representativas o de mayor importancia a la Brucelosis, enfermedad zoonótica de distribución mundial causada por *Brucella abortus* que se caracteriza por producir desordenes reproductivos (abortos) teniendo un impacto económico de gran importancia tanto en la ganadería nacional de carne como en la industria lechera bovina.

La presente investigación se enfoco principalmente en la detección de anticuerpos anti *-N. caninum*, para determinar la distribución y prevalencia de Neosporosis en bovinos productores de leche del Noreste de México, debido a que no se ha determinado la distribución y prevalencia de este parásito en los hatos de la zona Noreste. También se incluyo la detección de anticuerpos contra Leucosis y Brucelosis en bovinos lecheros, ya que en la actualidad en la zona Noreste de México la epidemiología, en cuanto a la Prevalencia del VLB no esta completamente determinada, mientras que en el caso de la Brucelosis aunque

podiesen existir datos no se ha realizado un estudio para observar la posible relación con las otras enfermedades.

## 1.1 NEOSPOROSIS

### 1.1.1 HISTORIA DE NEOSPOROSIS

En 1984 se reportó un protozooario como causa de miositis y encefalitis en un perro de Noruega; el parásito resultó serológicamente diferente a *Toxoplasma gondii* (*T. Gondii*) (Bjerkas *et al.*, 1984).

En 1988 casos similares fueron descritos en los E.U.A., a partir de los cuales fue aislado un protozooario, como causa de encéfalomiелitis progresiva, el cuál fue denominado *N. caninum* y la enfermedad se denominó Neosporosis (Dubey *et al.*, 1988a). Ese mismo año la Neosporosis fue reproducida experimentalmente en caninos (Dubey *et al.*, 1988b).

Estudios subsecuentes han demostrado que *N. caninum* tiene un amplio rango de hospederos dentro de los cuales se menciona desde animales domésticos como Bovinos, Caninos y Equinos entre otros hasta animales silvestres como Coyotes, Zorros y Lobos entre otros (Dubey *et al.*, 1992; Dubey y Lindsay, 1989a,b, 1990b; Dubey, 1999). En otro estudio fue encontrado que en hatos carentes de cánidos la seroprevalencia observada para Neosporosis en el ganado fue más baja que en las granjas donde si se contaban con perros. Estas investigaciones sugieren que hay una relación entre la infección de Neosporosis en las granjas que poseen perros y el ganado. (Wouda W., *et al.* 1999b).

En 1998 McAllister *et al*, definen al perro como el huésped definitivo de *N. caninum*, dado que en esta especie se cumple la fase sexual del protozoario y ocurre la diseminación de los quistes del parásito en las heces del cánido. Actualmente se reconoce que el perro puede actuar tanto como huésped definitivo como hospedero intermediario. Otras especies, en las cuales se incluyen especies domésticos como bovinos, ovinos, caprinos, venados y equinos actúan como hospederos intermediarios infectándose al consumir agua o alimento contaminado con heces de perro (Dubey, 1999).

En base a estudios seroepidemiológicos, la Neosporosis ha sido reportada en diversas partes del mundo como causa de alteraciones reproductivas provocando fuertes pérdidas económicas en la industria lechera y de carne debido al alto grado de abortos que produce (Dubey, 1999).

En México la Neosporosis fue detectada en 1997 mediante inmunohistoquímica (IHC) y alteraciones patológicas encontradas en un feto abortado de la raza Holstein, un macho de 5 meses (Morales *et al.*, 1997). Por otro lado en un estudio reciente se encontró evidencia serológica contra la Neosporosis en ganado lechero en ciertas regiones de México (Morales *et al.*, 2001).

### 1.1.2 ETIOLOGÍA

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria provocada por un protozoario del *Phylum Apicomplexa*, es un coccidio formador de quistes, pertenecientes a la familia *Sarcosystidae*, género *Neospora*, estructuralmente

similar a *Toxoplasma gondii* pero diferente a este antigénicamente (Barr *et al.*, 1991; Bjerkas y Presthus , 1988; Cole *et al.*, 1994; Dubey *et al.*, 1988a,b; Lindsay y Dubey, 1989; Lindsay *et al.*, 1993).

Estudios retrospectivos demostraron que *N. caninum* ha sido endémico por lo menos desde 1957 en los E.U.A. (Dubey *et al.*, 1990b). Un estudio reciente reveló una nueva especie de *Neospora*, que fue aislada de un caballo el cual mostró diferencias antigénicas y estructurales a *N. caninum*. A esta nueva especie se le denominó *Neospora hughesi* (*N. hughesi*). (Marsh *et al.*, 1999) y posteriormente se diferenció mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Spencer *et al.*, 2000).

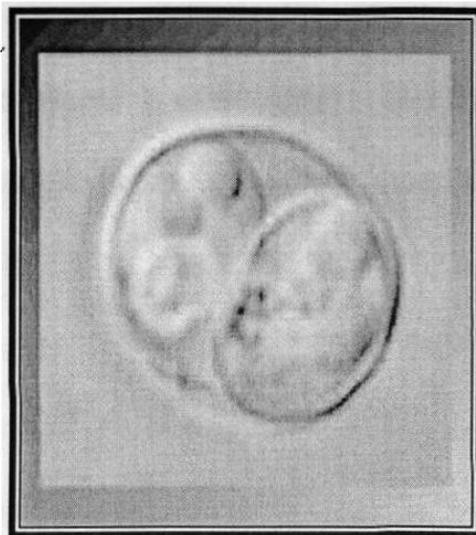
### **1.1.3 ESTRUCTURA DE *Neospora caninum***

#### **1.1.3.1 OQUISTES**

Los Oquistes de *N. caninum* ( figura 2.) se caracterizan por tener una resistencia muy similar a los de *T. gondii* (Dubey y Lindsay, 1996). El Oquiste mide de 10 a 11  $\mu\text{m}$  y contiene 2 esporozoítos, cada uno con 4 esporozoítos después de la esporulación. El Oquiste es difícil de observar microscópicamente en un exámen de flotación fecal si se encuentra presente en bajas concentraciones.

Cuando el Oquiste es ingerido por un hospedero intermediario, se liberan los esporozoítos infestantes en el tracto intestinal. Los esporozoítos penetran las células intestinales y se convierten en taquizoítos. Los taquizoítos se dividen

rápidamente, lesionando al tejido, y expandiendo la infección en los tejidos del hospedero (Lindsay *et al.*, 1999).



**Figura 2.** Oquiste de *Neospora caninum* (Lindsay *et al.*, 1999)

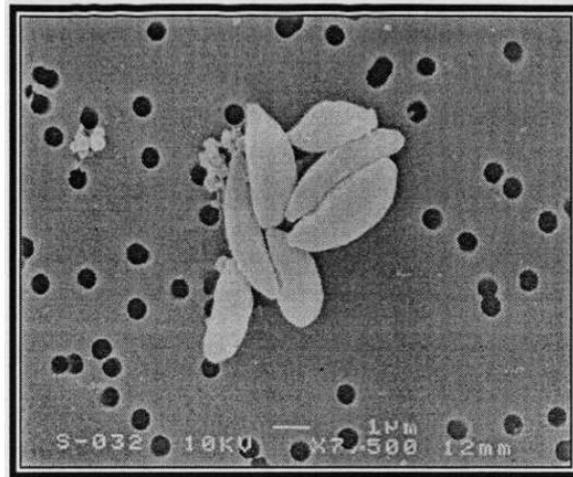
### 1.1.3.2 TAQUIZOÍTOS

Los taquizoítos y los quistes tisulares son las fases encontradas en los hospederos intermediarios y eso ocurre de manera intracelular. Los taquizoítos son ovoides, en forma lunar o globular y miden de 3 a 7 por 1 a 5  $\mu\text{m}$ , dependiendo en la etapa de división. (Dubey y Lindsay, 1996)

Los taquizoítos se dividen y forman dos zoítos por endodiogénesis. En animales infectados, los taquizoítos son encontrados en una gran cantidad de células como células nerviosas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales vasculares, miocitos, células del epitelio tubular renal y hepatocitos (Dubey *et al.*, 1988a; Dubey, 1993; Bjerkas y Presthus, 1989; Speer y Dubey, 1989).

Las células de los hospederos infectados pueden contener hasta 100 taquizoítos. Por otra parte los Taquizoítos penetran las células del hospedero por invasión activa y pueden llegar a ser intracelulares después de 5 minutos de contacto con las células del hospedero (Hemphill *et al.*, 1996). Los taquizoítos son usualmente localizados dentro del citoplasma de las células del hospedador dentro de una vacuola parasitófora (VP). En el cual los taquizoítos pueden ser localizados en más de un VP en una célula del hospedador (Dubey y Lindsay, 1996). Pocos, muchos o ningún túbulo intravacuolar puede estar presente en el VP (Bjerkas y Presthus, 1988; Bjerkas y presthus, 1989; Speer y Dubey, 1989).

