

Neospora Caninum y sus alteraciones sobre la salud reproductiva bovina.

Trabajo de grado para optar por el título de Médica Veterinaria

Diana Marcela Álvarez Soto

Asesor

Jorge Andrés Prada Torres

M.V, Esp., MsC

Corporación Universitaria Lasallista

Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias

Medicina Veterinaria

Caldas – Antioquia

2016

Tabla de contenido

	Pág.
Introducción	8
Justificación	11
1. Objetivos	13
1.1 Objetivo general.....	13
1.2 Objetivos específicos.....	13
2. Marco teórico	14
2.1 Antecedentes históricos.....	14
2.2 Etiología y taxonomía.....	15
2.3 Estadios parasitarios.....	17
2.3.1 Taquizoitos.....	18
2.3.2 Bradizoitos – quistes tisulares.....	18
2.3.3 Ooquistes.....	19
2.4 Ciclo de vida.....	20
2.4.1 Vías de transmisión.....	22
2.4.1.1 Transmisión vertical.....	23
2.4.1.2 Transmisión horizontal.....	23
2.5 Patogénesis.....	25
2.6 Signos clínicos.....	26
2.7 Gestación e Inmunidad frente a <i>N. caninum</i>	28
2.7.1 Inmunidad humoral.....	29

2.7.2 Inmunidad celular.....	30
2.8 Diagnóstico.....	31
2.8.1 Muestras para el diagnóstico de laboratorio.....	32
2.8.2 Pruebas de laboratorio.....	32
2.8.2.1 Técnicas Indirectas.....	32
2.8.2.1.1 Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).....	33
2.8.2.1.2 Test de Inmonofluorescencia Indirecta (IFI).....	33
2.8.2.2 Técnicas directas.....	34
2.8.2.2.1 Histopatología.....	34
2.8.2.2.2 Inmunohistoquímica (IHQ).....	35
2.8.2.2.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	36
2.9 Diagnóstico diferencial.....	37
2.10 Control y prevención.....	38
3. Metodología.....	40
3.1 Resultados de laboratorio.....	41
3.2 Datos anamnélicos.....	42
4. Discusión.....	45
5. Conclusiones.....	51
Referencias.....	53
Apéndices.....	59

Lista de imágenes

	Pág.
Imagen 1. Estructura general del phylum Apicomplexa.....	17
Imagen 2. Taquizoito.....	18
Imagen 3. Bradizoitos contenidos en quiste.....	19
Imagen 4. Ooquiste.....	20
Imagen 5. Ciclo biológico <i>N. caninum</i>	24
Imagen 6. Feto abortado de 6 meses de gestación.....	27
Imagen 7. Variación colorimétrica en sueros bovinos mediante el test ELISA a <i>N. Caninum</i>	33
Imagen 8. Taquizoitos de <i>N. Caninum</i> mediante IFAT.....	34
Imagen 9. Cortes histopatológicos de cerebros de fetos bovinos.....	35
Imagen10. Inmunomarcación de corteza cerebral.....	36
Imagen 11. PCR para <i>N. Caninum</i>	37

Lista de tablas

	pág.
Tabla 1. Inventario Bovino nacional por género.....	8
Tabla 2. Orientación del hato ganadero.....	9
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Neospora Caninum</i>	15
Tabla 4. Estadios parasitarios de <i>N. Caninum</i>	17
Tabla 5. Resultados de laboratorio. Diciembre de 2008.....	41
Tabla 6. Resultados de laboratorio. Noviembre de 2009.....	41
Tabla 7. Resultados de laboratorio. Marzo de 2011.....	42
Tabla 8. Resultados de laboratorio. Mayo de 2011.....	42
Tabla 9. Datos anamnésticos.....	43

Lista de apéndices

	Pág.
<i>Apéndice A.</i> Registro fotográfico.....	60

Resumen

La neosporosis bovina, es una enfermedad causada por el parásito *N. Caninum* y su importancia a nivel mundial radica en producir abortos en bovinos a partir del tercer mes de gestación con mayor presentación entre el quinto y sexto mes, generando grandes pérdidas económicas. Se ha identificado al perro (*Canis familiaris*) como hospedador definitivo, quien elimina al medio ambiente los ooquistes esporulados encargados de producir la enfermedad en animales como bovinos, equinos, ovinos y cabras actuando estos últimos como hospedadores intermediarios. La enfermedad se transmite de forma vertical siendo esta la forma más significativa en la perpetuación de la enfermedad dentro de los hatos, y de forma horizontal en donde el perro cobra gran importancia. Los principales métodos de diagnósticos consisten en pruebas de histopatología, inmunohistoquímica y PCR en el feto abortado, ELISA e inmunofluorescencia indirecta. No existe un tratamiento efectivo contra la enfermedad, por lo tanto se utilizan métodos de prevención y control para la misma; en Colombia, se ha establecido la presencia de la enfermedad en varias regiones del país. Este trabajo se realiza con base en datos anamnésicos de la Estación Agraria Paysandú, Santa Elena – Antioquia, con el fin de asociar la presencia del agente causal de la neosporosis en bovinos, ciclo de vida, transmisión, presentación, prevención y control.

Palabras clave: Neosporosis bovina, *N. Caninum*, abortos, hospedador, bovinos.

Introducción

La ganadería en Colombia, ha sido la actividad más destacada en el sector agropecuario desde hace aproximadamente 50 años cuando la actividad ganadera empezó a ganar importancia como una industria. Posee relevancia en el desarrollo socioeconómico del país debido a su participación en la producción nacional y a sus implicaciones en la seguridad alimentaria. Actualmente el sector ganadero, ocupa un 88% de la superficie agropecuaria y aporta cerca de 3,6% del PIB Nacional, dentro del sector agropecuario un 27% y en el sector pecuario un 64%. En el país, el inventario ganadero se caracteriza por ser la mayoría de los animales de sexo hembra y con una mayor orientación del hato al sistema de cría (tabla 1 y 2). (Federación Colombiana de ganaderos [Fedegan], 2016).

Tabla 1. Inventario Bovino nacional por género

Hembras	12.516.695
Machos	6.155.541
Terneros	3.921.047
Total	22.593.283

Fuente. <http://www.fedegan.org.co/estadisticas/inventario-bovino-nacional>

Tabla 2. Orientación del hato ganadero

Lechería especializada	6,4%
Ceba	19,9%
Cría	38,8%
Doble propósito	35%

Fuente. <http://www.fedegan.org.co/estadisticas/inventario-bovino-nacional>

El área que se destina para la práctica de la ganadería es de 38 millones de hectáreas aproximadamente, con una capacidad de carga de 0,6 cabezas/ hectárea, caracterizando los sistemas de producción extensivos; así mismo, los indicadores de productividad demuestran la baja tecnificación del área (Vergara, 2010).

Por lo anterior, el establecimiento de producciones adecuadas según las diferentes condiciones ambientales de cada región y la implementación de estrategias de manejo en general que permiten mejorar tanto los indicadores productivos como reproductivos en los hatos, lo cual conlleva a que las producciones puedan ser sustentables y sostenibles tanto en el aspecto social, ambiental y económico a lo largo del tiempo (Vergara, 2010).

Debido a la posibilidad del país de realizar tratados de libre comercio, se observó la necesidad de generar políticas dirigidas a la sanidad agropecuaria e inocuidad de los alimentos, principalmente a las cadenas de lácteos y carne en donde se dió prioridad a las enfermedades de control oficial, denominándose así, debido a la alta transmisión, zoonosis y demás limitantes que presentan a la hora de comercializar los productos de las explotaciones; de este modo, el Instituto Colombiano Agropecuario, proporciona programas oficiales con el fin de controlar y erradicar estas enfermedades de

importancia nacional, como la fiebre aftosa, brucelosis, tuberculosis, encefalopatía espongiiforme bovina y estomatitis vesicular (Instituto Colombiana Agropecuario [ICA], 2016).

Sin embargo, se debe tener presente la existencia de otras enfermedades de control no oficial en todo el territorio colombiano, lo que sugiere que el productor desde su propia iniciativa debe prevenir y controlar mediante el respectivo esquema descrito para cada una de ellas, teniendo en cuenta que de igual forma repercuten de manera negativa en los índices reproductivos y productivos del hato con una importancia económica significativa, afectando la estabilidad y el progreso del sector ganadero.

Entre las enfermedades de control no oficial en Colombia se encuentran:

- Diarrea Viral Bovina (DVB)
- Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR)
- Leucosis
- Leptospirosis
- Campilobacteriosis
- Tricomoniasis
- Neosporosis

(Jiménez y Zambrano, 2012).

Justificación

La Neosporosis bovina, neosporosis abortiva o neosporosis fetal, es causada por *Neospora caninum*, un protozoo que guarda un estrecho parentesco con *Toxoplasma Gondii*, formando quistes tisulares en sus hospedadores. Durante su ciclo biológico el perro doméstico juega un papel clave al ser éste uno de sus hospedadores definitivos (Calandra et al., 2014).

Ésta es una enfermedad emergente de distribución mundial, cobrando gran importancia en la ganadería lechera, afecta principalmente a hembras gestantes y a terneras recién nacidas, las principales pérdidas económicas se le atribuyen a la presencia de abortos desde el tercer mes de gestación hasta el término de la misma, siendo más común entre el quinto y sexto mes, así mismo, se produce un incremento en el intervalo entre partos, disminución en la producción lechera, incremento en los sacrificios o animales de descarte (Vega, Chávez, Falcón, Casas y Puray, 2010).

Entre sus características, se encuentra ser asintomática (su presentación clínica es la presencia de abortos, terneras con ataxia neuromuscular y contractura articular) y de transmisión vertical o congénita y horizontal, por lo tanto las hembras infectadas continúan transmitiéndola de generación en generación en los hatos ganaderos (Jiménez y Zambrano, 2012).

Por estos motivos, es vital implementar planes de control y prevención, teniendo como objetivos clave el manejo de los caninos, la correcta disposición del material biológico como placentas, fetos abortados y la respectiva identificación de los animales

seropositivos en el hato con el fin de implementar la eliminación progresiva de los mismos (Obando, Bracamonte, Montoya y Cadenas, 2010).

