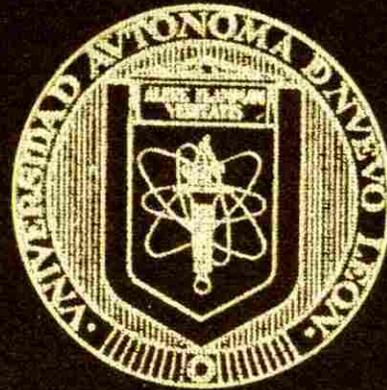


**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**DETECCION SEROLOGICA Y COMPARATIVA DE  
NEOSPOROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELOSIS EN BOVINOS  
DEL NORESTE DE MEXICO**

**Por**

**JAVIER DE JESUS MORA GARCIA**

**TESIS**

**Como requisito parcial para obtener el grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS  
con Especialidad en Salud Animal**

**JUNIO 2004**

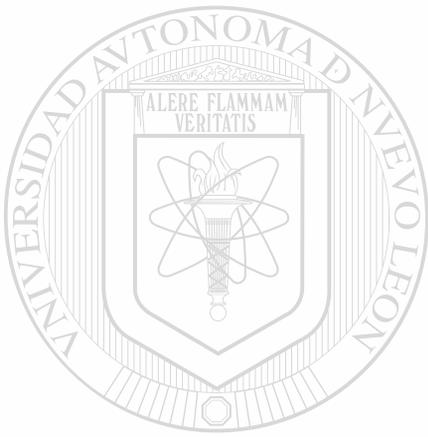
TM  
SF961  
.M6  
2004  
c.1

2

DETERMINACION SEROLOGICA Y COMPARATIVA DE  
NEFROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELLOSIS EN BOVINOS  
J. H. M. G.  
DEL NOROESTE DE MEXICO



1080125158



# UANL

---

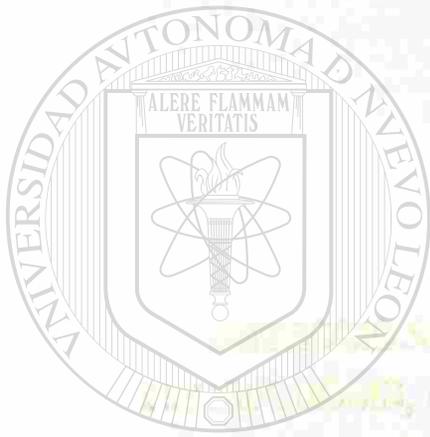
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



UANL

INVESTIGACIÓN SERIOLÓGICA Y COMPARATIVA DE  
ELIMINACIÓN DE BRUCELLA ABORTUS USUARIUM Y BRUCELLA  
DEL NOROESTE DE MÉXICO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

JAVIER DE JESUS MORA GARCIA

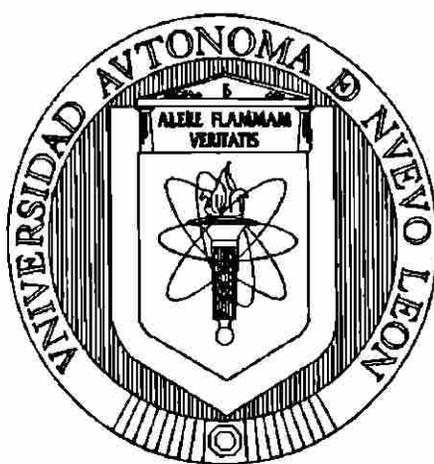
TESIS

Como requisito parcial para obtener el grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS  
con Especialidad en Salud Animal

JUNIO 2004

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**DETECCIÓN SEROLÓGICA Y COMPARATIVA DE  
NEOSPOROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELOSIS EN BOVINOS DEL  
NORESTE DE MÉXICO**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Por

**JAVIER DE JESÚS MORA GARCÍA**

**TESIS**

**Como requisito parcial para obtener el grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS VETERINARIAS  
con Especialidad en Salud Animal**

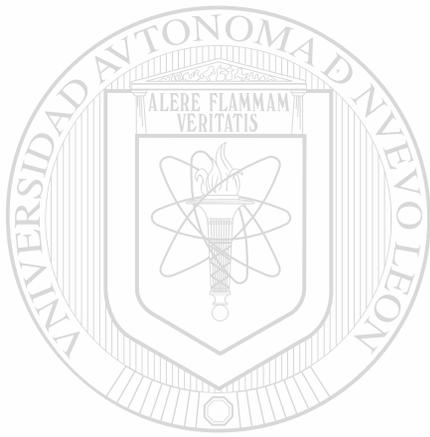
**Junio 2004**

SF961

o.M6

2004

c.1



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

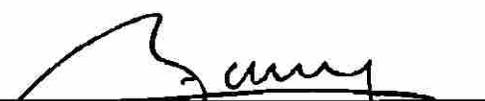
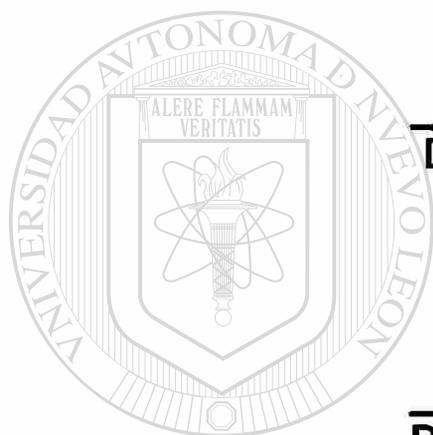


**DETECCIÓN SEROLÓGICA Y COMPARATIVA DE  
NEOSPOROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELOSIS EN BOVINOS DEL  
NORESTE DE MÉXICO**

**APROBACIÓN POR EL COMITÉ DE TESIS**

---

**Dr. José Antonio Salinas Meléndez**  
Asesor de la tesis



---

**Dr. Ramiro Avalos Ramírez**  
Co-asesor



---

**Dr. Juan José Zárate Ramos**  
Co-asesor

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



---

**PhD. Víctor Manuel Riojas Valdés**  
Co-asesor



---

**PhD. Gustavo Hernández Vidal**  
Co-asesor

# DETECCIÓN SEROLÓGICA Y COMPARATIVA DE NEOSPOROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELOSIS EN BOVINOS DEL NORESTE DE MÉXICO

## APROBACIÓN DE LA TESIS

---

Dr. José Antonio Salinas Meléndez  
Asesor de la tesis



---

Dr. Ramiro Avalos Ramírez  
Co-asesor



---

Dr. Juan José Zárate Ramos  
Co-asesor



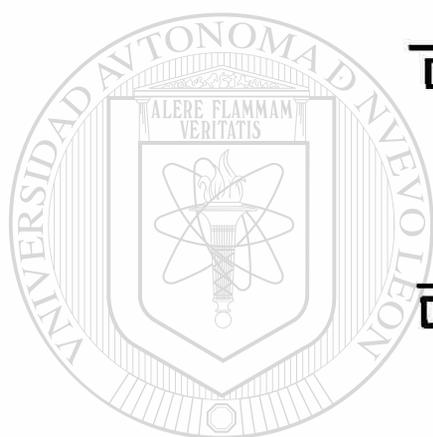
---

Ph.D. Víctor Manuel Riojas Valdés  
Co-asesor



---

Ph.D. Gustavo Hernández Vidal  
Co-asesor



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## **DEDICATORIA**

**Al creador de la vida sea quien sea ya que la vida es algo maravilloso, extraordinario e inexplicable que debemos de aprovechar al máximo hasta el final.**

**A Jesucristo por que fue un guerrero del bien que defendió su objetivo hasta el final y es el hombre más digno de amarse.**

**A mis padres Rodolfo Javier Mora Bernal y Eida Beatriz García Sánchez por el apoyo, así como también el esfuerzo y valor que me inculcaron desde pequeño para conseguir lo que uno quiere en la vida y nunca rendirse hasta conseguirlo. Los amo.**

**A mi novia Aracely Villarreal Vázquez por comprenderme durante todo este tiempo, mi mal humor, mi cansancio, mi fastidio, ya que sin tú amor y apoyo nunca lo hubiese logrado. Te amo Chelina V. V.**

**DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS**

**A mis hermanos Eida Gisel Mora García y Daniel Alejandro Mora García por el apoyo que me brindaron para seguir adelante siempre. Los amo.**

**A toda mi familia. Los amo.**

**A todas aquellas personas que son buenas, que amen a los animales así como también a todos los seres vivos, que luchan por el bien, que estén a favor de lo justo, que ayudan al que lo necesita sin recibir nada a cambio, ya que mientras haya personas muriéndose de hambre en el mundo el lujo seguirá siendo un crimen.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Al creador de la vida por brindarme seres a mi lado tan especiales que por ellos mi vida ha sido tan maravillosa.**

**A Jesucristo por ser un ejemplo a seguir.**

**Al M.V.Z. Rodolfo Javier Mora Bernal por la confianza que me tuvo y su colaboración en la presente investigación en cuanto a la redacción, obtención de hatos, obtención de sueros, así como también en el apoyo financiero de la misma ya que sin su ayuda hubiese sido difícil realizarla. gracias papá.**

**A la Profra. Eida Beatriz García Sánchez por apoyarme en la traducción de los artículos científicos utilizados y toda su confianza puesta en mi. Gracias mamá.**

**A la E.L.E.P. Araceli Villarreal Vázquez por su colaboración en cuanto a la redacción y confianza en mi. Gracias amor.**

**A la L.C.C. Eida Gisel Mora García por colaborar con tablas y figuras y también por prestarme tú computadora. Gracias hermana.**

**Al E.Lic.Nut. Daniel Alejandro Mora García por sus consejos e ideas. Gracias hermano.**

**Al C.P. Severo García Ramos por su colaboración en la obtención de datos. Gracias abuelo.**

**Al Dr. José Antonio Salinas Meléndez por la colaboración como asesor principal en la presente investigación, así como también la paciencia y consejos que me diste para poder llevar a cabo el término de este trabajo, pero ante todo gracias por brindarme tú amistad. Gracias Dr. Salinas.**

**Al Dr. Ramiro Ávalos Ramírez por su colaboración como co-asesor, así como también por la amistad que me brindaste y todos los consejos, conocimientos, clases y regaños que me diste para poder resolver con éxito este trabajo. Gracias Dr. Ávalos.**

**Al Dr. Juan José Zarate Ramos por participar como co-asesor en la presente tesis, por sus sabios consejos y clases para lograr el término de éste trabajo. Pero primero que nada por brindarme su amistad Gracias Dr. Zarate.**

**Al Dr. Víctor Manuel Riojas Valdés por su participación como co-asesor y maestro, que siempre me ayudo a seguir adelante con la investigación, pero sobretodo la amistad que me brindaste. Gracias Dr. Riojas.**

**Al Dr. Rafael Ramírez Romero por brindarme sus conocimientos de clase, consejos, apoyo y sobretodo su amistad. Gracias Dr. Ramírez.**

**Al Dr. Gustavo Hernández Vidal por su participación como co-asesor y maestro, por su amistad y consejos que me dió a cada momento. Gracias Dr. Vidal.**

**Al M.V.Z. Jorge Moreno Chapa por su amistad, consejos y apoyo que me diste siempre. Gracias Jorge.**

**Al M.V.Z. Genaro García por su colaboración en cuanto a la obtención de hatos y muestras. Gracias Genaro.**

**Al M.V.Z. Alicia Marroquín Cardona por su amistad y apoyo que siempre lo tuve. Gracias Alicia.**

**Al Pony por su amistad y valiosa ayuda durante el trabajo de laboratorio. Gracias Pony.**

**Al Peque por su amistad y colaboración con el trabajo de laboratorio. Gracias Peque.**

**A todos los maestros de la facultad y todos los que me dieron clase ya que gracias a sus enseñanzas logré llegar a un término más de mi vida. Gracias maestros.**

**A todos mis compañeros de clases. Gracias colegas.**

**A todos los que elaboran en la facultad, incluyendo a los intendentes que de una u otra forma me ayudaron a terminar esta investigación. Gracias.**

**A la Facultad de Biología, especialmente al departamento de biotecnología con el Dr. Zapata que me permitió leer placas de ELISA y colaboro con los resultados de la presente investigación. Gracias.**

**A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León, por haberme dado la oportunidad de llegar a ser algo en ésta vida, ya que sin el apoyo que me ha brindado no hubiese logrado éste objetivo. Gracias Veterinaria.**

**A todos los que se me hayan pasado y no los nombre gracias.**



**UANL**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**



**DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS**

**“UN CONOCIMIENTO NUEVO EN CUALQUIER PARTE AYUDA A  
ABRIR EL CAMINO A UN INCREMENTO DEL SABER EN TODAS  
ELLAS”**

Isaac Asimov



**“ADEMÁS DE AMOR Y SIMPATÍA, LOS ANIMALES  
MANIFIESTAN TAMBIÉN OTRAS CUALIDADES  
RELACIONADAS CON EL INSTINTO SOCIAL, AQUELLAS QUE  
EN NOSOTROS SE CONSIDERAN MORALES”**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Charles Robert Darwin

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

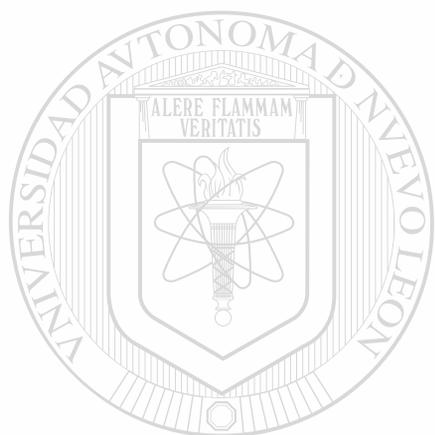
# TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
<b>1 INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Neosporosis</b>	<b>4</b>
1.1.1 Historia de Neosporosis	4
1.1.2 Etiología	5
1.1.3 Estructura de <i>Neospora caninum</i>	6
1.1.3.1 Oquistes	6
1.1.3.2 Taquizoítos	7
1.1.3.3 Bradizoítos	9
1.1.3.4 Quistes	10
1.1.4 Ciclo Biológico de <i>Neospora caninum</i>	11
1.1.5 Relación parásito – hospedero y patogenicidad de <i>Neospora caninum</i>	13
1.1.6 Manifestaciones clínicas de Neosporosis en Bovinos y otras especies	15
1.1.6.1 Bovinos	15
1.1.6.2 Caninos y otras especies	16
1.1.7 Lesiones fetales y patogénesis del aborto en bovinos positivos a Neosporosis	18
1.1.8 Epizootiología	20
1.1.9 Tipos de diagnóstico utilizados para Neosporosis	22
1.1.10 Importancia económica	25
<b>1.2 Leucosis</b>	<b>26</b>

Capítulo	Página
1.2.1 Descripción, Etiología y Manifestaciones Clínicas de Leucosis en Bovinos Lecheros	26
1.2.2 Epizootiología	30
1.2.3 Diagnóstico serológico a la infección por el Virus de la Leucosis Bovina	32
1.2.4 Importancia Económica	33
1.3 Brucelosis	34
1.3.1 Descripción, etiología y manifestaciones clínicas de Brucelosis en bovinos lecheros	34
1.3.2 Epizootiología	37
1.3.3 Diagnóstico serológico	38
1.3.4 Importancia económica	39
1.4 Hipótesis	40
1.5 Justificación	40
1.6 Objetivos	41
<b>2 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>42</b>
2.1 Instalaciones y ubicación de las zonas muestreadas	42
2.2 Total de muestras, tipo de producción y procedencia	43
2.3 Características de los animales	47
2.4 Toma de muestra y obtención de suero	48
2.5 Detección de anticuerpos contra <i>Neospora caninum</i>	49
2.5.1 Ensayo Inmunológico Ligado Enzima ( ELISA ) para Neosporosis	49

Capítulo	Página
2.6.1 Ensayo Inmunológico Ligado a Enzima ( ELISA ) para Leucosis	52
2.7 Detección de anticuerpos contra Brucelosis	54
2.7.1 Método de tarjeta o rosa de bengala	54
2.8 Determinación de la prevalencia	55
<b>3 RESULTADOS</b>	<b>56</b>
3.1 Seroprevalencia de Neosporosis en el Estado de Coahuila	56
3.2 Seroprevalencia de Neosporosis en el Estado de Nuevo León	59
3.3 Seroprevalencia de Neosporosis en el Estado de Tamaulipas	62
3.4 Comparativa de la seroprevalencia a <i>Neospora</i> en los Municipios de los Estados del Noreste de México que se estudiaron en el presente trabajo	65
3.5 Comparativa de la seroprevalencia a <i>Neospora</i> en los Estados del Noreste de México que se estudiaron en el presente trabajo	66
3.6 Comparativa de la seroprevalencia a <i>Neospora</i> en bovinos del Noreste de México, de acuerdo a la función zootécnica	69
3.7 Comparativa de la seroprevalencia a <i>Neospora</i> en bovinos del Noreste de México, de acuerdo a la raza	71
3.8 Seroprevalencia y comparativa de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en el Noreste de México	74
3.9 Comparativa de la seroprevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en el Noreste de México, de acuerdo a la raza	82
<b>4 DISCUSIÓN</b>	<b>85</b>
<b>5 CONCLUSIONES</b>	<b>90</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>93</b>

Capítulo	Página
<b>APÉNDICE</b>	<b>116</b>
<b>A . Instructivo de diagnóstico para Neosporosis</b>	<b>116</b>
<b>B . Instructivo de diagnóstico para Leucosis</b>	<b>121</b>
<b>C . Instructivo de diagnóstico para Brucelosis</b>	<b>125</b>



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Ejemplar de ganado Holstein-Friesian	2
2 Oquiste de <i>Neospora caninum</i>	7
3 Fase de taquizoíto de <i>Neospora caninum</i>	9
4 Bradizoítos en el interior de un quiste por <i>Neospora caninum</i>	10
5 Quiste de <i>Neospora caninum</i>	11
6 Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i>	13
7 Aborto de un feto bovino por <i>Neospora caninum</i>	16
8 Viriones del Virus de la Leucosis Bovina	28
9 <i>Brucella abortus</i> en citología de cotiledones en un aborto bovino	35
10 Colonias lisas de <i>Brucella abortus</i> en agar suero dextrosa	36
11 Distribución de las zonas muestreadas	43
12 Placa mostrando Seropositividad de algunas muestras contra <i>Neospora caninum</i>	51
13 Lector de ELISA ( ELX800 Universal Microplate Reader Lionheart Diagnostics)	51
14 Placa mostrando Seropositividad de algunas muestras contra el Virus de la Leucosis Bovina	53
15 Seropositividad contra Brucelosis	55
16 Número de animales seropositivos en los Municipios muestreados en el Estado de Coahuila	58

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
<b>17 Prevalencia de Neosporosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Coahuila</b>	<b>58</b>
<b>18 Número de animales seropositivos en los Municipios muestreados en el Estado de Nuevo León</b>	<b>61</b>
<b>19 Prevalencia de Neosporosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Nuevo León</b>	<b>61</b>
<b>20 Número de animales seropositivos en los Municipios muestreados en el Estado de Tamaulipas</b>	<b>64</b>
<b>21 Prevalencia de Neosporosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Tamaulipas</b>	<b>64</b>
<b>22 Número de animales seropositivos en todos los Municipios muestreados en los tres Estados del Noreste de México</b>	<b>65</b>
<b>23 Prevalencia de Neosporosis en los animales de todos los Municipios muestreados en los tres Estados del Noreste de México</b>	<b>66</b>
<b>24 Número de animales seropositivos en los tres Estados del Noreste de México</b>	<b>68</b>
<b>25 Prevalencia de Neosporosis en los animales de los tres Estados del Noreste de México</b>	<b>68</b>
<b>26 Número de animales seropositivos de acuerdo a la función zootécnica</b>	<b>70</b>
<b>27 Prevalencia de Neosporosis de acuerdo a la función zootécnica</b>	<b>71</b>
<b>28 Número de animales seropositivos de acuerdo a la raza</b>	<b>73</b>
<b>29 Prevalencia de Neosporosis de acuerdo a la raza</b>	<b>73</b>

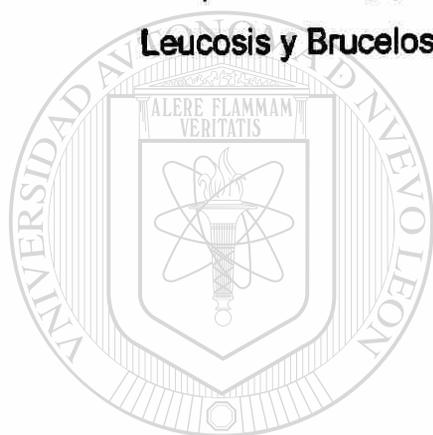
<b>Figura</b>	<b>Página</b>
<b>30 Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Coahuila</b>	<b>77</b>
<b>31 Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Nuevo León</b>	<b>78</b>
<b>32 Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Tamaulipas</b>	<b>79</b>
<b>33 Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los 14 Municipios muestreados en el Noreste de México</b>	<b>80</b>
<b>34 Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los tres Estados muestreados del Noreste de México</b>	<b>81</b>
<b>35 Número de animales seropositivos para Neosporosis, Leucosis y Brucelosis de acuerdo a la raza</b>	<b>83</b>
<b>36 Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis de acuerdo a la raza</b>	<b>84</b>

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1 Localización y tipo de producción de los hatos muestreados en el Noreste de México para el diagnóstico serológico de Neosporosis	45
2 Localización y tipo de producción de los hatos muestreados en el Noreste de México para detectar Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en ganado lechero	46
3 Raza, tipo de producción y cantidad de bovinos analizados para Neosporosis	47
4 Raza, tipo de producción y cantidad de bovinos analizados para Neosporosis, Leucosis y Brucelosis	48
5 Prevalencia de anticuerpos contra <i>Neospora caninum</i> en bovinos lecheros de la raza Holstein-Friesian en 4 Municipios del Estado de Coahuila	57
6 Prevalencia de anticuerpos contra <i>Neospora caninum</i> en bovinos lecheros de la raza Holstein-Friesian en 6 Municipios (Anáhuac, Marín, Paras, Sabinas, Vallecillo y Zuazua) y bovinos de carne de la raza Charolais en 2 Municipios (Linares y Pesquería)	60
7 Prevalencia de anticuerpos contra <i>Neospora caninum</i> en bovinos lecheros de la raza Holstein-Friesian en 4 Municipios del Estado de Tamaulipas, siendo 17 bovinos criollos en el Municipio de Nuevo Laredo	63
8 Prevalencia de anticuerpos contra <i>Neospora caninum</i> en bovinos de los 3 Estados pertenecientes al Noreste de México	67
9 Seropositividad y prevalencia de anticuerpos contra <i>Neospora caninum</i> de acuerdo a la función zootécnica	69

		72
10	<b>Seropositividad y prevalencia de anticuerpos contra <i>Neospora caninum</i> de acuerdo a la raza</b>	
11	<b>Seropositividad y prevalencia de anticuerpos contra Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en bovinos lecheros de la raza Holstein-Friesian en 14 Municipios pertenecientes a los 3 Estados del Noreste de México</b>	76
12	<b>Seropositividad y prevalencia de anticuerpos contra Neosporosis, Leucosis y Brucelosis de acuerdo a la raza</b>	82



# UANL

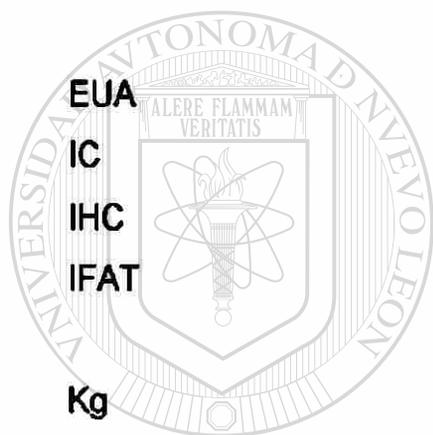
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## NOMENCLATURA

AGID	Inmunodifusión Doble en Gel de Agar
B	<i>Brucella</i>
BPC	Bovinos Productores de Carne
BPL	Bovinos Productores de Leche
°C	Grados Centígrados
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
DO	Densidad Óptica
ELISA	Ensayo Inmunológico Ligado a Enzima
EUA	Estados Unidos de América
IC	Intervalo de Confianza
IHC	Inmunohistoquímica
IFAT	Prueba Indirecta de Anticuerpos Fluorescentes
Kg	Kilogramos
LEB	Leucosis Enzoótica Bovina o Linfosarcoma Enzoótica Bovina
LP	Linfocitosis Persistente
Min	Minutos
ML	Mililitros
μL	Microlitros
μM	Micrómetros
N	Número
<i>N. caninum</i>	<i>Neospora caninum</i>
<i>N. hughesi</i>	<i>Neospora hughesi</i>
Nm	Nanometros
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
POS	Positivo



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

**Prev**

**PSA**

**RPM**

**SNC**

**T. gondii**

**VLB**

**VP**

**%**

**Prevalencia**

**Portador Sano Asintomático**

**Revoluciones por Minuto**

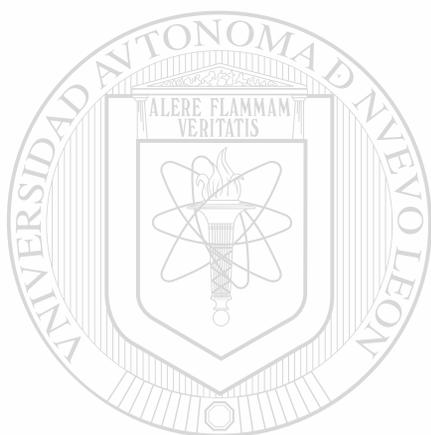
**Sistema Nervioso Central**

*Toxoplasma gondii*

**Virus de la Leucosis Bovina**

**Vacuola Parasitófora**

**Porcentaje**



**UANL**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## RESUMEN

Javier de Jesús Mora García

Fecha de Graduación: Junio del 2004

Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Unidad de investigación Veterinaria en Enfermedades Infecciosas y Genéticas

Título del estudio: **DETECCIÓN SEROLÓGICA Y COMPARATIVA DE NEOSPOROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELOSIS EN BOVINOS DEL NORESTE DE MÉXICO**

Número de páginas: 127

Candidato para el grado de Maestro en Ciencias Veterinarias con Especialidad en Salud Animal

Área de estudio: **Epidemiología**

**Propósito y Método de Estudio:** 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. En este caso el estudio epidemiológico analizado en este estudio fue el determinar la Prevalencia (presencia) principalmente de la Neosporosis (*Neospora caninum*) en ganado lechero, así como realizar un comparativo con la infección del Virus de la Leucosis Bovina y la Brucelosis en los mismos animales. Las causas de aborto en bovinos son multietiológicas 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. 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.