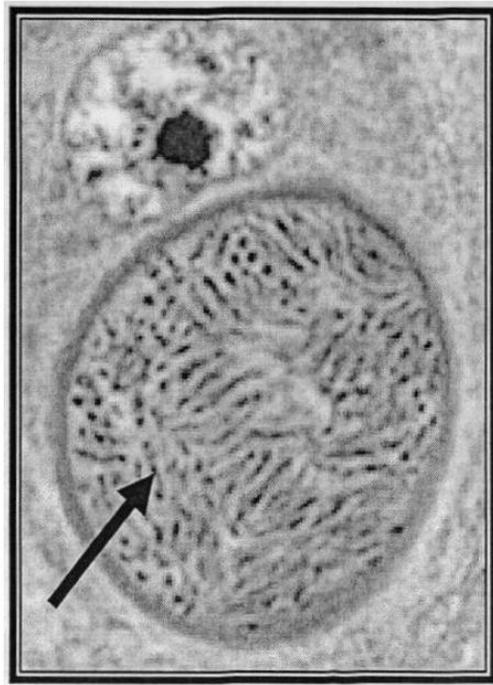
Los taquizoítos de *N. caninum* tienen 3 capas de plasmalema, 22 microtubulos de tipo subpelicular, 2 anillos apicales, uno conoide y un anillo polar, mitocondria, hasta 150 micronemas, un Aparato de Golgi, retículo endoplásmico liso y rugoso, un núcleo, nucleolo y microporos (Speer y Dubey, 1989; Lindsay *et al.*, 1993). El número de micronemas es altamente variable. Algunos de los micronemas pueden ser perpendiculares a la membrana interna parasitaria (Dubey y Lindsay, 1996). Los microporos no han sido vistos en taquizoítos en animales, pero han sido encontrados en taquizoítos de crecimiento en cultivos celulares (Speer y Dubey, 1989; Lindsay *et al.*, 1993)(Figura 3).



**Figura 3.** Fase de Taquizoíto de *Neospora caninum* (Dubey y Lindsay, 1996)

### 1.1.3.3 BRADIZOÍTOS

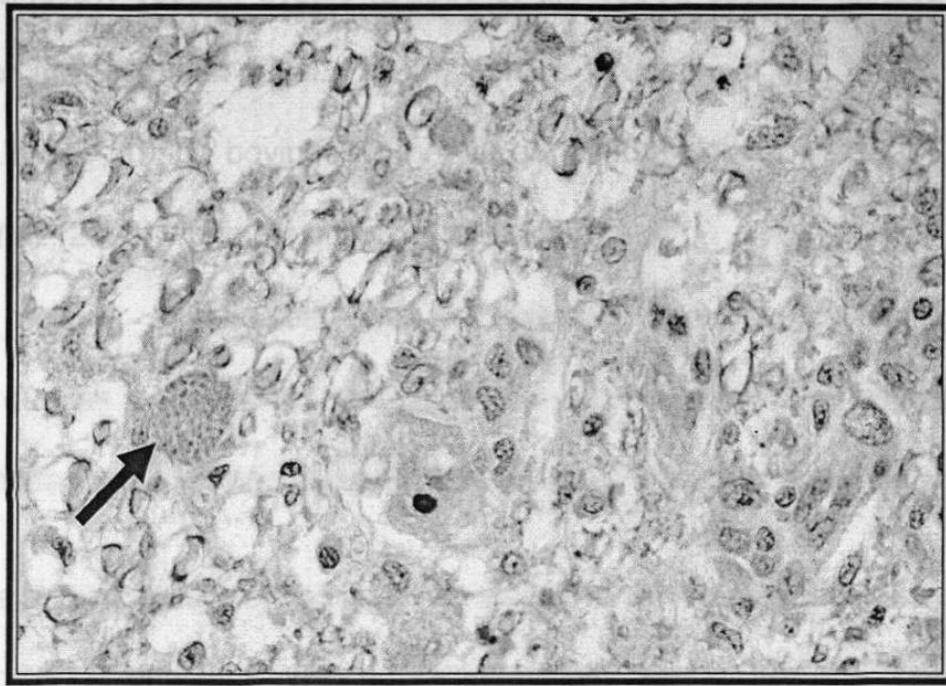
Los Bradizoítos son delgados (6-8 por 1-1.8 $\mu$ m) y contienen los mismos organelos encontrados en los Taquizoítos excepto que hay más gránulos de amilopectina (Dubey y Lindsay, 1996). El núcleo en los Bradizoítos está en la posición terminal o subterminal, los micronemas en los Bradizoítos están en forma perpendicular al plasmalema (Dubey, 1993). Las estructuras vesiculares tubulares están presentes entre los Bradizoítos (Bjerkas y Presthus, 1989; Bjerkas y Dubey, 1991) y los microporos son raros (Bjerkas y Dubey, 1991; Speer y Dubey, 1989; Jardine, 1996). En 1996 Jardine describió organelos vesícula-membranosos formados de segmentos membranosos cortos y planos y a su vez vesículas más pequeñas en los Bradizoítos (Figura 4).



**Figura 4.** Bradizoítos en el interior de un quiste por *Neospora caninum* (Dubey y Lindsay, 1996)

#### 1.1.3.4 QUISTES

La mayoría de los Quistes tisulares son redondos o tienen una forma oval, de hasta 107  $\mu\text{m}$  de largo y frecuentemente se observan en tejido nervioso (cerebro, medula espinal, nervios y retina) (Dubey et al., 1988a; Dubey et al., 1990a). También se ha observado la presencia del quiste en otros tejidos como músculos oculares (Lindsay et al., 1996b). La pared del quiste tisular es liso y puede ser de hasta 4  $\mu\text{m}$  de grosor, presuntamente depende de que tan larga sea la existencia de la infección. En la mayoría de los quistes tisulares la pared tisular es de 1 a 2  $\mu\text{m}$ . de grosor, Y también la pared quística contiene estructuras tubulares ramificadas (Bjerkas y Dubey, 1991; Dubey y Lindsay, 1996). (figura 5.)



**Figura 5.** Quiste de *Neospora caninum* (Dubey y Lindsay, 1996)

#### **1.1.4 CICLO BIOLÓGICO DE *Neospora caninum***

*Neospora caninum* tiene un amplio rango de hospederos. Evidencias de infección natural han sido encontradas en canidos (Bjerkas *et al.*, 1984; Dubey y Lindsay, 1990a; Lindsay *et al.*, 1996a), felinos (Dubey *et al.*, 2002), bovinos (Dubey., 1992; Anderson *et al.*, 1991; Barr *et al.*, 1990; Barr *et al.*, 1991; Dubey *et al.*, 1990c), ovinos (Dubey y Lindsay., 1990b), caprinos (Barr *et al.*, 1992), equinos (Dubey y Porterfield., 1990), mapaches (Lindsay *et al.*, 2001), antilopes (Peters *et al.*, 2001) y venados (Dubey, 1999; Lindsay *et al.*, 2002). Infecciones experimentales han sido inducidas en ratones (Dreier *et al.*, 1999; Lindsay *et al.*, 1991; Yamage *et al.*, 1996), ratas (Lindsay y Dubey, 1990), caninos (Dubey y Lindsay, 1989b), zorros (Bjerkas *et al.*, 1984), cabras (Lindsay *et al.*, 1995), gatos

(Dubey y Lindsay, 1989c), ovejas (Dubey *et al.*, 1996), coyotes (Lindsay *et al.*, 1996a), porcinos (Jensen *et al.*, 1998), gerbos (Cuddon *et al.*, 1992), conejos (Dubey y Lindsay, 1996), bovinos (Dubey *et al.*, 1996; Uggla *et al.*, 1998), búfalos (Guarino *et al.*, 2000) y primates (Barr *et al.*, 1994a).

Un reciente estudio demostró la infección experimental en palomas sugiriendo que las aves podrían ser buenos candidatos para ser estudiados como posibles hospederos intermediarios de *N. caninum* (McGuire *et al.*, 1999).

En la actualidad el ciclo biológico de *N. caninum* no se conoce aún del todo. En bovinos, la principal vía de transmisión es la vertical (congénita-transplacentaria) (Mainar-Jaime, 1999; Pare *et al.*, 1996), pero también se ha reportado la transmisión horizontal (Davison *et al.*, 1999) y experimentalmente por vía lactogénica (Dubey, 1999). La transmisión transplacentaria ha sido inducida experimentalmente en perros (Dubey y Lindsay, 1989b; Cole *et al.*, 1995b), gatos (Dubey y Lindsay, 1989a), ovejas (Dubey y Lindsay, 1990b) bovinos (Dubey *et al.*, 1992; Barr *et al.*, 1994b), y ratones (Cole *et al.*, 1995a). La infección transplacentaria puede ocurrir repetidas veces en el mismo animal (Bjerkas *et al.*, 1984; Dubey *et al.*, 1988b). Los Oquistes no son infectivos hasta su esporulación, después de tres días fuera del hospedero, en el cual los hospederos se pueden infectar ingiriendo tejido contaminado o también por comida o agua contaminada por heces de perro (Dubey, 1999).(figura 6).