En América latina, se han realizado diversos estudios para observar la prevalencia de la enfermedad, teniendo resultados serológicos positivos en países como México, Argentina, Brasil y Venezuela. En Colombia se realizó el primer estudio serológico de *N. caninum* en bovinos con problemas de abortos en diferentes etapas de la gestación encontrando una prevalencia del 54%, mediante la técnica de ELISA (Zambrano, Cotrino, Jiménez, Romero y Guerrero, 2001).

Generalmente, los problemas reproductivos en los hatos ganaderos que cursan con abortos se atribuyen a otras entidades como Brucela, Leptospira, IBR y DVB; aun así, diferentes trabajos ejecutados en el país han evidenciado la presencia de *N. Caninum* demostrando su importante presencia y el efecto que trae a nivel reproductivo y productivo generando grandes pérdidas en las explotaciones (Oviedo et al., 2007).

La presente revisión de bibliografía, se realizará acompañada de datos anamnésticos y resultados de laboratorio de los años 2008, 2009 y 2011 en la Estación Agraria Paysandú, Santa Elena – Antioquia, donde se identificó la presencia de la enfermedad mediante pruebas serológicas analizadas mediante ELISA indirecta, analizando los impactos en los parámetros tanto productivos como reproductivos en los bovinos que son afectados con *Neospora caninum* con el fin de lograr determinar estrategias de control y prevención en los hatos ganaderos.

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Aplicar y profundizar los conocimientos adquiridos durante el proceso de formación como Médica Veterinaria sobre los bovinos de leche y su sistema de producción en la Estación Agraria Paysandú.

1.2 Objetivos específicos

- Realizar una identificación del sistema de producción, estado sanitario, reproductivo y manejo general de la Estación Agraria Paysandú.
- Ejercer diferentes actividades cotidianas de la Estación como rutinas de ordeño, alimentación de los animales, manejo de terneras, prácticas de manejo.
- Realizar una revisión bibliográfica acerca del comportamiento de *Neospora Caninum* en bovinos de la Estación Agraria Paysandú.

2. Marco Teórico

2.1 Antecedentes históricos

La Neospora, fue descrita en el año 1984 en Noruega por Bjerkas, como el agente causal del síndrome neuromuscular de los perros siendo éste un parásito intracelular obligado. En el año 1988 en Estados Unidos el microorganismo fue aislado de la misma especie recibiendo el nombre de *Neospora Caninum*, asignado por Dubey y col, hasta ese momento la enfermedad era confundida con toxoplasmosis pues se ha establecido que existen sólo 6 pequeñas diferencias antigénicas y ultraestructurales entre *N. Caninum* y *T. Gondii*, generando así una estrecha relación filogenética entre ambos protozoarios; hacia el año 1989 en ese mismo país, Thilsted y col, identificaron el protozoo en un feto bovino abortado (Mainato, 2011).

En 1990, Dubey y su grupo confirmaron la transmisión transplacentaria en caninos, felinos, bovinos y ovinos. A partir de 1991 la neosporosis es reconocida como una causa importante de abortos en bovinos en distintos países, siendo la número uno en el estado de California; además se confirma que las cepas aisladas en caninos son las mismas que se aíslan de los bovinos. Hasta el año 1993 se realizaron los primeros cultivos in vitro por Conrad y col, sólo hasta el año 1998 el grupo de McAllister y col, lograron definir al perro (*Canis Familiaris*) como hospedador definitivo al observar la presencia de ooquistes en la materia fecal de animales que ingirieron tejidos con taquizoitos. (Zambrano et al., 2001). De igual forma el coyote (*Canis Latrans*) podría estar implicado en este mismo orden; posteriormente se logró identificar el parásito en

otras especies como rumiantes, venados y caballos quienes actúan como hospedadores intermediarios al ingerir alimentos contaminados con heces de perros (Cruz, Moreno, González y Martínez, 2014).

A lo largo del tiempo, este agente ha sido considerado como un importante causante de abortos epidémicos en los hatos, trayendo consigo problemas reproductivos en los bovinos y afectando también la producción tanto de carne como de leche (Youngquist & Threlfall, 2007).

2.2 Etiología y taxonomía

La *Neospora Caninum*, es un protozoo intracelular obligado que crea una vacuola parasitófora donde se ubica, es formador de quistes tisulares y su ciclo es indirecto; afecta a las principales especies de ganado doméstico, animales de compañía y a algunos animales salvajes (Radostis, 2002).

Según su clasificación taxonómica pertenece a:

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Neospora Caninum*

Reino	Protista
Subreino	Protozoa
Phylum	Apicomplexa
Clase	Esporozoa
Orden	Eucoccoccida
Familia	Sarcocystidae
Subfamilia	Toxoplasmatinae
Género	Neospora
Especie	Caninum

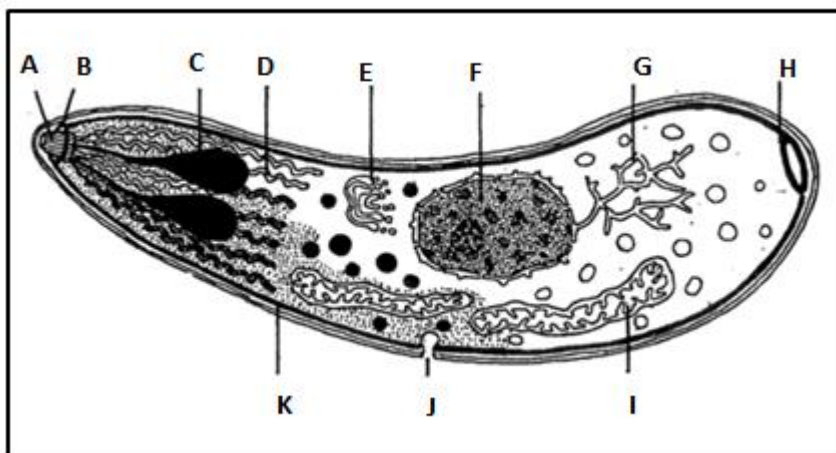
Fuente. Vignau, Venturini, Romero, Eiras y Basso, (2005).

La característica ultraestructural más relevante de *N. Caninum* es la presencia del complejo apical que se encuentra en la punta del protozoo, se encuentra conformado por el conoide (microtúbulos en espiral), las roptrias (un cuerpo secretor) y el anillo polar (una o más bandas de microtúbulos), (imagen 1).

También puede poseer micronemas (vesículas secretoras) que se encuentran rodeadas por uno o dos anillos polares. Este complejo apical es quien le permite al protozoo la entrada a la célula mediante la acción perforante del conoide y las secreciones químicas que proporcionan las roptrias. El protozoo también cuenta con gránulos densos ubicados a su alrededor, que ejercen su acción luego de penetrar la célula, éste cuenta con unas vesículas llamadas alvéolos corticales en donde se apoya la membrana de la célula generando una estructura semirrígida excepto en el microporo (espacio por donde se alimenta y produce los ooquistes) (Escalona, García, Mosquera, Vargas & Corro, 2010).

Los gametos cuentan con flagelos los cuales están dispuestos en la parte posterior, su número varia pudiéndose presentar de uno a tres, esto les permite deslizarse mediante adherencias y motores estáticos de miosina, pudiendo así atravesar diferentes tejidos, entrar y salir de la célula huésped. (Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de la Plata, 2016), (Martínez, Moreno y Cruz, 2012).

Imagen 1. Estructura general del phylum Apicomplexa



A) Conoide, **B)** Anillo polar, **C)** Roptrias, **D)** Micronemas, **E)** Aparato de Golgi, **F)** Núcleo, **G)** Retículo endoplasmático, **H)** Anillo polar, **I)** Mitocondria, **J)** Microporo, **K)** Microtúbulos.

Fuente. Adaptado de *Manual de Parasitología: Morfología y biología de los parásitos de interés sanitario*, (2006).

2.3 Estadíos parasitarios

En el ciclo de *N. caninum*, son reconocidos los siguientes estadíos parasitarios:

Tabla 4. Estadíos parasitarios de *N. Caninum*

Estadío	Ubicación
Taquizoito	Huésped intermediario
Bradizoito	Huésped intermediario (quistes tisulares)
Esporozoito	Huésped definitivo, eliminación por heces

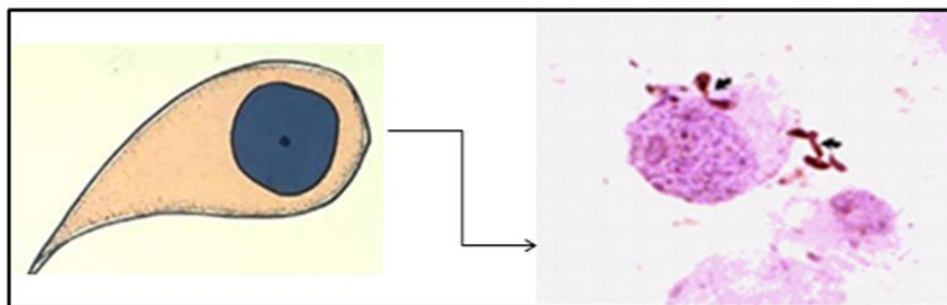
Fuente. Escalona et al., (2010).

2.3.1 Taquizoitos

Los taquizoitos (imagen 2), se encuentran en el huésped intermediario, este es el estado en el cual se multiplica, miden 3 a 7 μm de largo por 1 a 5 μm de ancho. Tienen forma de media luna o globular, se multiplican mediante endodiogenia dentro de vacuolas parasitóforas y rompen la célula para dirigirse a invadir otras células del organismo mediante el mismo proceso (Escalona et al., 2010).

Estos taquizoitos, se pueden encontrar en neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miositos, células renales y hepatocitos. Tanto los taquizoitos como los bradizoítos, se encuentran localizados principalmente en el feto, la placenta y el tejido nervioso de la madre (Martínez et al., 2012).