En el caso de la seroprevalencia contra la Neosporosis en los Estados pertenecientes al Noreste de México resultaron positivos los tres a la prueba para detectar anticuerpos contra *N. caninum* observándose variación en cuanto a la prevalencia obtenida entre los

tres Estados. En el Estado de Coahuila se observó una prevalencia del 45 % (37-52 I.C.) siendo un valor superior a los demás Estados, en el Estado de Nuevo León se observó una prevalencia del 40 % (33-45 I.C.) y en Tamaulipas la prevalencia fue del 16 % (9-22 I.C.), mientras que la prevalencia total de la región Noreste de México fue del 36 % (31-39 I.C). En bovinos productores de carne se muestra una prevalencia del 10 %, mientras que en bovinos productores de leche la prevalencia es del 39 % con un total de prevalencia del 36 %. La prevalencia total encontrada en el Estado de Coahuila fue del 54 % para Neosporosis, de 35 % para Leucosis y de 5 % para brucelosis Con un intervalo de confianza total de (39-67 I.C.) para Neosporosis, de (21 a 48 I.C.) para Leucosis y de (1-12 I.C.) para Brucelosis. La prevalencia total encontrada para el Estado de Nuevo León fue del 39 % para Neosporosis, 52 % para Leucosis y 6 % para Brucelosis con un intervalo de confianza total de (29-48 I.C.) para Neosporosis, de (42-61 I.C.) para Leucosis y de (1-11 I.C.) para Brucelosis. En el Estado de Tamaulipas la prevalencia total encontrada para Neosporosis fue del 21 %, para Leucosis fue del 18 % y para Brucelosis fue del 2 % con un intervalo de confianza total de (13-29 I.C.) para Neosporosis, de (10-25 I.C.) para Leucosis y de (1-4 I.C.) para Brucelosis.

**Contribuciones y Conclusiones:** Los resultados obtenidos del presente estudio nos permitieron primeramente establecer que existe la presencia inmunológica de anticuerpos en el ganado bovino del Noreste de México (Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas) producidos en contra de los antígenos pertenecientes al Protozoario *Neospora caninum*, agente causal de la denominada enfermedad de la Neosporosis. Cabe mencionar que fue encontrada tal evidencia serológica tanto en ganado lechero como de carne. Asimismo se reconfirmo que todavía existe la presencia serológica de otras enfermedades de importancia reproductiva y económica como la Brucelosis y la Infección por el Virus de la Leucosis Bovina en niveles por arriba de los esperados. Tales datos nos indican que hay que aumentar los esfuerzos en materia zoonosanitaria relacionada con las campañas de control y erradicación de las enfermedades para tener mejores condiciones y alcanzar mas altos niveles de producción.

FIRMA DEL ASESOR: \_\_\_\_\_

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

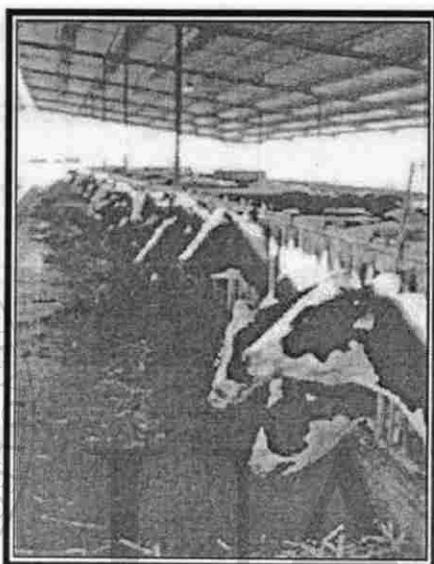
# CAPITULO 1

## 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

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS  
 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 protozooario 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 enfocó 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 incluyó 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 está 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<sup>®</sup> 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).

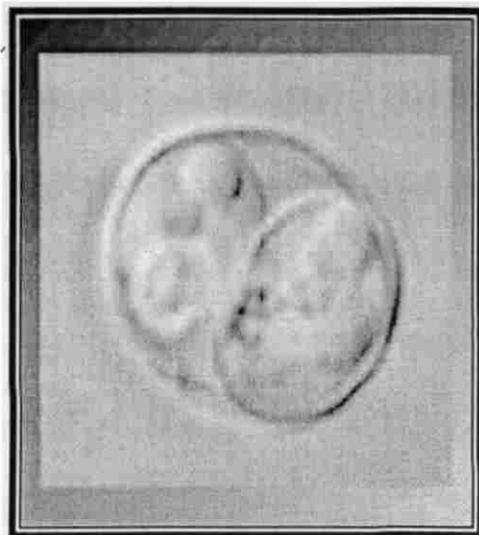
Estudios retrospectivos demostraron que *N. caninum* ha sido endémico por lo menos desde 1957 en los E.U.A. (Dubey *et al.*, 1990b). Un estudio reciente reveló una nueva especie de *Neospora*, que fue aislada de un caballo el cual mostró diferencias antigénicas y estructurales a *N. caninum*. A esta 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)

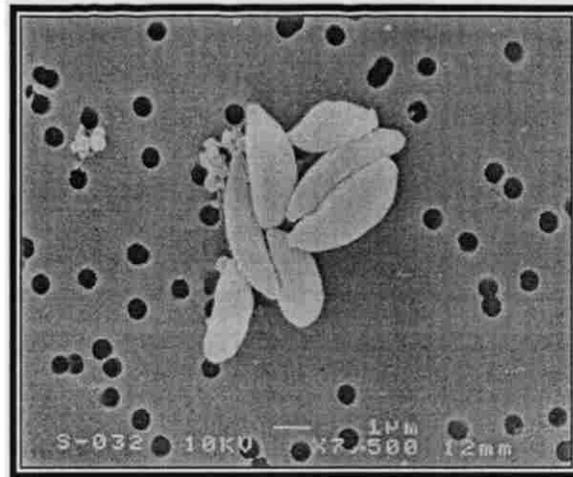
### 1.1.3.2 TAQUIZOÍTOS

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).

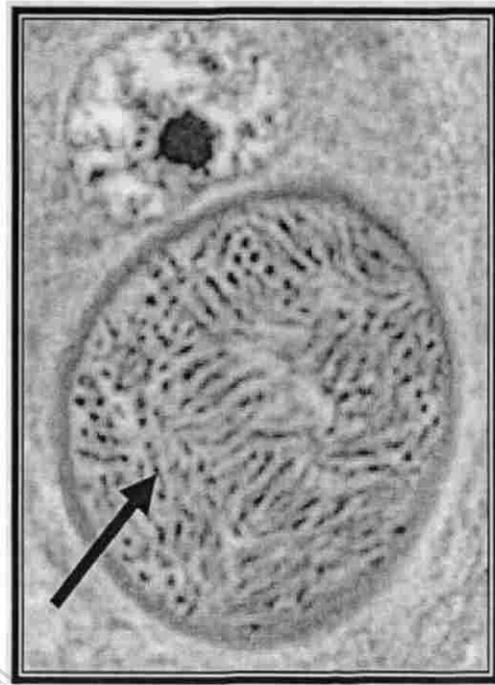
Los taquizoítos de *N. caninum* tienen 3 capas de plasmalema, 22 microtubulos de tipo subpelicular, 2 anillos apicales, uno conoide y un anillo polar, mitocondria, hasta 150 micronemas, un Aparato de Golgi, retículo endoplásmico liso y rugoso, un núcleo, nucleolo y microporos (Speer y Dubey, 1989; Lindsay *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

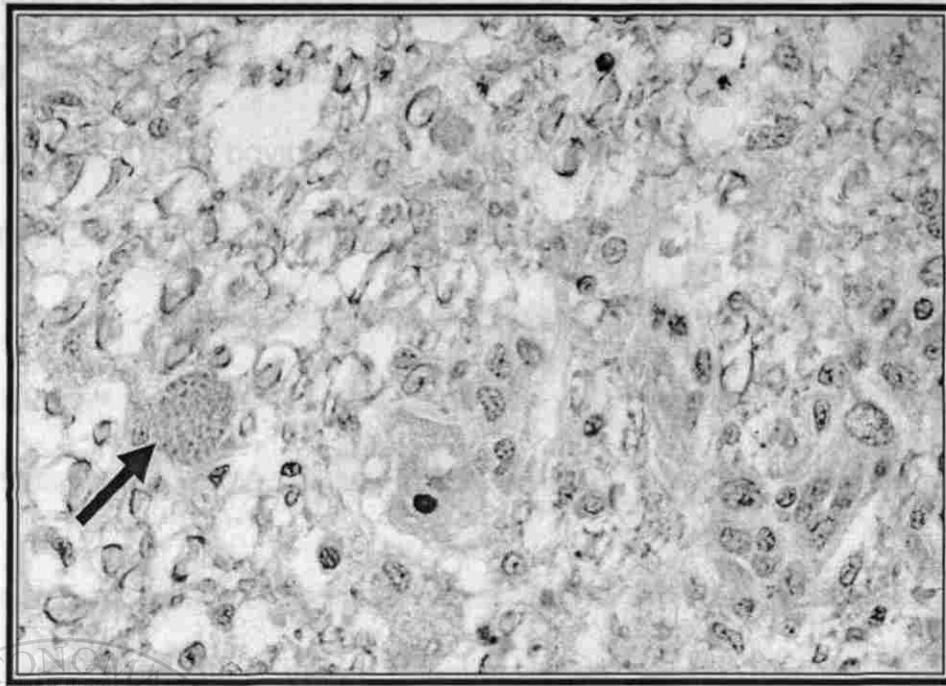
Los Bradizoítos son delgados (6-8 por 1-1.8 $\mu$ m) y contienen los mismos organelos encontrados en los Taquizoítos excepto que hay más gránulos de amilopectina (Dubey y Lindsay, 1996). El núcleo en los Bradizoítos está en la posición terminal o subterminal, los micronemas en los Bradizoítos están en 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), antílopes (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).

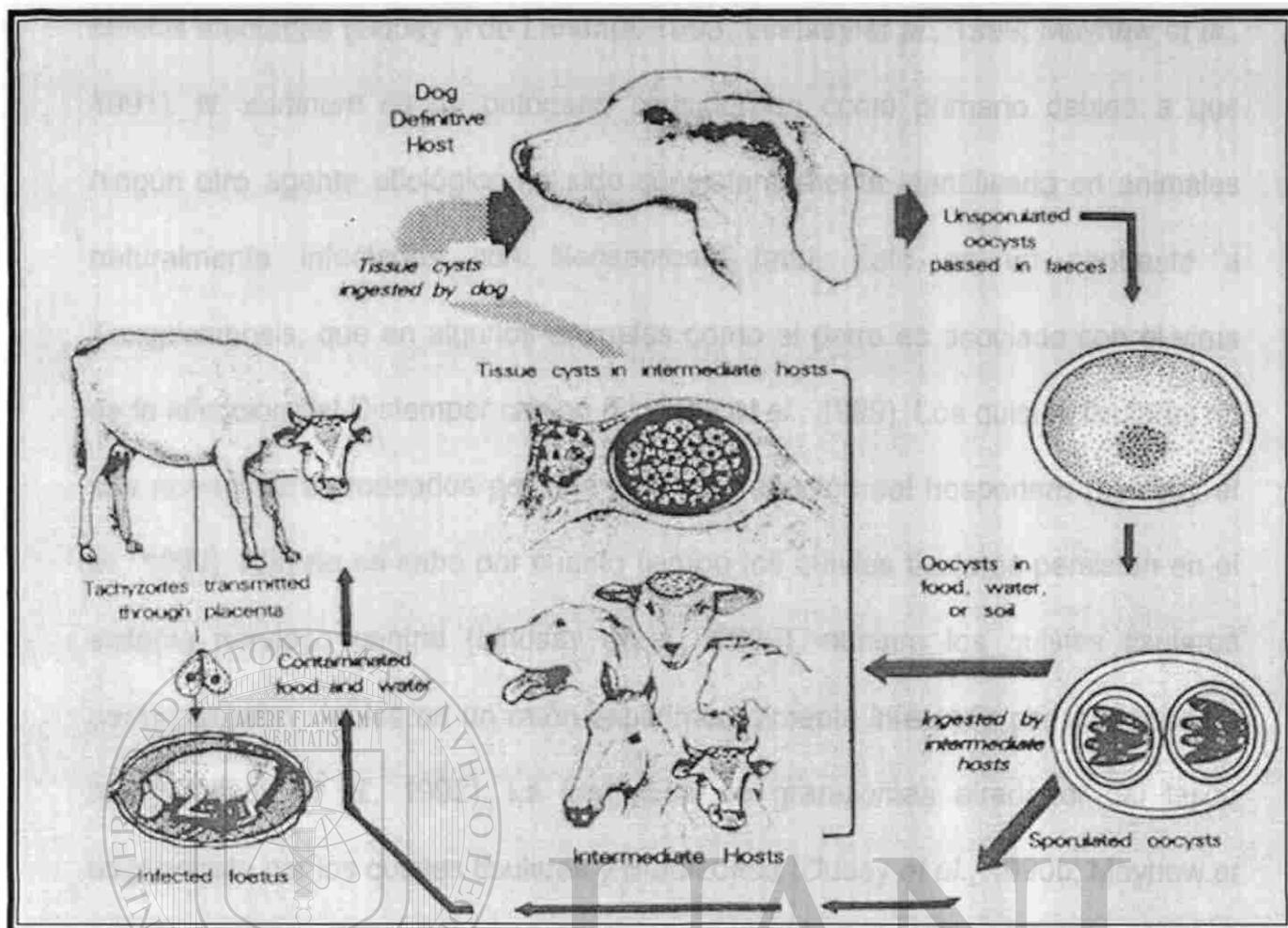


Figura 6. Ciclo biológico de *Neospora caninum* (Dubey, 1999).

### 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 Bradizoitos (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 taquizoitos presentes en forma latente en los

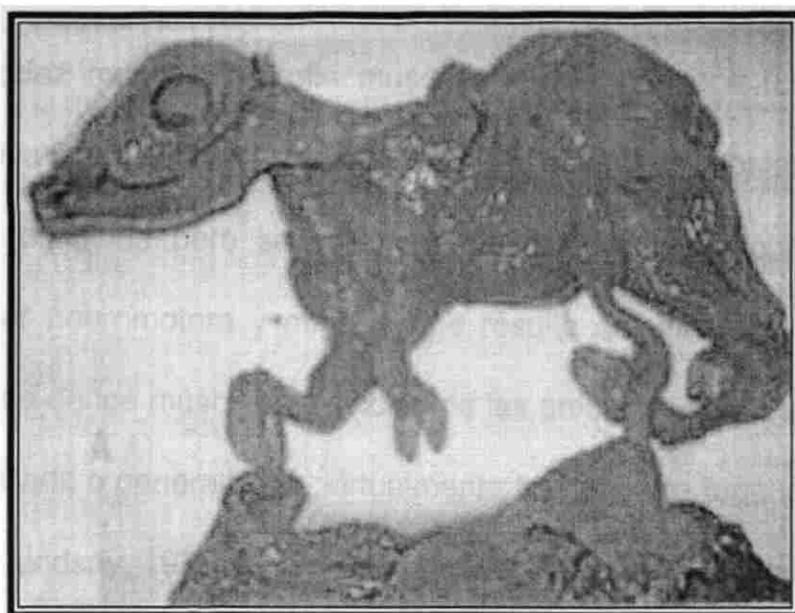
tejidos de las vacas, son capaces de multiplicarse activamente en la placenta y los tejidos de los fetos provocando el aborto (Calzada *et al.*, 2002).

## 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<sup>®</sup> 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 autólisis. 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 contribuyo 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-calostroales 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<sup>®</sup> (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.*,<sup>®</sup> 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

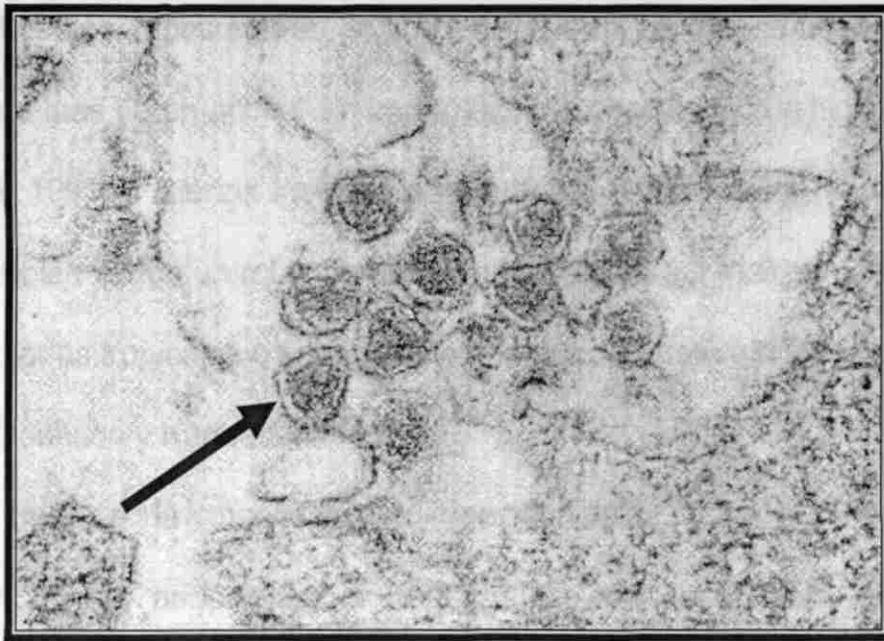
La Leucosis Enzoótica Bovina (LEB), llamada también Leucemia o Linfosarcomatosis, es una enfermedad infecciosa, crónica, y específica del ganado bovino, es de curso clínico lento, con un período de incubación de 1 a 5 años y afecta fundamentalmente a los animales mayores de 2 años de edad, presentando 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-urinaris, 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 mas 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 reactivos (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 Linfoma 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 linfomatosas 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 ternero 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).

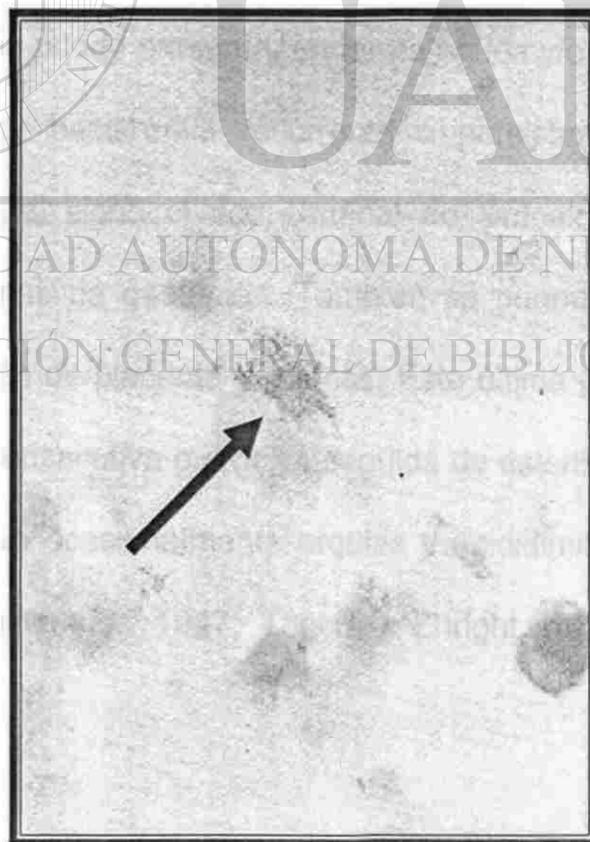
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

### **1.3 BRUCELOSIS.**

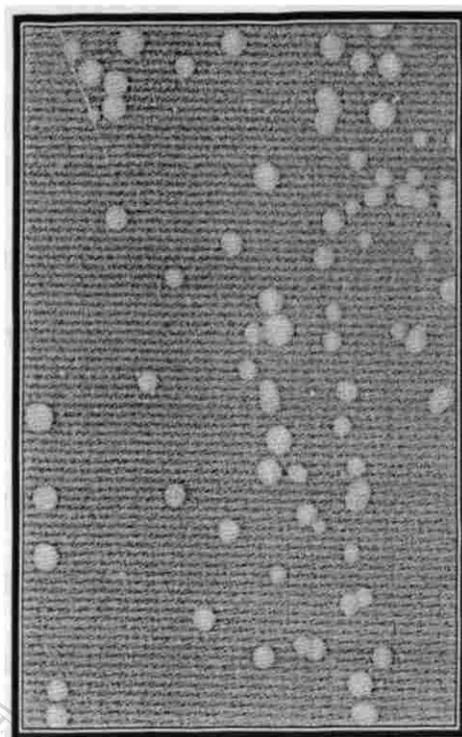
#### **1.3.1 DESCRIPCIÓN, ETIOLOGÍA Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE BRUCELOSIS EN BOVINOS LECHEROS**

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-Castenada, 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 perdidas 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 perdidas 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-Casteneda, 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.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

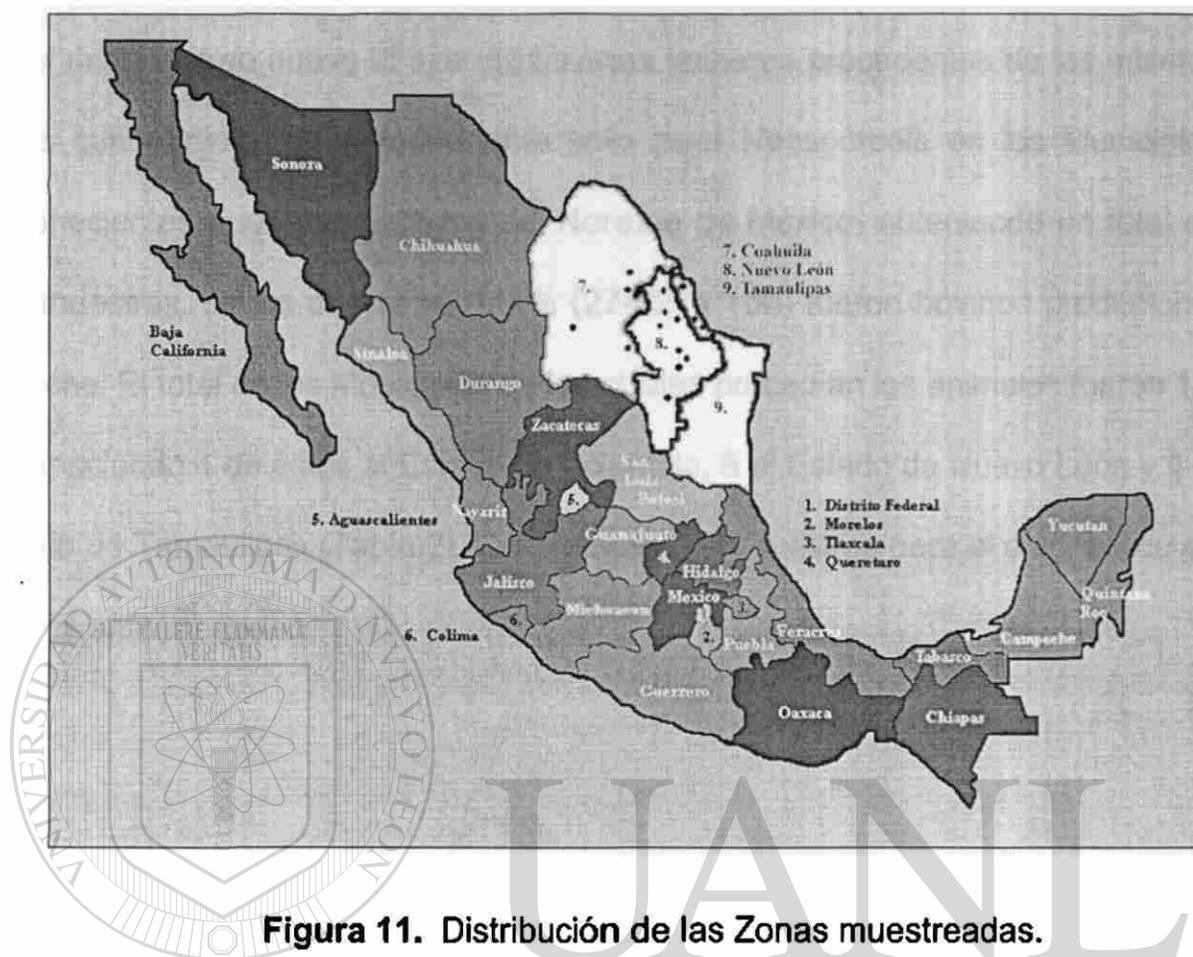
## CAPITULO 2

### MATERIAL Y METODOS

#### 2.1 INSTALACIONES Y UBICACIÓN DE LAS ZONAS MUESTREADAS

El presente estudio se llevo a cabo en un total de 44 hatos bovinos para realizar el diagnóstico de Neosporosis, de los cuales 41 fueron de bovinos destinados a la producción de leche y 3 de bovinos destinados a la producción de carne (Tabla 1). Hay que mencionar que de los 41 hatos de bovinos destinados a la producción de leche se utilizaron 29 para realizar de nuevo el diagnóstico de Neosporosis, así como el diagnóstico de Leucosis y Brucelosis (Tabla 2). Se muestrearon explotaciones ganaderas de distintas dimensiones que comprenden hatos pequeños, medianos y grandes con diversas características y condiciones.

El análisis serológico de las muestras se llevo a cabo en la Unidad de investigación Veterinaria en Enfermedades Infecciosas y Genéticas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en la Facultad de Ciencias Biológicas en el Laboratorio de Biotecnología Unidad C. La distribución relativa de las zonas muestreadas se ubican en la figura 11 en los Estados de color blanco.

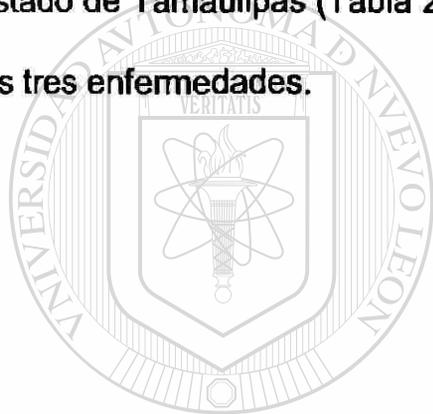


**Figura 11.** Distribución de las Zonas muestreadas.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
**2.2 TOTAL DE MUESTRAS, TIPO DE PRODUCCIÓN Y**  
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS  
**PROCEDENCIA**

Para el estudio sobre Neosporosis se obtuvieron un total de 591 muestras, de las cuales el 90 % ( $532/591 \cdot 100$ ) correspondió al ganado productor de leche y el 10 % ( $59/591 \cdot 100$ ) correspondió al ganado productor de carne. El total de los Municipios de los cuales procedían los animales fueron 16, en donde 14 Municipios fueron para bovinos productores de leche y 2 Municipios (Linares y Pesquería) para bovinos productores de carne, perteneciendo 4 de éstos al

Estado de Coahuila, 8 al Estado de Nuevo León y 4 al Estado de Tamaulipas (Tabla 1). Posteriormente para Neosporosis, Leucosis y Brucelosis se procedió a hacer un muestreo nuevo al azar de bovinos lecheros procedentes de los mismos hatos que participaron anteriormente solo para Neosporosis en los Municipios pertenecientes a los tres Estados del Noreste de México, obteniendo un total de 274 muestras, de los cuales el 100 % ( $274/274*100$ ) fueron bovinos productores de leche. El total de los Municipios de los cuales procedían los animales fueron 14, perteneciendo 4 de éstos al Estado de Coahuila, 6 al Estado de Nuevo León y 4 al Estado de Tamaulipas (Tabla 2). Las mismas 274 muestras para el diagnóstico de las tres enfermedades.