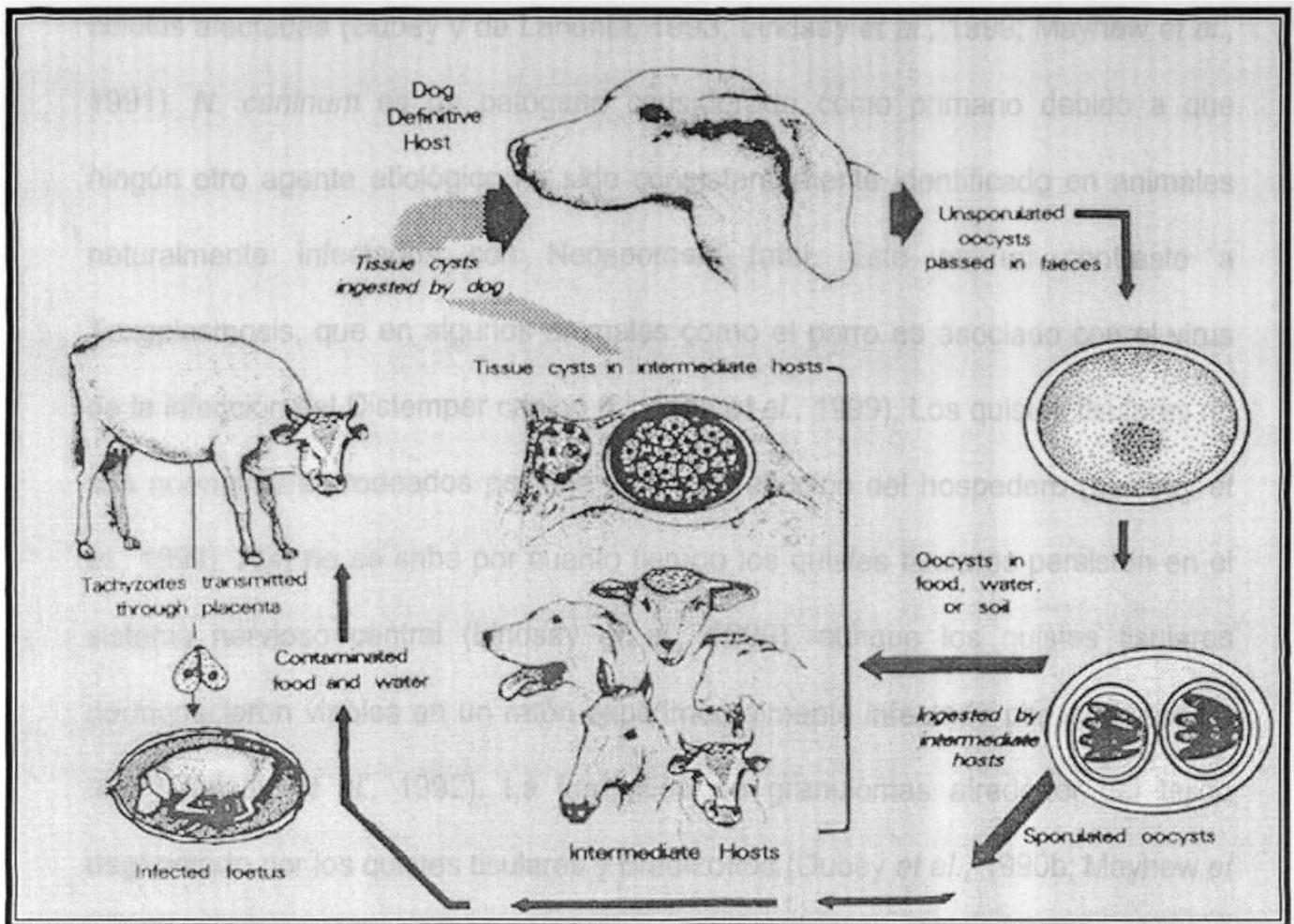


Figura 6. Ciclo biológico de *Neospora caninum* (Dubey, 1999).

### 1.1.5 RELACIÓN PARÁSITO-HOSPEDERO Y PATOGENICIDAD DE *Neospora caninum*

*N. caninum* es capaz de producir grandes lesiones necróticas visibles en pocos días, y causar la muerte celular a consecuencia de la multiplicación activa (reproducción asexual) de los taquizoítos en el citoplasma de células como macrófagos, hepatocitos y células nerviosas. Esto hace que se produzcan alteraciones neuromusculares severas en caninos, bovinos y probablemente otros hospederos destruyendo un largo número de células nerviosas, incluyendo células de nervios craneales y de la médula espinal afectando la conductividad de las

células afectadas (Dubey y de Lahunta, 1993; Lindsay *et al.*, 1999; Mayhew *et al.*, 1991). *N. caninum* es un patógeno considerado como primario debido a que ningún otro agente etiológico ha sido consistentemente identificado en animales naturalmente infectados con Neosporosis fatal. Esto es un contraste a Toxoplasmosis, que en algunos animales como el perro es asociado con el virus de la infección del Distemper canino (Lindsay *et al.*, 1999). Los quistes tisulares no son normalmente rodeados por una zona de reacción del hospedero (Lindsay *et al.*, 1999). Aún no se sabe por cuanto tiempo los quistes tisulares persisten en el sistema nervioso central (Lindsay *et al.*, 1999), aunque los quistes tisulares permanecieron viables en un ratón experimentalmente infectado por lo menos un año (Lindsay *et al.*, 1992). La formación de granulomas alrededor del tejido degenerado por los quistes tisulares y Bradizoítos (Dubey *et al.*, 1990b; Mayhew *et al.*, 1991), sugieren que algunos quistes tisulares se rompen. Esto hace que algunas cepas de *N. caninum* sean más patogénicas que otras provocando severos focos de inflamación (Dubey y Lindsay, 1996; Lindsay *et al.*, 1999). El número de oocistos o quistes tisulares ingeridos influyen en la severidad de la infección resultante (Lindsay *et al.*, 1999) y la administración de corticoesteroides exógenos pueden agravar la Neosporosis (Dubey y Lindsay, 1990a).

El aborto se puede presentar en repetidas ocasiones por infección congénita de los fetos (Dubey, 1999; Dubey y Lindsay, 1996), quienes pueden ser reabsorbidos, momificados o autolizados (Dubey, 1999).

Hasta el momento no se conoce con precisión el mecanismo del aborto; sin embargo, se ha supuesto que los taquizoítos presentes en forma latente en los

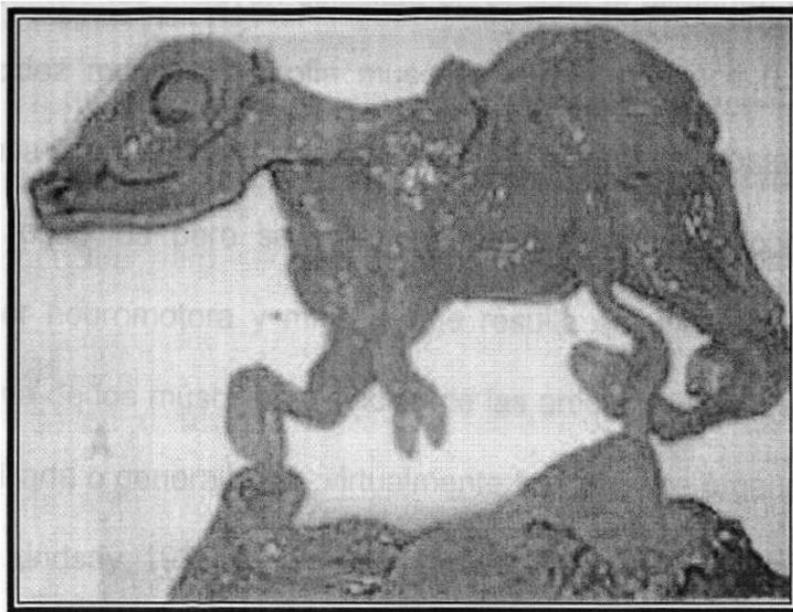
tejidos de las vacas, son capaces de multiplicarse activamente en la placenta y los tejidos de los fetos provocando el aborto (Calzada *et al.*, 2002).

