

# DETECCION DE ANTICUERPOS DE *Neospora caninum* EN LA ZONA NORTE DE LA CUENCA LECHERA DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ <sup>1</sup>

Gamón, A. J. E.<sup>2</sup>; Villegas, F.<sup>3</sup>; Quiroga, C. J. L. □  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.G.R.M.

## I.- RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar la presencia de anticuerpos de *Neospora caninum* en bovinos en la zona norte de la cuenca lechera del Departamento de Santa Cruz, Bolivia. El muestreo se realizó en los meses de octubre y noviembre del 2003 a un total de 912 animales, de uno a 61 meses de edad, las cuales fueron procesadas en el Laboratorio de Investigación y Diagnóstico Veterinario (LIDIVET), por medio de la prueba ELISA Indirecta, utilizando un kit comercial para la detección y cuantificación de anticuerpos específicos frente a taquizoitos de *Neospora caninum*. Se determinó la prevalencia tomando en cuenta las variables de Provincia, hatos, edad y sexo. Los resultados fueron los siguientes: la prevalencia general de anticuerpos de *Neospora caninum* fue del 28,5%. En la distribución por Provincia: Andrés Ibáñez tuvo una prevalencia del 56%, Warnes fue 34%, Obispo Santiesteban 45%, en el municipio de Portachuelo fue del 36%, no presentándose diferencia estadística significativa ( $P > 0,05$ ). En cuanto a la prevalencia por sexo, en hembras fue del 29% y en machos del 18% ( $P > 0,05$ ). Con respecto a la prevalencia por edades, en animales de uno a 12 meses fue del 27%, en los de 13 a 24 meses fue del 38%, de 25 a 36 meses fue del 30%, en los de 37 a 48 meses se encontró un 27%, de 49 a 60 meses la prevalencia fue del 30% y en los animales mayores a 61 meses la prevalencia fue del 25%, existiendo diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) entre los animales de 1 a 12 meses y los de 13 a 24 meses y los de 13 a 24 meses con los mayores a 61 meses de edad. Por hatos la prevalencia fue del 42%. Se determina la presencia del parásito *Neospora caninum* en todas las zonas de estudio y se hace necesaria la realización de trabajos complementarios de investigación en todos los hatos del área de la cuenca, con el objetivo de crear un adecuado proceso de control y erradicación de esta enfermedad.

- 
- <sup>1</sup> Tesis de Grado presentada por Gamón, A. José Eduardo para obtener el título de Médico Veterinario Zootecnista.
  - <sup>2</sup> Barrio 12 de octubre - Calle 7 s/n. Santa Cruz - Bolivia.
  - <sup>3</sup> Médico Veterinario Zootecnista. Titular Epidemiólogo del Laboratorio LIDIVET. Santa Cruz.
- Médico Veterinario Zootecnista. Titular Inmunólogo del LIDIVET. Santa Cruz.

## II.- INTRODUCCION

La explotación de bovinos de leche en nuestro país y en Santa Cruz es uno de los rubros pecuarios de importancia en la economía nacional y local, no sólo porque proporciona alimentos de alto nivel nutritivo para la población humana y genera fuentes directas e indirectas de empleo, sino también porque tiene importante participación en el PIB.

En toda producción animal se reconocen varios factores que limitan la producción de ganado lechero, tales como los de orden nutricional, genético, de manejo y sanitario; entre éstos, las enfermedades se constituyen en uno de los principales problemas para el mantenimiento e incremento de la producción pecuaria. Para contrarrestar los problemas sanitarios es necesario llevar a cabo diversas prácticas que tiendan a identificar, prevenir, controlar y si es posible erradicar las diversas enfermedades que afectan a la ganadería de la región.

Entre las enfermedades que afectan al ganado bovino, las reproductivas son importantes, ya que estas producen grandes pérdidas económicas en regiones como las de Santa Cruz y el Beni. Por esta razón y por ser una enfermedad de reciente aparición se decidió realizar éste estudio en la cuenca lechera más importante del país. Esta enfermedad ha sido reportada en varios países vecinos en los cuales la ganadería lechera se ha visto afectada por pérdidas económicas como la reducción en la producción de leche y muerte de neonatos.