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**Tabla 1. Localización y tipo de producción de los hatos muestreados en el Noreste de México para el diagnóstico serológico de Neosporosis**

Estado	Municipio	Muestras	Número de hatos analizados	Bovinos de carne	Bovinos lecheros	Total analizados por Municipio	Total analizados Por Estado
Coahuila	Candela	36	4	-	36	36	185
	Saltillo	16	1	-	16	16	
	San Buenaventura	38	5	-	38	38	
	Torreón	95	2	-	95	95	
Nuevo León	Anáhuac	18	2	-	18	18	262
	Linares	29	2	29	-	29	
	Marín	63	1	-	63	63	
	Paras	10	1	-	10	10	
	Pesquería	30	1	30	-	30	
	Sabinas	38	5	-	38	38	
	Vallecillo	64	8	-	64	64	
	Zuazua	10	1	-	10	10	
Tamaulipas	Díaz Ordaz	29	3	-	29	29	144
	Guerrero	36	1	-	36	36	
	Nuevo Laredo	37	2	-	37	37	
	Laredo						
	Río Bravo	42	5	-	42	42	
Gran Total	16	591	44	59-10%	532-90%	591	591

**Tabla 2.** Localización y tipo de producción de los hatos muestreados en el Noreste de México para detectar Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en ganado lechero.

Estado	Municipio	Muestras	Número de hatos	Total analizados por Estado
Coahuila	Candela	8	2	54
	Saltillo	9	1	
	San Buenaventura	10	2	
	Torreón	27	2	
Nuevo León	Anáhuac	5	1	113
	Marín	63	1	
	Paras	10	1	
	Sabinas	20	5	
	Vallecillo	10	2	
	Zuazua	5	1	
Tamaulipas	Díaz Ordaz	29	3	107
	Guerrero	12	1	
	Nuevo Laredo	24	2	
	Laredo			
	Río Bravo	42	5	
<b>Gran Total</b>	<b>14</b>	<b>274</b>	<b>29</b>	<b>274</b>

## 2.3 CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES

Para el caso de Neosporosis, de los 591 bovinos analizados, el 87 % (515/591\*100) fueron de la raza Holstein-Friesian, el 3 % (17/591\*100) fueron bovinos criollos cruce de Holstein con Brahman y el 10 % (59/591\*100) fueron bovinos de la raza Charolais (Tabla 3). Por otra parte para Neosporosis, Leucosis y Brucelosis de los 274 bovinos analizados, el 98 % (268/274\*100) fueron de la raza Holstein-Friesian y el 2 % (6/274\*100) fueron bovinos Criollos (Tabla 4) Todos los bovinos analizados fueron hembras.

**Tabla 3.** Raza, tipo de producción y cantidad de bovinos analizados para Neosporosis.

Raza	Función zootécnica	Número de bovinos	% de bovinos
Charolais	BpC	59	10
Criollo (Holstein-Brahman)	BpL	17	3
Holstein	BpL	515	87
Total	BpC y BpL	591	100

BpC = bovinos producción carne, BpL = bovino producción leche

**Tabla 4. Raza, tipo de producción y cantidad de bovinos analizados para Neosporosis, Leucosis y Brucelosis**

<b>Raza</b>	<b>Función zootécnica</b>	<b>Número de bovinos</b>	<b>% de bovinos</b>
Criollo (Holstein-Brahman)	BpL	6	2
Holstein	BpL	268	98
Total	BpL	274	100

## 2.4 TOMA DE MUESTRAS Y OBTENCIÓN DE SUERO

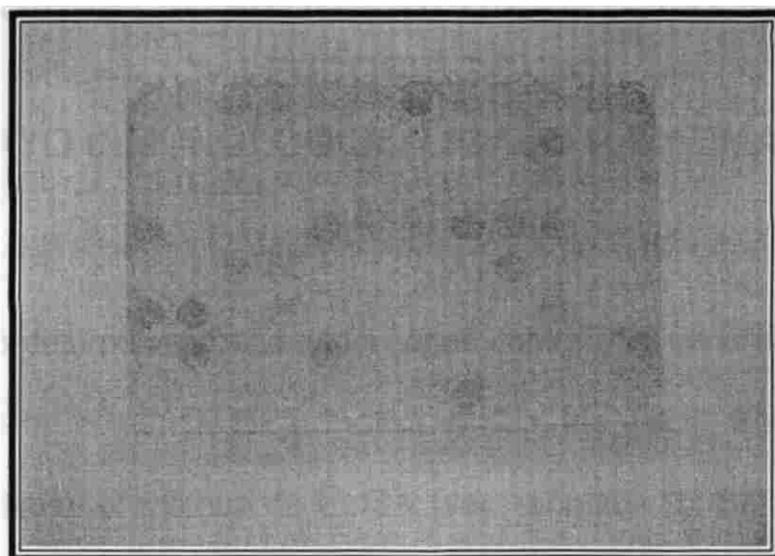
A partir de los bovinos se extrajo sangre venosa aproximadamente entre 3 y 5 ml a partir de la Vena Coccígea y en algunas ocasiones de la Vena Yugular empleando tubos al vacío (13 x 100) sin anticoagulante y agujas tipo "Vacutainer" calibre (21 x 1½). Para obtener el suero, la sangre, una vez extraída se dejó coagular a temperatura ambiente y se mantuvo en refrigeración hasta su arribo al laboratorio. Una vez coagulada la sangre, la muestra se centrifugó a 3,000 rpm x 15 minutos; extrayendo el suero mediante succión con pipetas Pasteur depositándose aproximadamente 2 ml en tubos para serología con capacidad de 3 ml. Previa identificación se almacenaron en congelación a -20°C hasta que se procedió a realizar las pruebas serológicas correspondientes. Todo el procedimiento descrito fue similar para ambos muestreos.

## **2.5 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Neospora caninum*.**

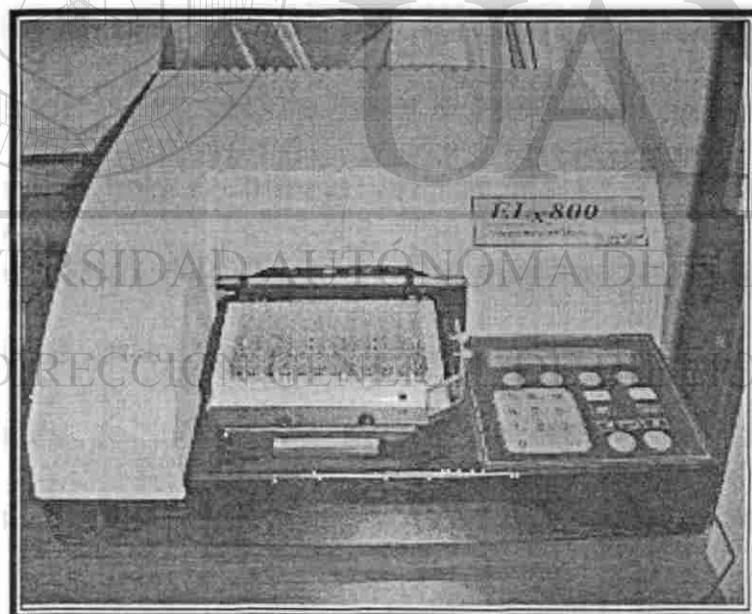
### **2.5.1 ENSAYO INMUNOLÓGICO LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA NEOSPOROSIS.**

Para la determinación de anticuerpos contra Neosporosis en el suero del animal se utilizó el estuche de diagnóstico comercial llamado “HerdChek *Neospora caninum* Antibody Test Kit”, de Laboratorios IDEXX , el cual se basa en el método de ELISA (Apéndice A). Primero se llevo a cabo la preparación de la solución de lavado, diluyendo el concentrado para lavado a una razón de 1:10 con agua destilada/deionizada. Posteriormente cada muestra de suero se diluyó a una razón de 1:100 con el diluyente para muestra (tampones con estabilizadores proteicos con Azida de Sodio como conservante). Una vez teniendo la solución de lavado preparada y las muestras diluidas se procedió a realizar la prueba. Se obtuvieron las placas y se registraron en una hoja de trabajo HerdChek , se colocaron 100µl de control negativo sin diluir en los pozos A1 Y A2 y 100µl de control positivo también sin dilución en los pozos A3 Y A4, después se agrego la muestra de suero diluida en cada pozo correspondiente de la placa y se incubo por 30 minutos a temperatura ambiente. Al finalizar los 30 minutos se aspiró el líquido de todos los pozos desechándolo en un recipiente apropiado. Posteriormente se lavo cada pozo 4 veces con aproximadamente 300µl de solución de lavado tamponada con fosfato, aspirando el líquido de todos los pozos después de cada lavado desechándolos en recipientes apropiados y golpeando la placa suavemente al finalizar el lavado para transferir el líquido residual a un material absorbente.

Posteriormente fueron agregados 100  $\mu$ l de conjugado anti-bovino (HRPO) en cada pozo y se incubo 30 minutos a temperatura ambiente, se volvió a aspirar el líquido, desechándolo en un recipiente apropiado y se repitieron los 4 lavados con el mismo procedimiento. Después se agrego 100  $\mu$ l de solución de substrato TMB en cada pozo de la placa y se incubo durante 15 minutos a temperatura ambiente. Por último al finalizar los 15 minutos se agrego 100  $\mu$ l de solución de interrupción (stop) en cada pozo de la placa para detener la reacción. Se midió y registró la absorbancia a 630nm en el Lector (figura 13) de cada muestra y se calcularon los resultados mediante la validación de un paquete computacional Xchek. Las lecturas se realizaron en doble muestra y también los resultados se calcularon en forma manual bajo la prueba de validación y de acuerdo al instructivo del estuche comercial de *Neospora caninum* (ver Apéndice A). En la figura 12 se muestra la seropositividad de algunas muestras contra *N. caninum*.



**Figura 12.** Placa mostrando seropositividad de algunas muestras contra *Neospora caninum*



**Figura 13.** Lector de ELISA ( ELX800 Universal Microplate Reader Lionheart Diagnostics)

## **2.6 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA.**

### **2.6.1 ENSAYO INMUNOLÓGICO LIGADO A ENZIMA (ELISA) PARA LEUCOSIS**

Para la determinación de anticuerpos contra VLB en el suero del animal, se utilizo el estuche comercial de la marca VMRD, Inc. (VLB, Bovine Leukosis virus Test Kit) mediante el método de ELISA (ver Apéndice B). Se preparo la solución de lavado diluyendo 20 ml de solución de lavado concentrada con 180ml de agua destilada / deionizada para crear 200ml de solución lista para usar. Posteriormente se preparo el conjugado (100X Anticuerpo-peroxidasa) diluyendo para 96 pozos 6µl del conjugado con 5.940ml de Buffer de dilución para el conjugado. Cada muestra se diluyó a una razón de 1:25 en Buffer (amortiguador) de dilución para muestra y Después se procedió a hacer la prueba. Se obtuvieron las placas y se registraron en una hoja de trabajo, en seguida se agregaron 50 µl de control negativo en los pozos A2Y A3, el control positivo en los pozos A4 Y A5 y las muestras diluidas en los pozos correspondientes. El pozo A1 se utilizo como blanco. Después se incubo 20 minutos a temperatura ambiente. Una vez cumplidos los 20 minutos se desecho el líquido en forma de canto y se lavo 3 veces con la solución de lavado y los respectivos golpes suaves en el último lavado para transferir el líquido residual al material absorbente. Posteriormente se agrego 50 µl del conjugado (100XAnticuerpo-peroxidasa) y se incubo 20 minutos a temperatura ambiente. Al finalizar los 20 minutos se repitieron los lavados con el mismo procedimiento. Después de los lavados se agrego 50 µl de solución

substrato y se incubo nuevamente 20 minutos a temperatura ambiente cubierta con aluminio. Y por último se agrego la solución de interrupción. Terminando el desarrollo de la técnica se procedió a leer las placas aplicando un nivel de absorbancia al lector de ELISA de 630nm y la interpretación de los resultados se obtuvieron bajo la prueba de validación del manual de guía del Kit comercial VMRD, Inc. (VLB) (Apéndice B). La Seropositividad de algunas muestras contra el VLB se muestra en la figura 14

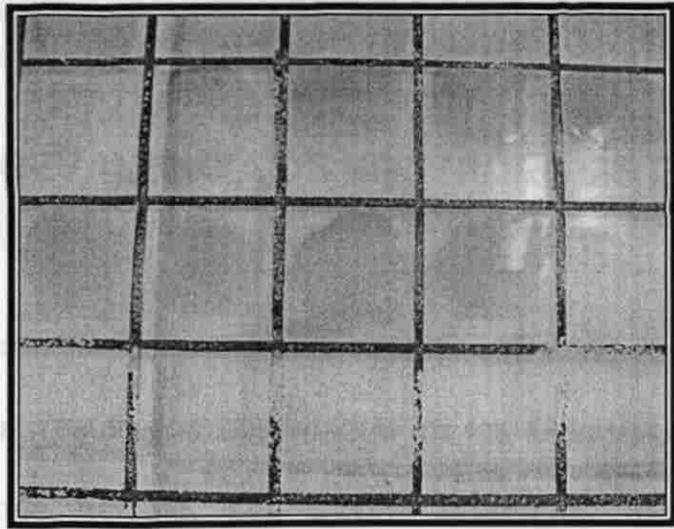


**Figura 14.** Placa mostrando seropositividad de algunas muestras contra el Virus de la Leucosis Bovina

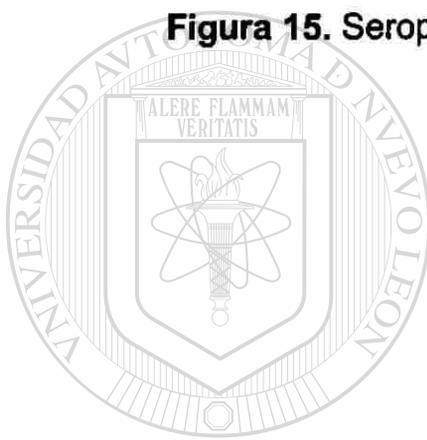
## 2.7 DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA BRUCELOSIS

### 2.7.1 MÉTODO DE TARJETA O ROSA DE BENGALA

Los sueros problema junto con el antígeno se mantuvieron antes de iniciar la prueba 50 minutos fuera de refrigeración para que alcanzaran la temperatura ambiente, posteriormente se colocaron 30µl de cada muestra en los cuadros de la placa de vidrio, utilizando una puntilla por cada muestra de suero. Después se colocó 30µl a un lado de cada gota de muestra dentro de la misma cuadrícula de la placa, agitando el frasco del antígeno antes de usarse. Inmediatamente se mezcló con palillos de madera, utilizando un palillo por muestra y se homogenizaron con una rotación manual suave de la placa. Transcurridos 2 minutos se homogenizó de nuevo y a los 4 minutos se realizaron las lecturas de las muestras en el aglutinoscopio. En el apéndice C se muestra más información sobre la prueba de tarjeta o Rosa de Bengala. La seropositividad a Brucelosis se muestra en la figura 15.



**Figura 15. Seropositividad contra Brucelosis**



UANL

## 2.8 DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA

Para determinar la seroprevalencia en los hatos estudiados se empleó la siguiente fórmula epidemiológica mediante el programa estadístico llamado Statistix, versión 1.0, 1996.

$$P = \frac{\text{N}^\circ \text{ seropositivos}}{\text{N}^\circ \text{ de muestreados}} \times 100$$

## CAPITULO 3

### RESULTADOS

#### 3.1 SEROPREVALENCIA DE NEOSPOROSIS EN EL ESTADO DE COAHUILA

Con referencia a la seroprevalencia en el Estado de Coahuila, en la Tabla 5 se muestran los resultados observados de los Municipios que se consideraron para el presente estudio. Los cuatro Municipios muestreados presentaron animales seropositivos a *N. caninum*. Hay que mencionar que la prevalencia presentó variación entre los cuatro Municipios.

Se observó una prevalencia del 26 % (10-41 I.C.) en San Buenaventura, mientras que en el Municipio de Candela fue de un 28 % (11-43 I.C.). En Saltillo el resultado que se obtuvo fue del 37 % (10-64 I.C.) y para el Municipio de Torreón un 61 % (50-71 I.C.) siendo un valor superior a los anteriores Municipios.

Asimismo en esta Tabla 1 se puede apreciar que de un total de 185 animales que fueron muestreados de los cuatro Municipios correspondientes al Estado de Coahuila, 84 resultaron positivos obteniéndose una seroprevalencia en ese Estado de un 45 % (37-52 I.C.).

**Tabla 5.** Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos lecheros de la raza Holstein-Friesian en 4 Municipios del Estado de Coahuila

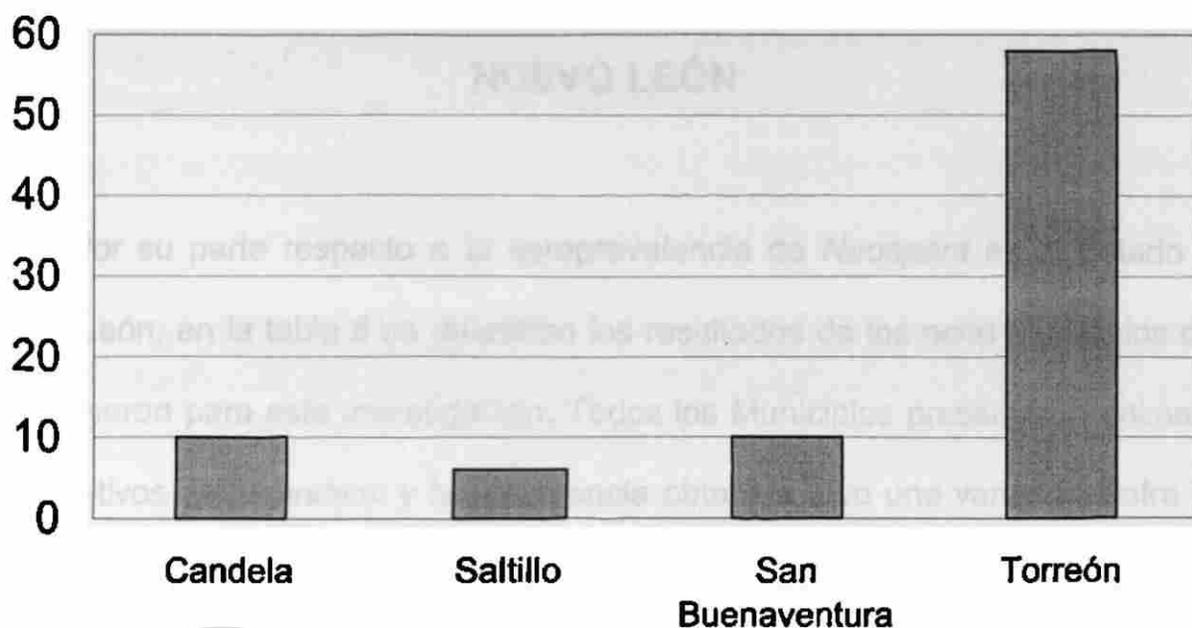
C O A H U I L A					
Municipio	Candela	Saltillo	San Buenaventura	Torreón	Total
Animales Muestreados	36	16	38	95	185
Positivos	10	6	10	58	84
Negativos	26	10	28	37	101
Prevalencia	28	37	26	61	45
I.C. 95%	11-43	10-64	10-41	50-71	37-52

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

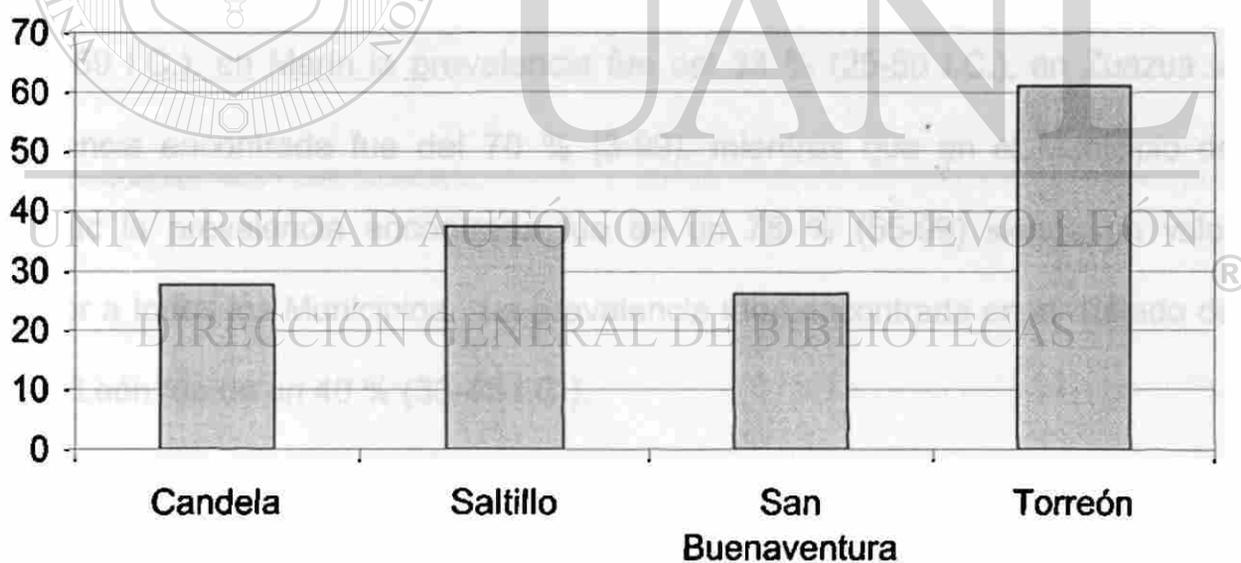
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La figura 16 muestra la cantidad de animales seropositivos para cada uno de los cuatro Municipios, observándose a Torreón como el Municipio que presenta un mayor número con 58, mientras que Saltillo solo con 6. En la figura 17 por otro lado se representa en forma de barras el porcentaje de la prevalencia en comparación para los cuatro Municipios donde el Municipio de Torreón se mantiene como el de mayor prevalencia, mientras que el Municipio de San Buenaventura como el de más baja prevalencia.



**Figura 16.** Número de animales seropositivos en los Municipios muestreados en el Estado de Coahuila.



**Figura 17.** Prevalencia de Neosporosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Coahuila.

### 3.2 SEROPREVALENCIA DE NEOSPOROSIS EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN

Por su parte respecto a la seroprevalencia de *Neospora* en el Estado de Nuevo León, en la tabla 6 se muestran los resultados de los ocho Municipios que se incluyeron para esta investigación. Todos los Municipios presentaron animales seropositivos a *N. caninum* y la prevalencia obtenida tuvo una variación entre los Municipios. Los Municipios de Linares y Pesquería son ganado de carne.

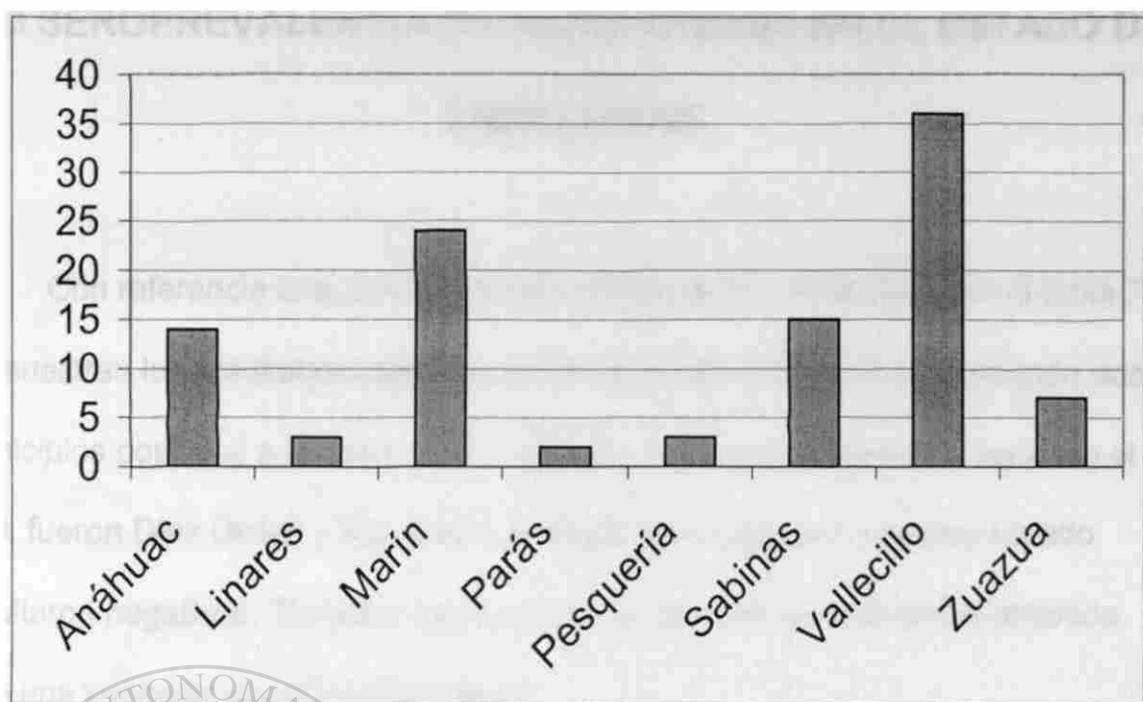
La prevalencia encontrada en Linares fue del 10 % (2-23 I.C.) al igual que en Pesquería que también fue de un 10 % (2-22 I.C.), en Sabinas se observó una prevalencia del 39 % (22-56 I.C.), en el Municipio de Paras se observó una prevalencia del 20 % (9-49 I.C.), en Vallecillo el resultado que se obtuvo fue del 56 % (43-69 I.C.), en Marín la prevalencia fue del 38 % (25-50 I.C.), en Zuazua la prevalencia encontrada fue del 70 % (3-99), mientras que en el Municipio de Anáhuac la prevalencia encontrada fue de un 78 % (55-99) siendo un valor superior a todos los Municipios. La prevalencia total encontrada en el Estado de Nuevo León fue de un 40 % (33-45 I.C.).

**Tabla 6.** Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos lecheros de la raza Holstein-Friesian en 6 Municipios ( Anáhuac, Marín, Paras, Sabinas, Vallecillo y Zuazua ) y bovinos de carne de la raza Charolais en 2 Municipios (Linares y Pesquería).