## **1.1.6 MANIFESTACIONES CLINICAS DE NEOSPOROSIS EN BOVINOS Y OTRAS ESPECIES**

### **1.1.6.1 BOVINOS**

La signología ha sido reportada solo en bovinos jóvenes alrededor de 2 meses de edad (Dubey, 1999). Los signos clínicos en bovinos jóvenes son principalmente de tipo nervioso por alteraciones del sistema nervioso central, como ataxia, exoftalmia, pérdida de la conciencia, incoordinación, asimetría ocular y parálisis. También puede observarse bajo peso al nacimiento, alteraciones en el crecimiento, los miembros anteriores y posteriores pueden estar flexionados o extendidos, una disminución en los reflejos patelares, así como pérdida de la conciencia y de la percepción (Dubey, 1999).

En bovinos adultos el único signo clínico es el aborto (Figura 7), el cual se presenta principalmente entre el cuarto y sexto mes de gestación (Dubey, 1999; Dubey y Lindsay, 1996), más sin embargo no todos los animales seropositivos abortan (Dubey, 1999).



**Figura 7.** Aborto de un feto bovino por *Neospora caninum* (Barr *et al.*, 1991)

El aborto se puede presentar en tres formas las cuales son el aborto denominado explosivo, pausado y el esporádico (Dubey, 1999). Los fetos que mueren en el útero, pueden ser reabsorbidos, momificados o autorizados y pueden nacer vivos pero con la enfermedad o nacer clínicamente normal pero crónicamente infectados (Dubey, 1999; Dubey y Lindsay, 1996).

### 1.1.6.2 CANINOS Y OTRAS ESPECIES

Los casos más severos de Neosporosis ocurren en perros jóvenes, infectándose en forma congénita (Dubey *et al.*, 1988b). Perros jóvenes desarrollan parálisis de los miembros posteriores que culmina en una parálisis progresiva, los afecta en una manera más severa que a los miembros anteriores y en algunos perros se presenta una hiperextensión rígida de los miembros locomotores (Dubey *et al.*, 1988a, b; Hay *et al.*, 1990).

Otras disfunciones incluyen dificultad en deglutir el alimento, parálisis de la mandíbula, flacidez muscular, atrofia muscular y falla cardíaca (Lindsay *et al.*, 1999). La causa de la hiperextensión de los miembros posteriores no es completamente conocida pero se cree que es debido a una combinación de parálisis superior neuromotora y miositis que resulta en una rápida contractura fibrosa progresiva de los músculos y fijación de las articulaciones. La Neosporosis puede ser localizada o generalizada, virtualmente en todos los órganos incluyendo la piel (Dubey y Lindsay, 1996).

En perros adultos de 15 años se ha visto la enfermedad clínica aunque la presentación clínica es más variada en perros adultos. La mayoría tienen signos nerviosos, y posteriormente la muerte. Pero también se han reportado polimiositis, miocarditis y dermatitis (Dubey y Lindsay, 1996). Hembras subclínicamente infectadas pueden transmitir el parásito a sus fetos (Hay *et al.*, 1990), y sucesivamente las crías pueden nacer infectados (Dubey y Lindsay, 1996). La predisposición a una raza o susceptibilidad por el sexo a Neosporosis en el perro no se conoce pero se han reportado más casos en razas tales como labrador, Boxer, Greyhound y Basset Hound (Lindsay *et al.*, 1999). La Neosporosis clínica también ha sido reportada en ovinos, caprinos, equinos y venados y probablemente ocurra en otros animales (Dubey, 1999).

### 1.1.7 LESIONES FETALES Y PATOGÉNESIS DEL ABORTO EN BOVINOS POSITIVOS A NEOSPOROSIS

Lesiones inflamatorias hasta degenerativas pueden ser encontradas en cualquier parte del tejido fetal, pero son más comunes en el sistema nervioso central (SNC), corazón, músculo esquelético e hígado (Anderson *et al.*, 1991; Barr *et al.*, 1990; Wouda *et al.*, 1996). Las lesiones macroscópicas son raras, pero pueden estar presentes en corazón, músculo esquelético y el cerebro. En un becerro nacido muerto, el corazón se encontró hipertrofiado (Dubey *et al.*, 1990c). Focos de palidez pueden estar presentes en el músculo esquelético y el corazón. En el cerebro se pueden encontrar desde áreas pálidas hasta una necrosis severa. Las lesiones nerviosas consisten en una encéfalomiелitis no supurativa caracterizada por una infiltración no supurativa multifocal, con o sin necrosis multifocal y una infiltración leucocitaria no supurativa multifocal pasando a difusa en las meninges (Dubey y Lindsay, 1996).

Las lesiones características de Neosporosis en el SNC consisten en focos de infiltración de células mononucleares alrededor de un área central de necrosis. Una proliferación glial es más común en fetos abortados en el tercer trimestre. (Dubey y Lindsay, 1996).

En un estudio de 82 fetos, encefalitis y miocarditis fueron vistos en un 100%, adrenalitis en un 80%, miositis en un 72%, nefritis en un 66% hepatitis en un 62%, placentitis en un 53% y neumonía en un 44% (Barr *et al.*, 1990). En otro estudio de 90 fetos abortados en bovinos de Holanda con Neosporosis confirmada, las lesiones histológicas y la distribución del parásito en el cerebro,

corazón e hígado fueron comparadas. En 83 fetos (91%), las lesiones estuvieron presentes en cada uno de los 3 órganos, mientras que en los 7 fetos faltantes, las lesiones fueron vistas en 2 de los 3 órganos. Las lesiones cerebrales fueron vistas en todos y el 76% de los fetos fueron encefalitis no supurativa con necrosis multifocal en donde ocasionalmente también hubo calcificación (Boulton *et al.*, 1995). Las lesiones en el miocardio son severas pero son frecuentemente enmascaradas por la autolisis. En 2 fetos bien preservados, las lesiones fueron una miocarditis extensiva y necrosis de cardiomiocitos (Dubey *et al.*, 1990c; Wouda *et al.*, 1996). Las lesiones del hígado consisten en una infiltración de células mononucleares periportal y un variable foco de necrosis hepatocelular (Barr *et al.*, 1990; Wouda *et al.*, 1996). *N. caninum* es mayormente demostrable en el cerebro, corazón y es difícil en otros órganos, incluyendo la placenta (Dubey y Lindsay, 1996).

En un estudio realizado por Wouda *et al.*, en 1996, *N. caninum* fue encontrado en el cerebro de 71 (89%), en el corazón de 11 (14%) y en el hígado de 21 (26%) de 80 fetos examinados por IHC. y también encontró más organismos de *N. caninum* en casos de abortos epizoóticos que en esporádicos.

Aunque se conoce muy poco de la formación del quiste tisular en el feto bovino, en un estudio un feto experimentalmente infectado se encontró un pequeño quiste tisular (10µm) en el cerebro cuya madre había sido inoculada con *N. caninum* 32 días antes que se diera eutanasia al feto (Dubey *et al.*, 1992). Quistes tisulares no han sido reportados en tejidos de fetos bovinos removidos aproximadamente 1 mes después de la inoculación de las vacas con *N. caninum* (Barr *et al.*, 1994b; Dubey y Lindsay, 1996).

### 1.1.8 EPIZOOTIOLOGÍA

Las infecciones por *N. caninum* han sido diagnosticadas en bovinos en países pertenecientes a los cinco continentes, sugiriendo que el parásito tiene una distribución mundial (Anderson *et al.*, 1991; Wouda *et al.*, 1992). La prevalencia de la infección por *N. caninum* en algunos hatos bovinos tanto lecheros como de carne es alta (Paré *et al.*, 1994; Thurmond y Hietala, 1995).

Europa es el continente con mayor interés en conocer cada vez más y controlar la infección por *N. caninum* al igual que E.U.A., y así se han realizado diversos estudios para ubicar la distribución de este parásito. En países como Inglaterra (Otter *et al.*, 1993), Irlanda (McNamee *et al.*, 1996), Escocia (Buxton *et al.*, 1997), Alemania (Schaes *et al.*, 1997), Holanda (Wouda *et al.*, 1997), Suiza (Gottstein *et al.*, 1998), Suecia (Stenlund *et al.*, 1999) y España (González *et al.*, 1999) ha sido reportado *N. caninum* asociado con el aborto.

En un estudio realizado en España se encontró una prevalencia de 30.6% en vacas lecheras., la seropositividad fue asociada con el aborto durante los años previos y fue ligeramente superior en el ganado comprado, que el ganado criado en granjas, también se sugirió que la transmisión congénita contribuyó en un 56% de la infección, por que era más probable que las vacas seropositivas hayan tenido una madre seropositiva (Mainar-Jaime *et al.*, 1999). En éste mismo estudio se encontró que bovinos con una seroprevalencia arriba del 10% tenían más perros en la granja, que bovinos con una menor prevalencia.

