



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**PREVALENCIA DE NEOSPOROSIS EN HATOS DE
BOVINOS LECHEROS UBICADOS EN EL CENTRO
Y GOLFO DE MÉXICO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA:

IRIS CAROLINA OLMOS OROPEZA

ASESORES

**M. en C. LUCÍA DEL CARMEN FAVILA HUMARA
Dr. CSP. ORBELÍN SOBERANIS RAMOS**



México, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis Padres:

Por su gran apoyo a lo largo de mi camino como estudiante, porque siempre estuvieron para mí, en mis victorias y en mis derrotas, alentándome para no rendirme, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba. Sin ellos no habría podido llegar hasta donde estoy. Por todo su cariño y amor.

A mi Abue Trini:

Por su sutil y cálida forma de alentarme a continuar siempre adelante, sin mirar atrás.

A Carlos:

Por el ánimo que me dio a continuar, por la paciencia y comprensión, porque a pesar de la distancia, y el tiempo lejos de ti; tu corazón siempre estuvo conmigo. Por inspirarme a ser mejor.

Agustín: Por mostrar su amistad desde el momento en que entre a la facultad, por compartir sueños y anhelos. Deseo contar contigo por mucho tiempo Amigo.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), por darme mi formación como profesional.

Al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal (CENID) por abrirme sus puertas.

Al proyecto INIFAP 3217251P “Identificación de las principales enfermedades en bovinos lecheros de México”, fuente de financiamiento y material.

A mis compañeros de laboratorio, quienes me brindaron su asistencia técnica y con quienes compartí experiencias agradables.

A mi Honorable Jurado: MVZ Jorge Francisco Monroy López, MVZ Elizabeth Morales Salinas, MVZ Edgardo Canizal Jiménez, QFB Carolina Segundo Zaragoza.

A mis Asesores:

En la Universidad uno piensa que los catedráticos son solo personas que están para darnos la clase y ya; y no todo siempre es así. Para mi fueron de muchísima ayuda en mi carrera universitaria y como persona, ya que me brindaron su sincera amistad y así, pude obtener también lecciones de vida.

CONTENIDO

	PAGINA
RESUMEN.....	4
INTRODUCCION.....	6
Justificación.....	17
Objetivo.....	18
Hipótesis.....	19
MATERIAL Y METODOS.....	20
RESULTADOS	25
DISCUSIÓN.....	39
CONCLUSION.....	42
LITERATURA CITADA.....	43
ANEXOS.....	50

RESUMEN

Iris Carolina Olmos Oropeza. Prevalencia de neosporosis en hatos de bovinos lecheros ubicados en el centro y golfo de México. Bajo la asesoría de los MCV. Lucía del Carmen Favila Humara y el Dr. Orbelín Soberanis Ramos.

El objetivo del estudio fueron determinar la prevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* mediante la técnica de ELISA indirecta utilizando del banco de sueros del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INFAP), proyecto 3217251P en el periodo 2011-2013; en cada una de las explotaciones se aplicaron 2 tipos de encuestas una para el productor en general y la segunda para identificar al animal. El estudio se desarrolló en los Estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Morelos, Puebla, Tlaxcala y Veracruz, México. Donde los resultados fueron colectados en una base de datos de Excel y se analizaron a través del paquete estadístico STATA 11.0[®], para determinar la seroprevalencia, se utilizaron 837 sueros que fueron evaluados para la detección de anticuerpos anti *Neospora caninum* utilizando un juego de reactivos comerciales de ELISA. El resultado mostró una seroprevalencia de neosporosis en vacas lecheras de 55.19% (462/837) respectivamente.

En cuanto a los estados, los resultados fueron los siguientes: de 88/177 (49.71%) en Aguascalientes, 207/319 (64.89%) en Guanajuato, 18/111 (16.21%) en Veracruz, 42/69 (60.86%) en Puebla, 9/14 (64.28%) en Tlaxcala, 70/95 (73.68%) en Hidalgo, 21/28 (75%) en el Estado de México y 7/24 (29.17%) en Morelos. Los resultados demuestran que los animales estuvieron en contacto con el agente sujeto a esta investigación.

INTRODUCCIÓN

1. Definición de Neosporosis

La neosporosis es una enfermedad parasitaria causada por *Neospora caninum* (*N. caninum*) que afecta a una amplia gama de hospedadores intermediarios como bovinos, caprinos, ovinos, búfalos de agua y venados, entre otros; siendo el perro y el coyote los hospedados definitivos de este agente y quienes excretan ooquistes del parásito a través de las heces (Dubey et al., 1996; Quiroz., 2002; Santana., 2010). En el ganado bovino puede provocar abortos desde el tercer mes de gestación, lo que representa pérdidas económicas por pérdida del producto, disminución en la producción de leche y eventual desecho prematuro y reemplazo de las vacas seropositivas (Morales et al., 1997; Torres., 2000).

2. Antecedentes

La neosporosis es una enfermedad que se identificó por primera vez en Noruega en 1984 en cachorros bóxer los cuales presentaban problemas neurológicos como: ataxia, inclinación de la cabeza, hiperextensión rígida de los miembros, encontrando protozoarios parecidos a *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) en encéfalo y músculo, sin embargo, no se encontraron anticuerpos contra este agente, por lo que se le dio el nombre de toxoplasmoide (Bjerkas et al., 1984). En 1988 en Estados Unidos de América (EUA), Dubey y colaboradores observaron un parásito similar en cultivo de tejido de perros jóvenes y lo nombran *N. caninum* debido a que fueron encontrados por primera vez en esta especie. En 1991 se compararon los parásitos descritos por

Bjerkas y Dubey y concluyen que se trataba del mismo agente (Dubey et al., 1999). La primera asociación de un aborto por un protozoo parecido a *N. caninum* en el ganado lechero se realizó en Nuevo México, EUA, en 1987 en un neonato Shorthorn proveniente de Maryland EUA (Dubey 1990).

3. Neosporosis en México

En 1988 la enfermedad en el ámbito mundial era diagnosticada como toxoplasmosis debido a las similitudes estructurales y biológicas entre *N. caninum* y *T. gondii*. Los rumiantes, caballos y gran variedad de animales actúan como huéspedes intermediarios infectándose al consumir agua o alimento contaminado con heces de perro que contengan ooquistes. (Morales et al., 2001). El primer informe de aborto bovino en México asociado a neosporosis bovina, se realizó en seis fetos de un hato de 800 vacas en el noreste del país aunque las lesiones de *N. caninum* fueron confundidas con *Hammondia pardalis* el estudio se realizó en EUA (Abbitt et al., 1993). Posteriormente se informó de fetos con lesiones compatibles con neosporosis en Torreón Coahuila (Delgado et al., 1995). En 1997 Morales y colaboradores publicaron el primer informe de aborto bovino por *N. caninum* en una vaca proveniente de Tizayuca Hidalgo, el diagnóstico se realizó por medio de Histopatología e inmunohistoquímica (Morales et al., 1997; Gutiérrez., 2007; Quiroz., 2011). La prevalencia de la enfermedad y su importancia económica es diferente entre las regiones ganaderas, así se informan prevalencias que van del 1% al 58%, de las cuales las principales características epidemiológicas de la enfermedad se pueden incluir; ganado lechero

estabulado, afecta al ganado de todas las edades, puede haber aborto repetitivo y presencia de perros en establos (Garcia et al., 2002).

3.1 Neosporosis bovina en el mundo

Desde que se informó por primera vez en 1987 en Nuevo México, EUA (Thilsted et al., 1989) la enfermedad como causa de aborto en el ganado lechero se ha encontrado distribuida en todo el mundo, en países como EUA, Canadá, Nueva Zelanda, Holanda, Australia, Irlanda y Japón entre muchos otros (Morales et al., 1997; Obendorf., 1990; Otter., 1993; Poncelet., 1990).

Ha sido causante de importantes pérdidas económicas ya que se considera una de las principales causa de desecho de los animales, dando como consecuencia la reducción en la producción de leche (Dubey et al., 2006; Quiroz., 2011).

4. Agente causal

N. caninum es un protozooario de la familia *Sarcocystidae* perteneciente al phylum *Apicomplexa*, estructuralmente similar a *T. gondii*, pero diferente a éste antigénicamente. El protozooario es intracelular obligado, infectando a varias células nucleadas, con mayor tropismo por las células de los tejidos placentarios y fetales, donde puede producir aborto en cualquier etapa de la preñez. También presenta afinidad por el cerebro provocando signología neurológica en neonatos nacidos enfermos con neosporosis. (García et al., 2005).

Solo se han reconocido 3 fases del parásito: en los tejidos los quistes con bradizoítos, los taquizoítos libres o en grupos y los ooquistes en las heces (Bjerkas et al., 1991; Quiroz., 2011).

5. Transmisión vertical

La transmisión vertical ocurre *in utero*, los fetos pueden adquirir la infección a través de la placenta; *N. caninum* es el más eficiente parásito transplacentario conocido del ganado. Algunas crías infectadas de manera congénita pueden sobrevivir, nacer y desarrollarse normalmente para así perpetuar la enfermedad en el hato; estos animales tendrán un mayor riesgo de abortar si se les compara con hembras no infectadas. La infección puede ocurrir postnatal por ingestión de ooquistes o por la reactivación de la infección en una vaca crónicamente infectada (Dubey et al., 2011; Gutiérrez .,2007).