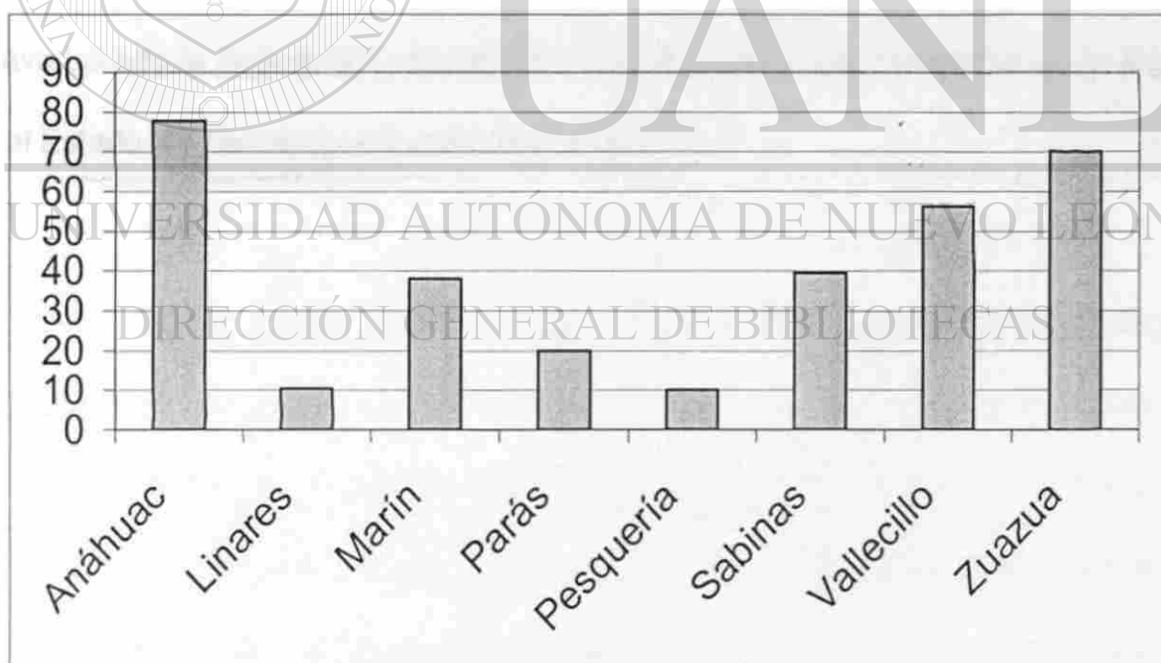
NUEVO LEÓN									
Municipio	Anáhuac	Linares	Marín	Paras	Pesquería	Sabinas	Vallecillo	Zuazua	Total
Animales Muestreados	18	29	63	10	30	38	64	10	262
Positivos	14	3	24	2	3	15	36	7	104
Negativos	4	26	39	8	27	23	28	3	158
Prevalencia	78	10	38	20	10	39	56	70	40
I.C. 95%	55-99	2-23	25-50	9-49	2-22	22-56	43-69	3-99	33-45

### DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

En la figura 18 se observan los animales seropositivos para cada uno de los ocho Municipios, en el cual Vallecillo fue el Municipio con un mayor número de animales positivos con 36 y el Municipio de Paras fue el que tuvo un menor número de animales positivos con 2. En la figura 19 se observa el porcentaje de la prevalencia en comparación para los ocho Municipios donde podemos observar que el Municipio de Anáhuac es el de mayor prevalencia, mientras que los Municipios de Linares y Pesquería son los de más baja prevalencia.



**Figura 18.** Número de animales seropositivos en los Municipios muestreados en el Estado de Nuevo León.



**Figura 19.** Prevalencia de Neosporosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Nuevo León

### 3.3 SEROPREVALENCIA DE NEOSPOROSIS EN EL ESTADO DE TAMAULIPAS

Con referencia a la prevalencia en el Estado de Tamaulipas, en la tabla 7 se muestran los resultados observados de los cuatro Municipios, resultando dos Municipios positivos a la prueba para detectar anticuerpos contra *N. caninum* el cual fueron Díaz Ordaz y Río Bravo, mientras que Guerrero y Nuevo Laredo resultaron negativos. También hay que mencionar que la prevalencia obtenida tuvo una variación entre los Municipios.

Se observó una prevalencia del 38 % (22-53 I.C.) en el Municipio de Río Bravo siendo superior a las demás prevalencias, mientras que en Díaz Ordaz la prevalencia fue de 24 % (6-41 I.C.). por otra parte los Municipios de Guerrero y Nuevo Laredo la prevalencia encontrada fue de 0. La prevalencia total encontrada en el Estado de Tamaulipas fue de 16 % (9-22 I.C.).

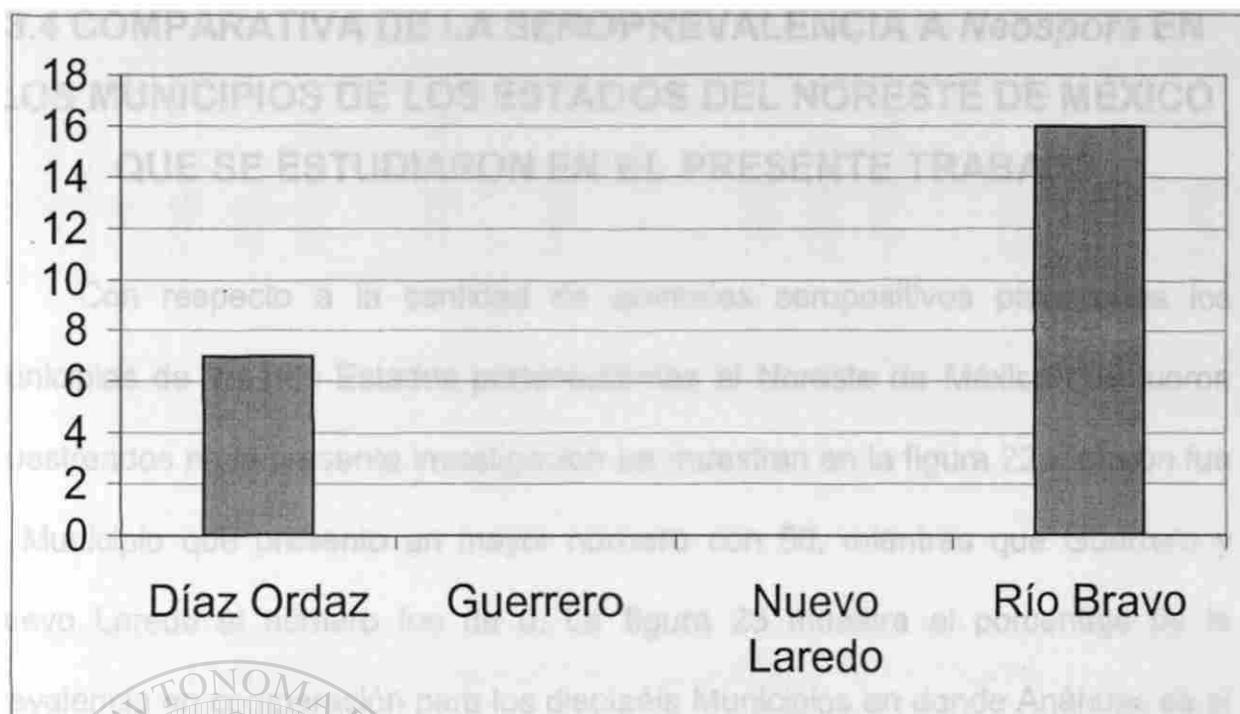
**Tabla 7. Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en Bovinos lecheros de la raza Holstein-Friesian en 4 Municipios del Estado de Tamaulipas, siendo 17 bovinos criollos en el Municipio de Nuevo Laredo**

T A M A U L I P A S					
Municipio	Díaz Ordaz	Guerrero	Nuevo Laredo	Río Bravo	Total
Animales Muestreados	29	36	37	42	144
Positivos	7	0	0	16	23
Negativos	22	36	37	26	121
Prevalencia	24	0	0	38	16
I.C. 95%	6-41	-	-	22-53	9-22

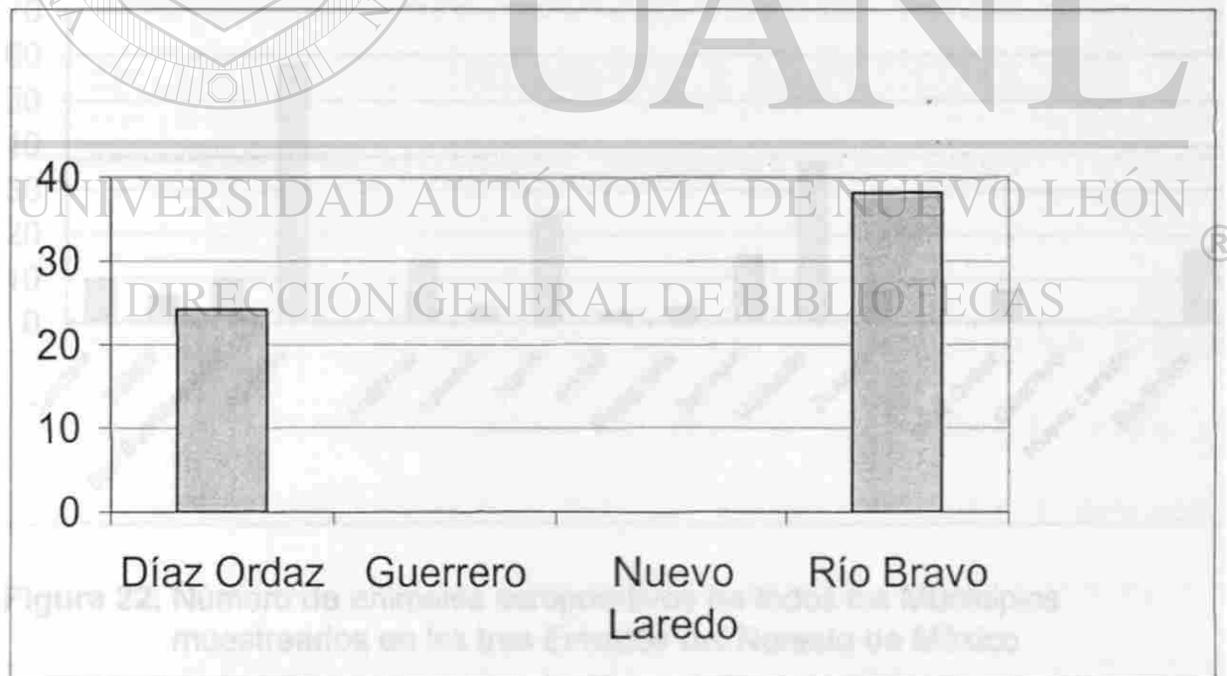
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

En la figura 20 se observan los animales seropositivos para cada uno de los cuatro Municipios, en el cual Río Bravo presenta un mayor número de animales positivos con 16, mientras que en Díaz Ordaz los animales positivos son 7. La figura 21 muestra la prevalencia en comparación para los cuatro Municipios donde el Municipio de Río Bravo mantiene una prevalencia mayor que los demás, siendo Guerrero y Nuevo Laredo las más bajas con 0.



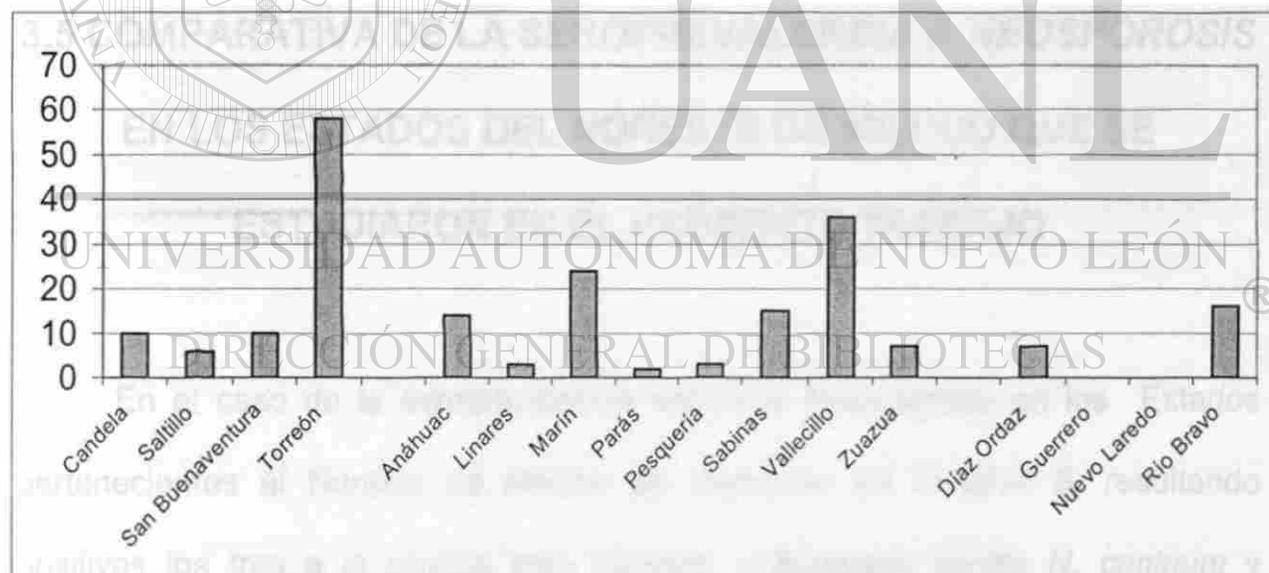
**Figura 20.** Número de animales seropositivos en los Municipios muestreados en el Estado de Tamaulipas.



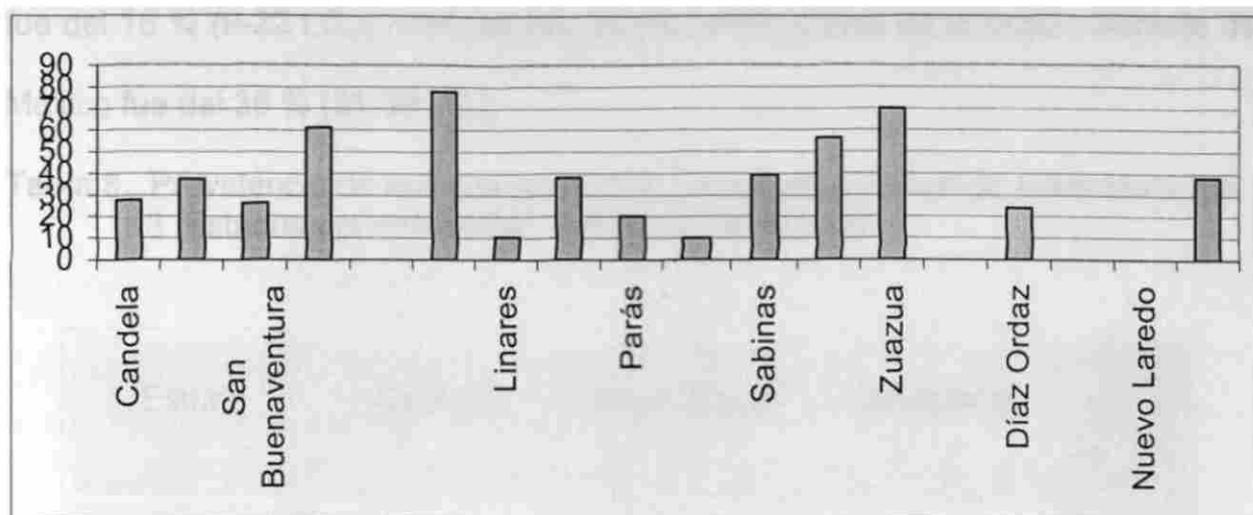
**Figura 21.** Prevalencia de Neosporosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Tamaulipas.

### 3.4 COMPARATIVA DE LA SEROPREVALENCIA A *Neospora* EN LOS MUNICIPIOS DE LOS ESTADOS DEL NORESTE DE MÉXICO QUE SE ESTUDIARON EN EL PRESENTE TRABAJO

Con respecto a la cantidad de animales seropositivos para todos los Municipios de los tres Estados pertenecientes al Noreste de México que fueron muestreados en la presente investigación se muestran en la figura 22. Torreón fue el Municipio que presentó un mayor número con 58, mientras que Guerrero y Nuevo Laredo el número fue de 0. La figura 23 muestra el porcentaje de la prevalencia en comparación para los dieciséis Municipios en donde Anáhuac es el Municipio de mayor prevalencia, mientras que Guerrero y Nuevo Laredo se mantienen con la más baja con 0.



**Figura 22.** Número de animales seropositivos en todos los Municipios muestreados en los tres Estados del Noreste de México.



**Figura 23.** Prevalencia de Neosporosis en los animales de todos los Municipios muestreados en los tres Estados del Noreste de México.

### 3.5 COMPARATIVA DE LA SEROPREVALENCIA A *NEOSPOROSIS* EN LOS ESTADOS DEL NORESTE DE MÉXICO QUE SE ESTUDIARON EN EL PRESENTE TRABAJO

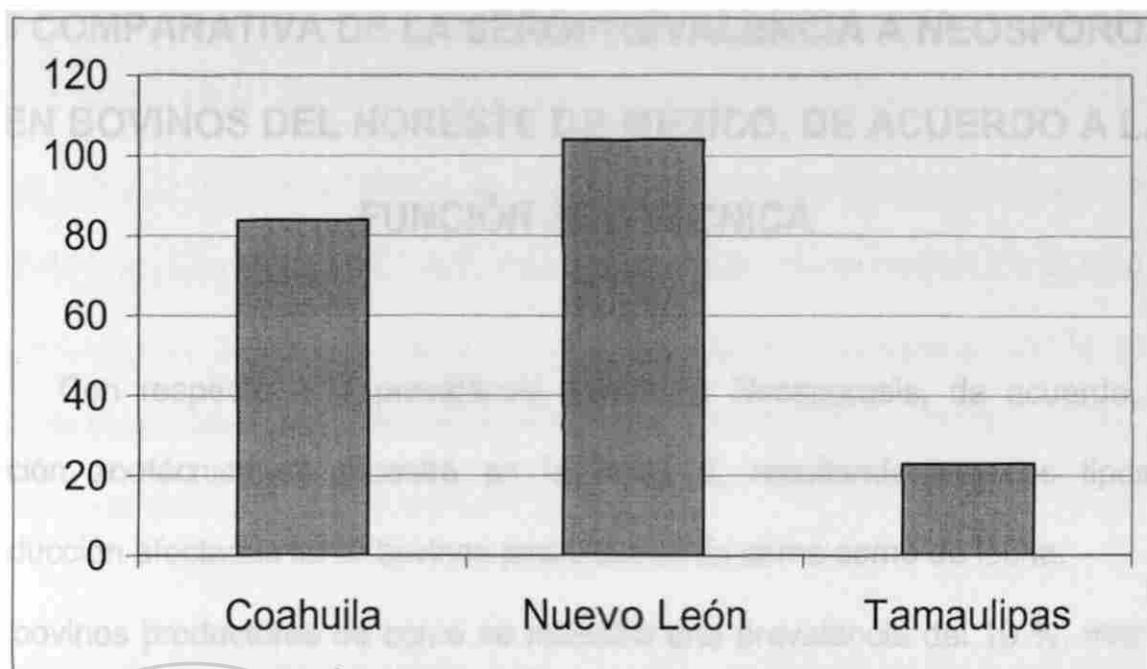
En el caso de la seroprevalencia contra la Neosporosis en los Estados pertenecientes al Noreste de México se muestran en la tabla 8, resultando positivos los tres a la prueba para detectar anticuerpos contra *N. caninum* y también con una variación en cuanto a la prevalencia obtenida entre los tres Estados. En el Estado de Coahuila se observó una prevalencia del 45 % (37-52 I.C.) siendo un valor superior a los demás Estados, en el Estado de Nuevo León se observó una prevalencia del 40 % (33-45 I.C.) y en Tamaulipas la prevalencia

fue del 16 % (9-22 I.C.), mientras que la prevalencia total de la región Noreste de México fue del 36 % (31-39 I.C.).

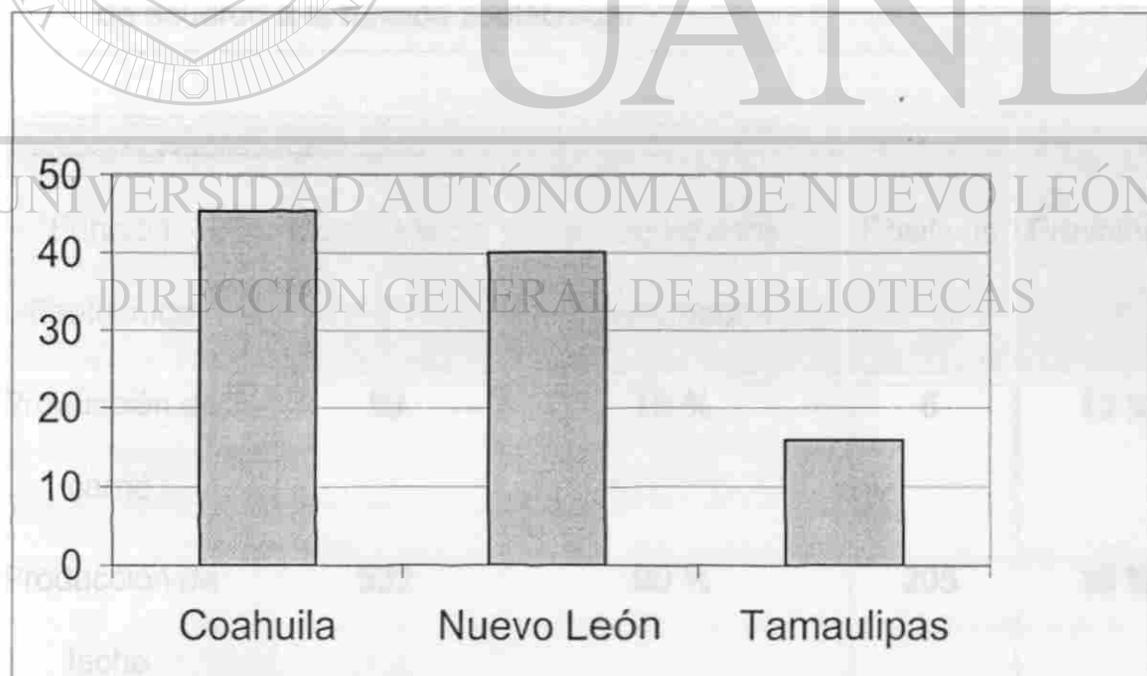
**Tabla 8.** Prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos de los 3 Estados pertenecientes al Noreste de México

Estado	Coahuila	Nuevo León	Tamaulipas	Total
Animales Muestreados	185	262	144	591
Positivos	84	104	23	211
Negativos	101	158	121	380
Prevalencia	45	40	16	36
I.C. 95%	37-52	33-45	9-22	31-39

La figura 24 muestra la cantidad de animales seropositivos para cada uno de los tres Estados, en donde el Estado de Nuevo León presenta un mayor número de animales positivos con 104, mientras que el Estado de Tamaulipas presenta un menor número con 23. La figura 25 presenta el porcentaje de la prevalencia en comparación para los tres Estados, siendo el Estado de Coahuila el más afectado con mayor prevalencia mientras que el Estado de Tamaulipas es el menos afectado.



**Figura 24.** Número de animales seropositivos en los tres Estados del Noreste de México.



**Figura 25.** Prevalencia de Neosporosis en los animales de los tres Estados del Noreste de México.

### 3.6 COMPARATIVA DE LA SEROPREVALENCIA A NEOSPOROSIS EN BOVINOS DEL NORESTE DE MÉXICO, DE ACUERDO A LA FUNCIÓN ZOOTÉCNICA

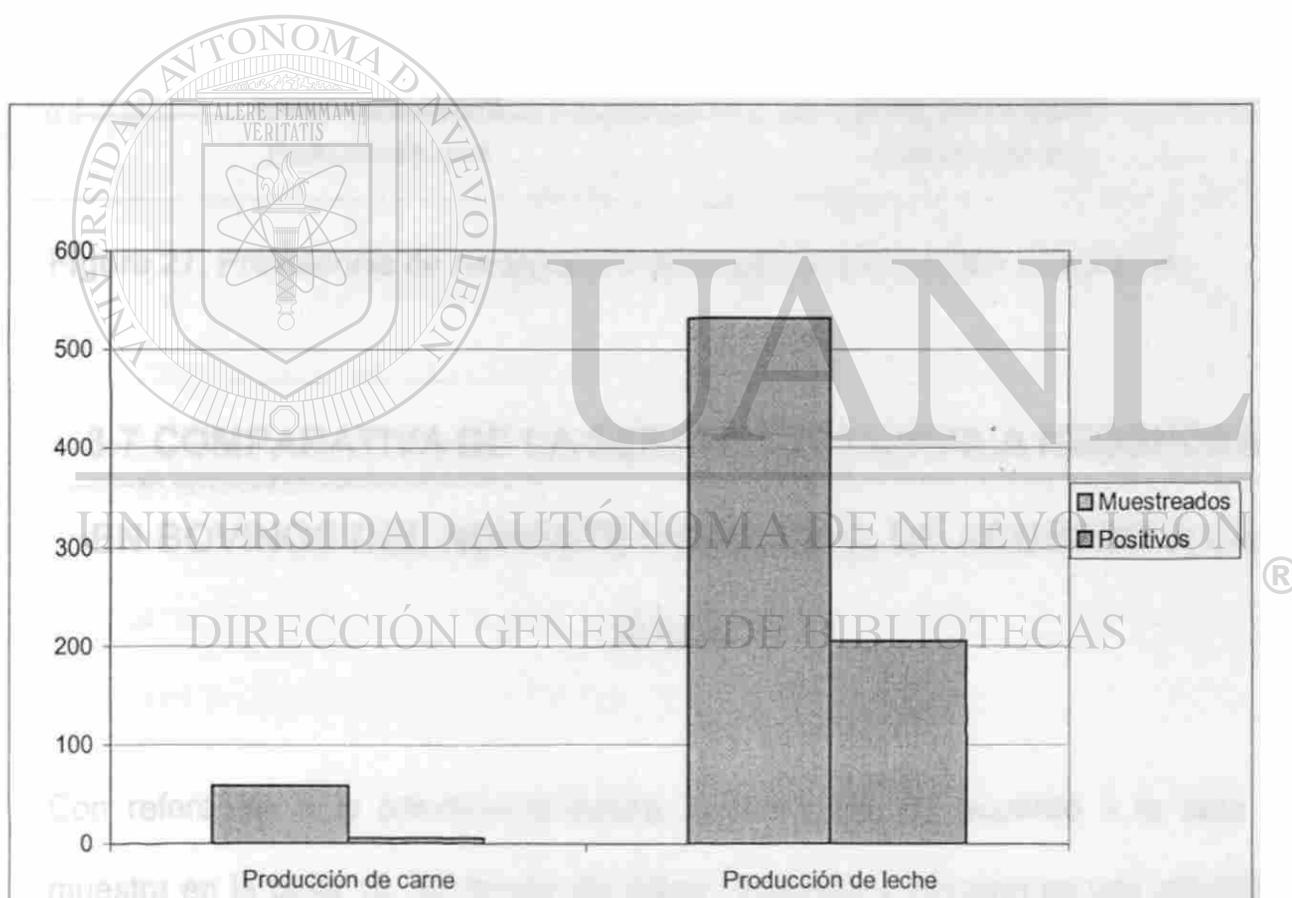
Con respecto a la prevalencia contra la Neosporosis, de acuerdo a la función zootécnica se muestra en la tabla 9, resultando los dos tipos de producción afectados tanto bovinos productores de carne como de leche.