La neosporosis de los bovinos es una enfermedad infecciosa causada por el parásito intracelular ***Neospora caninum***, perteneciente a la familia ***Sarcocystidae***, la cual incluye también a los géneros ***Eimeria*** e ***Isospora***, que causan Coccidiosis.

***Neospora caninum*** es un protozoario que ha adquirido gran importancia a escala mundial al ser implicado en 1989 como una de las principales causas de aborto en bovinos, desde entonces, ha sido reportado en: Australia, Nueva Zelanda, Estados

Unidos y la mayoría de los países europeos, también en Japón, Israel, así como en varios países sudamericanos, como Argentina, Brasil, Chile, Colombia y Ecuador.

Actualmente en Bolivia no hay reportes de esta enfermedad ya que recientemente se esta incursionando en el diagnostico de la misma, por lo tanto no existen investigaciones sobre esta enfermedad en nuestro país. Por esta razón se efectuó este trabajo de investigación en el cual se plantearon los siguientes objetivos: a) Determinar la presencia de anticuerpos en bovinos en la cuenca lechera del Departamento de Santa Cruz, Bolivia. b) Determinar la prevalencia de neosporosis por provincia, edad, sexo y hato.

### III.- REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

#### 3.1. DEFINICIÓN

La Neosporosis de los bovinos es una enfermedad infecciosa causada por el parásito intracelular *Neospora caninum*. Fue descubierta en 1984 y es reconocida entre las causas importantes de aborto en bovinos en países de todos los continentes (Echaide y Valentini, 1997).

*Neospora caninum*, es un parásito protozooario, considerado como el principal agente etiológico de abortos en bovinos en muchos países desarrollados, y Latinoamérica como Colombia, Brasil, Chile, México, Perú, Paraguay y Argentina. Causa la enfermedad llamada Neosporosis fetal bovina o Neosporosis abortiva bovina. La neosporosis bovina se caracteriza por ser típicamente asintomática y de transmisión congénita por lo que las hembras infectadas perpetúan el parasitismo de generación en generación, en las explotaciones ganaderas. En los casos donde se presenta clínicamente, la principal manifestación es el aborto con las consecuentes pérdidas económicas por la reducción en la producción de leche, la muerte de neonatos y la pérdida de animales adultos (MacAllister y Col, 1998; Greene, 1999).

#### 3.2. HISTORIA

La historia de neosporosis se inicia en 1984 con un reporte en Noruega de un caso de encefalitis y miocarditis en caninos, producido por un protozooario. Dubey y Col en 1988 propusieron el nombre de *Neospora caninum* y lograron comprobar los postulados de Koch en esta especie. Thilsted y Col, en 1989 reportan su participación como causa de aborto en bovinos y un año después Dubey y su grupo demostraron la transmisión transplacentaria en caninos, felinos, ovinos y bovinos. En

el año de 1991 fue considerada como la mayor causa de abortos bovinos en el Estado de California. En 1993 Conrad y Col. logran reproducir la enfermedad al inocular taquizoitos en bovinos en forma experimental.

Desde el punto de vista diagnóstico el mismo Bjerkas en 1991 reportó que las cepas aisladas en caninos son idénticas a las aisladas en bovinos. Con este hallazgo y el desarrollo de técnicas de diagnóstico inmunohistoquímico (Lindsay, 1989) y de ELISA (Bjorkman, 1994) se amplían las herramientas diagnósticas.

A pesar de los estudios realizados quedaban por definir algunos aspectos relacionados con el ciclo de vida del protozooario especialmente referentes al huésped definitivo de la entidad, y aunque este tema fue elaborado desde 1988 por varios autores como Dubey y Col, solamente en 1998 el grupo de McAllister y Col, logran definir al perro como huésped definitivo al haber demostrado la presencia de ooquistes en materia fecal de animales alimentados con tejidos infectados de taquizoitos (Obbendorf, 1995).



**Figura 1.-** El canino es huésped definitivo.

### **3.3. IMPORTANCIA ECONÓMICA**

La Neosporosis es de gran importancia ya que provoca pérdidas económicas por la reducción en la producción de leche, la muerte de neonatos y la pérdida de animales adultos (Obbendorf, 1995).

Por lo tanto, la exposición a ***Neospora caninum*** se asoció a una disminución de la producción lechera de entre un 3 y un 4%. Un descenso de 375 kg por vaca en una lactación típica de 305 días supone unas pérdidas de 128 dólares americanos por animal (Hernández, 2001).