5.1 Transmisión horizontal

La transmisión horizontal ocurre a través de la ingesta de ooquistes en agua o alimento contaminados con heces de perro (Dijkstra et al., 2003; Santana., 2010). El estado de gestación conduce a inmunosupresión y alteraciones hormonales, dando como resultado la activación de los parásitos. Dependiendo del trimestre en el cual la vaca se infecta puede estar relacionado con las consecuencias para el feto. Si la infección se presenta entre los días 100 y 150 de gestación, el sistema inmune aún no se encuentra suficientemente desarrollado para contrarrestar y entonces se presenta el aborto. Cuando el feto se infecta en el último trimestre de la gestación, puede llegar a nacer

clínicamente sano pero persistentemente infectado (Ibarra et al., 2009; Quiroz., 2011).

6. Patogenia

Los ooquistes son eliminados en las heces del hospedador definitivo (Dubey et al., 2002). En el ambiente los ooquistes esporulan y los esporozoítos al ser ingeridos por el hospedador intermediario, se liberan en la luz intestinal, se transforman en taquizoítos y atraviesan la barrera y acceden a los tejidos por el sistema sanguíneo infectando una gran variedad de las células del huésped y ocasionando necrosis e inflamación o formando quistes tisulares capaces de persistir durante toda la vida del huésped. Los bradizoítos alojados de diversos tejidos de una hembra gestante, pueden reactivarse bajo ciertas influencias hormonales e inmunológicas (Morales et al., 1999). Los taquizoítos atraviesan placenta y de acuerdo a la edad de la gestación, pueden inducir la muerte del feto, o el nacimiento de un ternero congénitamente infectado, signos clínicos 5% y persistentemente Infectado (PI) 95% (Morales et al., 1999; Quiroz., 2002). Los abortos son causados por placentitis primaria con focos necróticos en los cotiledones, donde se distribuye al tejido fetal a través de la sangre, causando lesiones al feto principalmente a nivel sistema nervioso central (SNC), corazón e hígado. La infección da como resultado la muerte, la absorción, momificación, la expulsión del feto (aborto) (Ellis et al., 1999).

7. Signos clínicos

El único signo clínico en el ganado es el aborto, el cual se presenta principalmente entre el cuarto y sexto mes de gestación. Como se mencionó

anteriormente, los fetos pueden morir dentro del útero, ser reabsorbidos, momificados o autolizados. El aborto se puede presentar en repetidas ocasiones por infección congénita de los fetos, e incluso nacer son signos clínicos o clínicamente normal pero persistentemente infectado (Dubey et al., 2011; Quiroz., 2002). No se ha establecido si la infección por este parásito puede causar problemas reproductivos en etapas tempranas de la gestación, pero se ha informado muerte y momificación de fetos de aproximadamente 3 meses de edad gestacional asociado a Neosporosis (Anderson et al., 2000).

8. Lesiones

Los fetos abortados y las placentas pueden estar autolizados y sin lesiones macroscópicas aparentes y con acúmulo de fluido serosanguinolento en las cavidades del cuerpo. Los abortos se han diagnosticado en novillonas y vacas a partir de tres meses de gestación (Dubey et al., 1990; Anderson., 2000).

En perros los signos más relevantes son la paresia e hiperextensión de los miembros posteriores con atrofia de la musculatura de la zona y rigidez del tarso, esto en los primeros 6 meses de vida en cachorros nacidos infectados (Peters et al., 2000).

8.1 Lesiones macroscópicas

En la necropsia del feto se pueden observar cambios en los tejidos, como áreas multifocales de color blanquecino en la superficie del miocardio, músculo esquelético, hígado y riñones así como abundante líquido sanguinolento en las cavidades corporales, sin embargo, estos cambios son inespecíficos de la infección. En la placenta no se perciben cambios

macroscópicos, las lesiones más características en los fetos son histológicas y se encuentran principalmente en el sistema nervioso central (SNC) músculo cardiaco y esquelético e hígado (Quiroz et al., 2011).

8.2 Lesiones microscópicas

En los becerros y fetos se localizan en cerebro, médula espinal, corazón e hígado y ocasionalmente en pulmón y riñón. Las lesiones que se observan son (Gasque et al., 2008; Morales., 1997):

- A. Encefalitis multifocal no supurativa, con focos de gliosis y necrosis, los cuales están ocasionalmente mineralizados. En ocasiones se observan quistes parasitarios.
- B. Miositis y Miocarditis no supurativa, necrosante multifocal con presencia de taquizoítos intracelulares.
- C. Las lesiones menos frecuentes incluyen necrosis hepática multifocal, nefritis intersticial no supurativa, focal; neumonía intersticial y adrenitis.

9. Diagnóstico

Para diagnosticar neosporosis bovina en las vacas se realizan pruebas serológicas como el Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA) e inmunofluorescencia indirecta. En los fetos abortados se realiza histopatología, inmunohistoquímica y Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar el agente causal en diversos órganos como encéfalo, miocardio e hígado (Morales et al., 2001).

9.1 Serológico

La ventaja de las pruebas de serología es que se pueden realizar durante cualquier etapa de la vida del animal y pueden indicar el estado de infección. En becerros y ganado adulto, los anticuerpos de clase IgG aparecen en la primera semana post-infección mientras que los anticuerpos IgM aparecen en mayor concentración dos semanas post-infección. Los anticuerpos se pueden detectar durante toda la vida del animal aunque su concentración puede variar hasta límites indetectables (Moore et al 2005).

9.2 Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA)

Este método de diagnóstico es generalmente empleado para las vacas adultas. Se aplica a sueros maternos, leche y líquidos fetales. En los fetos, es más sensible en animales con 5 a 9 meses de gestación debido a que su sistema inmune ha madurado un poco más. Tiene la capacidad de detectar anticuerpos producto de la infección provocada por el parásito (Quiroz et al., 2002).

9.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Prueba que se realiza a partir de muestras de fetos abortados como líquido amniótico o líquido cefalorraquídeo y diversos tejidos. Una de las ventajas es su elevada especificidad y sensibilidad y la capacidad de amplificar pequeñas cantidades de ácido desoxirribonucleico (ADN) de *N. caninum* en diferentes tejidos. También puede detectar el ADN del parásito en la sangre, leche y semen de animales crónicamente infectados. Otra ventaja del PCR es que se puede aplicar en alimento o agua que estén contaminados con heces de perros para realizar estudios. Aunque la PCR es un método de diagnóstico

muy sensible, son pocos los laboratorios que ofrecen este servicio. La eficacia del diagnóstico va depender de la metodología utilizada, el grado de autólisis del feto y del procedimiento de la toma de muestra (Ferre et al., 2003; Quiroz., 2002).

9.4 Inmunohistoquímica (IHQ)

Se realizan cortes histológicos, donde se emplearan anticuerpos primarios anti-*N. caninum* y anticuerpos monoclonales. La IHQ identifica antígenos específicos del parásito, permitiendo la diferenciación entre otros protozoarios como *Toxoplasma gondii* y *Sarcocystis sp* (Morales et al., 1999).

9.5 Histopatológico

Los cortes se procesan por técnicas histológicas de rutina a 3µm de grosor y se tiñen con Hematoxilina-Eosina (H&E), y se realiza una inspección microscópica. Las lesiones características en cerebro incluyen la presencia de infiltrado inflamatorio no supurativo con focos de necrosis, compatibles con encefalitis multifocal y gliosis, otros órganos que se revisan son el corazón donde se aprecia epicarditis y miocarditis multifocal no supurativa, en hígado observándose hepatitis no supurativa multifocal (Anderson et al., 2000).

9.6 Diagnóstico diferencial

La neosporosis debe diferenciarse de otras enfermedades abortivas como Brucelosis, Leptospirosis, Diarrea Viral Bovina (DVB), Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), Campilobacteriosis, Toxoplasmosis, Aborto micótico, etc. Algunas

de estas enfermedades han sido tomadas con mayor interés dentro de los programas sanitarios (Cordova et al., 1982; Rivera., 2001;).

10. Tratamiento

En la actualidad no existe una quimioterapia que haya demostrado ser segura y confiable, además de que parece no ser económico ya que solo es usado como método preventivo y los residuos estarían presentes en leche y carne (Gasque et al., 2008).

En el caso de los perros existen medicamentos efectivos que actúan sobre los taquizoitos como: lasalocid, monenzina, piritexim, pirimethamina y trimetoprim. El tratamiento es efectivo siempre y cuando se aplique antes de desarrollar manifestaciones clínicas. (Gasque et al., 2008; Morales., 1999; Quiroz., 20011). Otros medicamentos empleados son: clindamicina, diclazuril, robenidina y pyrimetrina (Moore et al., 2005).

11. Prevención y control

- Comprar ganado de ranchos sin antecedentes de abortos
- Antes de introducir nuevos animales al rancho, cuarentenar y hacer pruebas de diagnóstico para detectar la presencia de neosporosis y otras enfermedades que causan abortos.
- La convivencia del ganado lechero con perros aumenta el riesgo de diseminación de la enfermedad.
- Usar inseminación en animales negativos.
- Promover la transferencia de embriones solo a vacas seronegativas.

Control:

- Identificar a los animales infectados con *N. caninum* y separarlos de los sanos. Si son pocos eliminarlos.
- No dejar en el rancho crías de los animales infectados para reemplazo.
- No permitir que los perros se alimenten con las placentas de las hembras que abortaron o con los fetos, ni carne de bovino muertos sospechosos o positivos a Neosporosis.
- Cuidar que los concentrados utilizados para alimentar al ganado no se contaminen con el excremento de los perros (Dubey et al., 2011; Quiroz., 2002).