En bovinos productores de carne se muestra una prevalencia del 10 %, mientras que en bovinos productores de leche la prevalencia es del 39 % con un total de prevalencia del 36 %.

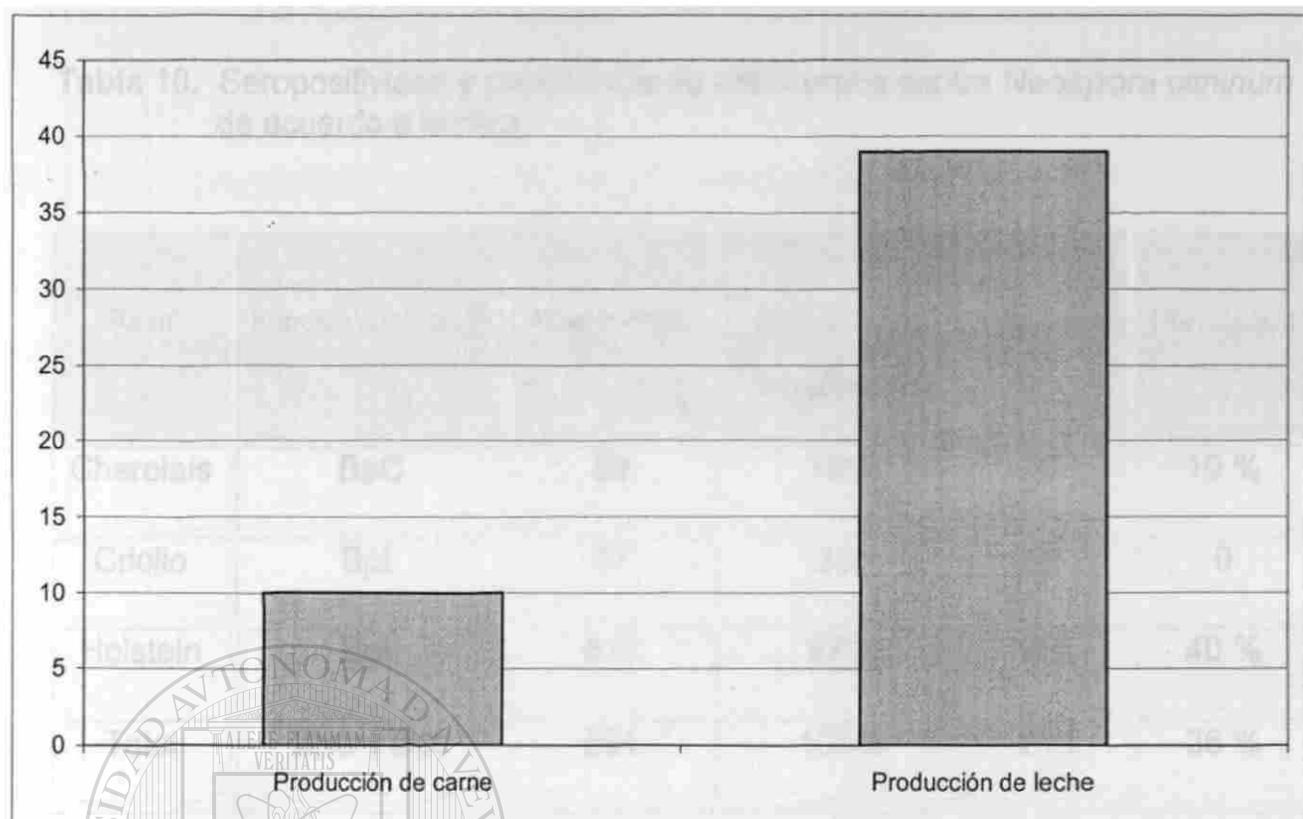
**Tabla 9.** Seropositividad y prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* de acuerdo a la función zootécnica.

Función Zootécnica	Muestreados	% de bovinos muestreados	Positivos	Prevalencia
Producción de carne	59	10 %	6	10 %
Producción de leche	532	90 %	205	39 %
Total	591	100 %	211	36 %

La figura 26 muestra la cantidad de animales seropositivos a Neosporosis para ambas formas de producción, observándose a los bovinos productores de leche con 205 bovinos positivos de 532 animales muestreados, mientras que los bovinos productores de carne con 6 bovinos positivos de 59 muestreados. En la figura 27 se presenta la prevalencia para las dos formas de producción donde en los bovinos productores de leche se observa una prevalencia de 39 % y en bovinos productores de carne una prevalencia de 10 %.



**Figura 26.** Número de animales seropositivos a Neosporosis de acuerdo a la función zootécnica.



**Figura 27.** Prevalencia de Neosporosis de acuerdo a la función zootécnica.

### **3.7 COMPARATIVA DE LA SEROPREVALENCIA A NEOSPORA**

#### **EN BOVINOS DEL NORESTE DE MÉXICO, DE ACUERDO A LA**

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

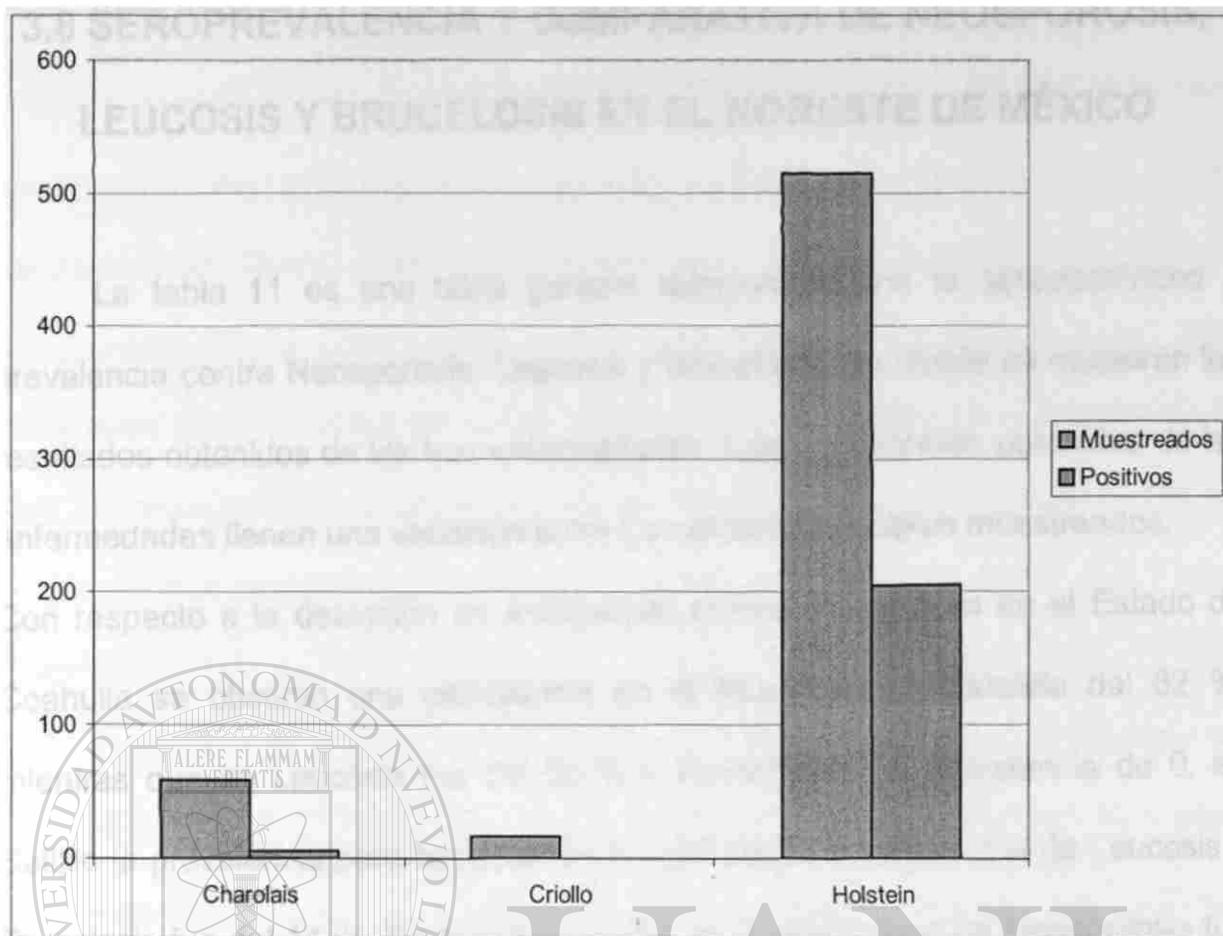
Con referencia a la prevalencia contra Neosporosis, de acuerdo a la raza se muestra en la tabla 10, en donde las razas Charolais y Holstein se ven afectadas mientras que los bovinos Criollos resultaron negativos.

La raza Charolais muestra una prevalencia del 10 %, la raza Holstein muestra una prevalencia del 40 % y los bovinos Criollos la prevalencia es de 0 con un total de prevalencia del 36 %.

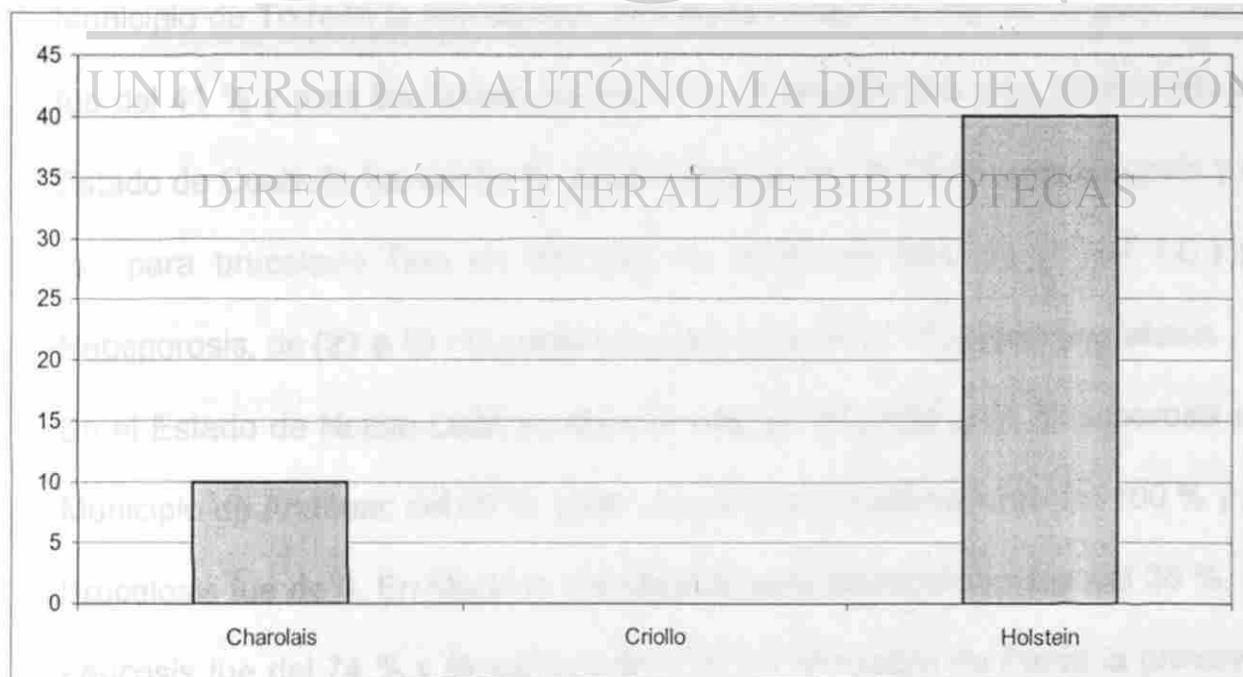
**Tabla 10. Seropositividad y prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* de acuerdo a la raza**

Raza	Funcion zootécnica	Muestreados	% de bovinos muestreados	Positivos	Prevalencia
Charolais	BpC	59	10%	6	10 %
Criollo	BpL	17	3%	0	0
Holstein	BpL	515	87%	205	40 %
Total	BpC y BpL	591	100%	211	36 %

La figura 28 muestra la cantidad de animales seropositivos para las tres razas muestreadas donde la raza Holstein mostró 205 bovinos positivos de 515 animales muestreados, la raza Charolais se observan 6 positivos de 59 y animales criollos ningún animal positivo de 17. La figura 29 muestra la prevalencia de las tres razas, observándose a la raza Holstein con una prevalencia de 40 %, la raza Charolais la prevalencia fue de 10 % y animales criollos con 0.



**Figura 28.** Número de animales seropositivos a Neosporosis de acuerdo a la raza.



**Figura 29.** Prevalencia de Neosporosis de acuerdo a la raza.

### 3.8 SEROPREVALENCIA Y COMPARATIVA DE NEOSPOROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELOSIS EN EL NORESTE DE MÉXICO

La tabla 11 es una tabla general relacionada con la seropositividad y prevalencia contra Neosporosis, Leucosis y Brucelosis, en donde se muestran los resultados obtenidos de las tres enfermedades. Las prevalencias obtenidas de las enfermedades tienen una variación entre los catorce Municipios muestreados.

Con respecto a la detección de anticuerpos contra *N. caninum* en el Estado de Coahuila se observo una prevalencia en el Municipio de Candela del 62 %, mientras que de Leucosis fue del 50 % y Brucelosis una prevalencia de 0. en Saltillo la prevalencia para Neosporosis fue del 55 %, mientras que de Leucosis y Brucelosis fue del 11 %. En San Buenaventura la prevalencia de Neosporosis fue del 50 %, de Leucosis fue del 30 % y para Brucelosis fue de 0. por ultimo en el Municipio de Torreón la prevalencia para Neosporosis fue del 52 %, para Leucosis fue del 41 % y para Brucelosis fue del 7 %. La prevalencia total encontrada en el Estado de Coahuila fue del 54 % para Neosporosis, de 35 % para Leucosis y de 5 % para brucelosis Con un intervalo de confianza total de (39-67 I.C.) para Neosporosis, de (21 a 48 I.C.) para Leucosis y de (1-12 I.C.) para Brucelosis.

En el Estado de Nuevo León se observo una prevalencia para Neosporosis en el Municipio de Anáhuac del 60 %, para Leucosis la prevalencia fue del 100 % y para Brucelosis fue de 0. En Marín la prevalencia para Neosporosis fue del 38 %, para Leucosis fue del 74 % y Brucelosis de 0. En el Municipio de Paras la prevalencia para Neosporosis y Leucosis fue del 20 %, mientras que para Brucelosis fue del

40 %. En Sabinas hubo una prevalencia del 50 % para Neosporosis, un 5 % para Leucosis y un 15 % para Brucelosis. En Vallecillo la prevalencia fue del 20 % para Neosporosis, mientras que para Leucosis y Brucelosis fue de 0. El último Municipio para Nuevo León fue Zuazua con una prevalencia del 60 % para Neosporosis, 80 % para Leucosis y 0 para Brucelosis. La prevalencia total encontrada para el Estado de Nuevo León fue del 39 % para Neosporosis, 52 % para Leucosis y 6 % para Brucelosis con un intervalo de confianza total de (29-48 I.C.) para Neosporosis, de (42-61 I.C.) para Leucosis y de (1-11 I.C.) para Brucelosis.

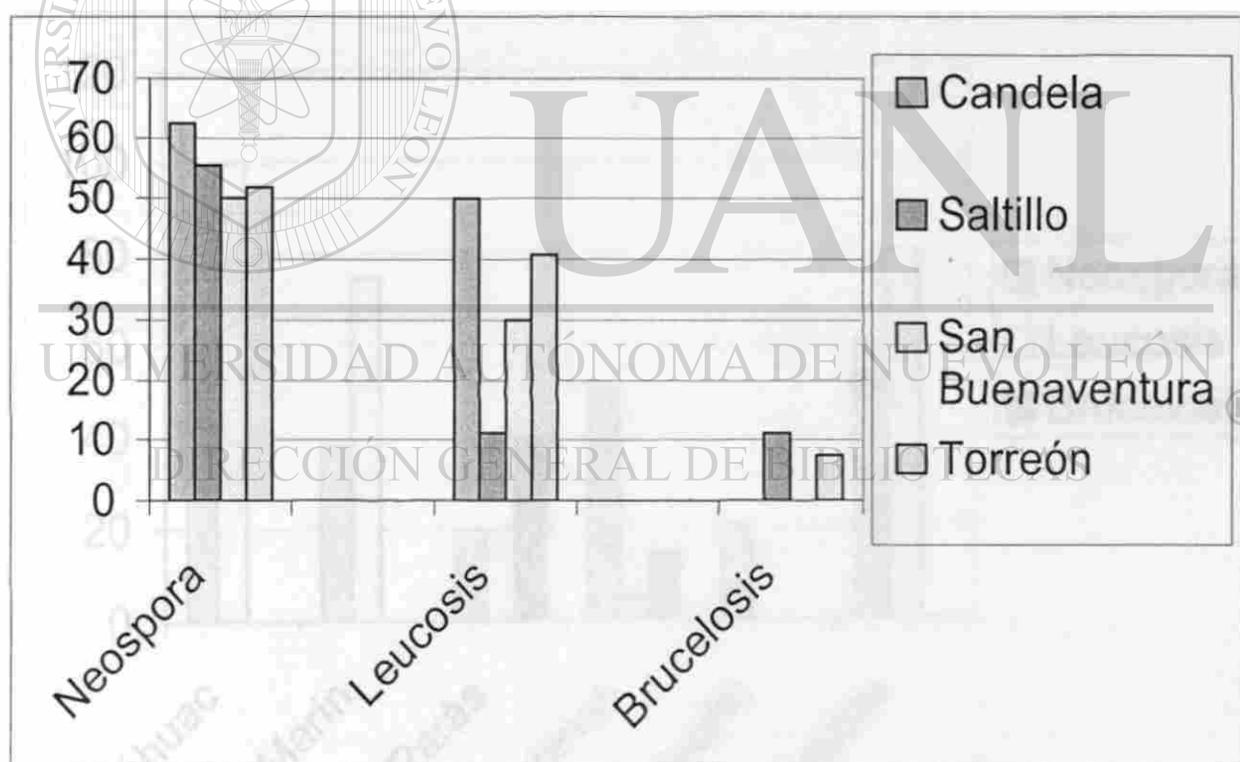
Con respecto a Tamaulipas la prevalencia encontrada para Neosporosis en el Municipio de Díaz Ordaz fue del 24 %, para Leucosis fue del 21 % y para Brucelosis fue de 0. En Guerrero la prevalencia para Neosporosis y Leucosis fue de 0, mientras que para Brucelosis fue del 17 %. En Nuevo Laredo hubo una prevalencia de 0 para las tres enfermedades, mientras que en Río Bravo la prevalencia encontrada para Neosporosis fue del 38 %, para Leucosis fue del 31 % y para Brucelosis fue de 0. En el Estado de Tamaulipas la prevalencia total encontrada para Neosporosis fue del 21 %, para Leucosis fue del 18 % y para Brucelosis fue del 2 % con un intervalo de confianza total de (13-29 I.C.) para Neosporosis, de (10-25 I.C.) para Leucosis y de (1-4 I.C.) para Brucelosis. Por otro lado podemos mencionar que en forma global para el Noreste de México, según los datos recabados en los Estados (Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas) se observó una prevalencia del 35% para Neosporosis con un intervalo de confianza de (29-40 I.C.), un 35% para Leucosis con un intervalo de confianza de

(29-41 I.C.) y de solo un 4.3% para Brucelosis con un intervalo de confianza de (1-6 I.C.).

**Tabla 11. Seropositividad y Prevalencia de anticuerpos contra Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en bovinos lecheros de la raza Holstein-Friesian en 14 Municipios pertenecientes a los 3 Estados del Noreste de México**

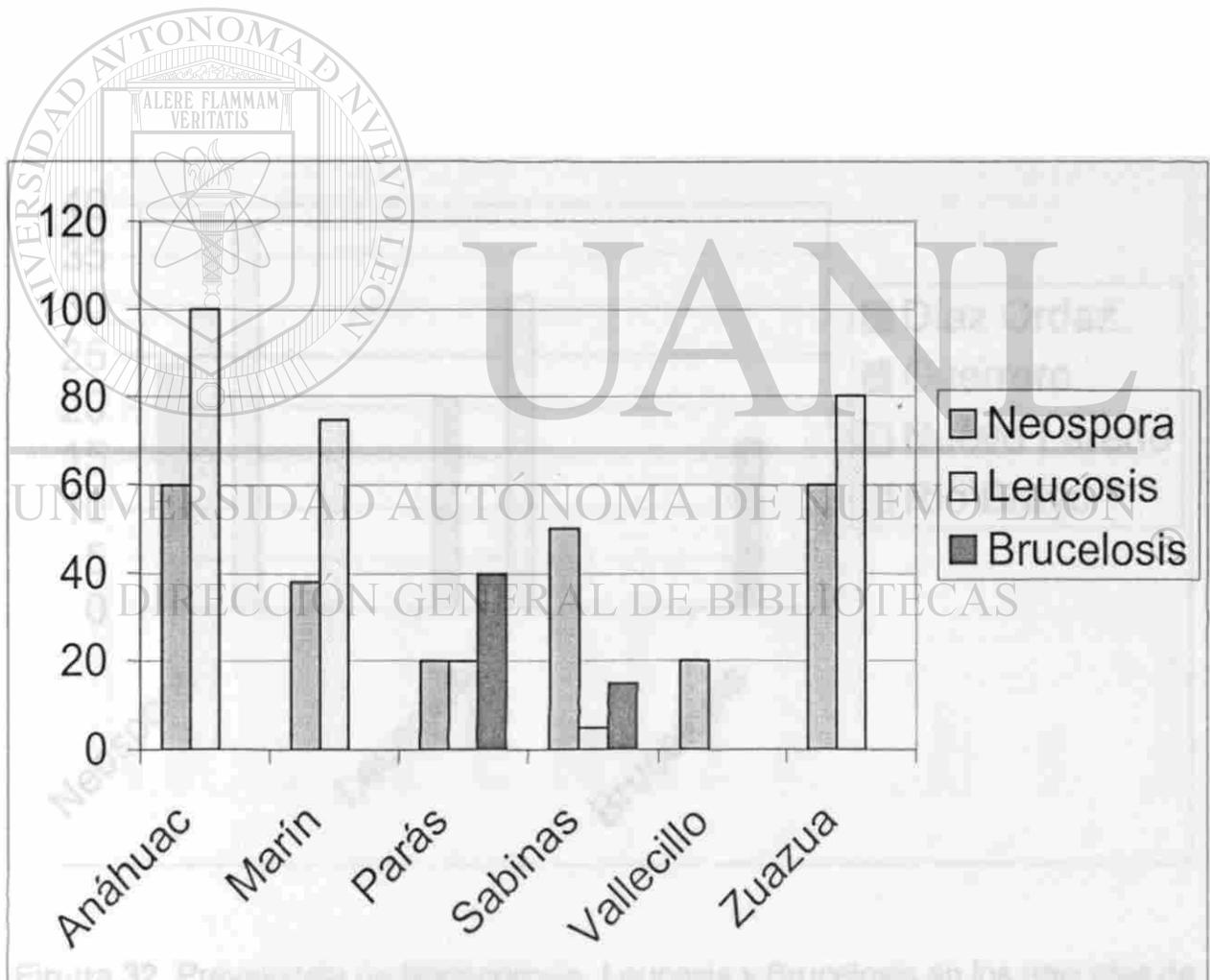
Enfermedad	Neosporosis		Leucosis		Brucelosis		
<b>C O A H U I L A</b>							
Municipio	Animales Muestreados	Positivos	Prevalencia	Positivos	Prevalencia	Positivos	Prevalencia
Candela	8	5	62	4	50	0	0
Saltillo	9	5	55	1	11	1	11
San Buenaventura	10	5	50	3	30	0	0
Torreón	27	14	52	11	41	2	7
<b>TOTAL</b>	<b>54</b>	<b>29</b>	<b>54 (39-67)</b>	<b>19</b>	<b>35 (21-48)</b>	<b>3</b>	<b>5 (1-12)</b>
<b>N U E V O L E Ó N</b>							
Anahuac	5	3	60	5	100	0	0
Marín	63	24	38	47	74	0	0
Paras	10	2	20	2	20	4	40
Sabinas	20	10	50	1	5	3	15
Vallecillo	10	2	20	0	0	0	0
Zuazua	5	3	60	4	80	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>113</b>	<b>44</b>	<b>39 (29-48)</b>	<b>59</b>	<b>52 (42-61)</b>	<b>7</b>	<b>6 (1-11)</b>
<b>T A M A U L I P A S</b>							
Díaz Ordaz	29	7	24	6	21	0	0
Guerrero	12	0	0	0	0	2	17
Nuevo Laredo	24	0	0	0	0	0	0
Río Bravo	42	16	38	13	31	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>107</b>	<b>23</b>	<b>21 (13-29)</b>	<b>19</b>	<b>18 (10-25)</b>	<b>2</b>	<b>2 (1-4)</b>

La figura 30 muestra el porcentaje de la prevalencia de las tres enfermedades en comparación para los cuatro Municipios de Coahuila. Con respecto a Neosporosis la prevalencia más alta fue en el Municipio de Candela, mientras que la más baja se presentó en el Municipio de San Buenaventura. Para Leucosis la prevalencia más alta fue en el Municipio de Candela y la prevalencia más baja fue en el Municipio de Saltillo. La prevalencia más alta para Brucelosis fue en el Municipio de Saltillo, mientras que la prevalencia más baja se presentó en los Municipios de Candela y San Buenaventura con 0.