Es importante destacar que además de los abortos se producen otras pérdidas: en el ganado lechero las vacas infectadas, aunque no aborten, disminuyen la producción láctea y como consecuencia de ambos factores aumenta el descarte prematuro; en un estudio realizado en ganado de carne se comprobó que los animales seropositivos tuvieron una reducción significativa en el incremento de peso diario, en el peso vivo y en el rendimiento a la faena e incrementos significativos en el costo por tratamientos (www.fcv.unlp.edu.ar, 2001)

Los eventos que pueden originar tales pérdidas son:

- 1) Muerte fetal temprana con repetición de celo, incremento del intervalo parto concepción o infertilidad.
- 2) Aborto en el tercio medio de la gestación.
- 3) Muerte perinatal o neonatal.
- 4) Incremento en el descarte de vacas. Las vacas infectadas tienen más probabilidad de ser eliminadas por su bajo desempeño reproductivo.
- 5) Reducida producción de leche. Aunque el impacto del aborto en la producción lechera es difícil de estudiar y cuantificar, el incremento del intervalo entre partos puede reducir el número de lactancias si se considera un período de años. Así mismo, las vacas infectadas por ***Neospora caninum*** y que no abortaran han mostrado una reducción del 4% de su producción en su primera lactancia.

6) Reducido valor económico de la vaca para servicio. Las evidencias del mantenimiento de la infección a través de las generaciones hacen permanecer la infección en el rodeo reduciendo el valor de dichas hembras (www.portalveterinaria.com, 2004)

### 3.4. ETIOLOGÍA

La Neosporosis es una enfermedad producida por un coccidio formador de quistes, perteneciente a la familia **Sarcocystidae**, género **Neospora**. Solo una especie ha sido citada, **Neospora caninum**. Desconocido hasta hace 16 años, capaz de producir enfermedad neuromuscular en perros, abortos y mortalidad neonatal en ganado vacuno (Dubey y Col., 1998).

PHILUM: **Apicomplexa**

CLASE: **Sporozoa**

SUB-CLASE: **Coccidiasina**

ORDEN: **Eucoccidiorida**

FAMÍLIA: **Sarcocystidae**

SUB-FAMÍLIA: **Toxoplasmatinae**

GENERO: **Neospora**

ESPÉCIES: **Neospora caninum** (Nara A. da Rosa Farias, 2002)

### 3.5. EPIZOOTIOLOGÍA

Las infecciones por **Neospora caninum** fueron identificadas como causa de aborto y parálisis neonatal en el ganado bovino en los Estados Unidos e Inglaterra en 1989. También ha sido reconocida en Holanda, Japón, Canadá y Nueva Zelanda. La prevalencia del aborto causado por **Neospora sp.** puede variar del 20% al 40%. El rango de edad en los fetos abortados es de 3,5 a ocho meses con un promedio de

cinco. Los abortos pueden ocurrir durante todo el año, pero la mayoría se asocian al otoño tardío (Lindsay, 1993).

Los terneros nacidos vivos pueden demostrar trastornos neuromusculares como resultado de la infección por ***Neospora caninum***. Los signos clínicos aparecen dentro de los tres a cinco días luego del nacimiento pero pueden demorar hasta dos semanas en manifestarse. La temperatura, el ritmo cardíaco y respiratorio son normales y radiológicamente la columna vertebral de los terneros afectados aparece normal. En un ternero fue observado un estrabismo bilateral convergente con presencia del reflejo palpebral, ausencia del reflejo de amenaza y ataxia. El líquido cefalorraquídeo presentó pleocitosis moderada (Hernández, 2001).

Este parásito, denominado ***Neospora caninum***, fue reconocido y aislado por primera vez de perros de USA, y posteriormente la infección natural fue descrita en una variedad de huéspedes tales como ovejas, vacas, caballos, ciervos y cabras de diferentes partes del mundo (Dubey y Lindsay, 1996)

Esta plenamente probada la transmisión placentaria donde una vaca portadora puede dar lugar a la contaminación fetal con las siguientes alternativas: una muerte fetal con el aborto subsecuente, el nacimiento de un ternero a término con lesiones especialmente nerviosas que muere poco después del parto y aún el nacimiento de un animal clínicamente normal pero infectado persistentemente que posteriormente cuando alcanza la edad reproductiva, puede originar contaminación fetal (<http://lmvltada.com>. 2003).