11.1 Vacunación

Es una estrategia factible en hatos con neosporosis endémica asociada a abortos, la inmunidad humoral mediada por anticuerpos ayuda a controlar la diseminación de los taquizoítos extracelulares, también debe considerarse que una cepa de *Neospora caninum* puede variar de virulencia (Moore et al., 2005). En EUA se aprobó la vacuna VPM NeoGuard, desafortunadamente no fue capaz de prevenir la infección placentaria o fetal en las vaquillas vacunadas. En el mercado de México estaba disponible una vacuna del laboratorio Intervet Neoguard, pero esta vacuna ya dejó de producirse a nivel internacional desde hace tres años. (Información provista por la casa comercial 5 noviembre 2012) debido a que los productores no encontraban resultados visibles y el problema de abortos persistía en el hato.

JUSTIFICACION

La Neosporosis es una enfermedad que afecta al ganado bovino lechero que no se le ha dado la importancia adecuada en México a pesar de que implica para el productor grandes pérdidas económicas, ya que es causa de desecho temprano en el ganado lechero. Problemas reproductivos, la baja fertilidad, así como su alta transmisibilidad *in utero*; por un lado provoca becerros clínicamente sanos pero crónicamente infectados, lo que ocasiona la perpetuidad de la enfermedad dentro del hato, su importancia radica en que dicha enfermedad genera pérdidas económicas considerables.

Además de que es muy difícil de controlar, ya que no hay tratamiento efectivo, seguro ni económico.

Conocer la prevalencia en los Estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Morelos, Puebla, Tlaxcala y Veracruz (cuadro 4.) permitirá proponer recomendaciones para su prevención y control en estos Estados.

OBJETIVO

Conocer la prevalencia de neosporosis en ganado bovino lechero del centro y golfo de México en el periodo marzo 2011 a mayo 2013 mediante la detección de anticuerpos con la técnica de ELISA indirecta para determinar factores de riesgo e implementar estrategias de prevención y control de la enfermedad.

HIPÓTESIS

La prevalencia de neosporosis en hatos de bovinos lecheros del centro y golfo de México, será igual a la informada en estudios previos y estará asociada a las características de producción y alimentación en los hatos muestreados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Del proyecto INIFAP 3217251P “Identificación de las principales enfermedades en bovinos lecheros de México” (Cuadro 1), se obtuvo un banco de sueros e información colectada de diferentes hatos lecheros ubicados en los Estados de: Aguascalientes, Guanajuato, Veracruz, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, México y Morelos; lo que sirvió de base para realizar este trabajo de investigación.

Cuadro 1. Distribución por Estados de muestras de suero y número de ranchos muestreados por el proyecto INIFAP 3217251P.

Estado	Número de muestras	Número de ranchos
Aguascalientes	923	46
Guanajuato	1241	82
Hidalgo	472	48
México	231	26
Morelos	172	11
Puebla	314	37
Tlaxcala	107	25
Veracruz	1119	66
Total	4,579	341

El trabajo se realizó en el laboratorio de Diagnóstico del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal (CENID), perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ubicado en el km. 15.5 Carretera Federal México- Toluca, col. Palo Alto D.F.

A continuación se describen los criterios de inclusión y exclusión, considerados para la selección de las muestras del banco de sueros del proyecto INIFAP 3217251P.

1. Dentro del hato los criterios de inclusión fueron que los sueros provinieran de vacas clínicamente sanas, mayores de 2 años.
2. En caso de que hubiera semental también fue muestreado.
3. Se descartaron los municipios con menos de 300 vacas o 3,600 litros diarios de producción de leche.

Se determinó un tamaño mínimo de muestra para el estudio que se trabajó mediante la técnica de ELISA, considerando la población total de bovinos lecheros en los estados muestreados como una sola región (N=819,840) y los antecedentes de prevalencia de esta enfermedad (42%) (García et al., 2005). Considerando un intervalo de confianza del 95% y error del 0.1, el tamaño mínimo de muestra (n) se determinó utilizando la fórmula de proporciones de Levy (Levy 1980) $n = \frac{Z^2 N P Y (1-P)}{Z^2 P Y (1-P Y) + (N-1) E^2 P Y^2}$ (n=531) (Cuadro 2).

Dónde:

n= tamaño mínimo de muestra

N= total de población

Z= confianza

PY= prevalencia de la enfermedad

E= error

Cuadro 2. Tamaño mínimo de muestras a trabajar por la técnica de ELISA

Estado	Tamaño mínimo de muestra
Aguascalientes	57
Guanajuato	82
Hidalgo	30
México	44
Morelos	11
Puebla	30
Tlaxcala	13
Veracruz	264
Total (n)	531

El total del tamaño mínimo de muestra que se procesaría por ELISA fue n=531, sin embargo 837 sueros procesados, 306 (62%) muestras más de lo requerido. Las muestras fueron seleccionadas aleatoriamente (cuadro 3).

Cuadro 3: Total de muestras trabajadas por la técnica de ELISA en cada Estado

Estado	Número de muestras procesadas	Tamaño mínimo de muestra	Diferencia
Aguascalientes	177	57	120 (310%)
Guanajuato	319	82	237 (389%)
Hidalgo	95	30	65 (317%)
México*	28	44	16(64%)
Morelos	24	11	13 (218%)
Puebla	69	30	39 (230%)
Tlaxcala	14	13	1 (108%)
Veracruz*	111	264	-153 (42%)
Total	837	531	306 (62%)

* En Veracruz y en el Estado de México, el número de muestras procesadas fue menor al tamaño mínimo de muestra, debido a que los sueros no cumplían con los criterios de inclusión.

Procesamiento de las Muestras por la técnica de ELISA (reactivos para la detección de Anticuerpos contra *Neospora caninum*, IDEXX® Neospora X2.)

Preparación de las muestras:

1. Diluir muestras a una razón de 1:100, nota: NO diluir testigos.

Desarrollo de la prueba:

2. Tomar 100µl del suero diluido y 100µl de los testigos sin diluir y por duplicado se colocan dentro de los pozos de la placa, incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
3. Lavar cada pocillo 4 veces con 300µl de solución de lavado, en el lavado final el excedente de la placa se eliminara sacudiéndola firmemente sobre un papel absorbente.

4. Añadir 100µl de Conjugado anti-bovino: con peróxidasa de rábano. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente y repetir los pasos del lavado para desechar el conjugado no unido.
5. Añadir 100µl de sustrato (peróxido de Hidrógeno) y un cromógeno, se deja incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente y hay una reacciona azulosa Ag-Ac.
6. Adicionar al sustrato 100µl de Solución de Frenado y se coloca en el lector de ELISA a 650 nm.
7. Evaluar la prueba dependiendo de la densidad óptica de los testigos positivos y negativos, y se calcula el valor de los sueros.

Se utilizó el juego de reactivos de ELISA comercial IDEXX *Neospora X2* (sensibilidad 100% y especificidad 99.2%). IDEXX-Laboratories Inc., Westbrook, Maine USA.

El criterio para validar el ensayo según lo indicado por el fabricante fue: la diferencia de Positivo - Negativo (P- N) entre el promedio de testigo positivo (CP_x) y la medida del testigo negativo (CN_x) tiene que ser mayor o igual a 0.150. Además el CN_x deber ser menor o igual a 0.200. Las muestras de suero con resultados menores que 0.50 se clasifican como negativas.

Cuestionario

En cada explotación se aplicaron dos tipos de cuestionarios uno del rancho donde incluyen datos como: identificación del rancho, número de animales, manejo reproductivo, manejo de placentas y fetos, presencia de perros en el rancho y si estos tiene acceso al área de bovinos, limpieza del corral y

bebederos (Anexo 1). El otro cuestionario obtuvo información individual sobre raza, edad, número de partos, número de abortos, entre otros (Anexo 2).

Análisis de la información

Con el programa estadístico STATA 11.0 (STATA 11), se realizó un análisis descriptivo de cada una de las variables cualitativas y cuantitativas, mediante las frecuencias absolutas y relativas, así como por medio de la mediana, la moda, desviaciones estándar y varianzas en el caso de las cuantitativas. Además se realizó un análisis bivariado donde se observaron diferencias entre grupos, cuando las variables continuas presentaron distribución normal se utilizó la prueba de "t", en caso contrario el estadístico de U de Mann-Whitney; para las variables categóricas la prueba de X^2 . Se obtuvo la razón de momios (RM) y su intervalo de confianza al 95% para cada uno de los diferentes factores de riesgo (presencia de abortos en rancho, tenencia de perros en las instalaciones) y la variable dependiente principal (Pagano M., et. al., 2001. Wayne WD., 2006)

RESULTADOS

El banco de sueros del proyecto INIFAP 3217251P contenía aproximadamente 4,580 muestras, de los cuales se analizaron 837 sueros provenientes de hembras con un rango de edad de 2 a 13 años y con fin zotécnico de producción de leche.

Las muestras procesadas fueron 837, de las cuales 462 (55.19 %) resultaron positivas a la prueba de ELISA, el resto negativas 375 (44.80%) (Cuadro 4), las muestras procesadas provenían de 188 ranchos (Cuadro 5).

La seroprevalencia fue de (Figura 1): 49.71% (88/177) en Aguascalientes, 64.89% (207/319) en Guanajuato, 73.68% (70/95) en Hidalgo, 75% (21/28) en el Estado de México, 29.17% (7/24) en Morelos, 60.86% (42/69) en Puebla, 64.28% (9/14) en Tlaxcala y (16.21%) (18/111) en Veracruz.