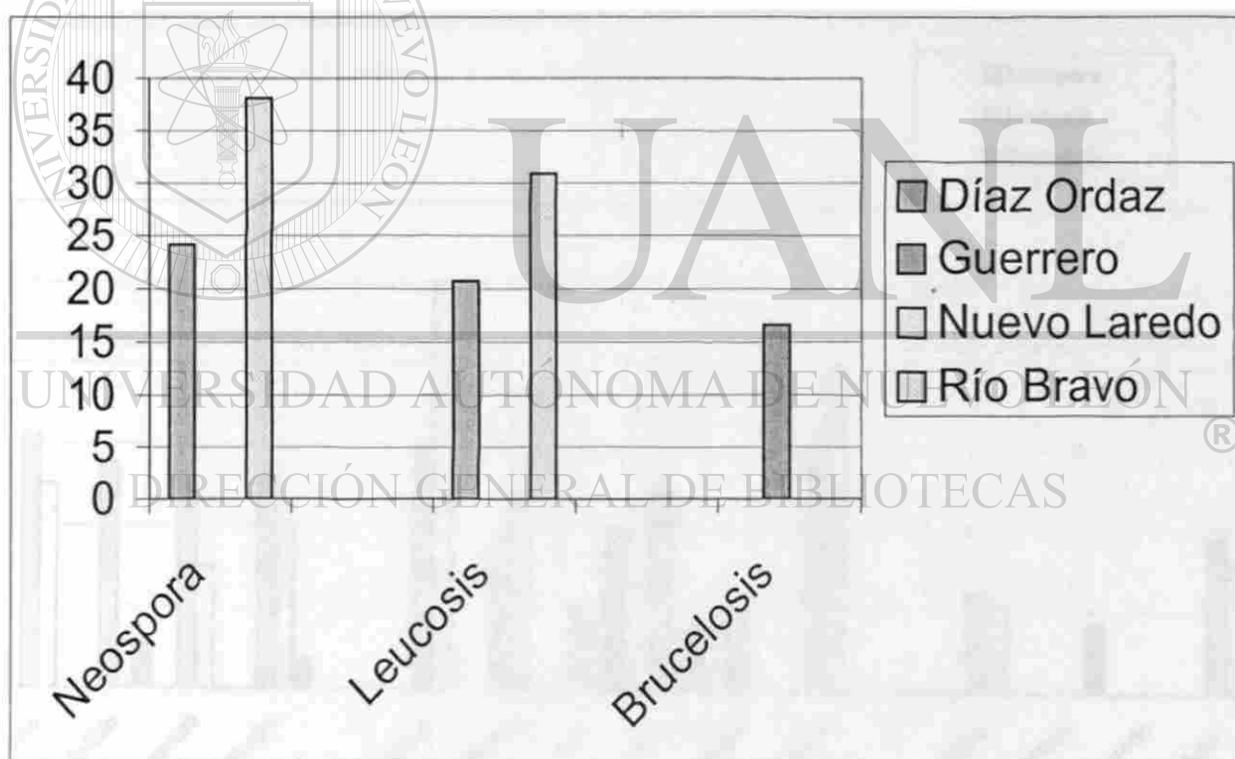
**Figura 30.** Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Coahuila.

En la figura 31 se muestra el porcentaje de la prevalencia de las tres enfermedades en comparación para los seis Municipios de Nuevo León. En cuanto a Neosporosis la prevalencia más alta fue en los Municipios de Anáhuac y Zuazua, mientras que los Municipios con más baja prevalencia fueron Parás y Vallecillo. Para Leucosis la prevalencia más alta fue en el Municipio de Anáhuac y la prevalencia más baja fue en el Municipio de Vallecillo con 0. Con respecto a Brucelosis la prevalencia más alta fue en el Municipio de Parás, mientras que la más baja fue en los Municipios de Anáhuac, Marín, Vallecillo y Zuazua con 0.



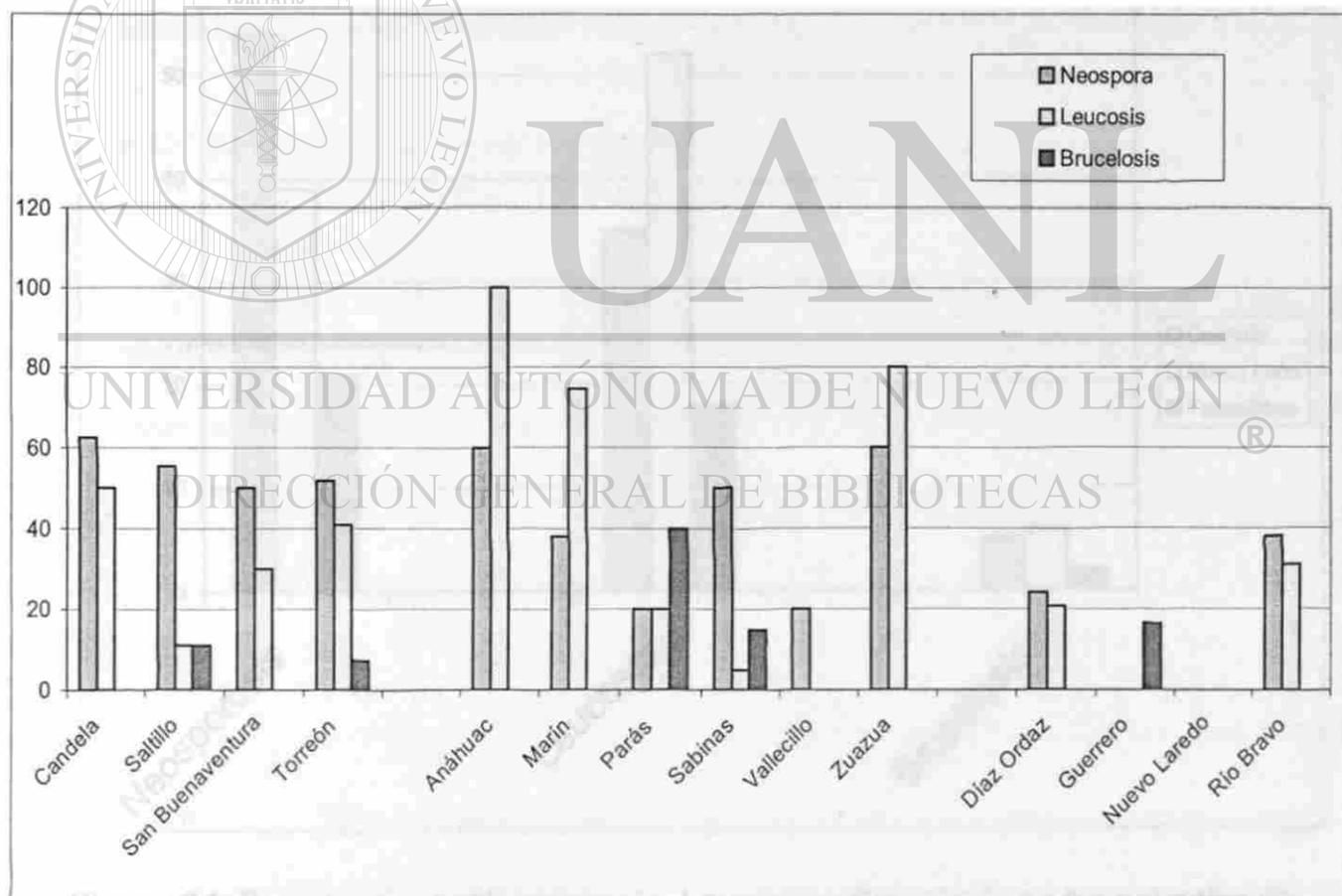
**Figura 31.** Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Nuevo León.

En la figura 32 se observa el porcentaje de la prevalencia de las tres enfermedades en comparación para los cuatro Municipios de Tamaulipas. Para Neosporosis la prevalencia más alta se encontró en el Municipio de Río Bravo y en cuanto a la prevalencia más baja se encontró en los Municipios de Guerrero y Nuevo Laredo con 0. La prevalencia más alta para Leucosis se encontró en el Municipio de Río Bravo, mientras que las prevalencias más bajas fueron en Guerrero y Nuevo Laredo con 0. Con respecto a Brucelosis solamente en un Municipio se encontró anticuerpos contra *Brucella spp.* el cual fue Guerrero.



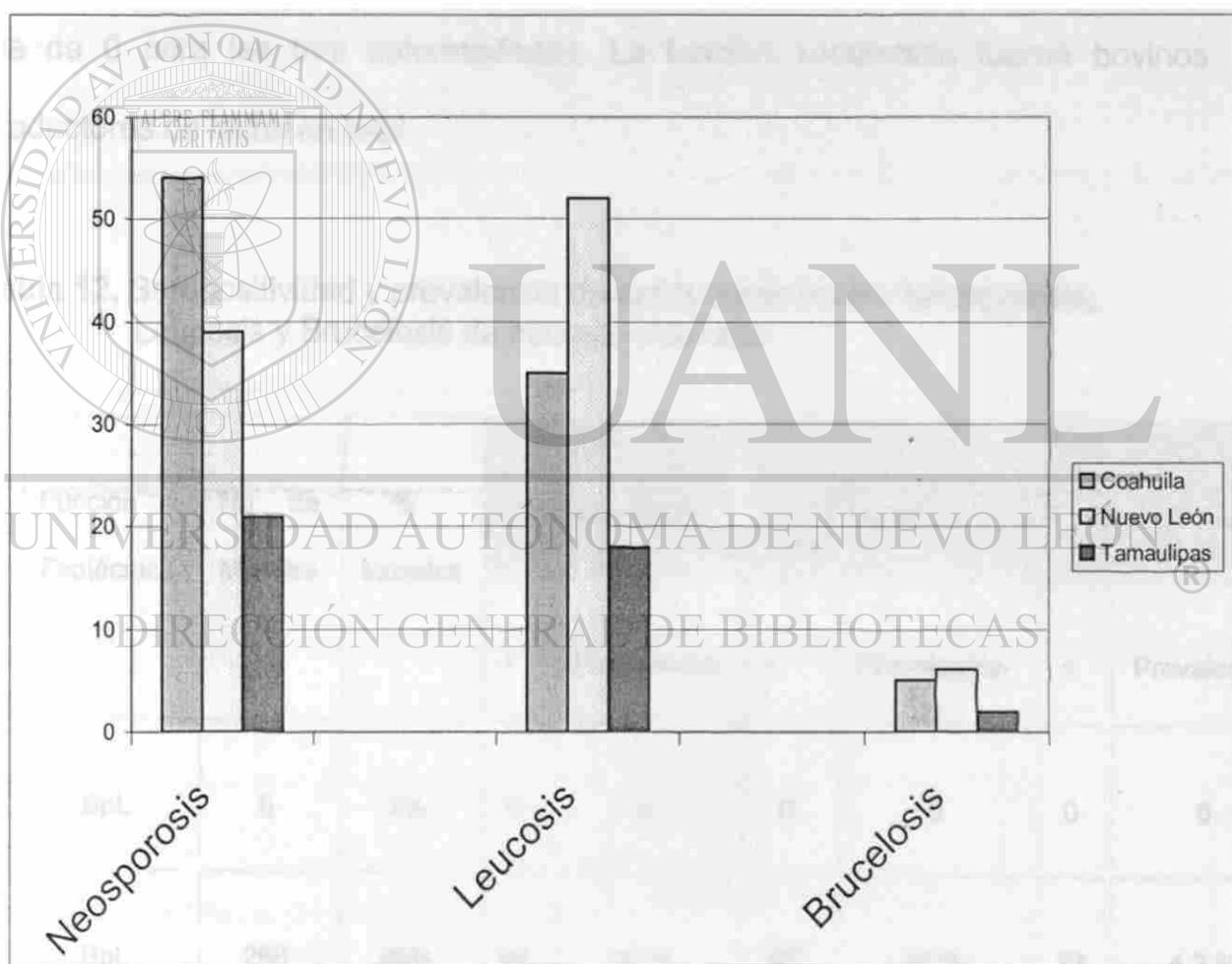
**Figura 32.** Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los Municipios muestreados en el Estado de Tamaulipas.

La figura 33 muestra el porcentaje de la prevalencia de las tres enfermedades en comparación para los 14 Municipios muestreados. Para Neosporosis la prevalencia más alta fue en el Municipio de Candela, mientras que la prevalencia más baja fue en los Municipios de Guerrero y Nuevo Laredo con 0. Con respecto a Leucosis la prevalencia más alta fue en el Municipio de Anáhuac y la prevalencia más baja fue en los Municipios de Vallecillo, Guerrero y Nuevo Laredo con 0. En cuanto a Brucelosis la prevalencia más alta fue en el Municipio de Parás, mientras que la prevalencia más baja fue en los Municipios de Candela, San Buenaventura, Anáhuac, Marín, Vallecillo, Zuazua, Díaz Ordaz, Nuevo Laredo y Río Bravo con 0.



**Figura 33.** Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los 14 Municipios muestreados en el Noreste de México.

En la figura 34 se muestra el porcentaje de la prevalencia de las tres enfermedades en comparación para los tres Estados del Noreste de México. En donde en el caso de Neosporosis el Estado más afectado con una mayor prevalencia fue Coahuila, mientras que el menos afectado fue Tamaulipas. Para Leucosis el Estado más afectado con una prevalencia mayor fue Nuevo León y el menos afectado fue Tamaulipas. Con respecto a Brucelosis el Estado más afectado con una mayor prevalencia fue Nuevo León, mientras que el menos afectado fue Tamaulipas.



**Figura 34.** Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis en los animales de los tres Estados muestreados del Noreste de México.

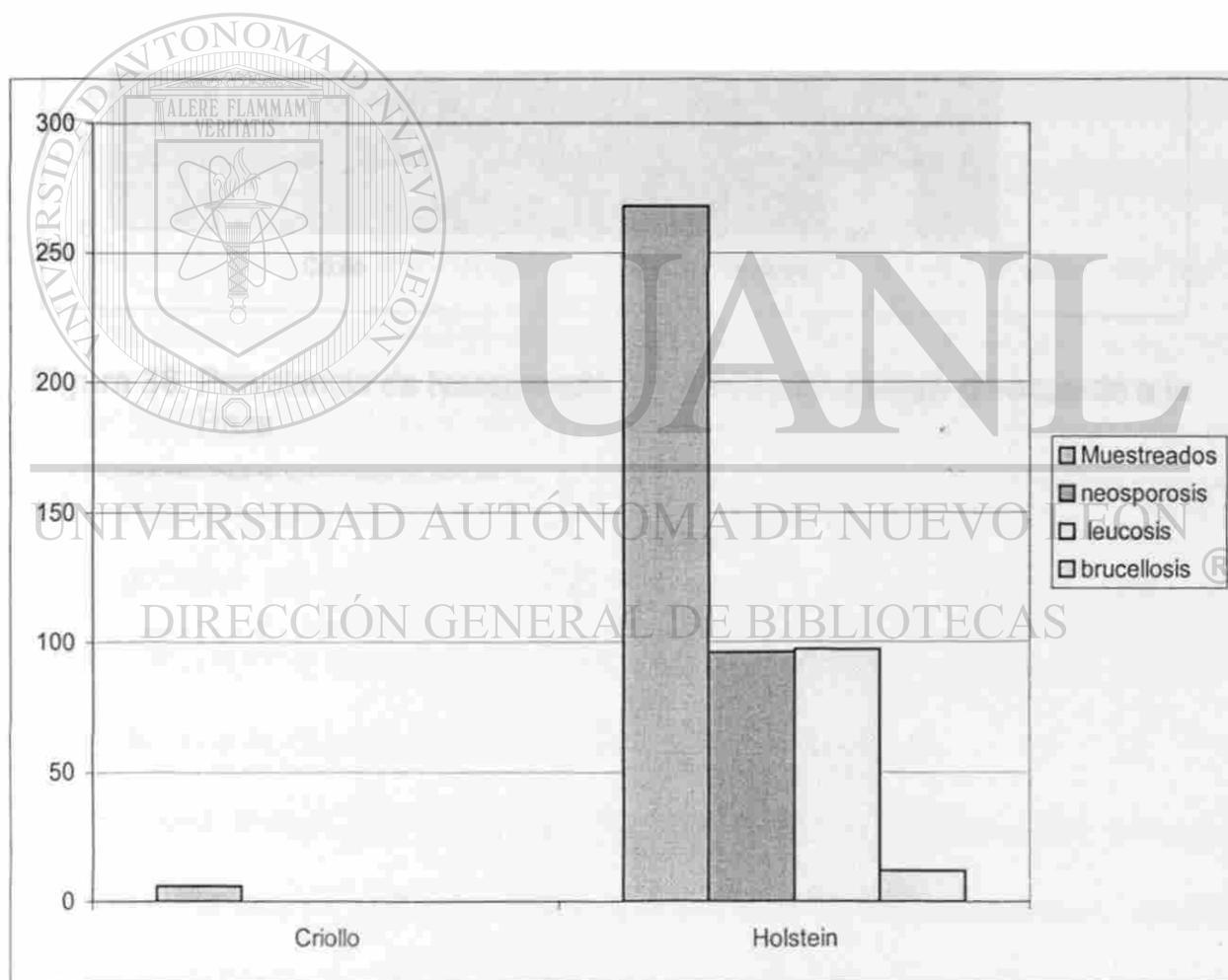
### 3.9 COMPARATIVA DE LA SEROPREVALENCIA DE NEOSPOROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELOSIS EN EL NORESTE DE MÉXICO, DE ACUERDO A LA RAZA

Con respecto a la prevalencia contra la Neosporosis, Leucosis y Brucelosis de acuerdo a la raza, se muestra en la tabla 12, donde la raza Holstein se ve afectada con una prevalencia del 36 % para Neosporosis y Leucosis mientras que para Brucelosis la prevalencia fue del 4 %. Para los bovinos Criollos la prevalencia fue de 0 para las tres enfermedades. La función zootécnica fueron bovinos productores de leche en total.

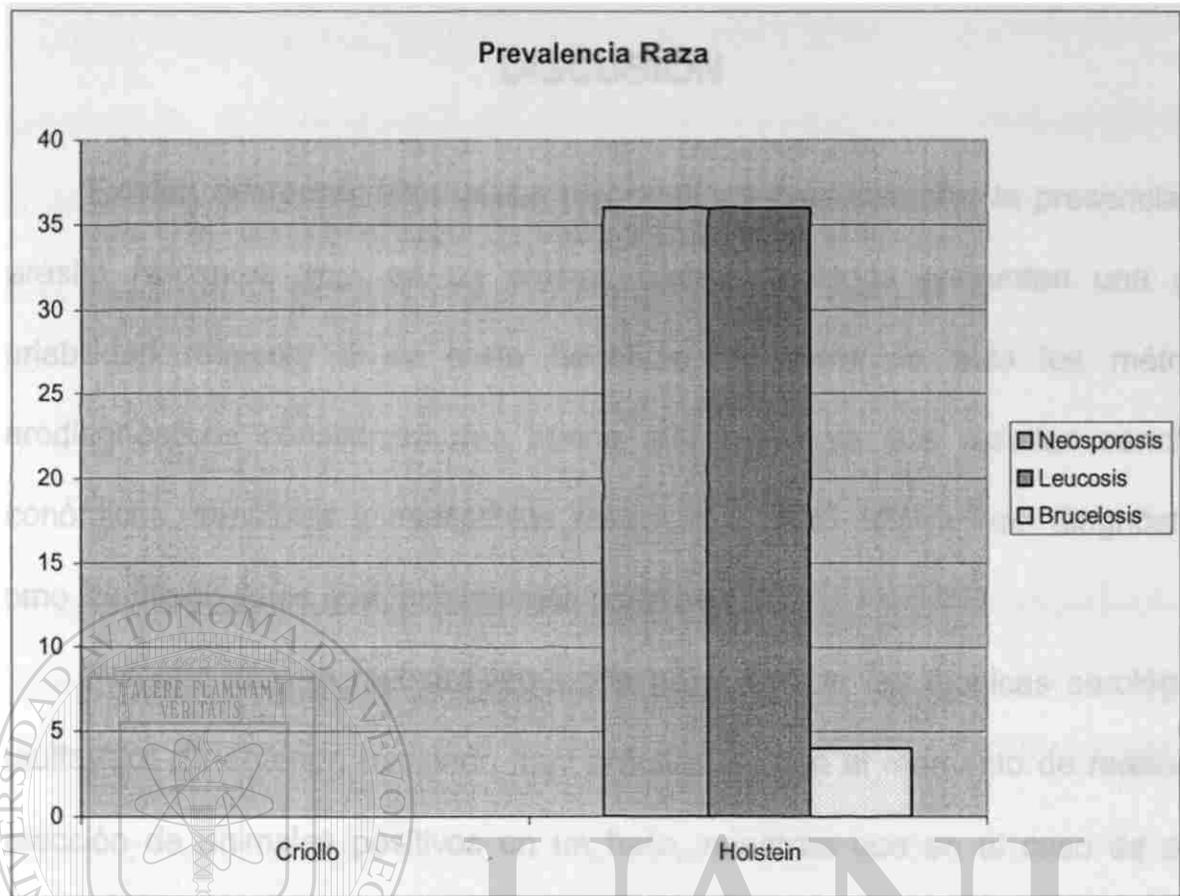
**Tabla 12.** Seropositividad y prevalencia de anticuerpos contra Neosporosis, Leucosis y Brucelosis de acuerdo a la raza

Raza	Función Zootécnica	No. de Muestra	% Muestra	Neosporosis		Leucosis		Brucelosis	
				+	Prevalencia	+	Prevalencia-	+	Prevalencia
Criollo	BpL	6	2%	0	0	0	0	0	0
Holstein	BpL	268	98%	96	36 %	97	36 %	12	4.3 %
Total	BpL	274	100%	96	36 %	97	36 %	12	4 %

En la figura 35 se observa la cantidad de animales seropositivos para las tres enfermedades en las dos razas muestreadas donde la raza Holstein mostró 96 positivos para Neosporosis, 97 positivos para Leucosis y 12 para Brucelosis de 268 animales muestreados. Los animales criollos fueron 6 en total y fueron negativos todos a las tres enfermedades. En la figura 36 se observa la prevalencia de ambas razas, observándose en la raza Holstein una prevalencia de 36 % para Neosporosis y Leucosis y un 4 % para Brucelosis. Los animales criollos la prevalencia fue de 0 para las tres enfermedades.



**Figura 35.** Número de animales seropositivos para Neosporosis, Leucosis y Brucelosis de acuerdo a la raza.



**Figura 36. Prevalencia de Neosporosis, Leucosis y Brucelosis de acuerdo a la Raza**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

## CAPÍTULO 4

### DISCUSIÓN

Existen diferentes alternativas diagnósticas para detectar la presencia del parásito *Neospora spp.* en un animal, dichos métodos presentan una gran variabilidad respecto a su costo beneficio. A pesar de esto los métodos serodiagnósticos constituyen una buena alternativa ya que resultan sencillos, económicos, sensibles y específicos respecto a otras alternativas diagnósticas como las moleculares que resultan más onerosas.

Por otro lado la muestra requerida para realizar las técnicas serológicas resulta fácil de obtener, haciendo muy práctico su uso al momento de realizar la detección de animales positivos en un hato, mientras que en el caso de otras técnicas como las histopatológicas la obtención de la muestra para su realización las convierte en imprácticas al momento de detectar animales positivos *in vivo*. En este trabajo se utilizó como alternativa diagnóstica la técnica de ELISA método serodiagnóstico que a decir de Morales *et al.*, 1997 a mostrado ser más consistente, objetiva, rápida, precisa así como más sensible y específica respecto al IFI, a la hora de detectar animales positivos a *Neospora spp.*

En este trabajo se determino la seroprevalencia de *Neospora spp.* en hatos lecheros y algunos de carne en diversos Municipios de los Estados de Coahuila, Tamaulipas y Nuevo León, en el primero de los Estados se estudiaron hatos de cuatro de sus Municipios, los resultados obtenidos en este trabajo son consistentes con los previamente reportados por Morales *et al.*, 2001 quienes

encontraron una prevalencia de un 47% mientras que en el presente trabajo se determino una prevalencia de un 45% para el mismo Estado, cabe mencionar que Morales *et al.*, 2001 no especifican los Municipios a partir de los cuales obtuvieron los datos antes mencionados, en este trabajo se presentó la mayor prevalencia en el Municipio de Torreón el cual posee la mayor producción lechera en dichos Estado lo que ratifica la correlación existente entre la mayor producción lechera y mayor prevalencia.

En el Estado de Nuevo León no existen reportes previos sobre la detección serológica de animales positivos a *Neospora spp.* sin embargo la seroprevalencia encontrada en el presente trabajo para este Estado son similares a la observada por otros autores (Dubey, 2003) hay que considerar que la variabilidad de la prevalencia es influida por el país, la región y por la técnica diagnóstica empleada. Cabe mencionar que en los resultados obtenidos en el Estado de Nuevo León muestran la presencia de animales seropositivos a *Neospora spp.* tanto en hatos lechero como de carne, a pesar de que en este caso la proporción de hatos lecheros estudiados fue mayor que la de carne se observó la mayor seroprevalencia en hatos destinados a la producción láctea, siendo estos resultados equiparables a los observados por otros autores como (Venturini, 1999; Mainar-Jaime *et al.*, 1999; Williams, 1999).

Finalmente en el Estado de Tamaulipas se muestrearon animales de cuatro Municipios de este Estado encontrando la mas baja seroprevalencia en este Estado en comparación con la observada en Coahuila y Nuevo León, cabe mencionar que el Estado de Tamaulipas posee una producción láctea inferior a la de los Estados de Coahuila y Nuevo León y como ya se menciona esta

enfermedad por el tipo de explotación se le relaciona mas con animales productores de Leche y en el caso de las transmisión de la enfermedad se ha reconocido que la forma vertical es mas importante que la horizontal (Waldner *et al.*, Waldner *et al.*, 1998., Dubey, 2003) por lo que en hatos donde no existen animales con buenas características de producción y con la finalidad de incrementar la producción del hato se introducen animales infectados estos pueden diseminar la infección vía portadores sanos (Dubey, 2003).

Finalmente se estudio la asociación entre otros agentes que causan aborto en bovinos, el virus de la Leucosis bovina, *Brucella* y *Neospora*.

A pesar de que no existen datos a este respecto a nivel nacional, en un trabajo realizado por Chi *et al.*, en el 2002, se observo la seroprevalencia a diversas etiología causantes de aborto en bovinos lecheros en Canadá encontrando una seroprevalencia similar entre Leucosis y Neosporosis 20.4% y 19.2% respectivamente en los 90 hatos estudiados, en nuestro caso se observo que en el Estado de Coahuila una seroprevalencia de 35% para Leucosis mientras que para *Neospora* fue de 54% es decir que la seroprevalencia de estas enfermedades en los hatos estudiados fue muy similar, en el caso de Nuevo León se observo que la seroprevalencia para Leucosis fue de 52% mientras que para *Neospora* fue de 39% manteniéndose la relación entre la seroprevalencia de los hatos estudiados, en estos dos casos Coahuila y Nuevo León la detección de animales positivos a *Brucella* spp. estuvo por debajo de la de Leucosis y *Neospora* y solamente en el caso de Tamaulipas la seroprevalencia de *Brucella* spp estuvo por encima de la de las otras esta situación nos hace reflexionar

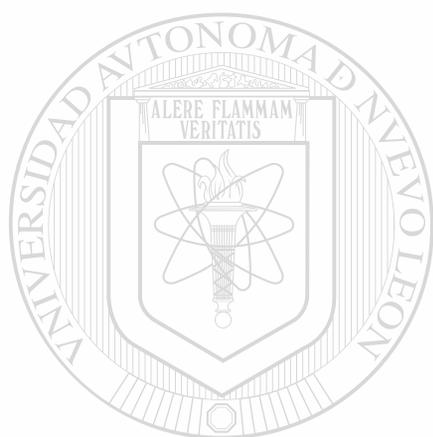
acerca de la real participación de *Brucella* spp. en los abortos del ganado bovino destinado a la producción de leche en el Noreste de México.