Imagen 2. Taquizoito



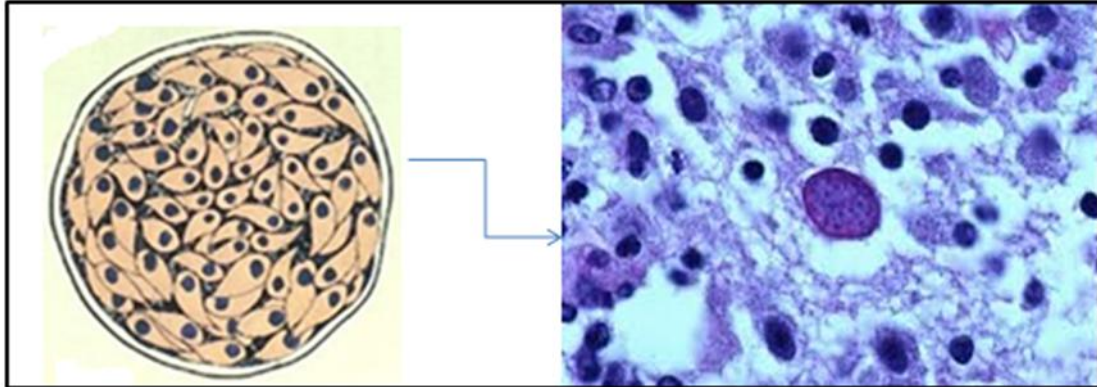
Fuente. Adaptado de Prado, Alcalá y Figueroa, (2016).

2.3.2 Bradizoitos – quistes tisulares

Los bradizoitos poseen una replicación más lenta que los taquizoitos, su división es mediante endodiogenesis y están contenidos en quistes tisulares (imagen 3), de forma redonda u oval miden de 20 a 107 μm con una pared de 4 μm lisa y gruesa. Así

mismo, los bradizoítos miden miden 6 a 8 μm de largo x 1 a 1.8 μm de ancho, los quistes tisulares, se pueden hallar en el tejido nervioso y muscular (Escalona et al., 2010).

Imagen 3. Bradizoitos contenidos en quiste

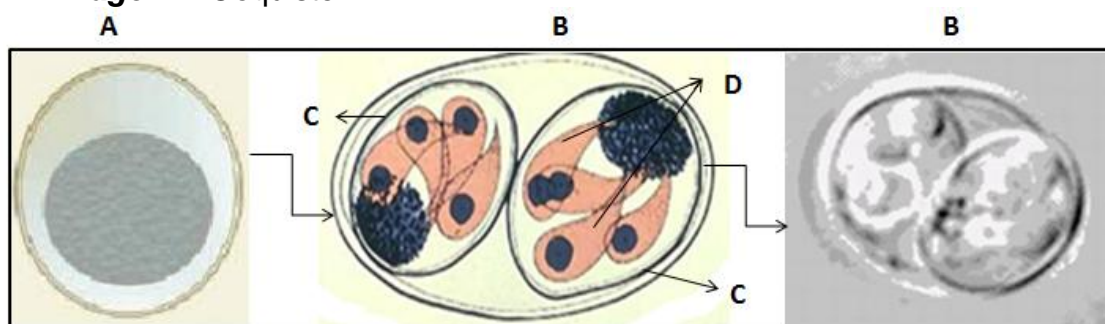


Fuente. Adaptado de Zambrano et al., (2001).

2.3.3 Ooquistes

Los ooquistes no esporulados (imagen 4), son eliminados al medio ambiente por el hospedador definitivo, esporulan luego de tres días formando en su interior dos esporocistos cada uno con cuatro esporozoitos, siendo esta la forma infectante para los hospedadores intermediarios (Martínez et al., 2012).

Imagen 4. Ooquiste



A) Ooquiste sin esporular. **B)** Ooquiste esporulado, contiene dos esporocistos **(C)** cada uno de ellos contiene cuatro esporozoitos **(D)**.

Fuente. Adaptado de http://www.buscagro.com/detalles/Ficha-tecnica-de-la-neosporosis-bovina_72172.html

2.4 Ciclo de vida

Neospora Caninum comprende un ciclo biológico indirecto (imagen 5), es decir requiere de hospedadores intermediarios y definitivos que favorecen su diseminación (Martínez et al., 2012). Se ha definido a diferentes animales domésticos como hospedadores intermediarios entre ellos los caninos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos y animales silvestres como lobos, coyotes, zorros, ciervos y alces (Montiel, Romero, García, Medina y Cruz, 2011).

Los hospedadores definitivos de *N. Caninum* son el perro (*Canis familiaris*), el coyote (*Canis latrans*), el dingo australiano (*Canis lupus dingo*) y el lobo gris (*Canis lupus lupus*). Estos animales adquieren la infección al consumir tejidos con quistes tisulares de hospedadores intermediarios, y posteriormente liberarán ooquistes al medio ambiente a través de las heces (Calandra et al., 2014), (Špilovská, Reiterová & Antolová, 2015).

En el hospedador intermediario, se lleva a cabo la reproducción asexual (merogonia), posteriormente de que estos animales consumen agua o alimentos contaminados con ooquistes esporulados provenientes de materia fecal de hospedadores definitivos (perros principalmente). Por lo anterior, se puede indicar que la mayoría de las infecciones se llevan a cabo en épocas de lluvia, ya que la viabilidad de los ooquistes disminuye en época seca, se debe tener presente que sólo son necesarios 300 ooquistes esporulados para infectar una ternera (Gondim, McAllister, Pinilla, Pitt & Mech, 2004).

En el hospedador definitivo, los jugos gástricos se encargan de degradar el quiste liberando así los estadios parasitarios que iniciarán el ciclo enteroepitelial, allí en el intestino, se realiza un fase de reproducción sexual (gametogonia) para eliminar los ooquistes no esporulados al medio ambiente 8 o 14 días post infección en las heces del hospedador definitivo (Moore, Odeón, Venturini y Campero, 2005).

Posteriormente, los ooquistes liberan los esporozoitos en el tracto gastrointestinal penetrando las células entéricas para transformarse en taquizoitos los cuales se dividen rápidamente en la célula mediante endodiogenia rompiendo la misma, produciendo de esta manera daño tisular y diseminando la infección a otros tejidos mediante la vía sanguínea y linfática; los taquizoitos pueden continuar con su división o diferenciarse a bradizoitos y formar quistes tisulares. Tanto los taquizoitos como los bradizoitos, van a localizarse en el feto, la placenta y el sistema nervioso central de la madre, aun así, los taquizoitos muestran un mayor tropismo hacia el sistema nervioso central, sistema musculoesquelético y cardiaco, células endoteliales y placenta. Los quistes tisulares y los bradizoitos, son resistentes a las soluciones ácidas

de pepsina indicando la importancia de los carnívoros en su ciclo de vida (Escalona et al., 2010), (Martínez et al., 2012).

Los caninos que consumen los tejidos infectados eliminan ooquistes manteniendo así su condición de seronegativos, por otro lado, cuando el perro actúa como hospedador intermediario puede ser seropositivo y transmitir de esta forma la infección verticalmente a sus cachorros, también puede desarrollar la enfermedad presentando signos clínicos como parálisis, miositis y dermatitis (Moore et al., 2005).

2.4.1 Vías de transmisión

La transmisión de la infección se realiza mediante dos formas: vertical o congénita (endógena) y horizontal (exógena). En la primera, la madre infecta el feto a través de la placenta, se presenta en el hospedador intermediario ya sea carnívoro o herbívoro y frecuentemente se describe en los bovinos y en el perro. En la segunda, el hospedador intermediario debe consumir alimento o agua contaminados con ooquistes esporulados provenientes de heces del hospedador definitivo (Santana et al., 2010).

N. caninum también puede ser eliminado por toros en el semen ya que se ha establecido su ADN en muestras de semen congelado, aun así la infección venérea sería poco probable ya que este se comporta como hospedador intermediario sin tener la posibilidad de eliminar las formas infectivas, sin embargo hasta el momento la posibilidad no ha sido debidamente investigada (Moore et al., 2005).

2.4.1.1 Transmisión vertical

La transmisión vertical es la forma más frecuente de infección en los bovinos a nivel mundial, en diversas investigaciones se ha demostrado que la transmisión transplacentaria es la ruta más dominante de infección, ya que un 75-95% de terneras nacidas de vacas infectadas, nacen infectadas. (Jiménez y Zambrano, 2012), (Špilovská et al., 2015).

Luego del ingreso del protozoo por vía oral en una hembra bovina o posterior a la reactivación de quistes tisulares que se encontraban en latencia y que fueron adquiridos congénitamente, los parásitos viajan por el torrente sanguíneo alcanzan la placenta y acceden al feto lo cual puede producir abortos (fetos autolizados, momificaciones fetales y mortinatos), en el caso contrario, se puede dar el nacimiento de un ternero congénitamente infectado y clínicamente sano (Martínez et al., 2012).

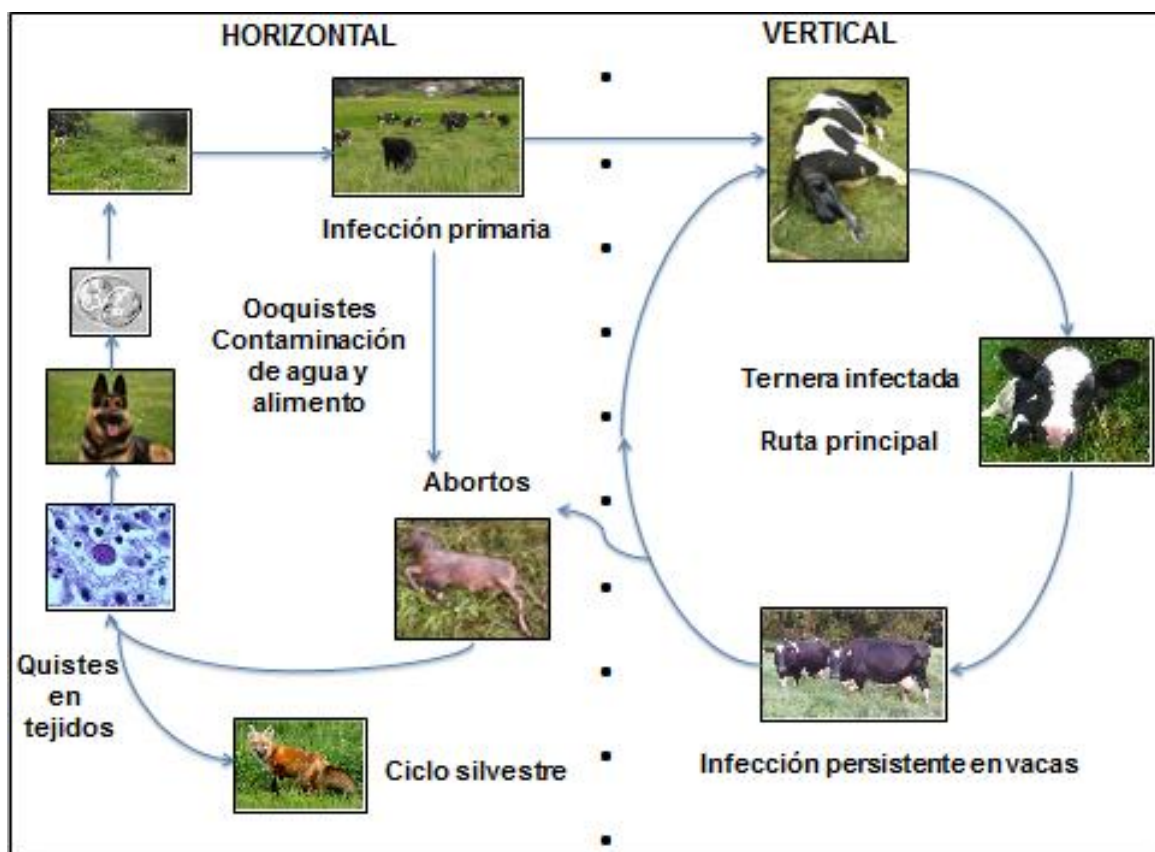
La inmunidad natural desarrollada por los animales, resulta ser ineficiente para prevenir la transmisión vertical, ya que al ser un parásito intracelular obligado se espera que sea la inmunidad mediada por células las que generen una protección frente al agente (Jiménez y Zambrano, 2012).