### **3.6. DISTRIBUCION GEOGRAFICA**

La enfermedad está ampliamente distribuida informándose su presencia en África, América, Eurasia y Oceanía. Aunque la neosporosis fue descrita hace dos décadas atrás, los avances en el conocimiento han sido satisfactorios quedando por investigar numerosos aspectos relacionados a la prevención y control. También es

motivo de investigación la frecuencia natural de la transmisión postnatal en el bovino o existencia de otras especies de hábitos carnívoros que pudiesen comportarse como hospedadores definitivos de la enfermedad (www.portalveterinaria.com, 2004).

### 3.7. CICLO EVOLUTIVO

El ciclo biológico de *N. caninum* aún no está completamente dilucidado. La infección en los bovinos y en otros herbívoros, se iniciaría por la ingestión de alimentos contaminados por quistes microscópicos capsulados que tienen forma de huevo y son vehiculizados en la materia fecal del perro. Desde el intestino del bovino, los parásitos con forma de banana abandonarían los quistes y se multiplicarían en células del cerebro, pulmones, corazón, hígado y músculo a los que llegarían a través del sistema circulatorio. El ciclo se completaría cuando el perro ingiere órganos de bovinos (fetos, placenta) infectados con parásitos, que a su vez producirían los quistes contaminantes de las pasturas (Echaide, 1997).

Aunque éste sería el ciclo completo de la *N. caninum*, los estudios epidemiológicos sugieren que la infección de fetos de vacas portadoras de los parásitos, es la principal vía de transmisión en bovinos, relegando la importancia del perro en algunos rodeos donde la neosporosis es endémica (Echaide, 1997).

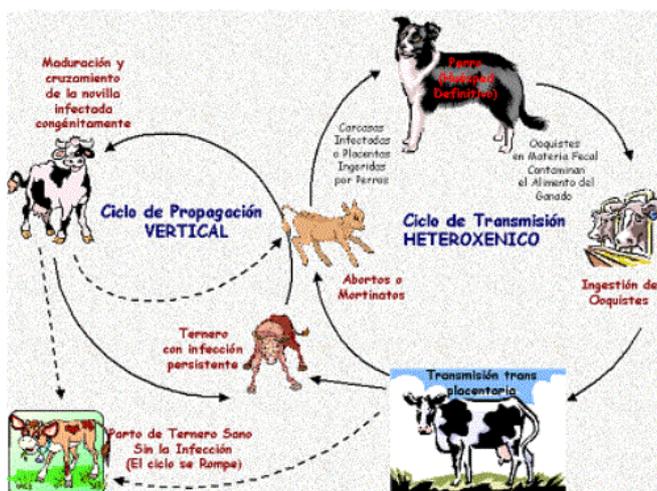


Figura 2.- Ciclo evolutivo de *Neospora caninum*.

### 3.8. PATOGENIA

La neosporosis es una enfermedad que se ha detectado en la mayoría de las especies domésticas: bovinos, ovinos, caprinos, equinos, ciervos y caninos (Anderson, 1996).

La ruta de transmisión mejor descrita e identificada hasta el momento es la vía transplacentaria la cuál parece ser la forma más importante para mantener la infección en los hatos debido a la eliminación del parásito a través de los fetos abortados o por el nacimiento de terneros congénitamente infectados (Paré y Col, 1996).

Se propone también la posibilidad de infección postnatal basados en el hecho de que de las terneras nacidas en hatos con seropositividad del 30 – 50% solamente el 1 – 2% de ellas presentaban una infección. Adicionalmente las terneras nacidas de vacas seronegativas alimentadas con calostro y leche de seropositivas no presentaron seroconversión (Thurmond y Hietala, 1998).

Se documentó que la evidencia de infección post natal es más frecuente desde el sexto mes de vida cuando el animal ya consume una dieta mixta. Por esta razón y debido a su similitud con el *Toxoplasma gondii*, se propone que puede haber transmisión por vía oral a través del consumo de forrajes contaminados con materia fecal de caninos u otros carnívoros que actuarían como huéspedes definitivos (Lindsay y Col. 1996).