Cabe mencionar que la información respecto a esta enfermedad es escasa a nivel nacional por lo que la implicación de este parásito en problemas reproductivos del ganado bovino productor de leche han sido poco estudiadas y los datos presentados hasta ahora reflejan una parte muy discreta de la información requerida para el entendimiento más completo de la participación de *Neospora caninum* en los trastornos productivos en bovinos a nivel nacional por lo que se requiere de mas estudios al respecto.

Con respecto a la Infección por el Virus de la Leucosis Bovina, podemos mencionar que diversos estudios realizados a nivel mundial revelan que esta enfermedad esta ampliamente difundida (Ávalos, 1995, Burny *et al.* 1985).

Los resultados observados en los tres Estados que participaron en la presente investigación concuerdan con lo observado por otros investigadores. En este caso la prevalencia observada en Coahuila, Nuevo león y Tamaulipas fueron del 35, 52 y 18 % respectivamente, lo que se encuentra en el rango del 40% reportado para Canadá en sus hatos lecheros y el 11 % para su ganado de carne (mencionado en Ávalos 1995). En los E.U.A. se reportan datos de prevalencias que varían del 10 al 48%, muy similares a los nuestros en ganado lechero y de un 0.5 al 19 % en ganado de carne. En relación con lo encontrado en este estudio se comparo con las entidades que concordaban con respectivo al trabajo reportado por Ávalos en 1995, donde se observa una Prevalencia general del 20.8 %, mientras que en esta investigación resulto ser de un 36%, datos que nos indican que se ha mantenido la infección en forma latente. Asimismo se pudieron observar un pequeño incremento

el la prevalencia para el Municipio de Saltillo y Torreón, donde Ávalos en 1995, reportaba un 11 % y un 41 % mientras que en este estudio se observó el aumento al 31% y 49 % respectivamente.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos del presente estudio nos permitieron primeramente establecer que existe la presencia inmunológica de anticuerpos en el ganado bovino del Noreste de México (Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas) producidos en contra de los antígenos pertenecientes al Protozooario *Neospora caninum*, agente causal de la denominada enfermedad de la Neosporosis. Cabe mencionar que fue encontrada tal evidencia serológica tanto en ganado lechero como de carne. Asimismo se reconfirmó que todavía existe la presencia serológica de otras enfermedades de importancia reproductiva y económica como la Brucelosis y la Infección por el Virus de la Leucosis Bovina en niveles por arriba de los esperados.

Las conclusiones sobre Neosporosis son las siguientes:

- ✓ La seroprevalencia en bovinos de la zona Noreste de México es de 36%.
- ✓ Los Estados más afectados fueron Coahuila con 45% de prevalencia, seguido por Nuevo León con 40% y el menos afectado fue Tamaulipas con 16%.
- ✓ La seroprevalencia por municipio estudiado varió desde 0 hasta 78%.
- ✓ Los bovinos destinados a la producción de leche resultaron más afectados con 39% que los destinados a la producción de carne con 10%.
- ✓ La raza Holstein-Friesian con 40% de prevalencia resultó la más afectada y las menos afectadas fueron las razas Charolais con 10% y Criollo con 0.

**Las conclusiones con respecto a Leucosis son las siguientes:**

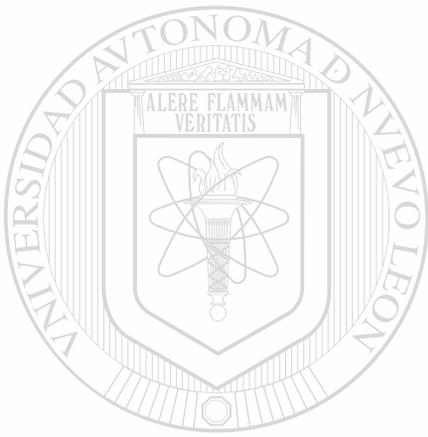
- ✓ La seroprevalencia en bovinos lecheros de la zona Noreste de México es de 35%.
- ✓ El Estado más afectado fue Nuevo León con 52% y los menos afectados son Coahuila con 35% y Tamaulipas con 18%.
- ✓ La seroprevalencia por Municipio estudiado varió desde 0 hasta 100%.
- ✓ La raza Holstein-Friesian resultó ser la más afectada con 36% de prevalencia, mientras que los bovinos Criollos resultaron ser la más baja con 0.

**Las conclusiones con respecto a Brucelosis son las siguientes:**

- ✓ La seroprevalencia en bovinos lecheros de la zona Noreste de México es de 4.3%.
- ✓ El Estado más afectado fue Nuevo León con 6% y los menos afectados fueron Coahuila con 5% y Tamaulipas con 2%.
- ✓ La seroprevalencia por Municipio estudiado varió desde 0 hasta 40%.
- ✓ La raza Holstein-Friesian resultó ser la más afectada con 4.3% de prevalencia que los bovinos Criollos donde la prevalencia fue de 0.

Tales datos nos indican que existen fallas en los programas de manejo para el ganado, tanto de leche como para el de carne, por lo que hay que reforzar los conocimientos y esfuerzos en materia zoonosanitaria para los veterinarios encargados de dichas instalaciones. Esto se pudiese lograr con las campañas de control y erradicación de las enfermedades en las diversas ganaderías en las

zonas afectadas para tener mejores condiciones ambientales, reconocer los factores de riesgo y alcanzar más altos niveles de producción.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## REFERENCIAS

- Abramova, E.N., Kondratev, V.S. and Stinskii, I.A. 1979. The biochemistry of leucosis in cattle. Vet. Bulletin. 44: 689-704.
- Almansa, J.E., Mariño, O.C., Martínez, S.T., Rueda, O.C. 1996. Comparación preliminar entre dos métodos de producción de antígeno gp51 del virus de LEB. Rev. Téc. Científica. 7: 25-30.
- Altaner, C. 1993. Envelope glycoprotein gp 51 of bovine leukemia virus is differently glycosylated in cells of various species and organ origin. Vet. Immunol. and Immunopathol. 36 : 163-177.
- Alton, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D. and Verger, J.M. 1988. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA. Paris. 25: 31-45.
- Anderson, M.L., Blanchard, P.C., Barr, B.C., Dubey, J.P., Hoffman, R.L. and Conrad, P.A. 1991. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. J. Am. Vet Med. Assoc. 198: 241-244.
- 
- Ariza, J., Pellicer, T., Pallares, R. and Gudiol, F. 1992. Specific antibody profile in human brucellosis. Clin. Infect. Dis. 14: 131-140.
- Ávalos, R.R. 1995. "Detección serológica y molecular del virus de la leucosis bovina (VLB) en el Noreste de México". Tesis FCB/UANL, Monterrey, N. L.
- Barber, J.S., Van Ham, K. and Polis, I. 1997. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in Belgian dogs. J. Small Anim. Pract. 38: 15-16.
- Barr, B.C., Anderson, M.L., Blanchard, P.C., Daft, B.M., Kinde, H. And Conrad, P.A. 1990. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. Vet. Pathol. 27: 354-361.

- Barr, B.C., Anderson, M.L., Dubey, J.P. and Conrad, P.A. 1991. *Neospora*-like protozoal infections associated with bovine abortions. Vet. Pathol. 28: 110-116.
- Barr, B.C., Anderson, M.L., Sverlow, K.W. and Conrad, P.A. 1995. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with and indirect fluorescent antibody test. Vet. Rec. 137: 611-613.
- Barr, B.C., Anderson, M.L., Woods, L.W., Dubey, J.P. and Conrad, P.A. 1992. *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. J. Vet. Diagn. Invest. 4: 365-367.
- Barr, B.C., Conrad, P.A., Sverlow, K.W., Tarantal, A.F. and Hendrickx, A.G. 1994a. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. Lab. Invest. 71: 236-242.
- Barr, B.C., Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Reynolds, J.P. and Wells, S.J. 1998. Neosporosis: its prevalence and economic impact. Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. Suppl. 20: 1-16.
- Barr, B.C., Rowe, J.D., Sverlow, K.W., BonDurant, R.H., Ardans, A.A., Oliver, M.N. and Conrad, P.A. 1994b. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. J. Vet. Diagn. Invest. 6: 207-215.
- Baszler, T.V., Knowles, D.P., Dubey, J.P., Gay, J.M., Mathison, B.A. and McElwain, T.F. 1996. Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition ELISA. J. Clin. Microbiol. 34: 1423-1428.

- Beal, V.C. 1984. Current estimated brucellosis losses. Veterinary Services. Animal and Plant Health Inspection Services. U.S. Department of Agriculture. Hyattsville, Md.
- Bendixen, H.J. 1959. Studies on leukosis in cattle. Control of leukosis herds using hematological examination. Word .Vet. Med. 11: 733-738.
- Bjerkas, I. and Dubey, J.P. 1991. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian dogs. Acta Vet. Scand. 32: 407-410.
- Bjerkas, I., Mohn, S.F. and Presthus, J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z. Parasitenkd. 70: 271-274.
- Bjerkas, I. and Presthus, J. 1988. Immuno-histochemical and ultrastructural characteristics of a cyst-forming sporozoon associated with encephalomyelitis and myositis in dogs. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. 96: 445-454.
- 
- UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS
- Bjerkas, I. and Presthus, J. 1989. The neuropathology in toxoplasmosis-like infection caused by a newly recognized cyst-forming sporozoon in dogs. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. 97: 459-468.
- Bjorkman, C., Johnsson, O., Stenlund, S., Holmdahl, J. and Ugglä, A. 1996. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 208: 1441-1444.
- Bjorkman, C., Lundén, A., Holmdahl, O.J.M., Barber, J., Trees, A.J. and Ugglä, A. 1994. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. Parasite. Immunol. 16: 643-648.

Bjorkman, C. and Uggla, A. 1999. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. J. Parasitol. 29: 1497-1507.

Blood, D. y Rodostits, O. 1992. Leucosis viral bovina. En : Medicina Veterinaria. Edit. Interam. Mc Graw-Hill. México. 2: 878-886.

Bothwell, P.W. 1962. Economic losses of bovine brucellosis. Vet. Rec. 74: 1091.

Boulton, J.G., Gill, P.A., Cook, R.W., Fraser, G.C., Harper, P.A.W. and Dubey, J.P. 1995. Bovine *Neospora* abortion in north-eastern New South Wales. Aust. Vet. J. 72: 119-120.

Burny, A.C., C. Bruck, Y. Cleuter, D. Couez, J. Deschamps, J. Ghysdael, D. Gregoire, R. Kettmann, M. Mammerrickx, G. Marbaix, D. Portetelle, L. Willems. (1985). Bovine leukemia virus, a versatile agent with various pathogens effects in various animals species. Cancer Research (suppl.) Cancer Research 45:4578s-4582s.

Burridge, M.J., Puhr, M.D. and Hennemann, J.M. 1981. Prevalence of bovine leukemia virus infection in Florida. J. Am. Vet. Med. Assoc. 179: 704-707.®

Buxton, D., Caldow, G.L., Maley, S.W., Marks, J. and Innes E.A. 1997. Neosporosis and bovine abortion in Scotland. Vet. Rec. 141: 649-651.

Buzala, E. and Deren, W. 2003. Comparison of PLA with AGID and ELISA results in serology diagnosis of bovine leukosis. Pol. J. Vet. Sci. 6: 9-11.

Callis, J., Bachrach, H., Bittle, J., Dalrymple, J., Gamble, R., Glosser, J., Murphy, F., Thiermann, A. and Thompson, S. 1989. Biotechnology and its public health implications in zoonotic diseases. Biotechnology for livestock production. New York, Plenum Press. 25: 377-400.

Calzada, C.P., Morales, S.E., Quiroz, R.G., Salmerón, S.F., García, O.C., Hernández, B.J. 2002. Valores hematológicos en vacas de raza Holstein Friesian seropositivas a *Neospora caninum* de la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo, México. Vet. Mex. 33:119-124.

Cerqueira, L.R., Modena, C.M., Moreira, E.C. and Abreu, J.J. 1984. Evolucao clínica de Leucose Enzoótica Bovina. Arg. Bras. Med. Vet. Zoot. 36: 47-57.

Chasey, D., Wibberley, G., Markson, M. and Roberts, D.H. 1978. Demonstration of enzootic bovine leucosis virus in Britain. Vet. Rec. 103: 449-450.

Chi, J., VanLeeuwen, J.A., Weersink, A. and Keefe, G.P. 2002. Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea virus, bovine leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum*. Prev. Vet. Med. 55: 137-153.

Cole, R.A., Lindsay, D.S., Blagburn, B.L. and Dubey, J.P. 1995a. Vertical transmission of *Neospora caninum* in mice. J. Parasitol. 81: 730-732.

Cole, R.A., Lindsay, D.S., Blagburn, B.L., Sorjonen, D.C. and Dubey, J.P. 1995b. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. J. Parasitol. 81: 208-211.

- Cole, R.A., Lindsay, D.S., Dubey, J.P., Toivio-Kinnucan, M.A. and Blagburn, B.L. 1994. Characterization of a murine monoclonal antibody generated against *Neospora caninum* by western blot analysis and immunoelectron microscopy. Am. J. Vet. Res. 55: 1717-1722.
- Conrad, P.A., Sverlow, K., Anderson, M., Rowe, J., BonDurant, R., Tuter, G., Breitmeyer, R., Palmer, C., Thurmond, M., Ardans, A., Dubey, J.P., Duhamel, G. and Barr, B. 1993. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. J. Vet. Diagn. Invest. 5: 572-578.
- Crawford, R.P., Williams, J.D., Huber, J.D. and Childers, A.B. 1973. Biotypes of *Brucella abortus* and their value in epidemiological studies of infected cattle herds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 175: 121.
- Cuddon, P., Lin, D.-S., Bowman, D.D., Lindsay, D.S., Miller, T.K., Duncan, I.D., deLahunta, A., Cummings, J., Suter, M., Cooper, B., King, J.M. and Dubey, J.P. 1992. *Neospora caninum* infection in English Springer Spaniel Littermates: Diagnostic evaluation and organism isolation. J. Vet. Intern. Med. 6: 325-332.
- Dannatt, L. 1997. *Neospora caninum* antibody levels in an endemically-infected dairy herd. Cattle pract. 5: 335-337.
- Davison, H.C., Otter, A. and Trees, A.J. 1999. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. Int. J. Parasitol. 29 : 1683 –1689.

Delgado, G.R., Quintero, C.J., De Luna, A. A. 1995. Estudio patológico microbiológico y serológico del aborto en bovinos Holstein de la Comarca Lagunera. Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatría; agosto 24-26; Torreón, Coahuila, México. Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1995: 74-78.

Dreier, K.J., Warren Stewarter, L., Kerlin, R.L., Ritter, D.M. and Brake, D.A. 1999. Phenotypic characterization of a *Neospora caninum* temperature-sensitive strain in normal and immunodeficient mice. 29: 1627-1634.

Deshayes, L., Levy, D., Parodi, A.L. and Levy, J.P. 1980. Spontaneous immune response of bovine leukemia virus infected cattle against five different viral proteins. Int. J.Cancer. 25: 503-508.

Dubey, J.P. 1992. A review of *Neospora caninum* and Neospora-like infections in animals. J. Protozool. Res. 2:40-52.

Dubey, J.P. 1999. Neosporosis a newly recognized protozoan disease similar to Toxoplasmosis. The Infectious Disease Review. 2:129-130.

Dubey, J.P. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J. Parasitol. 41: 1-16. ®

Dubey, J.P. 1993. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcosystis*, and other tissue cyst-forming coccidia of humans and animals. In: Kreier J.P. (Editor). Parasitic Protozoa. 6: 1-158.

Dubey, J.P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topper, M.J., Uggla, A. 1988a. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 192:1269-85.

Dubey, J.P. and de Lahunta, A. 1993. Neosporosis associated congenital limb deformities in a calf. Appl. Parasitol. 34: 229-233.

Dubey, J.P., Hartley, W.J. and Lindsay, D.S. 1990a. Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. J. Am. Vet. Med. Assoc. 197: 1043-1044.

Dubey, J.P., Hartley, W.J., Lindsay, D.S. and Topper, M.J. 1990b. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. J. Parasitol. 76: 127-130.

Dubey, J.P., Hattel, A.L., Lindsay, D.S. and Topper, M.J. 1988b. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193: 1259-1263.

Dubey, J.P. and Lindsay, D.S. 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet. Parasitol. 67:1-59.

Dubey, J.P. and Lindsay, D.S. 1990a. Neosporosis in dogs. Vet. Parasitol. 36: 147-151.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
 Dubey, J.P. and Lindsay, D.S. 1990b. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. J. Vet. Diagn. Invest. 2: 230-233. ®  
 DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Dubey, J.P. and Lindsay, D.S. 1989a. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. J. Parasitol. 75: 765-771.

Dubey, J.P. and Lindsay, D.S. 1989b. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. Am. J. Vet. Res. 50: 1578-1579.

Dubey, J.P. and Lindsay, D.S. 1989c. Fatal *Neospora caninum* infection in Kittens. J. Parasitol. 75: 148-151.

- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Adams, D.S., Gay, J.M., Baszler, T.V., Blagburn, B.L. and Thulliez, P. 1996. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. Am. J. Vet. Res. 57: 329-336.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Anderson, M.L., Davis, S.W. and Shen, S.K., 1992. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 201: 709-713.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Hill, D., Romand, S., Thulliez, P., Kwok, O.C.H., Silva, J.C.R., Oliveira-Camargos M.C. and Gennari, S.M. 2002. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in sera of domestic cats from Brazil. J. Parasitol. 88: 1251-1252.
- Dubey, J.P., Metzger, F.L.J., Hattel, A.L., Lindsay, D.S. and Fritz, D.L. 1995. Canine cutaneous neosporosis: clinical improvement with clindamycin. Vet. Dermatol. 6: 37-43.
- Dubey, J.P., Miller, S., Lindsay, D.S. and Topper, M.J. 1990c. *Neospora caninum*-associated myocarditis and encephalitis in an aborted calf. J. Vet. Diagn. Invest. 2: 66-69.
- Dubey, J.P. and Porterfield, M.L. 1990. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. J. Parasitol. 76: 732-734.
- Espada, R., Flogio, A., Gurría, F., López, G., López, J., Meixueiro, H., Pérez, J., Yáñez, V., Hernández, O., Beymer, D., Riemman, H. 1986. Prevalencia de anticuerpos contra las enfermedades infecciosas más comunes del ganado bovino de Baja California. Vet. Mex. 17: 23-29.

Esteban, E.N., Thorn, R.M. and Ferrer, J.F. 1985. Characterization of the blood lymphocyte population in cattle infected with the bovine leukemia virus. Cancer Research. 45: 3225-3230.

Fekete, A., Bantle, J.A. and Halling, S.M. 1992. Detection of Brucella by polymerase chain reaction in bovine fetal and maternal tissues. J. Vet. Diagn. Invest. 4: 79-83.

Ferrer, J.F., Marshak, R.R., Abt, D.A. and Kenyon, S. 1978. Persistent lymphocytosis in cattle: its cause, nature and relation to lymphosarcoma. Ann. Rech. Vet. 9: 851-857.

Gonzalez, L., Buxton, D., Atxaerandia, R., Aduriz, G., Maley, S., Marco, J.C. and Cuervo, L.A. 1999. Bovine abortion associated with *Neospora caninum* in northern Spain. Vet. Rec. 144: 145-150.

Gottstein, B., Hentrich, B., Wyss, R., Thur, B., Busato, A., Stark, K.D.C. and Muller, N. 1998. Molecular and immunodiagnostic investigations on bovine neosporosis in Switzerland. Int. J. Parasitol. 28: 679-691.

Goudswaard, J., Gilmour, N.J.L., Dijkstra, R.G. and Beck, J.J.V. 1976. Diagnosis of John's disease in cattle; a comparison of five serological tests under field conditions. Vet. Rec. 98: 461-462.

Guarino, A., Fusco, G., Savini, G., Di Francesco, G. and Cringoli, G. 2000. Neosporosis in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Southern Italy. Vet. Parasitol. 91: 15-21.

Gurturk, K., Boynukara, B., Lihan, Z., Hakki Ekin, I. and Gulhan, T. 1999. Comparison of the dot-immunobinding assay with the serum agglutination test, the rose Bengal plate test and the milk ring test for the detection of

**Brucella antibodies in bovine sera and milk. Zentralbl Veterinarmed B. 46: 279-285.**

Hagan, Bruner. 1983. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 4ta edición. Editorial la Prensa Mexicana. p.106-129.

Harrington, R. and Brown, G.M. 1976. Laboratory summary of *Brucella* isolations and typing. Am. J. Vet. Res. 37: 1241.

Hay, W.H., Shell, L.G., Lindsay, D.S. and Dubey, J.P. 1990. Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 197: 87-89.

Hemphill, A., Gottstein, B. and Kaufmann, H. 1996. adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. Parasitol. 112: 183-197.

Hietala, S. K. and Thurmond, M.C. 1999. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. International Journal of Parasitology. 29:1669-1676.

Ho, M.S.Y., Barr, B.C., Tarantal, A.F., Lai, L.T.Y., Hendrickx, A.G., Marsh, A.E., Sverlow, K.W., Packham, A.E. and Conrad, P.A. 1997. Detection of *Neospora* from tissues of experimentally infected Rhesus Macaques by PCR and specific DNA probe hybridization. Am. Soc. Microbiol. 35: 1740-1745.

Jacobs, R.M. 1983. Bovine lymphoma. In Comparative Pathobiology of Viral Diseases. 2: 21-51.

- Jardine, J.E. 1996. The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. Vet. Parasitol. 62: 231-240.
- Jensen, L., Jensen, T.K., Lind, P., Henriksen, S.A., Uggla, A. and Bille-Hansen, V. 1998. Experimental porcine neosporosis. APMIS. 106: 475-482.
- Johnson, R., Gibson, C.D. and Kaneene, J.B. 1985. Bovine leukemia virus: a herd-based control strategy. Prev. Vet. Med. 3: 339-349.
- Johnson, R. and Kaneene, J.B. 1991a. Bovine leukemia virus. Part I. Descriptive epidemiology, clinical manifestations and diagnostic test. Comp. Cont Ed. 13: 315-327.
- Johnson, R. and Kaneene, J.B. 1991b. Bovine leukemia virus. Part II. Risk factor of transmission. Comp. Cont Ed. 13: 681-691.
- Kaaden, O. and Stephenson, J.R. 1978. Report of the second session detection of BLV infection: serological methods. Ann. Res. Vet. 9: 604-605.
- Kasari, T.R., Barling, K. and McGrann, J.M. 1999. Estimated production and economical losses from *Neospora caninum* infection in Texas beef-herds. The Bovine Practitioner 33:113-120.
- Kuby, J. 1992. Antigen-antibody interactions. Immunol. 1st ed. W.H. Freem. Comp. NY. 6: 126-135.
- Lassauzet, M.G., Thurmond, M.C., Johnson, W.O., Stevens, F. and Picanso, J.P. 1991. Factor associated with transmission of bovine leukemia virus by contact in cows on a California dairy. Am. J. Epidemiol. 133: 164-176.

- Lindsay, D.S., Blagburn, B.L. and Dubey, J.P. 1992. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradizoites in murine tissues. J. Parasitol. 78: 70-72.
- Lindsay, D.S. and Dubey, J.P. 1989a. In vitro development of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) from dogs. J. Parasitol. 75: 163-165.
- Lindsay, D.S. and Dubey, J.P. 1989. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. Am. J. Vet. Res. 50:1981-1983.
- Lindsay, D.S. and Dubey, J.P. 1990. *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in rats. Can. J. Zool. 68: 1595-1599.
- Lindsay, D.S., Dubey, J.P. and Blagburn, B.L. 1991. Characterization of a *Neospora caninum* (Protozoa. Apicomplexa) isolate (NC-3) in mice. J. Alabama Acad. Sci. 62: 1-8.
- Lindsay, D.S., Dubey, J.P. and McAllister, M.M. 1999. *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. Small Anim. Exot. 21: 317-321.
- Lindsay, D.S., Kelly, E.J., McKown, R., Stein, F.J., Plozer, J., Herman, J., Blagburn, B.L. and Dubey, J.P. 1996a. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. J. Parasitol. 82: 657-659.
- Lindsay, D.S., Little, S.E. and Davidson, W.R. 2002. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer, *Odocoileus virginianus*, from the southeastern United States. J. Parasitol. 88: 415-417.

- Lindsay, D.S., Rippey, N.S., Powe, T.A., Sartin, E.A., Dubey, J.P. and Blagburn, B.L. 1995. Abortions, fetal death, and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachizoites of *Neospora caninum*. Am. J. Vet. Res. 56: 1176-1180.
- Lindsay, D.S., Speer, C.A., Toivio- Kinnucan, M.A., Dubey, J.P. and Blagburn, B.L. 1993. use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. Am. J. Vet. Res. 54: 103-106.
- Lindsay, D.S., Spencer, J. and Rupprecht, C. 2001. Prevalence of agglutinating antibodies to *Neospora caninum* in raccoons, *Procyon lotor*. J. Parasitol. 87: 1197-1198.
- Lindsay, D.S., Steinberg, H., Dubielzig, R.R., Semrad, S.D., Konkle, D.M., Miller, P.E. and Blagburn, B.L. 1996b. Central nervous system neosporosis in a foal. J. Vet. Diagn. Invest. 85: 658-660.
- 
- Locatelli-Dittrich, R., Soccol, V.T. and Richartz, R.R.T.B. 2001. Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in southern Brazil. J. Parasitol. 87: 1493-1494.
- Luna-Martinez, J.E. and Mejía-Teran, C. 2002. Brucellosis in Mexico: current status and trends. Vet. Microbiol. 90: 19-30.
- Mainar-Jaime, R.C., Thurmond, M.C., Berzal-Herranz B., Hietala, S.K. 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. Vet. Rec. 145:72-75.

- Mamoun, R.Z., Astier, T., Guilleman, B. and Duplan, J.F. 1983. Bovine lymphosarcoma: Processing of bovine leukemia virus-coded proteins. J. Gen. Virol. 64: 2791-2795.
- Marifio, O.C., Bravo, M.M., Fajardo, E. 1984. La técnica de ELISA en el diagnóstico serológico de la Leucosis bovina en Colombia. Rev. ICA. 19: 315-323.
- Marsh, A.E., Howe, D.K., Wang, G., Barr, B.C., Cannon, N. and Conrad, P.A. 1999. Differentiation of *Neospora hughesi* from *Neospora caninum* based on their immunodominant surface antigen, SAG1 and SRS2. Int. J. Parasitol. 29: 1575-1582.
- Mayhew, I.G., Smith, K.C., Dubey, J.P., Gatward, L.K. and McGlennon, N.J. 1991. Treatment of encephalomyelitis due to *Neospora caninum* in a litter of puppies. J. Small Anim. Pract. 32: 609-612.
- McAllister M.M., Dubey J.P., Lindsay D.S., Jolley W.R., Wills R.A. McGuire A.M. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 28:1473-1478.
- McAllister M.M., Parmley, S.F., Weiss, L.M., Welch, V.J. and McGuire, A.M. 1996. An immunohistochemical method for detecting bradyzoite antigen. J. Parasitol. 82: 354-355.
- McGuire, A.M., McAllister, M.M., Wills, R.A. and Tranas, J.D. 1999. Experimental inoculation of domestic pigeons (*Columba livia*) and Zebra finches (*Poephila guttata*) with *Neospora caninum* tachizoites. Int. J. Parasitol. 29: 1525-1529.