En el Continente Americano, el Estado de California (E.U.A.) es considerada una zona endémica de la enfermedad con prevalencias del 33% en los hatos lecheros y con una variación del 20 al 40% (Anderson *et al.*, 1991), Además se ha identificado el parásito en el 24.4% de los fetos abortados sometidos a exámenes histopatológicos en los laboratorios de referencia.

En Latinoamérica un estudio realizado en hatos lecheros pertenecientes al sur de Brasil, sueros recolectados de 172 bovinos de edades variadas fueron probados por el ensayo inmunológico ligado a enzima (ELISA)., 60 de 172 fueron clasificados como positivos a anticuerpos específicos contra *N. caninum* con una prevalencia total de 34.8% en donde 47 de 126 fueron adultos con prevalencia de 37.3%, 4 de 15 fueron vaquillas entre 5 meses y un año con una prevalencia de 27%, 7 de 29 vaquillas de uno a dos años con una prevalencia de 24% y 2 de 2 muestras pre-calostrales con una prevalencia de 100% estas últimas muestras fueron obtenidas de becerros nacidos sanos y sus crías fueron positivos a *N.caninum* (Locatelli *et al.*, 2001).

Debido a que la Neosporosis bovina se reconoció recientemente en México (Morales *et al.*, 1997), los estudios seroepidemiológicos hasta la fecha han sido escasos. Existen casos serológicos realizados en algunos Estados de México en donde se encontró una seroprevalencia de 72% en vacas pertenecientes a hatos con tasas anuales de abortos entre 13% y 30% en los últimos tres años (aborto epizoótico) y de 36% en vacas pertenecientes a hatos con tasas de abortos hasta de 12% anual en los últimos tres años (aborto enzoótico), por lo que se considero que la enfermedad podría estar difundida en los principales hatos lecheros Mexicanos (Morales *et al.*,2001).

Los caninos juegan un papel muy importante en la epidemiología de la infección por *N. caninum*, La Neosporosis canina a sido observada en la mayoría de los países alrededor del mundo. Las prevalencias fluctúan hasta un 29%(Barber *et al.*, 1997; Lindsay *et al.*, 1996a; Lindsay *et al.*, 1999). Evidencias serológicas de la infección han sido demostradas en Dingos (Barber *et al.*, 1997), coyotes (Lindsay *et al.*, 1996a) y zorros rojos (Simpson *et al.*, 1997) sugiriendo que estos caninos son potencialmente involucrados en la transmisión de *N. caninum*. Con respecto a la salud pública de *N. caninum* hasta la fecha no hay documentación sobre infecciones en humanos, aunque primates han sido experimentalmente infectados y eso es una evidencia serológica indirecta en cuanto a la infección en humanos (Ho *et al.*, 1997).

### **1.1.9 TIPOS DE DIAGNOSTICO UTILIZADOS PARA NEOSPOROSIS.**

El diagnóstico de laboratorio es la principal herramienta para el control y la erradicación de las enfermedades que afectan a los animales domésticos y silvestres; en el caso de la Neosporosis bovina el diagnóstico en el aborto o la forma congénita se lleva a cabo por histopatología de tejidos fetales y la identificación y confirmación de la presencia del parásito empleando pruebas de Inmunohistocompatibilidad (IHC) (Barr *et al.*, 1991; Lindsay y Dubey, 1989b).

Asimismo el parásito puede ser aislado inoculando extractos de tejidos infestados en cultivos celulares o en animales de laboratorio (Dubey *et al.*, 1988b;

Lindsay y Dubey, 1989a). Actualmente no existe un método estándar de diagnóstico ante-mortem para la infección en bovinos, pero se emplean técnicas para detectar anticuerpos en suero como la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes (IFAT) (Barr *et al.*, 1995), ELISA (Bjorkman *et al.*, 1994; Dubey *et al.*, 1996; Paré *et al.*, 1995; Wouda *et al.*, 1999b); el uso de anticuerpos monoclonales (Baszler *et al.*, 1996) y también técnicas moleculares como PCR (Payne y Ellis, 1996). La detección de anticuerpos anti-*Neospora caninum* específicos en el suero de bovinos ha sido muy útil y satisfactoria para el diagnóstico de enfermedades y ha demostrado ser adecuada para investigaciones seroepidemiológicas (McAllister *et al.*, 1996; Morales *et al.*, 2001; Paré *et al.*, 1994; Paré *et al.*, 1996; Thurmond y Hietala, 1995; Thurmond *et al.*, 1995; Wouda *et al.*, 1999b; Wouda *et al.*, 1997).

El diagnóstico serológico en el ganado bovino se había limitado a IFAT basado en el aislamiento de BPA-1 bovino, la cual fue la primer prueba serológica utilizada en suero bovino (Conrad *et al.*, 1993; Paré *et al.*, 1995), siendo útil en la determinación de anticuerpos previos a la ingestión de calostro, así como para dar seguimiento al Estado serológico de los hatos (Paré *et al.*, 1995; Trees *et al.*, 1994).

Recientemente se ha reconocido que la técnica de ELISA es consistente, objetiva, rápida y precisa (Bjorkman *et al.*, 1994; Dubey *et al.*, 1996; Paré *et al.*, 1995; Wouda *et al.*, 1999b); proporciona una alta calidad de sensibilidad y especificidad, siendo más sensible y específica que la IFAT (Dubey *et al.*, 1996; Kuby, 1992; Paré *et al.*, 1995). Dentro de los diferentes tipos de ELISAs el más utilizado es el ELISA de extracto crudo (Gottstein *et al.*, 1998; Moen *et al.*, 1998; Thurmond y Hietala, 1997). En este tipo de técnica se utilizan preparaciones de

antígeno crudo del aislamiento BPA-1 bovino y NC-1 canino (Osawa *et al.*, 1998; Paré *et al.* 1995), pero el ELISA *iscom* y el ELISA de célula entera también se han usado en estudios epidemiológicos (Bjorkman *et al.*, 1996; Dannatt, 1997). La preparación de diferentes antígenos crudos conteniendo una mezcla de antígenos intracelulares y antígenos de membrana se utilizan en éstas técnicas de ELISA para *N. caninum* (Bjorkman y Uggla, 1999). Otra forma de ésta técnica es Taquizoitos enteros lisados preparados por sonicación (Paré *et al.*, 1995) o por detergente solubilizado (Bjorkman y Uggla, 1999). Igualmente se ha utilizado un extracto soluble en agua para congelación y descongelación de taquizoitos seguido por sonicación removiendo el material no soluble por centrifugación (Osawa *et al.*, 1998).

Paré *et al.*, en 1995 reportaron un 89% de sensibilidad y un 97% de especificidad de ELISAs por el método de taquizoitos lisados enteros de bovino. Otros laboratorios reportaron sensibilidad y especificidad de 92-98% y 87-100%, respectivamente, por el método de ELISA de antígenos crudos (Moen *et al.*, 1998). No se han reportado reacciones cruzadas con otros protozoarios incluyendo *T. gondii* (Bjorkman y Uggla, 1999). El rápido avance que ésta ocurriendo en el conocimiento de la biología y epidemiología de *N. caninum* en algunos países nos ayuda ha desarrollar cada vez más nuevas estrategias para el control de Neosporosis, esto es gracias a la aplicación de pruebas de diagnóstico serológico tales como ELISA (Dubey y Lindsay, 1996; Bjorkman y Uggla, 1999).

### 1.1.10 IMPORTANCIA ECONÓMICA

Es difícil evaluar las consecuencias económicas e impacto económico de Neosporosis en muchas partes del mundo debido a los escasos reportes y a la dificultad para la obtención de datos epidemiológicos de Neosporosis en bovinos (Dubey, 1999); sin embargo en algunos países como E.U.A., Nueva Zelanda y Holanda entre otros, *N. caninum* ha sido asociada con grandes pérdidas económicas debido principalmente a factores como el aborto, descenso en las actividades reproductivas, disminución en la producción de leche (Anderson, *et al.*, 1991; Barr *et al.*, 1991; Paré *et al.*, 1996; Waldner *et al.*, 1998).

Entre los factores asociados a las pérdidas económicas por Neosporosis destaca el aborto, ya que durante la última década *N. caninum* ha sido reconocido como uno de los agentes etiológicos más importantes que causan aborto con pérdidas económicas considerables en bovinos a nivel mundial y la infección ha sido asociada con abortos endémicos y epidémicos en la industria lechera (Anderson *et al.*, 1991; Mainar-Jaime *et al.*, 1999; Schares *et al.*, 1997; Thornton *et al.*, 1991; Thurmond *et al.*, 1997; Trees *et al.*, 1994; Wouda *et al.*, 1996).