Cuadro 4. Distribución de las muestras positivas y negativas a la prueba de ELISA por Estado.

Estado	Muestra positiva	%	Muestra Negativa	%	Total
Aguascalientes	88	49.71	89	50.28	177
Guanajuato	207	64.89	112	35.10	319
Hidalgo	70	70.00	25	25.00	95
México	21	75.00	7	25.00	28
Morelos	7	29.16	17	70.83	24
Puebla	42	60.86	27	39.13	69
Tlaxcala	9	64.28	5	35.71	14
Veracruz	18	16.21	93	83.78	111
Total	462	55.19	375	44.80	837

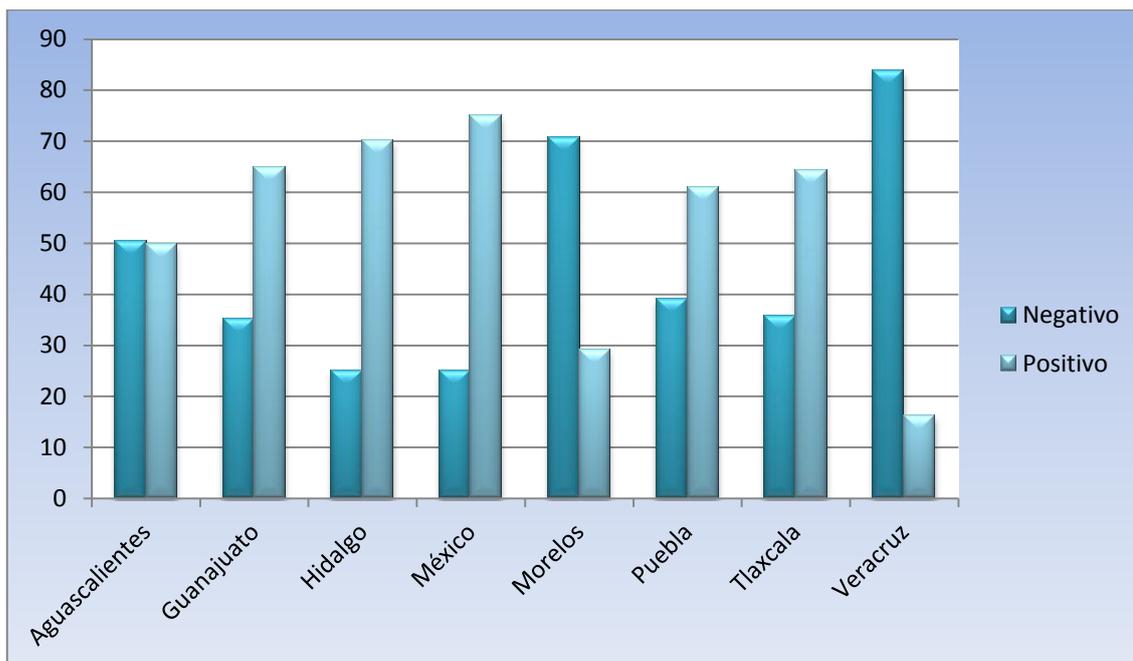


Figura 1. Distribución de las muestras positivas y negativas por ELISA, se observa que el Estado de México presenta una mayor prevalencia de animales positivos, en contraste con Veracruz que presenta un mayor número de animales negativos.

Cuadro 5. Distribución por Estado y número de ranchos de los sueros de hembras analizados con la técnica de ELISA

Estado	Número de Ranchos	%
Aguascalientes	23	12.23
Guanajuato	61	32.60
Hidalgo	33	17.54
México	15	8.00
Morelos	5	2.60
Puebla	20	10.60
Tlaxcala	8	4.20
Veracruz	23	12.23
Total	188	100

Con respecto al manejo en 29 (14.5%) ranchos este era pastoreo todo el día, en 41 (20.5%) sacan a los animales a pastoreo medio día y el resto es estabulado.

Para cuidar al ganado en 104 establos (55.3%) tienen empleados, en 42 (22.3%) lo hace el dueño, en 35 (18.6%) lo hacen sus familiares, y en 7 (3.8%) lo hace otro.

Se observa que separan a las becerras de las madres en un 97.3%(184) y el resto no lo hacen. De los que separan a las becerras, 153 (83.1%) lo realizan al nacimiento, 22 (11.9%) al destete, y 13 (5%) realizaban otro manejo.

El número total de corrales con los que se cuentan en los ranchos se observan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Número de corrales en las Unidades de Producción del estudio.

Numero de corrales	Numero de ranchos	%
1	46	24.40
2	46	24.40
3	34	18.80
4	24	12.70
5	5	3.60
6	9	4.70
7	7	3.70
9	2	1.00
11	1	0.50
13	1	0.50
14	1	0.50
24	1	0.50
25	1	0.50
No contestaron	8	4.20
Total	186	100

Los métodos utilizados para gestar a las vacas fueron: en 34 (19.2%) solo usa semental, en 112 (60%) usa inseminación artificial, y en 37 (20.8%) lo hacen mixto.

De los ranchos que solo usan semental para gestar a las vacas mencionaron 6 (3.1%) personas que lo cambian cada año, 20 (10.6%) cada dos años, 31 (16.4%) cada tres años, 8 (0.05%) nunca lo cambia, en 122 (64%) ranchos no contestaron a la pregunta o no se cuenta con la información.

Con respecto a la pregunta si en el rancho se presta el semental o si lo pide prestado, 21 (11%) contestaron que si, 47 (25%) que no, y en 2 (0.01%) a veces, y el resto no sabe o no contestó a la pregunta.

El origen de los bovinos en el rancho, en 113 (60%) son nacidos en el mismo, 3 (1.5%) comprados en otro lugar, y en 68 (36%) es mixto.

Se preguntó si de enero del 2012 a la fecha de la encuesta enero 2013, los productores han introducido ganado proveniente de otro lugar, 37 (20%) de ellos contestaron que si, 40 (21%) que no, y el resto no sabe.

De estos animales recientemente introducidos al rancho, 3 (0.15%) eran sementales, 8 (4.2%) hembras gestantes, 13 (6.9%) reemplazos, el resto era combinaciones de las opciones anteriores.

En cuanto a la procedencia de los animales comprados, 4 (2%) de ellos en la misma comunidad, 6 (3%) del mismo municipio, 10 (5%) en el mismo Estado, 3 (1.5%) en otro Estado, 5 (3.5%) en otro país, el resto no se cuenta con información o no contestaron.

Se pregunto que si al momento de la compra de animales los propietarios pedían algún certificado donde se asegure que ese animal está libre de *Brucella spp*, en 18 (9%) contestaron que si, 23 (12%) que no, y en 2 (1%) a veces, el resto no se cuenta con información o no contestaron.

Con respecto a la presencia de abortos o distocias dentro del rancho, 132 (70%) dijo que si había estos problemas en su rancho, 52 (27%) dijo no tener problemas, el resto no sabe.



Figura 2. Distribución de ranchos con presencia y ausencia de abortos o distocias dentro del rancho, se reporta un número considerable de abortos dentro de los ranchos.

De las vacas que presentaron problemas reproductivos se observó que la procedencia de estas vacas era en 95 (50%) las que habían nacido en el rancho, 10 (5%) compradas, 21 (11%) las de opción combinada, el resto no recuerda.

Las vacas que presentaron aborto reportaron ser de primer parto fueron 22 (11.5%), de segundo parto 39 (20.3%), de tercer parto 27 (14%), y de cuarto parto 38 (20%), el resto no sabe.

El estado físico de las vacas que presentaron aborto era en 44 (23%) muy delgadas, 15 (7.9%) moderadamente delgadas, 43 (22%) buena conformación, 24 (12%) obesa, el resto de los que contestaron consideraron combinaciones de lo anterior.

Se pidió al propietario que mencionara como era el producto abortado, 27 (14.3%) indicaron que muy pequeñas, 62 (33%) de buen tamaño y bien formadas, 9 (4.7%) momias o secas, y el resto no se fijó o no lo recuerda.

En cuanto a los becerros que recientemente habían nacido en el rancho se describió que nacían débiles o que morían al poco tiempo en 65 (34.5%), dijo no haberlo notado en 122 (65%), y el resto no sabe. Con defectos congénitos se presentaron 20 (10.6%) presentando múltiples malformaciones.

En cuanto a la presencia de problemas reproductivos como celos repetidos 141 (75%) menciona haber observado estos problemas, el resto no sabe o no los tiene (Figura3).