McNamee, P.T., Trees, A.J., Guy, F., Moffett, D. and Kilpatrick, D. 1996. Diagnosis and prevalence of neosporosis in cattle in northern Ireland. Vet. Rec. 138: 419-420.

Meas, S., Ruas, J., Farias, N.A., Usui, T., Teraoka, Y., Mulenga, A., Chang, K.S., Masuda, A., Madruga, C.R., Ohashi, K. and Onuma, M. 2002. Seroprevalence and Molecular evidence for the presence of bovine immunodeficiency virus in brazilian cattle. Jpn. J. Vet. Res. 50: 145.

Meas, S., Yilmaz, Z., Usui, T., Torun, S., Yesilbag, K., Ohashi, K. and Onuma, M. 2003. Evidence of bovine immunodeficiency virus in cattle in Turkey. Jpn. J. Vet. Res. 51: 3-8.

Milner, A.R., Mack, W.N.M., Coates, K.J., Hill, J., Gill, I. and Sheldrick, P. 1990. The sensitivity and specificity of a modified ELISA for the diagnosis of Johne's disease for a field trial in cattle. Vet. Microbiol. 25: 193-198.

Mirsky, M.L., Olmstead, C. and Lewin, H. 1996. Prevalence of proviral bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells at two subclinical stages of infection. J. Virol. 70: 2178-2183.

Moen, A.R., Wouda, W., Mul, M.F., Graat, E.A.M. and van Werven, T. 1998. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. Theriogenology. 49:1301-1309.

Monroy, B.J., Trigo, T.F., Larios, G.F., Fajardo, M.R., Marquez. 1985. Estudio seroepidemiológico de Leucosis bovina en México. Memorias de la reunión de investigación pecuaria en México. Mex. D.F. p. 84.

Morales, S.E., Ramirez, L.J., Trigo, T.F., Ibarra, V.F., Puente, C.E., Santacruz, M. 1997. Descripción de un caso de aborto Bovino asociado a infección por *Neospora sp* en México. Vet. Méx. 28:353-357.

Morales, S.E., Trigo, T.F., Ibarra, V.F., Puente, C.E., SantaCruz, M. 2001. Seroprevalence study of bovine neosporosis in México. J. Vet. Diagn. Invest. 13:413-415.

Moreno, E. 2002. Brucellosis in Central America. Vet. Microbiol. 90: 31-38.

Nicoletti, P. 1980. The epidemiology of bovine brucellosis. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 24: 69-98.

Noda, J., Pérez, M., Marrera, M., Abeledo, M.A. 1992. The use of ELISA and Nucleid acid hybridization test in research and diagnosis of bovine leukosis virus. JAVMA. 199: 85-90.

Nuotio, L., Rusanen, H., Sihunonen, L. and Neuvonen, E. 2003. Eradication of LEB from Finland. J. Vet. Med. Sci. 65: 287-289.

Olds, R.J. 1982. Atlas de microbiología. Editorial Wolfe, científico médica. Primera edición, España. Pp. 72-73.

Ollis, G. 1996. Enzootic bovine leukosis in dairy cattle. J. Virol. Meth. 41: 101-112.

Olson, C. and Miller, J.M. 1987. History and Terminology of enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus. JAVMA. 155: 3-11.

Omer, M.K., Assefaw, T., Skjerve, E., Tekleghiorghis, T. and Woldehiwet, Z. 2002. Prevalence of antibodies to *Brucella spp.* And risk factors related to high – risk occupational groups in Eritrea. Epidemiol. Infect. 129: 85-91.

- Osawa, T., Wastling, J., Maley, S., Buxton, D. and Innes, E.A. 1998. A multiple antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera, bovine fetal fluids, ovine and caprine sera. Vet. Parasitol. 79: 19-34.
- Otter, A., Griffiths, I.B. and Jeffrey, M. 1993. Bovine *Neospora caninum* abortion in the UK. Vet. Rec. 133: 375.
- Paré J., Hietala, S.K. and Thurmond, M.C. 1995. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 7: 352-359.
- Paré J., Thurmond M.C. and Hietala S.K. 1996. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calffood mortality. Can. J. Vet. Res. 60:133-139.
- Paré J., Thurmond M.C. and Hietala S.K. 1994. Congenital *Neospora* infection in dairy cattle. Vet. Rec. 134: 531-532.
- 
- Payne, S. and Ellis, J. 1996. Detection of *Neospora caninum* DNA by the polymerase chain reaction. Int. J. Parasitol. 26: 347-351. ®
- Pelzer, K. and Sprecher, D. 1993. Controlling BLV infection on dairy operations. Vet. Med. 25: 275-281.
- Perry, M. and Bundle, D.R. 1990. Antigenic relationships of the lipopolysaccharides of *Escherichia hermanii* strains with those of *Escherichia coli* 0157:H7, *Brucella melitensis* and *Brucella abortus*. Inf. Immun. 58: 1391-1395.

Peters, M., Wohlsein, P., Knieriem, A. and Schares, G. 2001. *Neospora caninum* infection associated with stillbirths in captive antelopes (*Tragelaphus imberbis*). Vet. Parasitol. 97: 153-157.

Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. and Carter, G.R. 1994. Clinical veterinary microbiology. Editorial Wolfe. Primera edición, España. Pp. 262.

Rebhun, W.C. 1982. Orbital lymphosarcoma in cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 180: 149-152.

Reed, V.I. 1981. Enzootic Bovine Leukosis. Can. Vet. J. 22: 95-102.

Ressang, A.A., Gielkens, A.L.J., Quak, S., Mastenbroek, N., Tuppert, C. and De Castro, A. 1978. Enzyme linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to bovine leukosis virus. Ann. Rech. Vet. 9: 663-666.

Rhodes, J.K., Pelzer, K.D. and Johnson, Y.J. 2003. Economic implications of bovine leukemia virus infection in mid-Atlantic dairy herds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 223: 346-352.

Ruiz-Castaneda, M. 1947. Studies on the pathogenesis of brucellosis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 64: 241-244.

Russel, A., Runnels, W.S. and Monlux, A.W. 1978. Principios de patología veterinaria. CECSA. p. 32.

Schares, G., Peters, M., Wurm, R., Tackmann, K., Henning, K. and Conraths, F.J. 1997. *Neospora caninum* causes abortions in a cattle herd in North Rhine Westphalia. Deu. Tier. Wochensh. 104: 208-212.

Simpson, V.R., Monies, R.J. and Riley, P. 1997. Foxes and neosporosis. Vet. Rec. 141: 503.

Speer, C.A. and Dubey, J.P. 1989. Ultrastructural of tachizoites, bradizoites and tissue cyst of *Neospora caninum*. J. Protozool. 36: 458-463.

Spencer, J.A., Witherow, A.K. and Blagburn, B.L. 2000. A random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction technique that differentiates between *Neospora* species. Int. J. Parasitol. 86:1366-1368.

Suzan, V.M., Onuma, M., Aguilar, R.E. and Murakawi, Y. 1983. Prevalence of bovine Herpesvirus-1, Parainfluenza-3, bovine Rotavirus, bovine viral diarrhea, bovine Adenovirus-7, bovine leukemia virus and bluetongue virus antibodies in cattle in México. Jpn. J. Vet. Res. 31: 125-132.

Stenlund, S., Kindahl, H., Magnusson, U., Ugglå, A. and Bjorkman, C. 1999. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. Vet. Parasitol. 85: 227-234.

Straub, O.C. and Olson, C. 1978. Report of the fourth session (Epidemiology of BLV). Third international symposium on bovine leukosis. Ann. Rech. Vet. 9: 605.

Teich, N. 1982. Taxonomy of retroviruses. In: Weiss R, Teich N, Varnus H, Coffin J. Eds .RNA Tumor Virus. Cold spring Harbor. NY: Cold Sprin Harbor Laboratory: 25-28.

Thornton, R.N., Thompson, E.J. and Dubey J.P. 1991. *Neospora* abortion in New Zeland cattle. N. Z. Vet. J. 39:129-133.

- Thurmond, M. and Hietala, S. 1997. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. Am. J. Vet. Res. 58: 1381-1385.
- Thurmond, M. and Hietala, S. 1995. Strategies to control *Neospora* infection in cattle. Bovine Pract. 29: 60-63.
- Thurmond, M., Hietala, S., Blanchard, P. and Debey, S. 1995. Congenital transmission of *Neospora caninum* in Herds experiencing endemic or epidemic abortion. Proc. 38th Am. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn. Sparks, Nevada. p. 97.
- Thurmond, M.C., Maden, C.B. and Carter, R.L. 1985. Cull rates of dairy cattle with antibodies to bovine leukemia virus. Canc. Res. 45:1987-1989.
- Thoen, C.O. and Enright, F. 1986. *Brucella*. In, C.L. Gyles and C.O. Thoen (eds.) Pathogenesis of bacterial infections in animals. Ames. Iowa State University Press.
- Trees, A.J., Guy, F., Low, J.C., Roberts, L., Buxton, D. and Dubey, J.P. 1994. Serological evidence implicating *Neospora* species as a cause of abortion in British cattle. Vet. Rec. 134: 405-407.
- Uggla, A., Stenlund, S., Holmdahl, O.J.M., Jakubek, E.-B., Thebo, P., Kindahl, H. and Bjorkman, C. 1998. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. J. Parasitol. 28: 1467-1472.
- Usui, T., Meas, S., Konnai, S., Ohashi, K. and Onuma, M. 2003. Seroprevalence of bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus in dairy and beef cattle in hokkaido. J. Vet. Med. Sci. 65: 287-289.

- Venturini, M.C. 1999. *Neospora caninum* infections in bovine foetuses and dairy cows with abortions in Argentina. Int. J. Parasitol. 29:1075-1708.
- Voller, A., Bidwell, D.E. and Bartlett, A. 1982. ELISA techniques in virology in: New development in practical virology. p. 59-81.
- Waldner, Ch.L., Janzen, E.D., Henderson, J. and Haines, D.M. Outbreak of abortion associated with *Neospora caninum* infection in a beef herd. Departments of Herd Medicine and Theriogenology and Microbiology, Western College of Veterinary Medicine, University of Saskatchewan.
- Waldner, Ch.L., Janzen, E.D. and Ribble, C.S. 1998. Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. J. Am. Vet. Med. Assoc. 213: 685-690.
- Williams, D.J.L. 1999. Evaluation of a commercial ELISA for detecting serum antibody to *Neospora caninum* in cattle. Vet. Rec. 145: 571-575.
- Wouda, W., Bartels, C.J.M. and Moen, A.R. 1999a. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). Theriogenology. 52: 233-245.
- Wouda, W., Dijkstra, Th., Kramer, A.M.H., Van Maanen, C., and Brinkhof, J.M.A. 1999b. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. Int. J. Parasitol. 29: 1677-1682.
- Wouda, W., Dubey, J.P. and Jenkins, M.C. 1997. Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. J. Parasitol. 83: 545-547.

Wouda, W., Moen, A.R., Visser, I.J.R. and van Knapen, F. 1996. Bovine fetal neosporosis: A comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regards to lesion severity and immunohistochemical identification in brain, heart and liver. J. Vet. Diagn. Invest. 121: 397-405.

Wouda, W., van den Ingh, T.S.G.A.M., van Knapen, F., Sluyter, F.J.H., Koeman, J.P. and Dubey, J.P. 1992. *Neospora abortus* bij het rund in Nederland. Tijdschr. Diergeneeskd. 117: 599-602.

Yamage, M., Flechtner, O. and Gottstein, B. 1996. *Neospora caninum*: specific oligonucleotide primers for the detection of brain "cyst" DNA of experimentally infected nude mice by the polimerase chain reaction (PCR). J. Parasitol. 82: 272-279.

Young, E.J. and Corbel, M.J. (eds.). 1989. Brucellosis: Clinical and laboratory aspects. Boca Ratón, Florida, CRC Press. INC.

## APENDICE A

### INSTRUCTIVO DEL ESTUCHE COMERCIAL PARA LA DETECCIÓN SEROLÓGICA DE *Neospora caninum* MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA.

La técnica para la utilización del estuche comercial y la preparación de reactivos se describieron en la sección de material y Métodos. En este apéndice se describen los reactivos utilizados, material y equipo necesario que no se suministran en el estuche, se explican precauciones y advertencias para los usuarios, preparación del lector de ELISA, interpretación de los resultados y cálculos.

#### REACTIVOS

- A. Placas recubiertas con antígeno de *Neospora*. 2
- B. Conjugado anti-bovino: HRPO. 30ml
- C. Control positivo de *Neospora*. Anti-*Neospora* bovino en tampón con estabilizadores proteicos. Con azida de sodio como conservante. 3ml
- D. Control negativo de *Neospora*. Suero bovino no reactivo frente a *Neospora* en tampón fosfato con estabilizadores proteicos. Con azida de sodio como conservante. 3ml
- E. Diluyente para la muestra. Tampones con estabilizadores proteicos. Con azida de sodio como conservante. 235ml
- F. Concentrado para lavado. Lavado de fosfato/Tween 10x.5 contiene gentamicina como conservante. 235ml

- G. Substrato TMB 60ml
- H. Solución de interrupción 60ml

## **MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO QUE NO SE SUMINISTRAN**

- A. Pipetas de precisión para dispensar 0.005, 0.100 y 0.500 $\mu$ l, o dispositivos para pipeteado múltiple.
- B. Puntas de pipeta desechables.
- C. Probeta graduada de 500ml para la solución de lavado.
- D. Lector para placas de 96 pozos.
- E. Tubos de plástico o vidrio para diluir las muestras.
- F. Agua destilada o deionizada.
- G. Dispositivo para dispensar y aspirar la solución de lavado.
- H. Una fuente de vacío y un recipiente para recoger la solución aspirada.

---

## **PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS PARA LOS USUARIOS**

- A. Trate todos los materiales biológicos de *Neospora* como si fueran capaces de transmitir *Neospora*.<sup>®</sup>
- B. No use la boca para pipetear.
- C. No coma, beba ni fume en los lugares donde se esté trabajando con las muestras o con los reactivos del kit.
- D. El substrato de TMB y las soluciones de interrupción pueden causar irritaciones en la piel.

E. Algunos componentes del kit contienen azida de sodio como conservante. Evite la contaminación del conjugado anti-bovino: HRPO con éste conservante.

F. No exponga la solución TMB a luz fuerte ni a agentes oxidantes. Utilice envases limpios de plástico o de vidrio siempre que use la solución de substrato TMB.

G. Almacene los reactivos entre 2° y 7° c. Deje que alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos y vuelva a almacenarlos entre 2° y 7° c después de usarlos.

H. Todos los desechos deben de desinfectarse correctamente antes de eliminarse.

I. Evite la contaminación de los componentes del kit.

J. No use componentes caducados, ni mezcle componentes con números de serie diferentes.

K. Se obtendrán resultados óptimos si sigue éste protocolo estrictamente.

Para mantener la precisión y exactitud, es necesario efectuar el pipeteado,

la toma de tiempo y el lavado cuidadosamente en todo éste procedimiento

## PREPARACIÓN DEL LECTOR DE ELISA

- A. Colocar la densidad óptica (D.O.) de longitud de lectura a 620nm.
- B. Registrar los controles negativos en las casillas A1 A2
- C. Registrar los controles positivos en las casillas A3 A4
- D. Iniciar la maquina para leer la placa.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- A. Para que el ensayo sea válido, la diferencia (P-N) entre el promedio (media) del control positivo (PC), y el promedio del control negativo (NC) tiene que ser mayor o igual que 0.150. además , el NC debe ser menor o igual que 0.20.
- B. La presencia o ausencia de anticuerpo contra *Neospora* se determina al calcular el cociente de muestra con respecto al control positivo (S/P) para cada muestra. El control positivo se ha normalizado y representa una cantidad considerable de anticuerpo contra *Neospora* en suero bovino.
- C. La muestra de suero con cocientes S/P menores que 0.50 se clasifican como negativas hacia los anticuerpos contra *Neospora*.
- D. Si el cociente S/P es mayor o igual que 0.50, las muestras se clasifican como positivas hacia los anticuerpos contra *Neospora*.

## CÁLCULOS

A. Cálculo del promedio del control negativo (NC).

$$NC = A1 A(650) + A2 A(650) + 2$$

$$\text{Ejemplo: } 0.080 + 0.090 + 2 = 0.085$$

B. Cálculo del promedio del control positivo (PC).

$$PC = A3 A(650) + A4 A(650) + 2$$

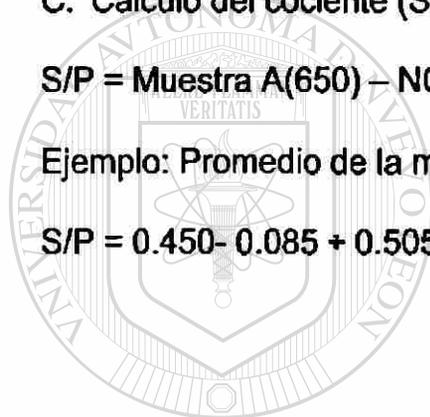
$$\text{Ejemplo} = 0.510 + 0.500 + 2 = 0.505$$

C. Cálculo del cociente (S/P)

$$S/P = \text{Muestra A}(650) - NC + PC - NC$$

$$\text{Ejemplo: Promedio de la muestra} = 0.450$$

$$S/P = 0.450 - 0.085 + 0.505 - 0.085 = 0.365 + 0.420 = 0.87$$



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

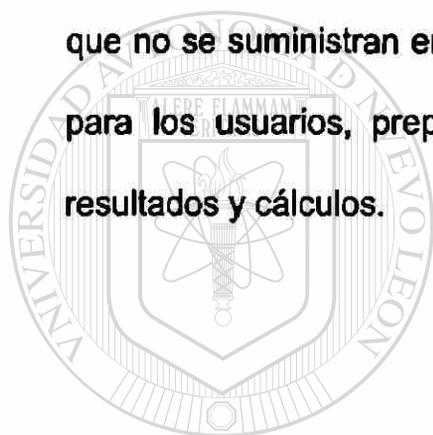
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**APÉNDICE B**

**INSTRUCTIVO DEL ESTUCHE COMERCIAL PARA LA  
DETECCIÓN SEROLÓGICA DEL VIRUS DE LA LEUCOSIS  
BOVINA MEDIANTE LA TÉCNICA DE ELISA.**

La técnica para la utilización del estuche comercial y la preparación de los reactivos se describieron en la sección de material y métodos. En éste apéndice se describen los reactivos utilizados, material y equipo necesario que no se suministran en el estuche, se explican precauciones y advertencias para los usuarios, preparación del lector de ELISA, interpretación de los resultados y cálculos.



**U A N L**

**REACTIVOS**

- A. Placas recubiertas con antígeno del VLB. 2
- B. Control positivo. 3.6 ml listo para usar
- C. Control negativo. 3.6 ml listo para usar
- D. Conjugado 100X Anticuerpo-Peroxidasa. 150 $\mu$ l
- E. Diluyente para el conjugado. 14ml listo para usar
- F. Diluyente para la muestra. 30ml listo para usar
- G. Solución substrato. 20ml listo para usar
- H. Solución de interrupción. 20ml lista para usar
- I. Solución concentrado para lavado10x. 120ml

## **MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO QUE NO SE SUMINISTRAN**

- A. Pipetas de volumen ajustable. 5 $\mu$ l-1000 $\mu$ l
- B. Micropipetas de 8 o 12 canales de 50 $\mu$ l.
- C. Puntillas de pipetas desechables.
- D. Tubos de plástico o vidrio para diluir las muestras.
- E. Lector para placas de 96 pozos ELISA.
- F. Agua deionizada o destilada.
- G. Toallas de papel.
- H. Papel aluminio.
- I. Recipientes de pipetas
- J. Probetas graduadas para mezclar el conjugado Anticuerpo-Peroxidasa y la solución de lavado.

---

- K. Dispositivo para dispensar y aspirar la solución de lavado.
- L. Una fuente de vacío y un recipiente para recoger la solución aspirada. ®
- M. Pipetas de 1ml, 5ml y 10ml.
- N. Reloj de laboratorio.
- O. Tijeras.
- P. Lápiz o pluma y marcador de laboratorio.

## PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS PARA LOS USUARIOS

- A. No coma, beba ni fume en los lugares donde se esté trabajando con las muestras o con los reactivos del kit.
- B. No use reactivos contaminados, caducados o de otro número serie.
- C. No use la boca para pipetear.
- D. Algunos reactivos contienen azida de sodio, Timerosal y fluoruro de sodio. evite ingerirlos ya que pueden ser tóxicos y nocivos para la salud. En caso de que esto ocurra busque atención médica.
- E. Controles positivos y negativos deben usarse cada vez que una prueba es llevada a cabo.
- F. Use la solución de lavado diluida 1x en ambos pasos de lavado.

## PREPARACIÓN DEL LECTOR DE ELISA

- E. Colocar la densidad óptica (D.O.) de longitud de lectura a 620nm.
- F. Registrar los controles positivos en las casillas A1 A2
- G. Registrar los controles negativos en las casillas A3 A4
- H. Iniciar la maquina para leer la placa.

## INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS Y CÁLCULOS

A. Para que el ensayo sea valido el control positivo debe producir una D.O. media mayor o igual a 0.250 y menor que 2.00. El control negativo debe producir una D.O. media menor a 0.200.

B. Positivo.- Cualquier prueba produciendo una D.O. mayor o igual a la media del control positivo es positivo hacia los anticuerpos contra VLB.

C. Negativo.- Cualquier prueba produciendo una D.O. menor que la media del control positivo es negativa hacia los anticuerpos contra VLB.



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## APÉNDICE C

### INSTRUCTIVO PARA EL DIAGNOSTICO DE BRUCELOSIS POR EL MÉTODO DE TARJETA O ROSA DE BENGALA.

El procedimiento de la prueba de tarjeta o rosa de bengala se describió en la sección de material y métodos. En éste apéndice se describen los reactivos utilizados, material y equipo necesario para la prueba, se explican precauciones y advertencias para los usuarios e interpretación de los resultados.



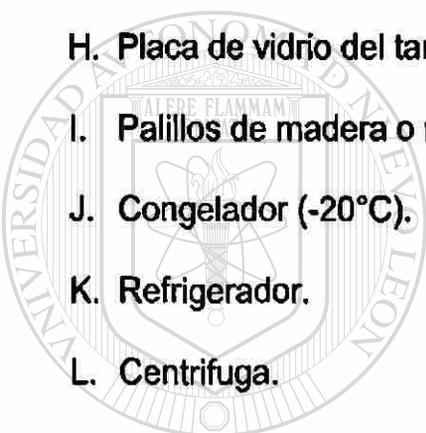
#### REACTIVOS

##### A. Antígeno para la prueba de tarjeta.

Antígeno autorizado por la SAGAR elaborado por la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios (PRONABIVE) a base de *Brucella abortus* cepa 1119-3, teñido con rosa de bengala en ácido láctico, con un PH de 3.65 ( $\pm$  0.05) y con una concentración celular del 8%.

## MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO PARA LA PRUEBA

- A. Gradillas
- B. Micropipetas de volumen variable de 10 a 100 $\mu$ l.
- C. Tubos de ensayo de diferentes tamaños.
- D. Pipeta serológica de 1ml.
- E. Pipeta serológica de 5ml.
- F. Pipeta serológica de 10ml.
- G. Puntillas para micropipeta
- H. Placa de vidrio del tamaño del aglutinoscopio con cuadrícula de 3 x 3 cm.
- I. Palillos de madera o mano metálica.
- J. Congelador (-20°C).
- K. Refrigerador.
- L. Centrifuga.
- M. Reloj marcador.
- N. Aglutinoscopio.



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

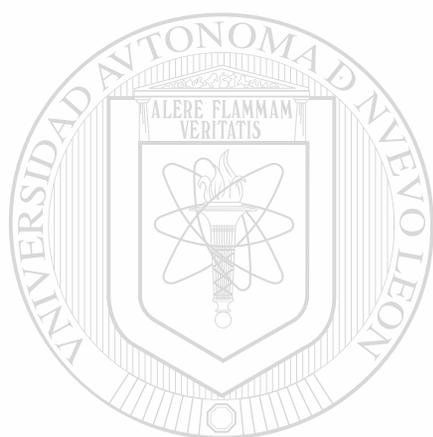
## PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS PARA LOS USUARIOS

- A. La muestra deberá ser suero no hemolizado.
- B. El antígeno deberá usarse siempre a temperatura ambiente.
- C. El antígeno puede deteriorarse si se deja a temperatura ambiente por un tiempo prolongado.
- D. Nunca se debe congelar el antígeno ya que se rompe la suspensión.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

A. Positivo.- Presencia de cualquier grado de aglutinación.

B. Negativo.- No se observa aglutinación.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

# RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Javier de Jesús Mora García

Candidato para el grado de

Maestro en Ciencias Veterinarias con especialidad en Salud Animal.

**Tesis: DETECCIÓN SEROLÓGICA Y COMPARATIVA DE NEOSPOROSIS, LEUCOSIS Y BRUCELOSIS EN BOVINOS DEL NORESTE DE MÉXICO.**

**Campo de Estudio:** Salud Animal

## Biografía

### Datos personales:

Nacido en Nuevo Laredo, Tamaulipas el 20 de octubre de 1979, hijo de MVZ. Rodolfo Javier Mora Bernal y Profra. Elda Beatriz García Sánchez.

### Educación:

Medico Veterinario Zootecnista , egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León en el año

2001.

## Experiencia Profesional

### Institución:

Hospital Veterinario Dr. Serna.

### Periodo:

1/enero/2004-a la fecha.

### Puesto Realizado:

Médico Clínico.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## **Ponencias**

**\*Presentación del trabajo titulado Detección serológica de Neosporosis bovina en hatos lecheros de Nuevo León y Coahuila. En el XXVII CONGRESO NACIONAL DE BUIATRIA 2003, del 12 al 14 de Junio del 2003 realizado en Villahermosa Tabasco.**

**\*Presentación del anteproyecto de tesis titulado epidemiología de Neosporosis en bovinos y su impacto en la producción en el Noreste de México. En los seminarios correspondientes al semestre agosto-enero del 2003 en la FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTÉCNIA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN, del 27 de septiembre al 3 de octubre realizado en Monterrey, N.L.**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