2.4.1.2 Transmisión horizontal

Siendo el perro el hospedador definitivo más importante en el medio lo convierte en el principal difusor de la enfermedad al contaminar con heces el agua y las pasturas de los bovinos quienes adquieren por vial oral el parásito (Valenzuela, 2005).

La posibilidad de tener la transmisión horizontal y vertical, ayuda a comprender la alta prevalencia y distribución que posee *N. caninum* ya que el perro cuenta con una distribución mundial, de esta forma se ha reportado que los perros que viven en los hatos ganaderos tienen prevalencias más altas de anticuerpos contra *N. caninum* que aquellos animales que viven en áreas urbanas, por lo tanto la exposición de los bovinos a la enfermedad es considerablemente alta (Youngquist & Threlfall, 2007), (Montiel et al., 2011).

Imagen 5. Ciclo biológico *N. caninum*



Fuente. Adaptado de Jiménez y Zambrano, (2012).

2.5 Patogénesis

El desarrollo de esta enfermedad, dependerá en gran parte del equilibrio existente entre la capacidad del taquizoito para ingresar en los tejidos y la respuesta del hospedador para evitar la proliferación del parásito (Radostis, 2002). Luego de que los taquizoitos se encuentren en el organismo pueden atacar cualquier órgano del animal, mostrando una predilección por células del SNC, musculares-esqueléticas, cardíacas y endoteliales. Una vez en los tejidos, inicia su multiplicación por endodiogenia lo que genera la destrucción de las células produciendo necrosis focales y respuestas inflamatorias no purulentas compuestas por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, siendo estas las principales lesiones de la enfermedad; de esta forma, la multiplicación también puede generar la formación de quistes tisulares que podrán estar presentes durante toda la vida del animal (Zambrano et al., 2001).

N. caninum posee tropismo por los vasos sanguíneos de la placenta y el epitelio corio fetal, lo que genera una vasculitis, inflamación y degeneración con necrosis difusa del lecho placentario (Youngquist & Threlfall, 2007). La activación de quistes tisulares de una infección latente está asociado a un importante mecanismo de transmisión vertical más que aun proceso que tenga como consecuencia el aborto (Moore et al., 2005).

Los diferentes mecanismos hormonales e inmunes de la madre durante la gestación así como el desarrollo del sistema inmune del feto, determinarán si la infección producirá la muerte fetal, el nacimiento de un animal congénitamente

infectado o libre de la infección; se estima que existe un tiempo entre tres a cuatro semanas entre la infección fetal y el aborto (Moore et al., 2005).

2.6 Signos clínicos

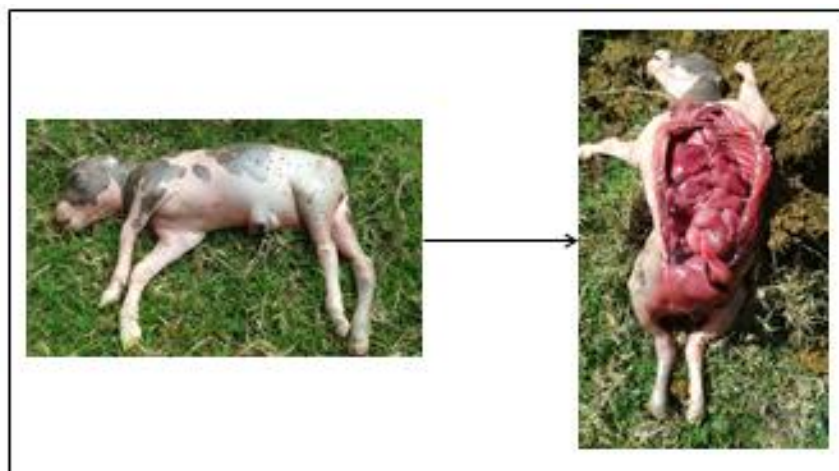
Las novillas y vacas infectadas son aparentemente sanas, el único signo presente es el desenlace de abortos que ocurren entre el segundo y último tercio de la gestación siendo más común entre el quinto y sexto mes. Posterior al aborto, se ha reportado que los animales clínicamente se observan normales sin presencia de retención de placenta ni endometritis, lo que indica una involución uterina normal (López et al; 2007).

Aunque no es un signo patognomónico, los fetos abortados se hallan principalmente momificados, también se pueden encontrar autolizados y mortinatos. Aun así se debe tener presente que la infección fetal no siempre conlleva a la muerte, pudiendo nacer terneros infectados y desarrollar signos clínicos a partir del tercer día de nacimiento, se pueden evidenciar problemas nerviosos como ataxia, parálisis, flexión o hiperextensión de miembros anteriores y posteriores, en algunos casos se puede presentar exoftalmia o asimetría ocular y posteriormente la muerte, otra opción que se puede dar, es la de terneros clínicamente sanos pero congénitamente infectados de los cuales mueren alrededor del 5% (Martínez et al., 2012); Son estos últimos animales quienes adquieren gran importancia dentro del hato ya que es considerado que las hijas de vacas serológicamente positivas a *Neospora* continuarán

siendo siempre positivas, así es esta la principal forma de perpetuar la enfermedad en un hato (Jiménez y Zambrano, 2012).

En la histopatología del feto abortado (imagen 6), se pueden observar lesiones microscópicas en órganos como el cerebro, médula, hígado y corazón, en algunas ocasiones se pueden ver lesiones en riñones y pulmones las cuales consisten en encefalitis multifocal necrotizante no supurativa, miocarditis e hidropericardio; el parásito tiene tropismo por los vasos sanguíneos de la placenta y el epitelio corio-fetal, generando así vasculitis, inflamación y degeneración del corion con degeneración difusa de la placenta, las únicas lesiones macroscópicas que pueden ser observadas es la autólisis fetal (Fredes, 2002); (Radostis, 2002). Los animales seropositivos frente a *N. caninum*, son más propensos a sufrir de abortos frente a aquellos animales seronegativos, los abortos pueden incluso ocurrir varias veces consecutivamente (Rosenberger, 2005).

Imagen 6. Feto abortado de 6 meses de gestación.



Fuente. Elaboración propia.

2.7 Gestación e Inmunidad frente a *N. caninum*

La gestación es un proceso que comprende diversos mecanismos de aceptación y rechazo, durante esta etapa la madre genera adaptaciones tanto a su metabolismo como al sistema inmune con el fin de generar un ambiente nutritivo y de homeostasis para así favorecer el desarrollo del embrión y posteriormente del feto. Sin embargo, estos mecanismos se pueden ver afectados por diferentes factores como el estrés y la presencia de agentes patógenos que producen abortos (Thellin & Heinen, 2003).

La respuesta inmune generada en las infecciones parasitarias depende del tipo de parásito, de este modo, los parásitos extracelulares se encargan de estimular una respuesta mediada por linfocitos helper tipo 2 (Th2), con la producción de interleuquinas (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13), inmunoglobulina G1 (IgG1) e inmunoglobulina E (IgE); por otra parte los parásitos intracelulares como *N. caninum* estimulan una respuesta mediada por linfocitos helper tipo 1(Th1) dominada por la producción IL-12, interferón Gamma (IFN- γ), factor de necrosis tumoral alfa (FNT α) e IgG2, las cuales se encargan de activar vías que generan radicales libres y óxido nítrico (ON) siendo letales para estos parásitos (Guy et al., 2001).

La respuesta inmune Th2, es favorecida por los altos niveles de progesterona y se encarga de mantener la preñez a través de la producción de IL4, IL5, IL6, IL9 e IL10, así mismo disminuye la producción de moléculas pro-inflamatorias como IL12 e IFN- γ , siendo estas últimas perjudiciales para la vida fetal (Quinn, Ellis & Smith, 2002).

Las IL-2, IL-3, y IL-12, promueven la actividad citolítica en macrófagos y células natural killer (NK) de igual forma, activan la protrombina facilitando la coagulación y la trombosis, al mismo tiempo son capaces de estimular la producción de inmunoglobulinas que se encargan de activar la cascada del complemento (Guy et al., 2001).

Uno de los mecanismos más importantes durante el proceso de rechazo fetal establece un desequilibrio entre la respuesta Th1/Th2 a favor de la respuesta Th1 alterando el sincitiotrofoblasto, por consiguiente se genera la producción de IFN- γ que es capaz de interferir sobre ese tejido directamente causando abortos espontáneos, y otras citoquinas asociadas a este tipo de respuesta (Innes et al., 2001).