En un estudio realizado de 1995 a 1997 en Holanda por Wouda *et al.* se ha diagnosticado de un 15 hasta un 20% de los becerros abortados como positivos con lesiones histológicas compatibles a la infección por *N. caninum*. Esto hace suponer que *N. caninum* sea la causa mayor reconocida de aborto en las industrias lecheras con pérdidas económicas considerables en Holanda.

En otro estudio realizado en California, E.U.A., la causa principal de aborto en bovinos fue atribuida a *N. caninum* con pérdidas estimadas en la industria lechera de alrededor de los 35 millones de dólares anuales (Anderson *et al.*, 1991; Barr *et al.*, 1998). Recientemente la Neosporosis ha sido reconocida como una causa de pérdidas económicas substanciales en ganado de carne (Waldner *et al.*, 1998; Boulton *et al.*, 1995). Waldner *et al.*, en 1998 reportaron un incremento en el riesgo de abortos, el número de nacidos muertos y también en el número de bovinos que van a ser eliminados por problemas reproductivos en el ganado de carne en donde la Neosporosis fue endémica. Por otra parte en Texas E.U.A. se ha estimado que en hatos destinados a la producción de carne con 20% de prevalencia pierden alrededor de 13.75 dólares por cabeza de ganado, siendo esto una considerable pérdida para la economía del productor (Kasari *et al.*, 1999).

## **1.2 LEUCOSIS.**

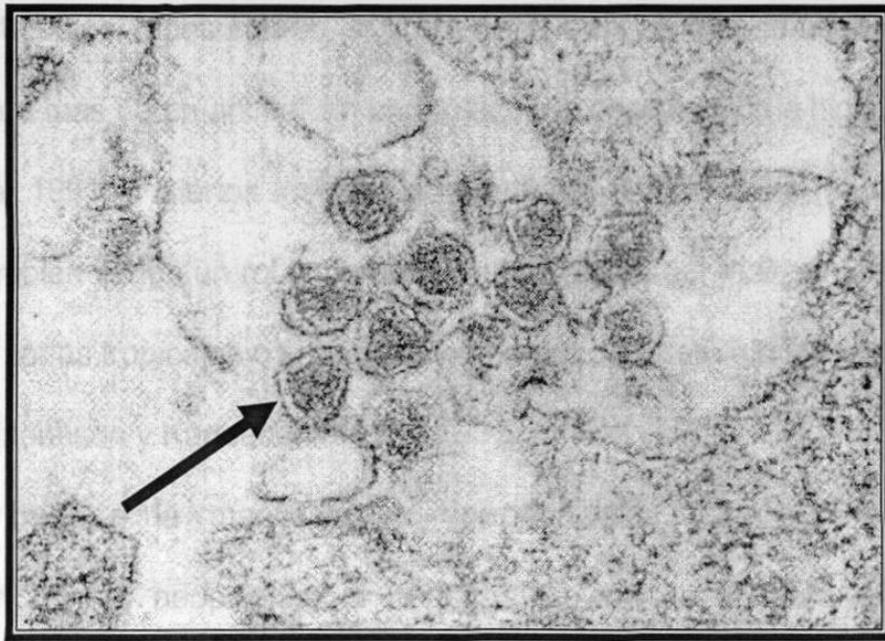
### **1.2.1 DESCRIPCIÓN, ETIOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LEUCOSIS EN BOVINOS LECHEROS**

La Leucosis Enzoótica Bovina (LEB), llamada también Leucemia o Linfosarcomatosis, es una enfermedad infecciosa, crónica, y específica del ganado bovino, es de curso clínico lento, con un período de incubación de 1 a 5 años y afecta fundamentalmente a los animales mayores de 2 años de edad, presentando un bajo porcentaje de animales enfermos con manifestaciones clínicas (Johnson Y Kaneene, 1991a). Esta enfermedad se describió por primera vez en Alemania por

Leisering en 1817, y posteriormente otros reportes los realizaron Siedmagrotzky y Johne en los años 1878 y 1879 (Abramova *et al.*, 1979).

Generalmente la enfermedad es de tipo subclínico y se caracteriza por que infecta principalmente a los linfocitos B de los bovinos, ocasionando inicialmente una proliferación de estas células en el 30-70 % de los animales infectados y algún tiempo después (meses, años) un bajo porcentaje de los animales infectados (0.1 - 10 %) puede desarrollar la enfermedad tumoral como consecuencia de la acumulación de los linfocitos neoplásicos en casi cualquier órgano del animal. Cuando los tumores se desarrollan y resultan en la enfermedad, los signos clínicos observados están relacionados al sistema orgánico involucrado; por esta razón esta condición puede ser difícil diagnosticar clínicamente (Blood y Rodostits, 1992; Ollis, 1996; Mirsky, *et al.*, 1996).

El Virus de la Leucosis Bovina (VLB) es un retrovirus linfotrópico exógeno del tipo C, agente causal de LEB en el ganado bovino (Figura 8). Se ha reportado recientemente que los linfocitos T también pueden afectarse (Teich, 1982).



**Figura 8.** Viriones del Virus de la Leucosis Bovina (Chasey *et al.*, 1978)

Desde el punto de vista inmunológico las proteínas más importantes del virus son la p24 y las proteínas de membrana gp30 y gp51 (Deshayes *et al.*, 1980). Según se plantea, la más relevante desde el punto de vista del diagnóstico es la gp 51, por estar relacionada además con el reconocimiento de receptores en las células dianas (Altaner, 1993).

La transmisión del VLB es principalmente por vía horizontal (80%), siendo necesaria la transferencia de células infectadas (linfocitos B) para una efectiva infección. La transferencia de estos linfocitos infectados frecuentemente se realiza a través de los fluidos y secreciones corporales naturales como la sangre, secreciones genito-urinarios, heces y saliva. Estos fluidos y secreciones contienen cantidades variables de células contaminadas, las cuales pueden contaminar a los animales susceptibles por los procedimientos rutinarios de manejo dentro del hato tales como inyecciones, transfusiones de sangre, toma de muestras de sangre,

descorne, tatuajes, muesqueado, recto-palpación en los que se usan materiales y equipos para más de un animal sin una adecuada desinfección e higiene (Jonhson y Kaneene, 1991b). Ciertos insectos y mamíferos hematófagos (murciélagos), al parecer también tienen un rol importante en la difusión del VLB; sin embargo, esta se limita a zonas tropicales o subtropicales en donde existe alta densidad de estos reactores (Jonhson y Kaneene, 1991b).

En base a la manifestación epizootológica, edad de ocurrencia y distribución de las neoplasias, la Leucosis Bovina se clasifica en 3 formas: portador sano asintomático (PSA), Linfocitosis persistente (LP) y Linfosarcoma Enzoótico Bovino (LEB) (Blood y Rodostits, 1992; Ferrer *et al.*, 1978; Mamoun *et al.*, 1983). La manifestación de algunas de estas formas depende de factores genéticos y ambientales (Ferrer *et al.*, 1978; Lassauzet *et al.*, 1991). La LP se presenta entre un 30% y un 70% de los animales afectados por el virus y se considera como una respuesta benigna. Este síndrome se caracteriza por un aumento en las cuentas de linfocitos B (Ferrer *et al.*, 1978) y se define como un aumento prolongado en el número de linfocitos aproximadamente 3 veces por arriba del promedio normal (Esteban *et al.*, 1985; Ferrer *et al.*, 1978). Esta condición debe persistir por lo menos 3 meses consecutivos y los animales no manifiestan alteraciones clínicas de linfo-proliferación (linfoma) (Jacobs, 1983). Por otra parte la LEB se considera como la forma maligna de la enfermedad y ocurre entre el 0.1 a 10% de animales portadores del virus (Cerqueira *et al.*, 1984). La LEB provoca anorexia y pérdida de peso por la obstrucción y ulceración del tracto gastrointestinal, alteraciones neurológicas y cardíacas por infiltración linfoide y desarrollo de tumores en región retrobulbar (Jacobs, 1983; Jonson y Kaneene,

1991a; Rebhun, 1982). Otro investigador reporto signos clínicos en bovinos con LEB como fiebre, diarrea, perdida de peso, baja en la producción de leche, alteraciones respiratorias y cardiovasculares, constipación, exoftalmo bilateral, paresis posterior y linfadenopatía interna (Reed, 1981).

En bovinos con linfoma se presenta un descenso en el número de linfocitos T con escasa respuesta a mitógenos provocando alteraciones inmunológicas celulares y una reducción en las concentraciones de IgM por lo tanto la afinidad de los anticuerpos se encuentra disminuida provocando desordenes humorales (Jacobs, 1983).