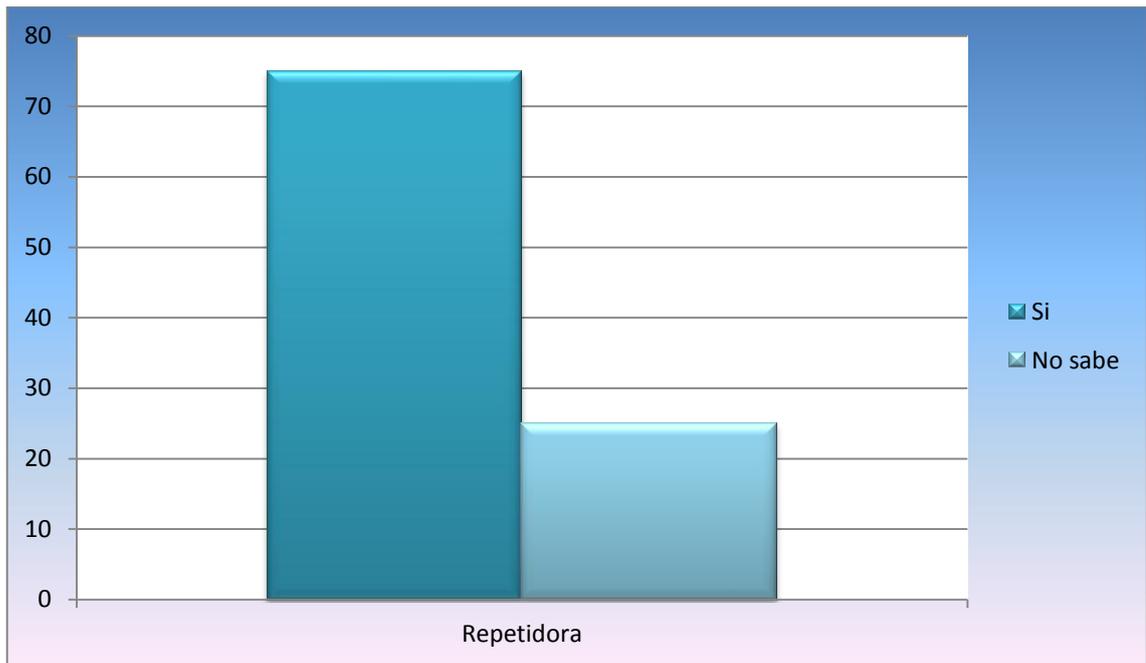


Figura 3. Distribución de las vacas, que reportan tener ciclos repetidos.

Con respecto a la pregunta de que si habían notado algún semental o vaca que poco a poco adelgazara, y que a pesar de darles tratamiento o mejor alimentación murieran, esto se observó en 69 (36.7%) casos, 113 (60%) no lo tiene, y en 3.3% no lo ha notado.

En cuanto a la presencia de diarreas en las vacas adultas, 46 (24.4%) tuvieron el problema, en 140 (75%) no lo presentan y 0.6% no lo sabe.

Con problemas respiratorios o tos persistente que cause la muerte, fue observado en 61 (32.4%) ranchos, 126 (67%) no lo tiene, y 0.6% no lo recuerda.

De los ranchos que presentaron problemas respiratorios se pidió que mencionaran la época del año es donde con mayor frecuencia observa el

problema, en 34 (18%) se presentó en época de frío, 13 (7%) en lluvias, 4 (2%) en época seca y 10 (5.3%) durante todo el año.

Otros problemas físicos encontrados son abscesos en el cuerpo del ganado, en 61 (32.4%) habían tenido este problema, en 111 (60%) no lo habían presentado, y el 7.6% no sabe.

El número de vacas que ordeña actualmente tiene un rango de 2 hasta 3,050, con un promedio de 113 vacas por hato.

La realización del ordeño de las vacas en 64 (34%) ranchos lo realizan a mano y en 124 (66%) de forma mecánica. De los que lo realizan en forma mecánica, mencionan realizar la limpieza y desinfección de la ordeñadora en 89 (71.6%) después de cada ordeño, 23 (18.8%) una vez al día, 10 (8%) una vez a la semana, 1 (0.8%) una vez al mes, 1 (0.8%) menos de una vez al mes.

En cuanto al número de veces que ordeña a sus vacas la día 21 (11.1%) lo hacen una vez, en 147 (78%) lo hacen dos veces, el resto lo hacían tres veces al día.

Con respecto a la tenencia de una sala de ordeño o un lugar especial para la realizarla, en 113 (60%) cuentan con esta instalación, 66 (35%) no lo tienen, y 5% sin información o no contestaron.

El destino de la leche que se ordeña en 178 (94%) a la venta, en 4 (2%) la consume en casa, y en 6 (4%) elaboran quesos.

La forma de conservación de la leche antes de venderla o procesarla es en 114 (60%) en bote (caliente), en 53 (28%) refrigerada (tanque), y en 12% no contestaron o no se cuenta con la información.

Considerando la medicina preventiva y la aplicación de vacunas, en 156 (82%) si aplican regularmente y 32(18%) no vacuna.

Las principales vacunas que aplican son las siguientes: 48 (30%) *Brucella*, 28 (18%) Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBR), Diarrea Viral Bovina (DVB), Virus Respiratorio Sincicial Bovino (VRSB), Parainfluenza tipo 3 (PI3); 47 (30%) *Leptospira*, 19 (12%) Rabia, 31 (19%) clostridios, 4 (2%) mastitis.

A los animales que vacunan contra la brucelosis, 68 (36%) son hembras de seis meses de edad, 11 (6%) hembras adultas, 1 (0.5%) hembras de cualquier edad, 19 (10%) revacunan a todas, el resto no las vacunan contra esta enfermedad.

Cuando vacuna al ganado en 70 (37.2%) lo hacen con una jeringa y una solo aguja para todos, en 61 (32.4%) usa una jeringa pero cambia la aguja para cada uno, en 48 (25.5%) usa aguja y una jeringa para cada animal, el resto no se fijo como lo realiza el técnico, asesor o MVZ.

Las agujas que se utilizaron para inyectar o dar tratamiento a los animales eran 145 (77%) nuevas, 28 (14.8%) usadas, 15 (8%) tanto nuevas como usadas.

En los ranchos lecheros se observó la tenencia de otras especies que pueden llegar a tener contacto el ganado (Figura 4) , principalmente en 56 (29.7%) fueron borregos, en 8 (4.2%) cabras, en 15 (8%) puercos, en 117 (62.2%) perros, en 15 (8%) gatos, en 50 (42.3%) gallinas, en 16 (8.5%) guajolotes, en 32 (17%) caballos, y en 85 (72%) roedores.

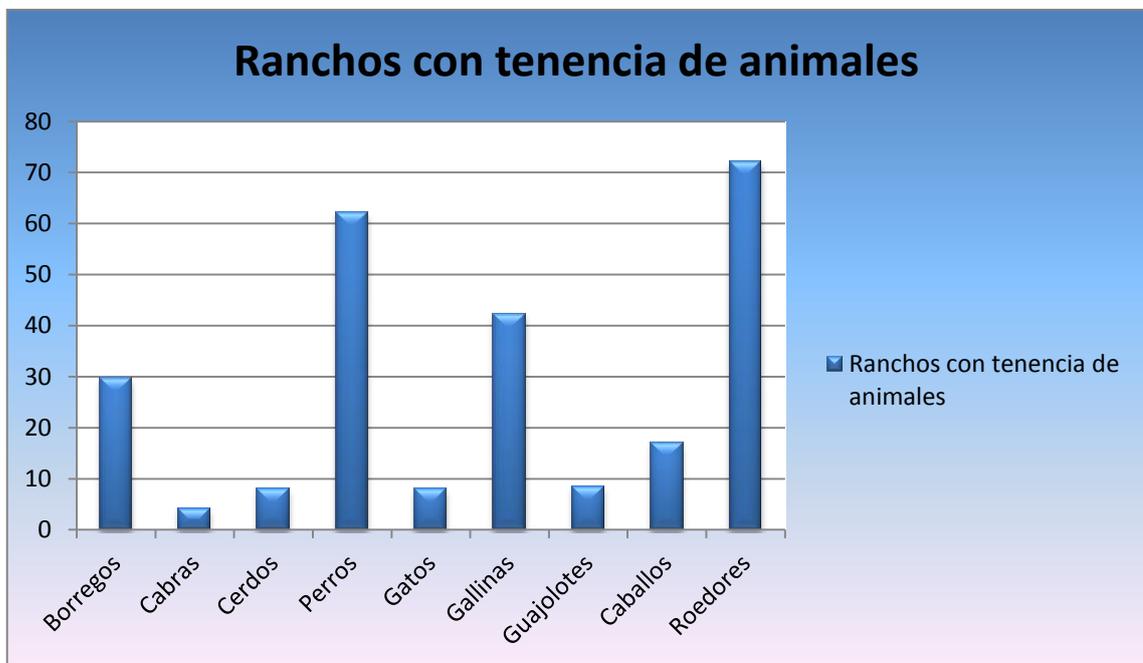


Figura 4. Distribución de la tenencia de otras especies en contacto con el ganado lechero, se observa un número importante de ranchos con la presencia de perros.

Con respecto a la pregunta de que si los perros de los vecinos tienen acceso a donde se encuentran las vacas en 112 (59.5%) si tienen acceso a los establos, en 66 (35.1%) no tienen acceso, y en 10 (5.3%) a veces.

Cuadro 7. Total de ranchos trabajados, con la tenencia de perros dentro del rancho

Estado	Número de Ranchos	Tiene perro		Perro del vecino entra al rancho		
		Si	No	Si	No	A veces
Aguascalientes	23	n/d	n/d	14	8	1
Guanajuato	61	38	23	38	23	2
Veracruz	23	15	4	16	2	n/d
Puebla	20	16	2	3	15	n/d
Tlaxcala	8	4	2	1	4	1
Hidalgo	33	22	5	21	5	1
México	15	7	5	7	4	1
Morelos	5	4	n/d	4	n/d	n/d

Nota: n/d: casillas en blanco sin información

Los productores realizan lo siguiente con las placentas: en 37 (19.6%) se la comen los perros, en 48 (25.5%) las dejan en el establo, en 69 (36.7%) solo las sacan del corral, en 4 (2.1%) le colocan cal encima de ellas, en 12 (6.3%) las entierran, y en 9.8% realizan otras prácticas.