De acuerdo a lo anterior, se debe tener presente los mecanismos existentes mediante los cuales es activada la respuesta inmune:

2.7.1 Inmunidad humoral

Este tipo de inmunidad determina la producción de inmunoglobulinas, una respuesta celular Th1 estimula la producción de IgG2, así por el contrario una respuesta celular Th2 genera la producción de IgG1 mediante la secreción de IL-4. Se cree que la generación de anticuerpos específicos limita el grado de infección o facilita la lisis de los taquizoitos extracelulares (Quinn, Ellis & Smith, 2002).

2.7.2 Inmunidad celular

La inmunidad mediada por células es de gran importancia durante las infecciones por *N. caninum*, al observar que la respuesta generada es principalmente de tipo Th1 los cuales son activados por epítopes que se expresan en la superficie de células presentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas), estando asociadas a moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) clase II, promoviendo de esta manera la respuesta citolítica y la inmunidad celular mediada por anticuerpos; de igual forma al momento de ser procesadas las proteínas antigénicas en el interior de las células, los epítopes también son presentados a los linfocitos citotóxicos (Lc) asociados a moléculas del CMH I (Innes et al., 2001).

El hecho de hallar anticuerpos específicos contra *N. caninum* en el suero fetal o en el suero precalostrado de los terneros confirma la infección, sin embargo la obtención de un resultado negativo no significa que el feto no haya adquirido la infección, esto se debe a que la síntesis de anticuerpos del feto dependen del tiempo de gestación, el nivel de exposición y el tiempo que haya transcurrido entre la infección y el aborto. Otro motivo por el cual puede fallar la detección de anticuerpos se debe a la autólisis fetal, la cual genera una degradación de las inmunoglobulinas generando así bajos niveles de anticuerpos específicos (Valenzuela, 2005).

2.8 Diagnóstico

El diagnóstico de la neosporosis bovina se hace complejo debido a la falta de signos clínicos patognomónicos y a su fácil asociación con otro tipo de enfermedades que generan problemas reproductivos entre ellos el aborto (Campero, 2002). Sin embargo, se hace indispensable asociar la anamnesis, el estado sanitario de la explotación, la presentación de signos clínicos y lesiones halladas, aun así el diagnóstico final que confirmará la presencia de la enfermedad será dado por pruebas que identifiquen antígenos o anticuerpos contra *N. Caninum* (Cebrián, Barberán y Ferrer, 2003).

Actualmente las pruebas más utilizadas para realizar el diagnóstico es por medio de histopatología, pruebas serológicas (inmonofluorescencia indirecta IFI, Elisa indirecta) y PCR, de esta foma los resultados indican el grado de infección que presenta un hato ganadero y de sus posibilidades de sufrir abortos por dicha enfermedad (Santana et al., 2010).

El diagnóstico realizado mediante histopatología se dificulta debido a la similitud que posee *N. caninum* con *Toxoplasma Gondii* y *Sarcocystis* spp, por tal motivo los cerebros de fetos que se encuentren momificados o autolizados y que por esto no permitan el estudio histopatológico convencional podrán ser evaluados mediante PCR (Santana et al., 2010).

2.8.1 Muestras para el diagnóstico de laboratorio

Cuando en un hato bovino, exista la sospecha sobre la presencia de *N. Caninum* como causante de abortos, las muestras para realizar el diagnóstico de laboratorio son las siguientes:

- Suero de la madre
- Suero del feto
- Feto completo y su placenta
- Muestras de cerebro, médula, corazón, hígado, músculo esquelético y placenta fijados en formol al 10% o alcohol (Cebrián, Barberán y Ferrer, 2003).

2.8.2 Pruebas de laboratorio

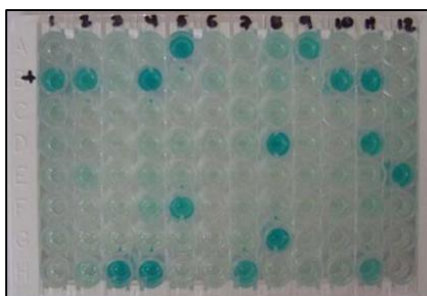
El diagnóstico de la neosporosis bovina puede ser realizado en los animales mediante diferentes técnicas serológicas indirectas, entre ellas se encuentra la ELISA y la IFI, por otro lado, en los fetos abortados se usan métodos de detección directos como la histopatología, la IHQ y PCR (Santana et al., 2010).

2.8.2.1 Técnicas Indirectas

2.8.2.1.1 Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)

La ELISA (imagen 7) se emplea en aquellos casos en donde se quiere realizar estudios seroepidemiológicos. La técnica utiliza anticuerpos a los cuales se han enlazado covalentemente las enzimas sin alterar las propiedades catalíticas de la misma y la especificidad del anticuerpo. Las enzimas enlazadas, generalmente incluyen peroxidasa, fosfatasa alcalina y galactosidasa, las cuales catalizan reacciones y sus productos son de color pudiéndose determinar en cantidades muy pequeñas. Actualmente la prueba de ELISA es la más utilizada para identificar anticuerpos contra *N. caninum* (Valenzuela, 2005).

Imagen 7. Variación colorimétrica en sueros bovinos mediante el test ELISA a *N. Caninum*



Sueros positivos (verde intenso), sueros negativos (verde claro).

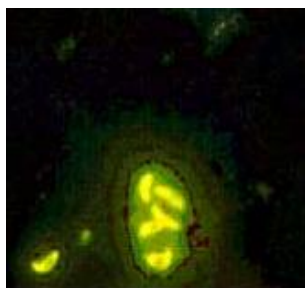
Fuente. Tomado de Mainato, (2011).

2.8.2.1.2 Test de Inmonofluorescencia Indirecta (IFI)

Esta técnica fue la primera en ser aplicada con el fin de detectar anticuerpos contra *N. Caninum* por lo cual ha sido muy utilizada en su diagnóstico y es la primer

opción en sueros individuales. La IFI (imagen 8), consiste en la capacidad que posee la globulina del anticuerpo en combinarse químicamente con un colorante fluorescente o fluorocromo sin perder su reactividad inmunológica. La reacción puede ser observada al iluminar la muestra con luz ultravioleta de alta intensidad, de esta forma los sueros positivos son aquellos en donde se observa al parásito con una coloración fluorescente; mediante esta técnica se logra preservar la morfología del parásito y así mismo detectar antígenos de membrana (Valenzuela, 2005).

Imagen 8. Taquizoitos de *N. Caninum* mediante IFI



Fuente. Tomado de Silva, Chávez, Rivera y Casas, (2002).

2.8.2.2 Técnicas directas

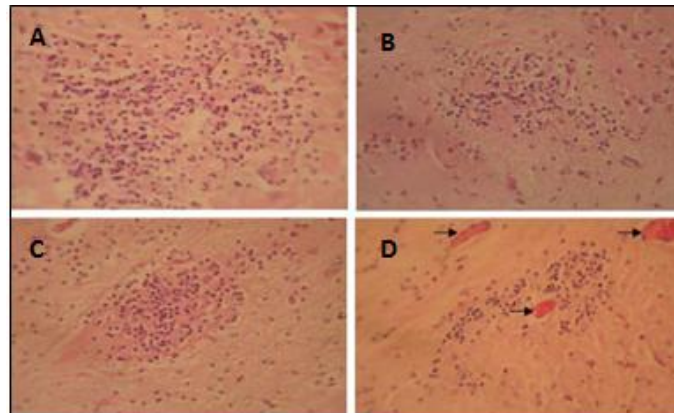
2.8.2.2.1 Histopatología

En los estudios histopatológicos (imagen 9), en los cuales se realiza una tinción con hematoxilina-eosina, se puede observar claramente en los tejidos un infiltrado celular mononuclear en áreas como el epicardio, miocardio y endocardio con presencia de necrosis multifocal (Mainato, 2011). Las lesiones más significativas que se encuentran al momento de evaluar los tejidos fetales son:

- Meningoencefalitis necrotizante multifocal
- Miocarditis y miositis no supurativa
- Nefritis
- Hepatitis periportal no supurativa
- Neumonía intersticial
- Adrenalitis focales no supurativas

(Mainato, 2011).

Imagen 9. Cortes histopatológicos de cerebros de fetos bovinos



A, B, C y D: se observa gliosis a nivel cerebral. Las flechas indican vasos sanguíneos congestivos.

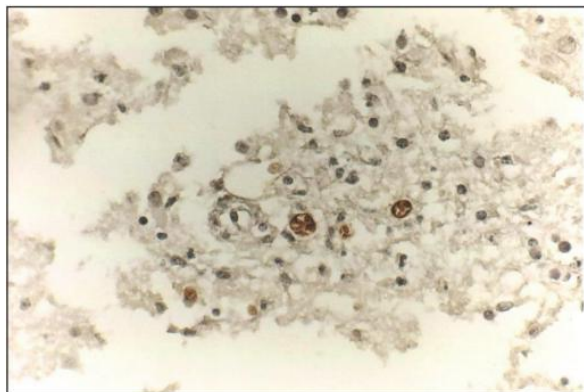
Fuente. Tomada de Oviedo, Bustamante y Mejía (2008).

2.8.2.2.2 Inmunohistoquímica (IHQ)

La técnica se lleva a cabo en tejidos fetales conservados en formol al 10% y que posean lesiones compatibles por histopatología con *N. Caninum*; la IHQ logra identificar con gran precisión al parásito (imagen 10) por lo que adquiere un importante valor

diagnóstico, aun así se debe tener presente que la sensibilidad es baja, esto se debe a la baja población de parásitos que pueden ser hallados en tejidos autolizados, por esta misma razón, continúa siendo una técnica vigente y necesaria ya que la visualización e identificación de los parásitos sólo con la tinción de hematoxilina y eosina se dificulta (Moore et al., 2001). Por medio de esta técnica, es posible observar los taquizoitos de *N. caninum*, los cuales pueden hallarse aislados o agrupados en forma de racimo y son quienes se encuentran asociados a focos inflamatorios o necróticos en el cerebro (Mainato, 2011).

Imagen10. Inmunomarcación de corteza cerebral



Inmunomarcación de *N. Caninum* en el área de gliosis y en la periferia de un pequeño vaso sanguíneo.

Fuente. Tomado de Lertora, Mohr, Mosqueda y Sánchez, (2010).