Se reporta que el 43,8% de las vacas que abortaron por primera vez, lo volvieron hacer, sin definir si la infección se originó de los quistes existentes en ellas o si se debió a una reinfestación (Obendorf y Col.1994)

Las vacas infestadas con *Neospora spp* pueden parir terneros congénitamente infestados y que se consideran importantes diseminadores de la enfermedad,

dichos terneros pueden presentar sintomatología nerviosa o pueden ser portadores de tipo asintomático (Anderson y Col. 1994).

Aunque la patogenia de *N. caninum* en el bovino es parcialmente conocida, se cree que posterior a la ingestión de ooquistes, los esporozoitos liberados en la luz intestinal son capaces de atravesar la barrera intestinal y acceder a los tejidos vía el sistema linfático y sanguíneo. En las células huésped infectadas, se inicia el proceso de multiplicación mediante endodiogenia pudiendo el parásito ocasionar daño celular con necrosis e inflamación, o formar quistes tisulares capaces de persistir durante toda la vida del animal. Los bradizoítos alojados en los quistes tisulares del sistema nervioso central (SNC) de una hembra bovina gestante pueden reactivarse bajo ciertas influencias hormonales e inmunológicas originando parasitemia. Luego de esta difusión hematogena, los taquizoítos atraviesan la placenta ocasionando, de acuerdo a la edad de gestación, la muerte del feto o el nacimiento de un ternero congénitamente infectado. Aunque se ha estimado que transcurren tres a cuatro semanas entre la infección y el aborto, la finalización de la gestación puede concluir con el nacimiento de un ternero que en caso de ser hembra, transmitirá la enfermedad a su descendencia o tendrá riesgo de abortar ([www.portalveterinaria.com](http://www.portalveterinaria.com), 2004).

### **3.9. SIGNOS CLÍNICOS**

Las vacas afectadas no muestran ningún signo clínico de enfermedad a excepción del aborto. No suele haber retención de placenta y la fertilidad después del aborto no parece verse alterada. Los fetos no presentan alteraciones macroscópicas aparentes, aunque suele haber un grado elevado de autólisis, siendo también muy frecuente la presencia de fetos momificados (Treesetal, 1993).

Muchas veces los abortos pasan inadvertidos para el ganadero, que sólo se percata de ello cuando la vaca vuelve a salir en celo y que a veces considera como errores

en el diagnóstico de gestación. Los abortos se producen en vacas y novillas a partir de los tres meses de gestación, siendo más frecuentes (78%) entre los cuatro a seis meses, con una media de 5,6 a 5,7 (González y Col, 1996).

No se han descrito abortos en fetos menores de dos meses, aunque no se puede descartar que puedan producirse muertes embrionarias. Se han descrito abortos por **Neospora** tanto en vacas de aptitud cárnica como lechera, aunque se dispone de más datos sobre vacunos de leche; no se cree que exista predisposición racial, sino que la mayor tasa de abortos en ganado lechero estaría relacionada con el manejo, la mayor densidad de animales en explotaciones intensivas y la facilidad de que los alimentos se contaminen con heces del hospedador definitivo. Asimismo, es más fácil que los abortos pasen desapercibidos en ganaderías extensivas, estas mismas diferencias las encontramos en rebaños ovinos afectados de abortos por **Toxoplasma** (González y col, 1999; Anderson y Col, 1994).

**Neospora** puede provocar abortos repetidos en gestaciones consecutivas o intercalar abortos con gestaciones normales y nacimiento de terneros infectados (Mainar R, 1999).

Las vacas infestadas con **Neospora caninum** pueden parir terneros congénitamente infestados y que se consideran importantes diseminadores de la enfermedad. Dichos terneros pueden presentar sintomatología nerviosa o pueden ser portadores de tipo asintomático (Anderson y Col., 1997).

Recientemente se describió que tras la presentación de abortos a **Neospora caninum** en un rodeo de cría, el 22,2% de las vacas seropositivas y el 13,5% de sus hijas no se preñaron en el servicio natural siguiente. Estos hallazgos sugieren que vacas seropositivas a **Neospora caninum** podrían resultar subfértiles (www.portalveterinaria.com, 2004)



**Figura 3.-** Feto bovino abortado por Neosporosis

### **3.10. LESIONES MICROSCÓPICAS**

Las lesiones microscópicas en los fetos abortados están asociadas con la presencia de taquizoitos en cerebro, médula espinal, corazón, y ocasionalmente en los pulmones y los riñones. Las lesiones microscópicas corresponden a encefalitis y miocarditis no supurativa necrotizante multifocal. Cualquier porción de cerebro o de la médula espinal puede tener las lesiones. Es sencillo reconocer las lesiones en el tallo cerebral de los fetos más jóvenes que en el cerebro debido a que allí la autólisis es mucho más acelerada que en el tallo cerebral. Es posible observar taquizoitos y lesiones ocasionalmente en la placenta (Vargas, 1998).