### 1.2.2 EPIZOOTIOLOGÍA

La LEB es la neoplasia hemolinfática más frecuente y el segundo tumor más común en bovinos, según reportes de incidencia en diferentes zonas (Jacobs, 1983; Johnson y Kaneene, 1991a). Estudios serológicos revelan que en los diversos continentes la infección por VLB se encuentra ampliamente difundida (Burrige *et al.*, 1981; Kaaden y Stephenson, 1978; Monroy *et al.*, 1985; Usui *et al.*, 2003).

En el Continente Europeo Países como Francia, Alemania, Italia reportan prevalencias moderadas por debajo del 25% y en Países como Inglaterra, Irlanda, Holanda, Suiza, Portugal entre otros se reportan prevalencias bajas (Straub y Olson, 1978). En Canadá se mostró mediante serología que el 40% de los hatos lecheros están infectados (Kaden y Stephenson, 1978). Por otra parte se calcula que la prevalencia de infección en los E.U.A. fluctúa alrededor de 10% y 48% en

bovinos lecheros y un 60% al 92% de hatos lecheros se encuentran infectados (Straub y Olson, 1978). En un estudio realizado en Canadá se determinó la seroprevalencia de 4 enfermedades en 90 granjas lecheras, las cuales incluyeron 37.8% Diarrea Viral Bovina, 20.4% Leucosis Enzoótica Bovina, 3.4% Paratuberculosis, y 19.2% Neosporosis. Todos los animales fueron naturalmente expuestos a estas enfermedades. Asimismo se encontró que en las granjas que realizaban la vacunación la seroprevalencia se asociaba con una reducción a la enfermedad de Diarrea Viral Bovina y Leucosis Enzoótica Bovina, mientras que en granjas que compraban sus animales en hatos externos este factor se asoció con una alta seroprevalencia de Paratuberculosis. Ninguno de estos 2 factores se asoció con la seroprevalencia de *N. caninum* (Chi et al., 2002).

En México los estudios seroepidemiológicos hasta la fecha son escasos., existen reportes de diferentes Estados de la república con seroprevalencias de la infección considerables que fluctúan entre un 18% y un 54% (Espada et al., 1986; Monroy et al., 1985; Suzan et al., 1983).

En un estudio realizado por Ávalos en el año de 1995 en el Noreste de México, se determinó una seroprevalencia general de 20.8% a la infección por VLB en bovinos productores de leche y carne, resultando más afectados los bovinos productores de leche con una seroprevalencia de 39.8%.

### 1.2.3 DIAGNOSTICO SEROLOGICO A LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA

El diagnóstico de LEB o Linfosarcoma bovino, ha involucrado la utilización de los estudios macroscópicos y microscópicos de órganos y tejidos (Olson y Miller, 1987), lo que permite establecer las formas linfosarcomatosas de la enfermedad, así como el diagnóstico basado en pruebas hematológicas (Bendixen, 1959), serológicas (Mariño *et al.*, 1984; Ressang, *et al.*, 1978), y en la última década los métodos moleculares como la hibridación (Noda *et al.*, 1992) y la reacción en cadena de la polimerasa PCR. (Johnson *et al.*, 1985; Meas *et al.*, 2003).

A pesar del importante desarrollo a nivel molecular logrado recientemente en el diagnóstico de las enfermedades de origen infeccioso, los sistemas basados en el reconocimiento inmunológico antígeno-anticuerpo, continúan siendo los métodos de elección para la detección en la mayoría de tales infecciones, sobretodo, cuando se desean realizar estudios masivos ya sean de carácter epidemiológico o en las campañas de control de enfermedades. Mediante técnicas serológicas se puede analizar eficientemente un gran número de animales dando seguridad, rapidez, alta sensibilidad y total confiabilidad para el diagnóstico de VLB (Almansa *et al.*, 1996; Meas *et al.*, 2002).

Entre las pruebas serológicas, la primera y más ampliamente empleada para revelar la presencia de anticuerpos contra antígenos del VLB ha sido la

Inmunodifusión Doble en gel de Agar (AGID) (Almansa *et al.*, 1996; Buzala y Deren, 2003).

Por otra parte, ELISA es la técnica preferida para la evaluación de la respuesta inmune en infecciones virales, porque no solamente se enmarca en la población de estudio, sino que los resultados se obtienen en corto tiempo (Buzala y Deren, 2003; Voller *et al.*, 1982). Es por ello que entre sus ventajas teóricas se incluyen la rapidez y factibilidad para las condiciones de campo (Meas *et al.*, 2002). Para este método indirecto se utiliza una variedad de antígenos del virus entre ellos se encuentra el Gp51(Thurmond *et al.*, 1985) y anti IgG bovina (Monroy *et al.*, 1985). En cada región donde prevalezca la enfermedad, su control va encaminado al diagnóstico de animales seropositivos, requiriendo de medios diagnósticos económicos con altos niveles de sensibilidad y especificidad que permitan evaluar a los grupos de animales en riesgo para la erradicación de VLB (Nuotio *et al.*, 2003; Voller *et al.*, 1982).

#### 1.2.4 IMPORTANCIA ECONOMICA

Estudios revelan que animales seronegativos sobrevivían más de 3.5 años que los seropositivos, de esta forma el aumento del periodo de permanencia en el hato puede influenciar en la eficacia económica del mismo. Por otra parte sugieren que la infección por VLB incrementa la probabilidad de desecho debido a un efecto adverso a la productividad causado por alteraciones de los procesos fisiológicos y a la presencia de cantidades subclínicas de tejido neoplásico. También sugieren

que la producción láctea sufre una pérdida promedio de 156 Kg. corregida al 3.5% de grasa por cada lactancia en el animal (Thurmond *et al.*, 1985).

Pelzer y Sprecher en 1993 encontraron que los costos directos asociados a la presencia clínica de la infección por el BLV incluyen pérdidas en la producción de leche, en el valor de la canal y la pérdida de un potencial temero si la vaca está gestante. Por otro lado las pérdidas indirectas debido a la infección por el BLV están asociadas con limitaciones en las oportunidades de venta de semen o embriones e inclusive de animales vivos.

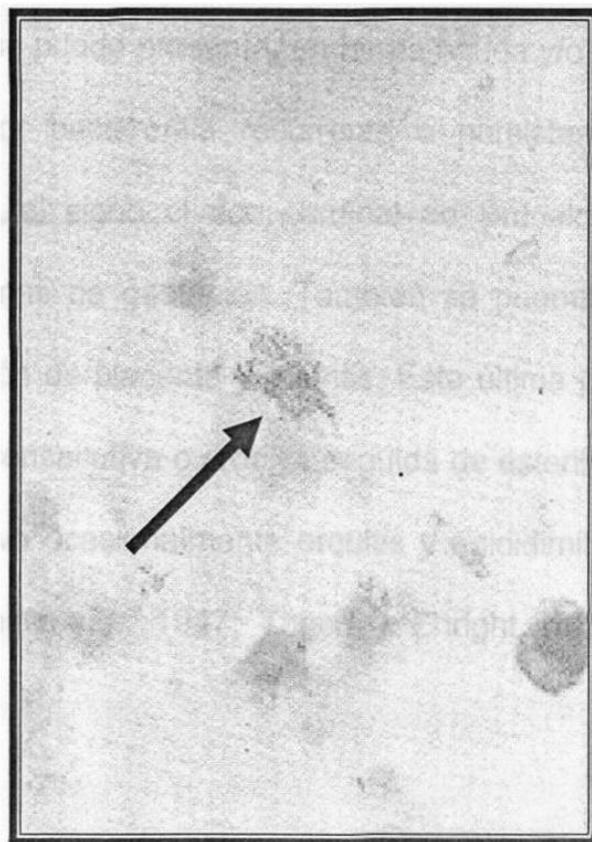
Otros estudios revelan que en hatos con alta seroprevalencia se encuentran la pérdida de mercados que solicitan animales libres de VLB, aunado a los costos que se realizan para el diagnóstico, tratamiento y control del linfosarcoma, así como el desecho prematuro, muerte del ganado, decomiso de las canales al sacrificio y restricciones para exportar animales procedentes de zonas positivas (Rhodes *et al.*, 2003).