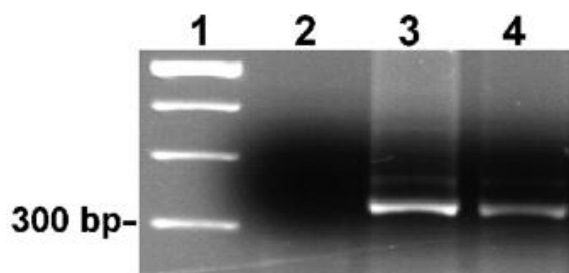
2.8.2.2.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La PCR es una técnica que permite identificar el ADN específico de *N. Caninum* (imagen 11). Se ha realizado sobre tejidos fetales, líquido amniótico, heces de perros y

coyotes y tejidos de hospedadores intermediarios como sangre, leche y semen. (Mainato, 2011).

Los órganos generalmente usados para este fin son el cerebro, corazón e hígado ya que estos son los órganos comúnmente más afectados, así mismo se ha informado que mediante PCR es posible detectar ADN del parásito en células como leucocitos, linfocitos y sangre, lo cual demuestra la presencia del parásito de manera directa en animales vivos con infecciones naturales o experimentales (Santana et al., 2010).

Imagen 11. PCR para *N. Caninum*



- 1) Escalera de ADN 100 bp. 2) ADN de células Vero, control negativo.
3) ADN *N. Caninum*, control positivo. 4) Reacción positiva para *N. Caninum* utilizando ADN extraído de ooquistes de ciervo.

Fuente. Tomado de Gondim et al., (2004).

2.8 Diagnóstico diferencial

El diagnóstico de las diferentes enfermedades relacionadas con el aborto, debe abarcar diferentes agentes ya sean bacterianos, virales, micóticos, parasitarios, hormonales, nutricionales, traumatismos, entre otros. Aun así, en los diversos hatos ganaderos se le atribuyen los abortos a la presentación de enfermedades más

comunes como DVB, IBR, Leptospirosis, Brucelosis y Tricomoniasis. De esta forma se hace indispensable el uso de las diferentes pruebas diagnósticas para dar una respuesta certera acerca de los abortos generados en las vacas (Oviedo, Bustamante y Mejía, 2008).

2.9 Control y prevención

El control se basa principalmente en eliminar los animales infectados y evitar la transmisión tanto vertical como horizontal (Cebrián, Barberán y Ferrer, 2003). En la actualidad, las vacunas que se encuentran disponibles a nivel mundial son vacunas muertas, aun así su eficacia en la prevención de la infección congénita ha demostrado ser deficiente. Uno de los principales problemas de la vacunación es que todos los animales serán seropositivos por lo que el uso de la serología como diagnóstico se hace imposible de utilizar en un hato (Valenzuela, 2005), (Jiménez y Zambrano, 2012).

De acuerdo a lo mencionado, se establecen algunas medidas de control y prevención que pueden ser aplicadas en las diferentes explotaciones bovinas:

- Realizar paulatinamente la eliminación de las vacas serológicamente positivas.
- Si no es posible la eliminación de los animales se debe optar por realizar la separación de los animales en diferentes grupos.
- Realizar exámenes serológicos a las hembras utilizadas para reposición ya sean propias del hato o adquiridas en otro lugar.
- No destinar a las crías de vacas seropositivas para reposición, ya que tienen alto riesgo de ser congénitamente infectadas.

- En hatos donde se utilice la transferencia de embriones, se recomienda tener la certeza de que tanto las donantes como las receptoras no se encuentren infectadas.
- Se recomienda tener separadas las vacas seropositivas de las seronegativas luego del parto para evitar posibles contagios con la eliminación de los loquios.
- Es indispensable restringir el acceso de los perros a las pasturas y así mismo evitar el contacto de sus heces con el agua, concentrado o cualquier fuente de alimentación de los bovinos.
- Eliminar las placentas, fetos abortados y terneros muertos para evitar que los otros animales como los perros los ingieran.
- Realizar la correcta limpieza y desinfección de las áreas y materiales utilizados que se encuentren contaminados con abortos.
- Realizar un seguimiento serológico a los perros del hato ganadero para comprobar su seronegatividad. (Valenzuela, 2005), (Moore et al., 2005), (Martínez et al., 2012), (Calandra et al., 2014).

Cuando se genera un programa de control y prevención contra *N. Caninum*, se disminuye el riesgo de la transmisión congénita evitando así su persistencia en los hatos y se crea la cultura de realizar un manejo adecuado de fetos y placentas los cuales constituyen una fuente de infección para diversas enfermedades (Jiménez y Zambrano, 2012).

3. Metodología

Durante el año 2008, 2009 y 2011, en la Estación Agraria Paysandú, se decidió realizar un muestreo en varias vacas debido a la presentación de abortos constantes en el hato. Como se ha venido mencionando, existe una gran variedad de enfermedades que son causantes de este problema, por lo cual, en el momento se decidió realizar pruebas serológicas para confirmar o descartar la presencia de agentes como *Leptospira*, *Neospora* y DVB. Los animales muestreados, eran de la raza Holstein (H) y sus respectivos cruces con la raza Bon (B), de igual forma permanecían bajo las mismas condiciones ambientales y de manejo. Cabe mencionar que no hubo ningún caso positivo frente a *Leptospira*.

Para realizar la identificación de los anticuerpos contra *N. Caninum* se utilizó la prueba de ELISA (Idexx® laboratories, inc.). La interpretación de los resultados se valora teniendo en cuenta los valores de S/P, en donde valores $\geq 0,5$ se consideran positivos indicando la presencia de anticuerpos a *Neospora*, valores de S/P $< 0,5$ se consideran negativos. Para la identificación del virus de DVB se realizaron pruebas de ELISA, la interpretación se llevó a cabo con los valores de S/P, valores mayores de 0,30 se consideran positivos, S/P menores de 0,20 negativos y S/P entre 0,20 y 0,30 son casos sospechosos.

3.1 Resultados de laboratorio

Tabla 5. Resultados de laboratorio. Diciembre de 2008

NEOSPORA			DVB	
Identificación	S/P	Resultado	S/P	Resultado
JULIA	5,09070	POSITIVO	1,373	POSITIVO
ALTERNATIVA	4,13379	POSITIVO	0,001	NEGATIVO
IRENE	1,41723	POSITIVO	0,807	POSITIVO
CONVENCIDA	0,35828	NEGATIVO	-0,008	NEGATIVO
PARDA	3,91610	POSITIVO	*****	*****
DIABLA	1,50794	POSITIVO	*****	*****

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 6. Resultados de laboratorio. Noviembre de 2009

NEOSPORA			DVB	
Identificación	S/P	Resultado	S/P	Resultado
AMERICA	1,60821	POSITIVO	1,301	POSITIVO
ESPIGA	1,37757	POSITIVO	0,373	POSITIVO
GITANA	1,12322	POSITIVO	1,084	POSITIVO
CONVENCIDA	1,05687	POSITIVO	0,592	POSITIVO
ISABEL	0,03002	NEGATIVO	0,003	NEGATIVO
JULIETA	2,63507	POSITIVO	*****	*****
KENIA	1,94629	POSITIVO	*****	*****
PALMIRA	5,24891	POSITIVO	1,524	POSITIVO

Fuente. Elaboración propia.

Tabla 7. Resultados de laboratorio. Marzo de 2011

PRUEBA		NEOSPORA	
N°	Identificación	S/P	Resultado
1	AMERICA	2,4	POSITIVO
2	AZTECA	0,4	NEGATIVO
3	CONVENCIDA	1,7	POSITIVO
4	ISABEL	0,3	NEGATIVO
5	PILARICA	0,3	NEGATIVO

Fuente. Elaboración propia

Tabla 8. Resultados de laboratorio. Mayo de 2011

PRUEBA		NEOSPORA	
N°	Identificación	S/P	Resultado
1	KENIA	1,7	POSITIVO
2	FORTUNA	2,9	POSITIVO
3	AFRODITA	2,5	POSITIVO
4	DARCY	2,3	POSITIVO
5	FABULA	2,9	POSITIVO

Fuente. Elaboración propia

3.2 Datos anamnésticos

De acuerdo a los resultados de laboratorio se procede a realizar la búsqueda de datos sobre las vacas a las cuales se le realizaron las pruebas serológicas, con el fin de conocer su desempeño reproductivo y así establecer relaciones con *N. Caninum*.

Tabla 9. Datos anamnésticos

Nombre	Raza	Madre	Edad al descarte	Motivo de descarte
Julieta	5/8H 3/8 B	Julia	33 meses	Dos abortos consecutivos a los 4 meses de gestación.
Julia	3/4 H ¼ B	14-9	84 meses	Dos abortos consecutivos de 188 días y 150 días.
Diabla	3/4 H ¼ B	Derly	72 meses	Presentó un aborto a los 5 meses de gestación.
Kenia	5/8 H 3/8 B	Karina	63 meses	Presentó un aborto a los 4 meses de gestación.
América	Holstein	Alternativa	108 meses (muerte)	Presentó un aborto a los 5 meses de gestación.
Convencida	Holstein	Tamara	116 meses	Dos abortos ambos a los 7 meses de gestación.
Espiga	Holstein	Española	65 meses	Dos abortos consecutivos uno de 5.5 meses de gestación y 1 otro de 184 días.
Darcy	Holstein	Damiana	55 meses	Presentó un aborto a los 125 días de gestación.

Fortuna	Holstein	Dalita	60 meses	Dos abortos a los 7 meses de gestación.
Afrodita	7/8H B	1/8 Any	48 meses	Dos abortos de 182 días de gestación y otro de 5 meses de gestación.

Fuente. Elaboración propia.

Según los datos, se puede apreciar que las vacas fueron descartadas del hato debido a la presentación de abortos a partir de los 4 a 7 meses de gestación, siendo positivas a *N. Caninum*. En el caso particular de Julieta, se observa que es hija de Julia quien de igual forma era positiva a la enfermedad. Julieta se descartó igualmente por la presentación de dos abortos consecutivos cuando presentaba 4 meses de gestación; Ciruela una de las hijas de Convencida, fue descartada por presentar un aborto a los 8 meses de gestación. En estos casos se podría tener como presuntivo una transmisión vertical en estos animales, aun así se debe tener presente que la única forma de corroborarlo sería realizando una prueba serológica precalostril que identifique la presencia de anticuerpos contra *N. Caninum* en animales congénitamente infectados.