El cuadro histopatológico viene definido por una meningoencefalitis multifocal no purulenta. En la placenta y el miocardio son frecuentes las grandes áreas de infiltración y de necrosis difusa. La acción conjunta de meningoencefalitis, miocarditis y placentitis determina, en la mayoría de los casos, la muerte del feto (Cordero del Campillo y Rojo, 1999).

### 3.11. DIAGNÓSTICO

Considerando neosporosis como una entidad que puede producir aborto su diagnóstico se debe orientar hacia la diferenciación con entidades bacterianas, vírales y protozoarios que cursa con signos clínicos similares (Barr y Col. 1995).

El diagnóstico de la neosporosis se basa en el examen de suero de la vaca abortada, y suero, líquidos y tejidos del feto. A partir del quinto mes de gestación las muestras de suero y los líquidos fetales pueden ser analizados para la detección de anticuerpos específicos mediante las pruebas de Inmunofluorescencia indirecta (IFA) o las pruebas enzimáticas (ELISA). Para detectar la presencia del parásito en los tejidos se utilizan métodos biotecnológicos. Para ello deben enviarse a los laboratorios de diagnóstico el feto, o distintos órganos refrigerados (cerebro, médula, corazón y pulmones). Los órganos, para intentar aislamiento del parásito, deben obtenerse con elementos estériles. El aislamiento de *N. caninum* a partir de fetos es dificultoso por la escasa concentración de parásitos o los procesos de descomposición que afectarían a estos microorganismos (Echaide y Valentini, 1997).

Los hallazgos histopatológicos en fetos abortados, cuyos tejidos se pueden teñir con hematoxilina – eosina son caracterizados por un infiltrado celular mononuclear en el epicardio, miocardio, endocardio con necrosis multifocal asociada con una leve mineralización y definida como una miocarditis no supurativa (Boulton y Col., 1995).

En el cerebro se encuentra necrosis focal y microgliosis dispersa (Ogino y Col, 1992), que compromete los nódulos microgliales en la corteza particularmente en las zonas adyacentes a los vasos sanguíneos de la interfase de la materia gris y blanca. También se pueden encontrar taquizoitos intracelulares y extracelulares, así como quistes tisulares en cualquier área del cerebro y del corazón. Se considera que el

grado de lesión depende de la edad del feto y de su inmunocompetencia (McNamee y Jeffrey, 1994).

Se han realizado pruebas inmunohistoquímicas con antisueros policlonales de **Neospora**, para identificar el parásito en los tejidos y así diferenciarlos de los otros protozoarios (Venturini y col., 1995).

Es importante mencionar que el anticuerpo generado contra **N. caninum** es eficaz para detectar por inmunohistoquímica los parásitos en fetos bovinos y que no existe reacción cruzada con el **Toxoplasma** o el **Sarcocystes** lo cuál hace que la prueba sea muy específica. Se han detectado técnicas con Inmunofluorescencia indirecta para detectar anticuerpos en fetos mayores de cinco meses de desarrollo y en neonatos congénitamente infestados. Si embargo es importante anotar que una prueba negativa no elimina la posibilidad de que el animal haya estado en contacto con la enfermedad. En el caso del animal adulto la prueba es menos sensible debido a la disminución de los títulos entre los dos y los cinco meses después del aborto, adicionalmente, la presencia de títulos con **Neospora** no confirman que la vaca haya abortado por esta causa, pues en general las tasa de infestación son más altas que las del aborto (Barr y Col., 1995).

Otra herramienta disponible actualmente para el diagnóstico, es la prueba de ELISA que tiene la capacidad de detectar anticuerpos, producto de la infestación del parásito, pero con el inconveniente que no todo animal que es positivo a la prueba necesariamente abortará o ha abortado por Neospora. Sin embargo es una ayuda muy importante cuando se analizan los resultados serológicos de un número plural de animales de una finca y se comparan con los obtenidos para otras enfermedades (<http://lmvltida.com>. 2003).