Aplican desparasitante en 155 (82.4%) ranchos, en 28 (14.8%) no lo aplican, y en 5 (2.6%) a veces lo realizan. De los que realizan la desparasitación lo realizan al secado 36 (23.2%), en 66 (42.5%) dos veces al año, y en 41 (26.4%) cada año.

El material de cama de las vacas es en 12 (6.3%) de arena, en 5 (2.6%) de paja, en una (0.5%) de aserrín, en 24 (12.7%) de estiércol seco, en 4 (2%) de otro material, y en 123 (65.4%) no tiene echadero.

En cuanto a los que si tienen cama para sus vacas, la frecuencia con la renueva el material es en 5 (10.8%) diariamente, en 11 (23.9%) semanalmente, y 35 (76%) lo realiza con otra frecuencia.

Acostumbran a sacar el excremento de los animales en los corrales en 173 (92%), en 10 (5.3%) no lo hacen, y 5 (2.6%) a veces lo hace.

La práctica de limpieza y desinfección de los comederos de los animales en 101 (53.7%) lo realizan a diario, en 26 (13.8%) semanalmente, en 6 (3%) una vez al mes, 5 (2.6%) 4-6 veces al año, en 11 (5.8%) cuando se acuerdan, y en 39 (20.7%) nunca lo hace.

Y para la práctica de limpieza y desinfección de los bebederos de los animales 51 (27.1%) lo realiza diario, 53 (28.1%) semanalmente, 9 (3.7%) una vez al mes, 6 (3.1%) 4-6 veces al año, 14 (7.4%) cuando se acuerda, y el resto nunca.

De los animales con los que se contaba información en el estado de carnes fue considerado muy delgado, en 11 (1.3 %) malo, en 131 (15.4 %) regular o bueno, en 582 (68.7%), 94 (11.1%) gordo, 3 (0.03%) muy gordo.

El 46.75% de las hembras han presentado abortos y 53.25% no; de aquellas hembras con abortos, el 79.49% ha tenido un aborto, el 15.07% dos abortos, el 1.74% tres abortos y solo el 0.58% cuatro abortos.

En cuanto la observación de vacas repetidoras el 74.56% si ha notado repetición del estro y 25.44% no ha reportado la ausencia del retorno al estro.

El ganado ha nacido en el rancho en un 86.75%, mientras un 13.25% nacieron fuera del rancho. Para la adquisición de ganado lechero un 33.33% compro en el mismo municipio, 33.33%en otro municipio del mismo Estado, 9.09%en otro Estado, 24.24%en otro País.

El cuanto al tiempo desde que compro el ganado se reporta que 2.44% fue hace un mes, 28.05% fue de uno a seis meses, en 29.27% un año, 39.02% más de un año, 1.22% no recuerda.

Al momento de toma de muestra se analizo si los animales estaban recibiendo tratamiento, un 18.7% si lo estaba, en 81.3% no estaba recibiendo tratamiento.

Se buscó la asociación entre la infección con *Neospora* y las variables enlistadas a continuación, ninguna de ellas fue significativa:

1. Estado de carnes ($\chi^2=0.50$, $p=0.973$)
2. Presencia de abortos ($\chi^2=0.0719$, $p = 0.789$)
3. Al buscar de la relación variables *Neospora caninum* y nacidos en el rancho con $\chi^2=0.01$ y $Pr=0.889$.

Las significativas entre infección a *Neospora* fueron las siguientes:

1. Vacas repetidoras (cuadro8).

Cuadro 8 Asociación entre infección a *Neospora* y vaca repetidora

Repetidora	Negativo	Positivo	Total
Si	21	39	60
No	150	131	170

$$= 6.6818 \quad Pr = 0.010$$

Si hay asociación entre tener celos repetidos y haber cursado con la enfermedad

2. Para la relación entre las variables *Neospora* y tratamiento se obtuvo $\chi^2 = 6.4$ y $Pr=0.011$ por lo que si hay relación entre estas variables, pero esto se debe probablemente al tamaño de muestra.

DISCUSIÓN

El diagnóstico de la enfermedad en el ganado lechero es complicado debido a la pobre signología del cuadro clínico que no permite diferenciarlo de otras enfermedades reproductivas que también causan aborto. La neosporosis bovina ha tomado importancia debido al impacto que deja en los ranchos lecheros. Situación descrita desde el primer informe hecho por Morales y colaboradores en 1997.

Los resultados obtenidos de esta investigación demuestran el alto porcentaje de prevalencia en las unidades de producción lechera que fueron muestreadas. Considerando que el número de muestras a trabajar en cada estado se ponderó de acuerdo a la población, se consideró además la frecuencia de antecedentes de aborto y otras fallas reproductivas.

Estos resultados (Cuadro 4) demuestran la amplia diseminación y prevalencia de la infección, evidenciando la necesidad de implementar medidas para su prevención y control.

La seroprevalencia informada en un estudio previo fue del 45% en ganado lechero en los Estados de Jalisco, Durango, Querétaro, Chihuahua y México (García-Vázquez et al., 2005); en este estudio se obtuvo un 75% lo que demuestra la presencia del agente.

En un trabajo realizado en Hidalgo (Calzada et al., 1999) utilizando la técnica de ELISA, fue del 54% de positividad, más bajo con respecto a este estudio. En otro estudio del estado de Hidalgo realizado en hatos lecheros con la

técnica de ELISA arroja un promedio (Sánchez-Castalleja YM., et al 2012) de 54.2%, siendo este más bajo con respecto a este estudio que fue de 70% de positividad.

En un estudio que incluía los Estados de Veracruz, Querétaro, México, Aguascalientes y Guanajuato, se encontró una seroprevalencia de 33% (Zenteno RG., et al 2008), en contraste con lo encontrado en este estudio para el Estado de Guanajuato que fue de 64.89%

En un estudio realizado en el Estado de Aguascalientes por (Medina- Esparza et al., 2009) en establos lecheros con sistema de producción estabulado; la seroprevalencia fue de 31%, el presente estudio la seroprevalencia es de 49.71% más alta con respecto al anterior, donde se asociaron a factores de riesgo como la presencia de coyotes, o la tenencia de perros dentro del establo lechero, donde se mostró que (14/23) 60% de establos cuentan con perros dentro de las instalaciones.

En un estudio realizado en Veracruz con ganado cárnico, la prevalencia informada fue de 8.6% (García-Vásquez., et al 2009). En el presente estudio fue de 16.21% este resultado relativamente bajo se asocia al tipo de producción ganadera que se encuentra en el estado ya que predomina la producción extensiva, es decir no hay contacto estrecho entre los animales además los productores no mencionan la presencia de perros ni coyotes con el ganado.

Para el Estado de Puebla la seroprevalencia informada en un estudio previo fue de 39% (Morales et al., 2001) en sueros de ganado lechero, en este estudio lo encontrado fue de 60.86%.

No se encontraron estudios previos llevados a cabo en los estados de Morelos y Tlaxcala para poder comparar los resultados del presente estudio. Sin embargo la actividad ganadera es el sustento de numerosas familias en estos estados y además son estados con alta movilización ganadera, razón por la cual la seroprevalencia de neosporosis encontrada en el presente estudio, Morelos 29.17% y Tlaxcala 64.28%, respectivamente, sienta un precedente de la presencia y distribución de la enfermedad en estos estados y es importante para que se considere a la neosporosis en los programas de manejo sanitario.

Los resultados obtenidos del presente estudio permiten demostrar que existe evidencia serológica de la presencia de *Neospora* en hatos productores de leche en el Centro y Golfo de México. No se cumple con la hipótesis debido a que los resultados encontrados en el presente estudio son más altos en comparación con los informados previamente.

En base a lo anterior se recomienda a los ganaderos que separen a las vacas abortadas de las no abortadas, de ser posible ir eliminando a las vacas infectadas del rancho. Los becerros de las madres sin registro previo de aborto separarlo de las que sí han abortado y no dejar a las becerras como posibles reemplazos de ser posible eliminarlas del rancho.

No tener perros dentro del rancho ni permitir el paso de perros de los vecinos a la zona de bodega de alimento o bebederos del ganado.

CONCLUSIONES

En este estudio se demostró la seroprevalencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en el Centro y Golfo de México, utilizando un juego de reactivos comerciales el cual tiene una sensibilidad del 100% y especificidad de 92.2%. La detección de anticuerpos específicos contra este protozooario evidencia la infección del ganado bovino en la zona de estudio.

La técnica de ELISA es una herramienta de diagnóstico rápida que permite determinar con precisión el impacto de la parasitosis en la producción lechera; así como dar seguimiento a los programas de prevención que se implementen en las unidades lecheras cuando existen, o implementarlos en el caso contrario.