## **1.3 BRUCELOSIS.**

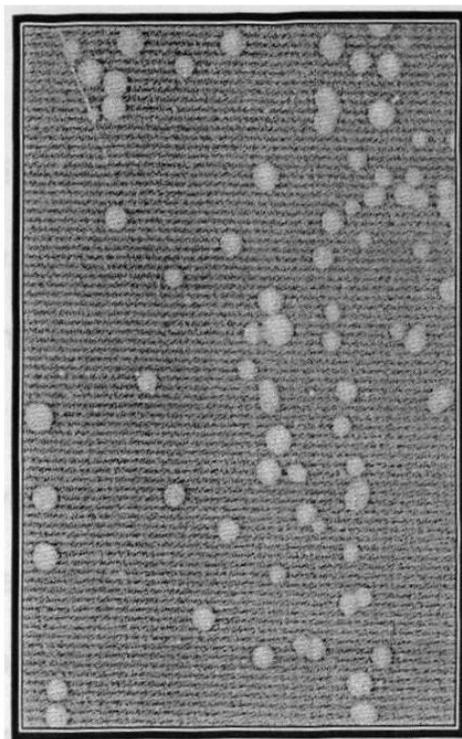
### **1.3.1 DESCRIPCIÓN, ETIOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE BRUCELOSIS EN BOVINOS LECHEROS**

La Brucelosis es una enfermedad bacteriana que provoca alteraciones reproductivas en bovinos y otros animales y también se incluye en el humano. Puede transmitirse con facilidad de los animales al hombre y representa un verdadero riesgo ocupacional (Omer *et al.*, 2002). La infectividad de *Brucella spp.*

no es específica, cualquiera de las especies conocidas puede infectar a diferentes animales (Hagan y Bruner, 1983; Nicoletti, 1980). Los organismos del género *Brucella* spp. son bacilos gram-negativos, no móviles y no esporulados que se caracterizan por ser bacterias intracelulares facultativas con predilección por el sistema retículoendotelial y órganos reproductores (Thoen y Enright, 1986; Young y Corbel, 1989). Se han identificado 6 especies del género *Brucella*: *B. abortus* (figura 9), *B. melitensis*, *B. suis*, *B. neotomae*, que forman colonias lisas (Figura 10); mientras que *B. ovis* y *B. canis* forman colonias rugosas (Harrington y Brown, 1976). En bovinos la infección se debe casi siempre a *B. abortus* (Crawford *et al.*, 1973).



**Figura 9.** *Brucella abortus* en citología de cotiledones en un aborto bovino (Quinn *et al.*, 1994)



**Figura 10.** Colonias lisas de *Brucella abortus* en agar suero dextrosa (Olds, 1982)

La Brucelosis se puede presentar en forma aguda y/o crónica en el ganado, y se caracterizan por bacteremia recurrente o persistente que culminan en abortos, siendo este el signo clínico cardinal de Brucelosis que se presenta después del quinto mes de gestación. También se pueden presentar secuelas frecuentes de retención de placenta y metritis. Esta última puede ser aguda, con septicemia y muerte consecutiva o crónica seguida de esterilidad. Mientras que en los machos se observa ocasionalmente orquitis y epididimitis afectando también su fertilidad (Ruiz-Castaneda, 1947; Thoen y Enright, 1986; Young y Corbel, 1989).

### 1.3.2 EPIZOOTIOLOGIA

La Brucelosis bovina se encuentra ampliamente distribuida, posee enorme importancia económica en casi todo el mundo, sobre todo entre el ganado lechero y la frecuencia varía considerablemente en las poblaciones bovinas, en distintas regiones, y en diferentes países (Moreno, 2002; Nicoletti, 1980).

En Inglaterra y diversos países de Europa se han registrado frecuencias de 15 a 50% en hatos infectados y 16% en E.U.A., pero en los últimos años ha disminuido notablemente la frecuencia de esta enfermedad de 6000 casos por año bajo a 300 (Callis *et al.*, 1989).

Actualmente la prevalencia de Brucelosis en bovinos en el Continente Americano fluctúa entre un 4% y un 8%, principalmente con más alta prevalencia en América central, en donde el mayor número de casos de Brucelosis se han identificado en bovinos destinados a la producción de leche (Moreno, 2002).

Tradicionalmente, México ha sido reconocido como una zona endémica de Brucelosis. El desarrollo de técnicas de diagnóstico, estrategias de vacunación y el esfuerzo de la erradicación nacional han contribuido significativamente en el control de la Brucelosis, sin embargo el Estado actual de la enfermedad y sus factores de riesgo tanto en los animales y en el hombre se mantienen en constante vigilancia (Luna y Mejía, 2002).

Desde el punto de vista de la salud humana la Brucelosis es importante en virtud de que el microorganismo causal puede producir Fiebre Ondulante en el hombre. La posibilidad de que la infección ocurra por ingestión de leche infectada impone la necesidad de la pasteurización de este alimento. Sin embargo, la mayor

parte de casos en el hombre son de tipo ocupacional y se observan comúnmente en granjeros, carniceros y veterinarios (Omer *et al.*, 2002).

### 1.3.3 DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

Existen diferentes tipos de diagnóstico para Brucelosis, entre los cuales podemos contar el aislamiento e identificación del microorganismo por exámenes microbiológicos o bacteriológicos (Alton *et al.*, 1998), y el aislamiento molecular mediante técnicas de diagnóstico molecular como PCR (Fekete *et al.*, 1992) entre otros. Sin embargo el diagnóstico de Brucelosis se realiza generalmente por métodos serológicos debido a su rapidez, facilidad para realizar y ahorro económico que esto implica (Ariza *et al.*, 1992; Gurturk *et al.*, 1999). El método de diagnóstico serológico tradicional más utilizado consiste en la reacción de aglutinación, la cual es observada al conjugar la bacteria con el suero del animal sospechoso. Generalmente el animal encontrado positivo en la prueba serológica, es sacrificado, más sin embargo para lograr un buen control es necesario detectar y eliminar los animales enfermos tan pronto como sea posible y en etapas tempranas de la infección (Alton *et al.*, 1988).

Hay que tomar en cuenta si los bovinos se encuentran vacunados o no ya que la aglutinación de la prueba puede darse por los anticuerpos inducidos por la vacuna y esto indudablemente resta un gran valor al diagnóstico (Goudswaard *et al.*, 1976; Milner *et al.*, 1990; Perry y Bundle, 1990).

### 1.3.4 IMPORTANCIA ECONÓMICA

Las pérdidas de productividad causadas por Brucelosis son de gran importancia debido a la disminución de la producción de leche a causa de los abortos de las vacas; estas pérdidas se han calculado en gran Bretaña en unos \$32 millones de dólares por año (Bothwell, 1962). El porcentaje de abortos en bovinos productores de leche es muy alto y se ha llegado a estimar hasta en un 65% (Russel *et al.*, 1978). La infertilidad como secuela frecuentemente aumenta el periodo entre la lactancia, y en los bovinos infectados el promedio entre los partos puede prolongarse durante varios meses. Aunado a las pérdidas de producción de leche, existen también pérdidas de becerros y dificultades en los planes de crianza. La frecuencia elevada de infertilidad permanente y/o pasajera da origen a la anulación de vacas valiosas y en ocasiones muerte como consecuencia de metritis aguda después de retención de la placenta (Ruiz-Castenada, 1947; Thoen y Enright, 1986; Young y Corbel, 1989).

Actualmente en América Central se estiman pérdidas de hasta \$25 millones de dólares por año en los principales hatos bovinos destinados a la producción de leche con altas (8%) seroprevalencias de Brucelosis (Moreno, 2002). A pesar de que las pérdidas económicas como consecuencia de los abortos en animales, y otros factores asociados a la brucelosis del ganado son muy altas, el daño a la salud humana es realmente el problema principal (Beal, 1984).

## 1.4 HIPÓTESIS

Es factible que actualmente en el Noreste de México exista una alta incidencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis, lo cual estaría provocando pérdidas económicas a la ganadería bovina

## 1.5 JUSTIFICACIÓN

Las causas de aborto en bovinos son multi-etiológicas y el aborto como tal es una de las pérdidas más importantes que merman la producción pecuaria; cada día se descubre la participación de nuevas etiologías en el fenómeno del aborto.

Actualmente en la zona Noreste de México se desconocen cuales etiologías pudiesen existir respecto a lo anterior. Por este motivo la contribución al estudio de etiologías potenciales que causan aborto bovino en particular la *Brucella*, agente tradicionalmente implicado, el Virus de la Leucosis Bovina, patógeno potencialmente abortivo, y finalmente *Neospora*, parásito que recientemente se le ha implicado como una de las principales causas de aborto en bovinos lecheros a nivel mundial, constituye una valiosa aportación al conocimiento de una de las piedras angulares en la lucha por controlar el aborto en los hatos bovinos del país.

## 1.6 OBJETIVOS

El objetivo general es determinar la Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en bovinos del Noreste de México mediante técnicas serológicas en la ganadería bovina.

### Objetivos particulares

\*Determinar la seroprevalencia de Neosporosis en una población de ganado lechero del Noreste de México.

\*Determinar la seroprevalencia de la Leucosis en una población de ganado lechero del Noreste de México

\*Determinar la seroprevalencia de Brucelosis en una población de ganado lechero del Noreste de México

\*Determinar si existe alguna evidencia serológica de Neosporosis en una población de bovinos de engorda del Noreste de México.