## **Prueba de ELISA**

Es la unión covalente de enzimas a las moléculas de los anticuerpos produciendo una herramienta inmunológica que posee alta especificidad y alta sensibilidad, la técnica llamada ELISA, utiliza los anticuerpos a los que se han enlazado covalentemente las enzimas de modo que quedan sin alteración las propiedades catalíticas de la enzima y la especificidad del anticuerpo. Las enzimas enlazadas, típicamente incluyen peroxidasa, fosfatasa alcalina y galactosidasa, todas las cuales catalizan reacciones cuyos productos son de color y se pueden determinar en cantidades muy pequeñas (Otte, 1992).

## **Inmunofluorescencia Indirecta**

Esta técnica está basada en la capacidad de la globulina del anticuerpo en combinarse químicamente con un colorante fluorescente o fluorocromo, sin perder su reactividad inmunológica. La reacción se visualiza al ser iluminada con luz ultravioleta de alta intensidad. Los sueros diagnosticados como positivos son aquellos en los que se observa el parásito con una coloración fluorescente (Domínguez, 1992).

### **3.12. TRATAMIENTO**

Puesto que no existe tratamiento conocido para la enfermedad, el control se basa en evitar la transmisión y eliminar los animales infectados. Habría que tomar las siguientes medidas:

#### **-Eliminación gradual de animales seropositivos**

- Comenzar por las vacas que hayan abortado anteriormente
- Las vacas seropositivas que no puedan ser eliminadas deberían ser inseminadas con razas de aptitud cárnica.

- Diagnosticar correctamente los abortos, pues podemos tener explotaciones con alta seroprevalencia y alto número de abortos en los que *Neospora* coexista con otros patógenos que pueden ser causantes de los mismos.

#### **- Control de la transmisión vertical**

- Controlar serológicamente las hembras para reposición, tanto las nacidas en la ganadería como las adquiridas a otros ganaderos.
- Dejar como reposición sólo descendencia de vacas seronegativas.
- Si se utiliza transplante de embriones comprobar que las receptoras sean seronegativas.

#### **- Control de la transmisión horizontal**

- Evitar el acceso de perros y otros carnívoros a los recintos de ganado, especialmente a los almacenes de alimentos, para evitar la contaminación fecal.
- Eliminación rápida de placentas, fetos abortados y animales muertos para evitar su ingestión por carnívoros y desinfección de los materiales contaminados por el aborto (www.veterinaria.org, 2004)

### **3.13. CONTROL Y PREVENCIÓN**

Las propuestas de control y prevención sobre la infección congénita han sido variadas, por ejemplo Lindsay y Col, 1993 postularon el efecto benéfico del uso de anticoccidiales para inhibir el desarrollo de la *Neospora*, pero no pudieron definir realmente si su uso evitaba la infección o el aborto. También se ha propuesto la necesidad de implementar altas tasas de reemplazo o el empleo de transferencia de embriones con novillas no infectadas. Las medidas orientadas al control y prevención de la infección postnatal se fundamentan en el conocimiento del ciclo de vida del parásito. Aquí juegan un papel

importantísimo las poblaciones de caninos y probablemente de otros carnívoros como contaminantes de forrajes y de fuentes de agua a través de la materia fecal. Así mismo se debe limitar el acceso de los mismos al consumo de tejidos bovinos que puedan estar contaminados como son las placentas o las carcazas de animales muertos en la finca. Es muy importante la identificación de animales seropositivos y congénitamente infectados para establecer normas de manejo dentro del hato como por ejemplo la cría individual que disminuyan el riesgo de contacto e infección entre terneras. (Thurmond, y Hietala, 1998).

Actualmente existe una vacuna para control de abortos por neosporosis bovina, su uso se recomienda en casos donde se estime que la tasa de abortos en la ganadería se debe principalmente a esta etiología, caso contrario deberá llevarse primero un control para los otros entes patológicos que están presentes como IBR, DBV, Leptospirosis y brucelosis (Lozada, 2004)

## **VACUNA**

### **Descripción**

BOVILIS® NEOGUARD es una vacuna para uso en vacas gestantes sanas como auxiliar en la reducción del aborto causado por *Neospora caninum*.