4. Discusión

Entre las enfermedades que generan mayores pérdidas económicas en el sector pecuario, se ha descrito los problemas reproductivos como los más significativos, entre ellos los abortos por diferentes causas. La neosporosis bovina en los últimos años ha cobrado gran importancia a nivel mundial al ser una enfermedad con efectos negativos en la salud física, en parámetros reproductivos y productivos de los animales, por lo anterior, esta enfermedad exige un manejo integral que permita evadir tanto la transmisión vertical siendo esta la más significativa, como la transmisión horizontal.

Moore et al., (2005), considera que otra de las formas de transmisión horizontal en bovinos, puede ser mediante el consumo de leche; ya que diversas investigaciones han observado que la adición de taquizoitos artificialmente a la leche ha resultado infectiva para los terneros, por lo tanto la eliminación del parásito en la glándula mamaria es motivo de investigación, de igual forma la presencia de placentas luego del parto o aborto con presencia de taquizoitos podría comportarse como una importante fuente de infección, no obstante Davison et al., (2001) realizaron una investigación en donde dos terneros y dos vacas libres de *N. caninum* continuaron siendo seronegativos luego de ingerir experimentalmente placentas infectadas.

Calandra et al., (2014), indica que la transmisión vertical es la encargada de perpetuar la enfermedad en un hato, pues se ha demostrado que vacas con altos títulos de anticuerpos tienen como tendencia parir terneros con esta misma característica antes de la ingesta de calostro; de esta misma forma Martínez et al.,

(2012), demuestra la capacidad de adaptación que posee el parásito al hospedador ya que más del 80% de vacas infectadas transmiten la enfermedad sin sufrir aborto.

Calandra et al., (2014), menciona que la presencia de anticuerpos tanto en la madre como en el feto abortado, demuestran la transmisión congénita, aun así no es concluyente que el mismo se haya presentado por la presencia de *N. Caninum*; sin embargo y referente a los hallazgos histopatológicos en fetos abortados, Radostis, (2002), indica que lesiones ubicadas en cerebro, corazón e hígado, son importantes al momento de demostrar una respuesta favorable del parásito frente al hospedador.

En un estudio realizado por Lertora et al., (2010), se demostró que la mayor carga parasitaria se encuentra en el sistema nervioso central, por lo tanto, la identificación del parásito es más exitosa en este órgano. De igual forma el tiempo de gestación de los fetos utilizados en el estudio (cuarto y quinto mes) y que resultaron positivos a *N. Caninum*, concuerda con otras investigaciones en donde se establece una edad gestacional al momento del aborto promedio de 5.9 meses, con un rango entre 4 y 9 meses.

En cuanto a la inmunidad, Roberts, Walker & Alexander, (2001) e Innes et al., (2001), señalan que durante el primer trimestre de la gestación, la madre es capaz de controlar la infección, debido a la presentación de una respuesta Th1 bien establecida lo cual resultaría perjudicial en la interfase materno-fetal, caso contrario, una respuesta inmune óptima para Th2 que se observa en el segundo trimestre de la gestación no lograría controlar la infección generando lesiones tanto en la placenta como en el feto; durante el tercer trimestre de gestación se presentaría la infección congénita siendo

menor la probabilidad de que se produzca aborto debido a la maduración del sistema inmune.

Moore et al., (2005) menciona que el incremento en la mitad de la gestación de los estrógenos placentarios, podrían generar efectos negativos sobre la inmunidad mediada por células (IMC) lo que llegaría a favorecer la reactivación de bradizoítos y la parasitemia. Por otra parte, algunos autores atribuyen el efecto inmunosupresor a los altos niveles de progesterona que están presentes desde los primeros meses de la gestación hasta semanas antes del parto.

En un estudio, Quinn, Ellis & Smith (2002), describieron que hembras con títulos séricos altos hacia el final de la gestación, parían animales clínicamente normales pero congénitamente infectados, sin embargo cuando los títulos séricos se incrementaban durante la mitad de la gestación habían altas probabilidades de que se produjera el aborto.

Finalmente, luego de que una hembra bovina sufra una reactivación de una infección latente o ingiera ooquistes, los factores que favorecen la infección fetal se limitan a la forma de infección de la madre, estadio de gestación, respuesta inmune materna y respuesta inmune del feto.

Diversos estudios demuestran que el INF- γ posee un papel importante en el control de la infección por *N. caninum*. De esta manera, el tratamiento de fibroblastos con INF- γ recombinante produce una importante inhibición de la multiplicación intracelular de *N. caninum*, de igual forma el cultivo de células de cerebro bovino que es altamente susceptible a la infección por este agente, puede ser inhibida por adición de IFN- γ y TNF- α (Almeria et al., 2003).

Se debe tener presente que existen varias enfermedades causantes de abortos en los bovinos y que la presencia de alguna de ellas puede potenciar los efectos de otras enfermedades; por lo tanto, autores como Obando et al., (2010) y Cruz et al., (2014), afirman que se ha logrado demostrar que la presencia de virus de DVB, es capaz de favorecer el efecto abortigénico que posee *N. Caninum* debido a su efecto inmunosupresor lo que ayudaría a la reactivación de quistes tisulares. Como se puede observar en los resultados de laboratorio, hay presencia de ambas enfermedades en la Estación Agraria Paysandú, de esta manera, los problemas reproductivos tienen causas multifactoriales que deberían ser tratados en conjunto. Durante el desarrollo de la práctica empresarial, presencié dos abortos los cuales correspondían a novillas entre el sexto y séptimo mes de gestación; los fetos fueron evaluados mediante necropsia, los hallazgos macroscópicos revelaron cambios autolíticos propios de los fetos. Por razones de presupuesto no se tomaron muestras para histopatología.

En estos casos, al existir antecedentes de neosporosis en la finca sería adecuado realizar una serología en el hato para DBV, Neospora Caninum, IBR, Brucella Abortus (actualmente es un hato libre de Brucella) y Leptospira Hardjo; para descartar la presencia de algunas de estas enfermedades y tomar las medidas correspondientes.

Jiménez y Zambrano, (2012), mencionan que las principales pérdidas económicas generadas por la enfermedad, se atribuyen a abortos, mortalidad embrionaria, mortalidad en terneros, aumento en el descarte prematuro de los animales, incremento en el intervalo entre partos, pérdida de las lactancias y disminución en la producción láctea. Se han establecido dos patrones de aborto; en el

patrón endémico el hato presenta una tasa superior al 5% de abortos al año, lo cual persiste a lo largo de los años. Por otro lado el patrón epidémico es aquel en donde los abortos son menos comunes y se caracteriza por generar un alto número de abortos en un periodo de tiempo relativamente corto. Los abortos en Colombia no se han asociado a una época específica del año pudiendo presentarse en cualquier momento tanto en hatos lecheros como cárnicos.

Los abortos han sido establecidos tanto en ganaderías de leche como de carne, aun así existen más reportes en lechería debido al manejo y la mayor densidad de animales en sistemas intensivos, de igual forma existe mayor posibilidad de que se contaminen en estos sistemas los alimentos de los bovinos con heces de perros, por otro lado en sistemas extensivos como es manejada generalmente la explotación de bovinos de carne es más probable que los abortos pasen desapercibidos (Cebrián, Barberán y Ferrer, 2003).

Diversos estudios han demostrado que en ganadería de carne, los animales positivos presentaron una disminución en la ganancia de peso diario y rendimiento en canal, así mismo se incrementaron los costos por asistencia técnica, diagnóstico y tratamientos (Calandra et al., 2014).

Moore et al., (2005), menciona que en novillas seropositivas a *N. caninum* se ha observado una disminución en su primera lactancia de 1 lt /de leche /día, así mismo mayor tendencia al aborto y mayor posibilidad de ser eliminadas del hato a una menor edad.

En Colombia, se han realizado diferentes estudios en varias zonas que confirman la presencia del parásito, de esta forma en el Amazonas se encontró una

prevalencia del 40,4 % en bovinos de la raza Brown Swiss (2003), en Fredonia (Antioquia) prevalencia de 34,6% y 39,2% en raza Holstein y Brangus respectivamente (2007) y en Montería (Córdoba) 10,2% de vacas positivas con reporte de aborto y momificaciones (2007). (Martínez et al., 2012).

Se estima que las pérdidas anuales en EEUU, California son de 35 millones de dólares; en Argentina se han estimado pérdidas de 80 millones de dólares anuales considerando el costo por abortos, reposición por la eliminación de animales seropositivos, incremento en el intervalo entre partos y disminución en la producción láctea (Moore et al; 2005).

5. Conclusiones

- Se logró identificar problemas puntuales y generar medidas de control que ayudaron a disminuir la presentación de algunas patologías en el hato.
- Se realizó el respectivo reconocimiento de una producción lechera y se tuvo participación en las actividades cotidianas con el fin de identificar problemas y aplicar una pronta y efectiva solución.
- Se realizó la atención oportuna de los casos clínicos presentados, lo que me llevo a comprender las principales patologías presentes en la explotación lechera, su adecuado manejo clínico, farmacológico y posterior seguimiento del paciente.
- La neosporosis, en las últimas décadas, ha sido descrita como una de las principales causas de abortos y pérdidas económicas en los hatos bovinos principalmente lecheros. Los abortos pueden ser causados desde el tercer mes de gestación, siendo más común entre el quinto y sexto mes. Esta enfermedad, requiere de un manejo integral que permita evadir tanto la transmisión vertical como la horizontal. En nuestro medio se hace necesario realizar un control de los perros en los hatos ya que son estos quienes actúan como hospedador definitivo del parásito. El sistema nervioso central es el más afectado, por tal motivo la signología clínica es nerviosa. En estados donde el animal presente inmunodepresión, los quistes tisulares pueden llegar a romperse lo que reagudiza la infección. El diagnóstico de la neosporosis se dificulta debido a la falta de sintomatología específica que permita diferenciarla de otro tipo de enfermedades causantes de abortos. Actualmente la prueba más utilizada para realizar estudios seroepidemiológicos es la ELISA indirecta,

lo cual permite evidenciar el estado del hato frente a la enfermedad. En Colombia se ha logrado demostrar la presencia del parásito en estudios puntuales, se requiere la investigación con poblaciones grandes que permitan conocer el estado actual del país y cómo influye en los diferentes parámetros de los bovinos.