El presente trabajo demuestra la evidencia de la circulación del agente en los hatos ganaderos y constituye un reto para el médico veterinario quien debe establecer protocolos para el diagnóstico oportuno y la contención del agente, para así evitar las pérdidas reproductivas asociadas a la enfermedad

LITERATURA CITADA:

1. ABBITT B, CRAIG TM, JONES LP, HUEY RL, EUGSTER AK. Protozoal abortion in a herd of cattle concurrently infected with *Hammondia pardalis*. JAm vet med Ass 1993;20:444-448.
2. ANDERSON ML; ANDRIANARIVO AG, CONRAD PA. Neosporosis in cattle. Anim Rep Sci 2000; 60:417– 431.
3. BJERKAS I, MOHON SF, PRESTHUS J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myostis in dogs. Z. Parasitenk 1984; 70:271-274.
4. BJERKAS I, DUBEY JP. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*- like parasite of Norwegian dogs. Acta Vet Scand 1991;132:1407-1417.
5. CALZADA CP, Producción bovina valores hematológicos en vacas Holstein seropositivas a *Neospora caninum* de la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo (tesis de licenciatura) Estado de México Cuautitlán: UNAM,1999
6. CÓRDOVA LD, HERNÁNDEZ AL, URRUTIA VRM, MOLES Y CLP, GARCÍA VZ. Enfermedades que provocan aborto en bovinos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Folleto técnico. Campo experimental bajío. Celaya, Guanajuato. Diciembre 2003.
7. DELGADO GR, QUINTERO CJ, LUNA DE AA. Estudio patológico, microbiológico y serológico del aborto en bovinos Holstein de la Comarca Lagunera. Memorias de XIX Congreso Nacional de Buiatría.

- Torreón Coahuila, México 1995: 77-78. XIX Congreso Nacional de Buiatría, Torreón Coahuila, México.
8. DIJKSTRA T, BARKEMA HW, EYSKER M, BEIBOER ML, WOUDA W. Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies. *Vet Parasitol* 2003;110:161–169.
 9. DUBEY JP, CARPENTER JL, SPEER CA, TOPPER MJ, UGGLA A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs, *J Am Vet Med Assoc* 1988;192:1269-1289.
 10. DUBEY JP, MILLER S, LINDSAY DS, TOPPER MJ. *Neospora caninum*-associated myocarditis and encephalitis in an aborted calf. *J Vet Diagn Invest* 1990;2:66-69.
 11. DUBEY JP, LINDSAY DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 1996;67:51-59.
 12. DUBEY JP. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J. Am. Vet. Assoc* 1999; 214: 1160- 1163.
 13. DUBEY JP, BARR CB, BARTA RJ, BJERKAS I, BJÓRKMAN C, BLAGBURN LB *et al.* Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. *Int J Parasitol* 2002;32:929-946.
 14. DUBEY JP, SCHARES G. Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet. Parasitol* 2006; 140:1-34.
 15. DUBEY JP, SCHARES G. Neosporosis in animals--the last five years. *Vet Parasitol* 2011; 180(1-2): 90-108.
 16. ELLIS JT, MCMILLAN D, RYCE C. Development of a single tube nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Neospora caninum* DNA. *Int. J. Parasitol* 1999; 29: 1589-1596.

17. FERRE I, ALVAREZ-GARCIA G, COLLANTES-FERNANDEZ E, PEREZ-ZABALLOS F, ORTEGA-MORA L. Diagnóstico de la infección y del aborto causado por *Neospora caninum* en los bovinos. Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Sanidad Animal 2003.
18. GARCIA GFA. Lista MDA. Neosporosis y Tricomoniasis. Manual de ganadería de doble propósito. Maracay- Venezuela. Especialización en Reproducción Bovina. División de estudios para graduados. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela 2005.
19. GARCIA VZ, CRUZ VC, GARCIA TD, MEDINA EL, CHAVARRIA B. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, México. Vet. Parasitol 2002; 106:115-120.
20. GARCIA-VZ, ROSARIO C, RAMOS AR, CRUZ VC, MAPES SG. *Neospora caninum* seropositivity and association with abortion in dairy cows in México. Vet. Parasitol 2005;134: 61-65.
21. GARCÍA-VÁZQUEZ Z, ROSARIO-CRUZ R, MEJÍA-ESTRADA F, RODRÍGUEZ-VIVAS I, ROMERO-SALAS D, FERNANDEZ-RUVALCABA M, Cruz-Vázquez C. Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in beef cattle in three southern states of Mexico. Trop Anim Health Prod. 2009 Jun;41(5):749-53.
22. GASQUE GR. Enciclopedia bovina. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia 2008; 187-188.
23. GERARDO F. QUIROZ R, MORALES SE, SALMERÓN SF, CALZADA CP, GARCÍA OC, HERNÁNDEZ BJ. Valores hematológicos en vacas

- de raza Holstein-Fresian seropositivas a *Neospora caninum* de la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo, México. Vet Méx 2002;33(2):119-124.
24. GUTIERREZ GJ, VAZQUEZ CC, MEDINA LE, VADIVIA AF. Factores de Manejo Asociados con la Seroprevalencia a la Infección por *N. caninum*, en el Ganado Lechero de Aguascalientes. Vet. Méx. 2007; 38:3 261-270.
25. IBARRA VF, VERA MY, ALCALA CY. Parasitología Veterinaria Vol. 1 Protozoarios. México, Castel 2009: 135-143.
26. LEVY SP, LEMESHOWS. Sampling for health professionals. Lifetime learning publications. Belmont, California 1980.
27. MEDINA E L, CRUZ VC, CONZUELO SR, RAMOS PM. Identificación de ADN en agua de bebida y factores de riesgo asociados a la presencia de *Neospora caninum* en ganado lechero de Aguascalientes, México. Congreso Nacional de Parasitología Veterinaria. Memorias del CONAVET 2009, Mérida Yucatán México. Capítulo 31: 146-150.
28. MOORE DP, ODEÓN AC, VENTURINI MC, CAMPERO CM. Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. Revista Argentina de Microbiología 2005; 37: 217-228.
29. MORALES SE, RAMÍREZ LJ, TRIGO TF, IBARRA VF, PUENTE CE, SANTACRUZ M. Descripción de un caso de aborto bovino asociado a infección por *Neospora* sp en México. Vet Méx 1997;28:353-357.

30. MORALES SE. Situación de la neosporosis en México. En: Consejo Técnico Consultivo de Sanidad Animal, editor. Memorias del CONASA 1997; Coahuila, México.
31. MORALES SE. Diagnóstico Inmunológico y Epidemiología de la Neosporosis en el Altiplano Mexicano. (tesis doctorado) .México DF 1999 ,UNAM.
32. MORALES E, TRIGO FJ, IBARRA F, PUENTE E, SANTACRUZ M. Neosporosis in Mexican dairy herds: lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. J Comp Pathol 2001; 125(1):58-63.
33. MORALES E, TRIGO FJ, IBARRA F, PUENTE E, SANTACRUZ M. Seroprevalence study of bovine neosporosis in Mexico. J Vet Diagn Invest. 2001 Sep;13(5):413-415.
34. OBENDORF D, MASON R. *Neospora caninum* infection detected in a bovine aborted fetus. Aust Soc Vet Pathol Rep 1990; 28:36-37.
35. OTTER A, GRIFFINTHS IB, JEFFREY M. Bovine *Neospora caninum* abortion in the U.K. Vet Rec 1993; 133:135.
36. PETERS M, WAGNER F, SCHARES G. Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. Parasitol 2000; Res. 86: 1 – 7.
37. PONCELET L, BEJERKAS I, CHARLIER G, COIGNOUL F, LOSSON B, BALLIGAND M. Confirmation de la presence de *Neospora caninum* en Belgique. Ann Med Vet 1990; 134: 501-503.

38. QUIROZ RH, FIGUEROA CJA, IBARRA VF, LÓPEZ AM. Epidemiología de enfermedades parasitarias en animales domésticos, México 2011; 88-113.
39. SANCHEZ-CASTALLEJA YM, RODRIGUEZ DJG, PEDROSO M, CUELLO S. Simultaneidad serológica de *Neospora caninum* con *Brucella abortus* y los virus de la Rinotraqueitis infecciosa bovina y diarrea viral bovina en bovinos pertenecientes al Estado de Hidalgo, México. Salud Animal 2012 34(2): 95- 100.
40. SANTANA OI, CRUZ VC, MEDINA-EL, RAMOS M, CASTELLANOS C, QUEZADA D. *Neospora caninum*: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente. Vet. Méx 2010;41(2):132-133.
41. THILSED JP, DUBEY JP. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. J Vet Diagn Invest 1989; 1:205-209.
42. TORRES IA. Neosporosis bovina y efecto del uso de una vacuna inactivada para disminuir la cantidad de abortos en el Ganado. En: Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos A.C. Memorias del XXIV Congreso Nacional de Buiatria; junio 15-17 Guadalajara, Jalisco, México: Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos A.C. 20:119-118
43. ZENTENO RG. Perfil serológico para los principales agentes infecciosos asociados con problemas reproductivos en bovinos de leche en diferentes Estados de la República Mexicana (Tesis de licenciatura), Estado de México Cuautitlán: UNAM, 2008.

ANEXOS

Anexo 1. Encuesta para obtención de información del rancho en general:

SR. Productor: Todos los datos que usted proporcione son confidenciales y solamente serán utilizados con fine de investigación para el mejoramiento de la ganadería en este Estado.

FOLIO: _____

Fecha: (dd/mm/aaaa) Encuestador: _____

Nombre del propietario: _____ Nombre de la granja: _____

Ubicación de la explotación, Comunidad _____ Municipio: _____

Estado: _____ Referencia GPS: grado/min/seg.

1. ¿pertenece usted a algún grupo de productores?

Si ¿Cuál? _____ No A veces.

2. El día de hoy ¿aproximadamente cuantos bovinos tiene en total? _____

¿Cuántos sementales en servicio? ____ ¿Cuántos becerros y toretes? ____

¿Cuántas becerras y vaquillas? ____ ¿Hembras 1° parto? ____

¿Hembras de 2° parto? ____ ¿Hembras de 3 o más partos? ____

3. ¿Cómo acostumbra manejar sus vacas?