Referencias

Almeria, S., et al., (2003). Cytokine gene expression in dams and foetuses after experimental *Neospora caninum* infection of heifers at 110 days of gestation. *Parasite Immunology*, 25(7), 383-392. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14521581>.

Calandra, Patricio., et al., (2014). Neosporosis epidémica y endémica: descripción de dos eventos en bovinos para cría. *Revista Argentina De Microbiología*, 46(4), 315-319. Recuperado de: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-argentina-microbiologia-372-articulo-neosporosis-epidemica-endemica-descripcion-dos-90372017>.

Campero, Carlos. (2002). Pérdidas Provocadas por *Neospora caninum* en Bovinos. Disertación de la reunión de Especialistas en Parasitología Veterinaria de Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay 11° Encuentro de Veterinarios Endoparasitólogos Rioplatenses. Tandil 22 al 24 de Mayo del 2002. Recuperado de: http://www.veterinaria.org/asociaciones/vet-uy/articulos/artic_bov/018/bov018.htm

Cebrián, L., Barberán, M., Ferrer, L., (2003). *Neosporosis y Aborto en el Ganado Bovino*. Dpto. de Patología Animal. Facultad de Veterinaria Zaragoza. Recuperado de: http://www.veterinaria.org/asociaciones/vet-uy/articulos/artic_bov/009/bov009.htm

Cruz, Anastasia., Moreno, Giovanni., González, Katherine., y Martínez, Jefferson. (2014). Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* y el Virus de Diarrea Viral Bovina y su relación con el desempeño reproductivo de hembras bovinas del municipio de Oicatá (Boyacá). *Revista Ces Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 9(2), 238-247. Recuperado de: <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/3180>

Escalona, Jorge., García, Francisco., Mosquera, Ortelio., Vargas, Francisco., y Corro, Ana. (2010). Factores de riesgo asociados a la prevalencia de Neosporosis Bovina en el municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 28(2), 201-212. Recuperado de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692010000200007&lng=es&tlng=es.

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata. (2016). *Neosporosis*. Recuperado de: http://www.fcv.unlp.edu.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=1876&Itemid=1959.

Federación Colombiana de Ganaderos. (2016). *Nuestra historia, Fedegan*. Recuperado de: <http://www.fedegan.org.co/quienes-somos/nuestra-historia>.

Fredes, Fernando. (2002). Algunos antecedentes sobre *Neospora Caninum* y Neosporosis. *Monografías De Medicina Veterinaria*, 22(1-2), 3-9. Recuperado de: <http://www.monografiasveterinaria.uchile.cl/index.php/MMV/article/viewFile/1026/907>

Gondim, L.F.P., McAllister, M.M., Pinilla, N.E., Pitt, W.C., & Mech, L.D. (2004). Transmission of *Neospora Caninum* between wild and domestic animals. *Iranian Journal Of Parasitology*, 90(6), 1361-1365. Recuperado de: <http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1091&context=usgsnpwrc>.

Guy, C., et al., (2001). *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *Veterinary Record*, 149(15), 443-449. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11688746>.

Instituto Colombiano Agropecuario. (2016). *Enfermedades Animales*. Recuperado de: <http://www.ica.gov.co/getdoc/58fda97c-49f5-493e-891f-ce74546c62da/Enfermedades-Animales.aspx>.

Innes, E., et al., (2001). Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *International Journal For Parasitology*, 31(13), 1523-1534. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11595240>.

Jiménez, C. y Zambrano, J. (2012). *Enfermedades que afectan la reproducción bovina en Colombia, no sujeta a control oficial*. (2a ed., 53-57). Bogotá: Produmedios.

Lertora, W., Mohr, N., Mosqueda, M., y Sánchez, M. (2010). Detección de *Neospora caninum* en fetos bovinos abortados espontáneamente en el nordeste argentino. *Investigación Veterinaria*, 12(2), 173-182. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179119233007>.

López, Gustavo., et al., (2007). Estudio para evidencias la presencia de *Neospora caninum* en bovinos de la hacienda San Pedro en el municipio de Fredonia *Revista CES Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 2(1), 9-17. Recuperado de: <http://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/viewFile/362/1864>.

Mainato, Matías. (2011). Neosporosis bovina. Monografía, previa a la Obtención del título de Médico Veterinario y Zootecnista. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3316/1/TESIS.pdf>.

Martínez, Alexander., Moreno, Giovanni., y Cruz, Anastasia. (2012). Actualización de la Neosporosis Bovina. *Conexión Agropecuaria*, 2(1), 50-66. Recuperado de: <http://www.revistasjdc.com/main/index.php/conexagro/article/download/184/177>.

Montiel, Tomas., Romero, Dora., García, Zaferino., Medina, Leticia., y Cruz, Carlos. (2011). Neosporosis bovina en ranchos ganaderos de la zona norte del estado Veracruz, México. *Tropical And Subtropical Agroecosystems*, 13, 469-479. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93920942025>.

Moore, D., Odeón, A., Venturini, M., y Campero, C. (2005). Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Revista Argentina De Microbiología*, 37, 217-228. Recuperado de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v37n4/v37n4a11.pdf>.

Obando, Cesar., Bracamonte, Magaly., Montoya, Alix., y Cadenas, Vilma. (2010). *Neospora caninum* en un rebaño lechero y su asociación con el aborto. *Revista Científica*, 20(3), 235-239. Recuperado de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592010000300003.

Oviedo, T., Bustamante, G., y Mejía, J. (2008). Estudio histopatológico e inmunohistoquímico sobre neosporosis en fetos bovinos procedente de matadero.

.Revista MVZ Córdoba, 13(2), 1343-1348. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682008000200009.

Oviedo, Teresa., et al., (2007). Estudio serológico sobre neosporosis en bovinos con problemas reproductivos en Montería, Córdoba, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 12(1), 929-933. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682007000100008&script=sci_arttext.

Prado, Angélica., Alcalá, Jazmín., y Figueroa, Juan. (2016). *Claves taxonómicas interactivas para identificar parásitos de perros y gatos*. *Parasitosdeperrosygatos.info*. Recuperado de: <http://www.parasitosdeperrosygatos.info>.

Quinn, H., Ellis, J., & Smith, N. (2002). Neospora caninum: a cause of immune-mediated failure of pregnancy. *Trends Parasitol*, 18(9), 391-394. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12377255>.

Radostis, Otto. (2002). *Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino*. (9a ed.). Madrid: S.A. Mcgraw-Hill / Interamericana de España.

Roberts, C., Walker, W., & Alexander, J., (2001). Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev*, 14(3), 476-488. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11432809>.

Rosenberger, Gustav. (2005). *Enfermedades de los Bovinos* (2a. ed.). Buenos Aires: Inter-Médica.

Santana, Omar., Cruz, Carlos., Medina, Leticia., Ramos, Miguel., Castellanos, Ciro., y Quezada, Daniel. (2010). Neospora caninum: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente. *Publicación digital de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 41(10), 131-137. Recuperado de: <http://www.revistas.unam.mx/index.php/Veterinaria-Mexico/article/view/18362>.

Silva, Pablo., Chávez, Amanda., Rivera, Hermelinda., y Casas, Eva. (2002). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en bovinos lecheros del valle de lima. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 13(2), 51-55. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172002000200007&script=sci_arttext

Špilovská, Silvia., Reiterová, Katarina., & Antolová, Daniela. (2015). *Neospora caninum* - Associated Abortions in Slovak Dairy Farm. *Iranian Journal Of Parasitology*, 10(1), 96-101. Recuperado de: <http://ijpa.tums.ac.ir/index.php/ijpa/article/view/347>.

Thellin, Olivier., & Heinen, Ernst. (2003). Pregnancy and the immune system: between tolerance and rejection. *Toxicology*, 185(3), 179-184. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X02006078>.

Valenzuela, Paz. (2005). Neosporosis en bovinos y caninos. *Monografías Electrónicas De Patología Veterinaria*, 2(1), 17-33. Recuperado de: <http://www.patologiaveterinaria.cl/Monografias/MEPAVET1-2005/PDF/Mepavet08.pdf>.

Vega, Luis., Chávez, Amanda., Falcón, Néstor., Casas, Eva., y Puray, Nidia. (2010). Prevalencia de *Neospora caninum* en perros pastores de una empresa ganadera de la sierra sur del Perú. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 21(1), 80-86. Recuperado de: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/311>.

Vergara, Wilson. (2010). La ganadería extensiva y el problema agrario. El reto de un modelo de desarrollo rural sustentable para Colombia. *Revista de Ciencias Animales*, (3), 45-53. Recuperado de: <http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/ca/article/viewFile/350/281>.

Vignau, María., Venturini, Lucila., Romero, Jorge., Eiras, Diego., y Basso, Walter. (2005). *Parasitología práctica y Modelos de Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos*. Buenos Aires: Universidad Nacional de La Plata. Recuperado de: <http://es.slideshare.net/nelu36v/parasitologia-practica-y-modelos-de-enfermedades-parasitarias-en-los-animales-domesticos>.

Youngquist, Robert. & Threlfall, Walter. (2007). *Current Theraphy in Large Animals Theriogenology* (2a ed.). United States of América: Saunders Elsevier.

Zambrano, Jorge., Cotrino, Víctor., Jiménez, Claudia., Romero, Mariana., y Guerrero, Bernardo. (2001). Evaluación Serológica de Neospora Caninum en Bovinos en Colombia. *Revista Acovez*, 26(1). Recuperado de: <https://encolombia.com/veterinaria/publi/acovez/ac261/acovez26101evaluacion/>.

Apéndices

A. Registro fotográfico

En las siguientes imágenes, se realiza un resumen de las principales actividades realizadas durante el desarrollo de la práctica empresarial en la Estación agraria Paysandú.

Tratamiento de hipocalcemia Puerperal.



Test de mastitis (CMT)



Pesaje mensual y baño contra Ectoparásitos.



Retención placentaria.



Podología.



Topización, revisión de pezones supernumerarios.

Investigación con vacas
Fistuladas.

Necropsias.



Atención de partos difíciles.

Recertificación como hato libre de
tuberculosis.