Las saca a pastorear todo el día Las saca en el día y las encierra en la noche Están todo el día encerradas en corrales

4. ¿Quién es el encargado de cuidar a sus vacas?

#__ empleados usted #__ familiares otro especifique _____

5. ¿Separa a las becerras de las madres?
- Si, ¿Cuándo? Al nacer al destete otro_____
- No
6. ¿Cuántos corrales tiene actualmente en uso para sus bovinos? _____
7. ¿Cómo acostumbra a cargar, dar servicio o gestar a sus vacas?
- Solo con semental solo inseminación artificial (**pasa a la 10**)
- Con ambas
8. ¿Cada cuando cambia de semental?
- Cada año cada dos años cada tres años nunca lo cambia
9. ¿Usted llega a pedir prestado o prestar el semental?
- Si No A veces No sabe
10. ¿Cuál es el origen de sus bovinos?
- Solo nacidos en su rancho (**pase a la 15**)
- Solo comprados o llegados de otro lugar
- Existen actualmente nacidos en su rancho y también comprados
11. De enero del 2012 a la fecha, ¿compro o metió bovinos a su rancho que hayan venido de otro lugar? Si No No sabe (**pase a la 15**)
12. ¿Qué tipo de animales ha comprado o metido a su rancho?
- Sementales Hembras gestantes Reemplazos
13. ¿Dónde los compro cuál es su procedencia?
- En la misma comunidad Mismo municipio
- En otro municipio del mismo Estado, ¿Cuál?_____
- En otro Estado ¿Cuál?_____ En otro País ¿en cuál? _____
14. Cuando usted compra bovinos ¿Pide que le den algún certificado o documento donde le aseguren que ese animal está libre de brucelosis?
- Si No A veces

15. de enero del 2012 a la fecha ¿Ha tenido vacas que aborten mal paran o tiren la cría?

Si ¿Cuántos animales? ____ No **(pase a la 20)** No sabe

16. ¿Qué vacas han abortado?

Las que han nacido en el rancho Las compradas

Han abortado por igual las del rancho y las compradas No recuerda

17. ¿A qué número de parto corresponden las vacas que abortaron?

1° parto 2° Parto las de 3 o más partos En cualquier parto

18. ¿Cómo estaban físicamente las vacas que abortaron?

Muy flacas Moderadamente flacas Normales Gordas

Había de todo tipo

19. ¿Cómo era el producto o las crías abortadas?

Muy chiquitas De buen tamaño bien terminadas

Como momias estaban secas No recuerda, no se fijó otra _____

Las siguientes preguntas son haciendo referencia de Enero del 2012 a la fecha:

20. ¿Ha tenido becerros que nazcan débiles y mueran al poco tiempo?

Si No No sabe

21. ¿Ha tenido becerros que nazcan con defectos como cabeza grande patas cortas hocico malformado, entre otros?

Si ¿Cómo eran?____ No No sabe

22. ¿Ha tenido vacas que parecían que ya estaban cargadas y que después entran en calor nuevamente (repetidoras)?

Si No No sabe

23. ¿Ha tenido vacas o sementales que poco a poco se adelgacen y que a pesar de darles tratamientos o mejorar alimentación no se reponen y mueren?

Si No No sabe

24. ¿Ha observado vacas adultas que presentan diarrea y que a pesar de darles tratamiento o mejorar alimento no se recuperan?

Si No No sabe

25. ¿Sus bovinos han tenido tos fuerte o problemas respiratorios y han llegado a morir por esta causa?

Si No **(pase a la 27)** No sabe

26. ¿En qué época del año les da esta tos?

En las secas En las lluvias En la época de fríos Todo el año

27. ¿Sus vacas (mayores de 1 año) han tenido o tienen en el cuerpo bolas llenas de pus (absceso)? ¿Dónde?_____ No No sabe

28. Actualmente cuantas vacas ordeña _____

29. ¿Cómo ordeña a sus vacas?

A mano **(pase a la 31)** ordeñadora mecánica

30. ¿Cada cuando realiza la limpieza y desinfección de la ordeñadora?

Después de cada ordeño Una vez al día por los menos 1 vez/semana Por lo menos 1 vez/mes Menos de 1 vez/mes

31. ¿Cuántas veces al día ordeña a sus vacas? una dos tres

32. ¿Cuenta con sala de ordeño o lugar especial para ordeñar a sus animales?

Si No A veces

33. ¿Qué hace con la leche que ordeña?

La vende La consume Hace quesos Otra _____

33.1. ¿Cómo conserva la leche antes de venderla o procesarla?

- En bote (caliente) Refrigerada (tanque)
34. ¿Usted acostumbra a vacunar a sus vacas? Si No **(pase a la 38)**
35. ¿Qué vacunas les pone?
- Brucelosis* IBR, DVB, VRSB, PI3 Leptospirosis Rabia
- Clostridios Contra mastitis Otras _____
36. ¿A qué animales vacuna contra la brucelosis? **Sino vacuna contra brucelosis pase a la 38**
- Hembras de 6 meses de edad Hembras adultas
- Hembras de cualquier edad Revacuna a todas
37. ¿Con que frecuencia viene le técnico a vacunar contra brucelosis?
- Cada 6 meses cada año cada dos años Otra_____
38. ¿Cuándo inyecta a sus vacas como lo hace?
- Con una jeringa y una solo aguja inyecta a todos
- Usa una sola jeringa pero cambia la aguja para cada uno
- Usa una aguja y una jeringa para cada anima
- No se fija como lo realiza el técnico, asesor o MVZ
39. ¿Cómo son las agujas que usa para inyectar o dar tratamiento a sus animales? Nuevas Usadas Tanto nuevas como usadas
40. ¿Qué otros animales tiene en su rancho que estén junto o convivan con las vacas?
- Borregos Cabras Puercos Perros Gatos Gallinas
- Guajolotes Caballos Ratas o ratones Otros_____
41. ¿Los perros de casas vecinas pueden entrar a donde están sus vacas?
- Si No A veces
42. Generalmente ¿Qué hace usted con las placentas cuando un animal pare?

Se las comen los perros Permanecen ahí Las saca del corral Le echa cal encima Las entierra Otro _____

43. ¿Usted acostumbra darles medicamentos contra las lombrices o desparasitar a sus vacas? Si al secado 2 veces al año cada año
 No A veces

44. ¿Qué material usa en los echaderos de las vacas?

Arena Paja Aserrín Estiércol seco otro _____
 No tiene echadero **(pase a la 46)**

45. ¿Con que frecuencia renueva el material de los echaderos?

Diariamente Semanalmente Otra _____

46. ¿Acostumbra sacar el excremento de los animales existente en el corral?

Si ¿con que frecuencia? _____ No A veces

47. ¿Con que frecuencia limpia y desinfecta los comederos?

Diario Por lo menos 1 vez al mes 4-6 veces al año 2 veces al año
 Cuando se acuerda

48. ¿Con que frecuencia limpia y desinfecta los bebederos?

Diario Por lo menos 1 vez al mes 4-6 veces al año 2 veces al año
 Cuando se acuerda

49. en su opinión cuales son las enfermedades más comunes que afectan a sus becerros.

50. ¿Cuáles son las principales causas de muerte de sus becerros?

51. Mencione cuales son las enfermedades más comunes que afectan a sus vacas.

52. Diga cuales son las principales causas de muerte de sus vacas.

LE AGRADECEMOS SU VALIOSA COOPERACION

Anexo 2. Encuesta para obtención de información de cada animal muestreado

CEDULA INDIVIDUAL

No rancho: _____ Fecha: _____ Nombre o identificación del bovino: _____

Raza: _____ Peso kg: _____ Edad meses: _____ Sexo: macho_ hembra_

1. Estado de carnes: () Muy malo () Malo () Regular/Bueno
() Gordo () Muy gordo

2. Tipo de animal:

() VACA, señale el número de partos_____

- ¿Esta vaca ha abortado alguna vez? () S, número de abortos ____ () No
- ¿Ha tenido problemas para cargarse (repetidora)? () Si () No
- ¿Cuánto es su producción máxima en litros de leche por ordeño? ____litros

() SEMENTAL O TORETE, ¿ha prestado este animal a otros ranchos?

() SI () No () A veces

3. ¿Este animal es nacido en el rancho? () Si **(pase a la 6)** () No () No sabe

4. si fue comprado ¿En donde se compro?

() En el mismo municipio () En otro municipio del mismo Estado, cual_____

En otro Estado cual _____ En otro país cual _____

5. Si fueron comprados ¿Hace cuánto tiempo llego a su rancho?

1 mes De 1 a 6 meses 1 año Mas de 1 año No recuerda

6. ¿Este animal ha recibido algún tratamiento en los últimos días?

Si cual _____ NO

PARA SER LLENADO POR EL ENCUESTADOR

FAVOR DE SEÑALAR LAS MUESTRAS OBTENIDAS

Sangre Excremento Hisopo rectal Exudado nasal Exudado vaginal Garrapatas

Este bovino al momento de ser muestreado presenta:

Secreción nasal tipo _____ estornudos tos

Secreción ocular nube en el ojo diarrea mastitis

Alopecia insignificante_ ligera_ avanzada_ absceso garrapatas

secreción vaginal tipo _____ deformación del pezuñas aumento de tamaño de ganglios cogerá Otros _____