### **Composición**

Contiene protozoarios muertos de *Neospora caninum*, con SPUR® como adyuvante que contribuye a su alta inmunogenicidad y estabilidad.

### **Dosis y vía de administración**

Aplíquese 5 ml por vía subcutánea.

### **Calendario de vacunación**

Aplíquese durante el primer trimestre de la gestación (a partir del diagnóstico de gestación) seguido de una segunda aplicación a las 3 ó 4 semanas. Se recomienda la revacunación con dos dosis en las gestaciones subsecuentes.

## Precauciones

1. Manténgase en refrigeración a temperatura entre 2 y 8 °C
2. No congelar
3. Aplíquese en animales sanos
4. Antes de utilizar permita que alcance la temperatura ambiente (15 a 25 °C)
5. Agítese bien antes y durante su uso
6. No se exponga a los rayos directos del sol por tiempo prolongado
7. Utilice jeringas y agujas estériles
8. En caso de observar reacciones alérgicas, use epinefrina como antídoto
9. Deseche el frasco mediante incineración ([www.intervet.com.mx](http://www.intervet.com.mx))



**Figura 4.-** Vacuna Bovilis Neoguard

## **IV.- MATERIAL Y METODOS**

### **4.1. MATERIAL**

#### **4.1.1. LOCALIZACIÓN DEL AREA DE ESTUDIO**

Este trabajo de investigación se realizó en estancias lecheras ubicadas en el área integrada del departamento de Santa Cruz, Bolivia. Dicha área geográficamente está situada entre los 17°47' de latitud Sur y los meridianos 63°09' de longitud Oeste y tiene una altitud de 417 metros sobre el nivel del mar. Con un clima subtropical semi-húmedo, cuya temperatura media anual es de 22,9 °C; una humedad relativa del 80% y una precipitación pluvial de 1,200 mm.

#### **4.1.2. UNIDAD MUESTRAL**

Para esta investigación se tomaron un total de 912 muestras de sangre, para la obtención de los respectivos sueros de vacas lecheras escogidas al azar, la sangre fue extraída de la vena yugular o coxígea – caudal

### **4.2. MÉTODOS**

#### **4.2.1. MÉTODO DE CAMPO**

Las muestras de 10 ml. de sangre fueron obtenidas de las vacas seleccionadas al azar en cada estancia lechera. Las muestras se extrajeron de la vena yugular o coxígea. Luego las muestras se colocaron en tubos de ensayo sin anticoagulante correctamente identificadas para ser trasladadas al LIDIVET para su procesamiento.

Conforme se fueron obteniendo las muestras, se registraron en una ficha con los siguientes datos: nombre del propietario de la estancia, nombre y ubicación de la estancia, fecha y número de muestra, descripción del o de los animales en estudio como ser: edad, sexo, raza, procedencia, si tubo abortos y otros.

#### **4.2.2. MÉTODO LABORATORIAL**

En el LIDIVET, las muestras fueron centrifugadas para separar el suero del coágulo sanguíneo. Cada muestra de suero fue luego procesada mediante la técnica de ELISA Indirecta, para detección y cuantificación de anticuerpos específicos frente a taquizoítos de *Neospora caninum*. Para esta prueba se utilizó el Kit para Detección de anticuerpos específicos frente a los taquizoítos de *Neospora caninum*.

A continuación se describe en forma general el desarrollo de la técnica:

Se utilizaron microplacas de 96 pocillos, las cuales ya se encuentran tapizadas con el antígeno desde su respectivo laboratorio. Luego se aplican los controles prediluidos y las muestras sanguíneas 1/100, incubar a 37° C durante 60 minutos y realizar el lavado de las microplacas.

Añadir la solución de conjugado a estas microplacas e incubar a 37° C durante 60 minutos y realizar el lavado de las respectivas microplacas.

Posteriormente colocar la solución de sustrato y se deja desarrollar la reacción cromogénica a temperatura entre los 20 y 25° C durante 15 minutos. Luego de este tiempo dispensar en cada pocillo la solución de frenado para llevarla al lector óptico de ELISA.

#### **4.2.3. MÉTODO ESTADÍSTICO**

Se utilizó la prueba de Chi Cuadrado y análisis de varianza, a fin de analizar los resultados según las variables tomadas en cuenta en este estudio.

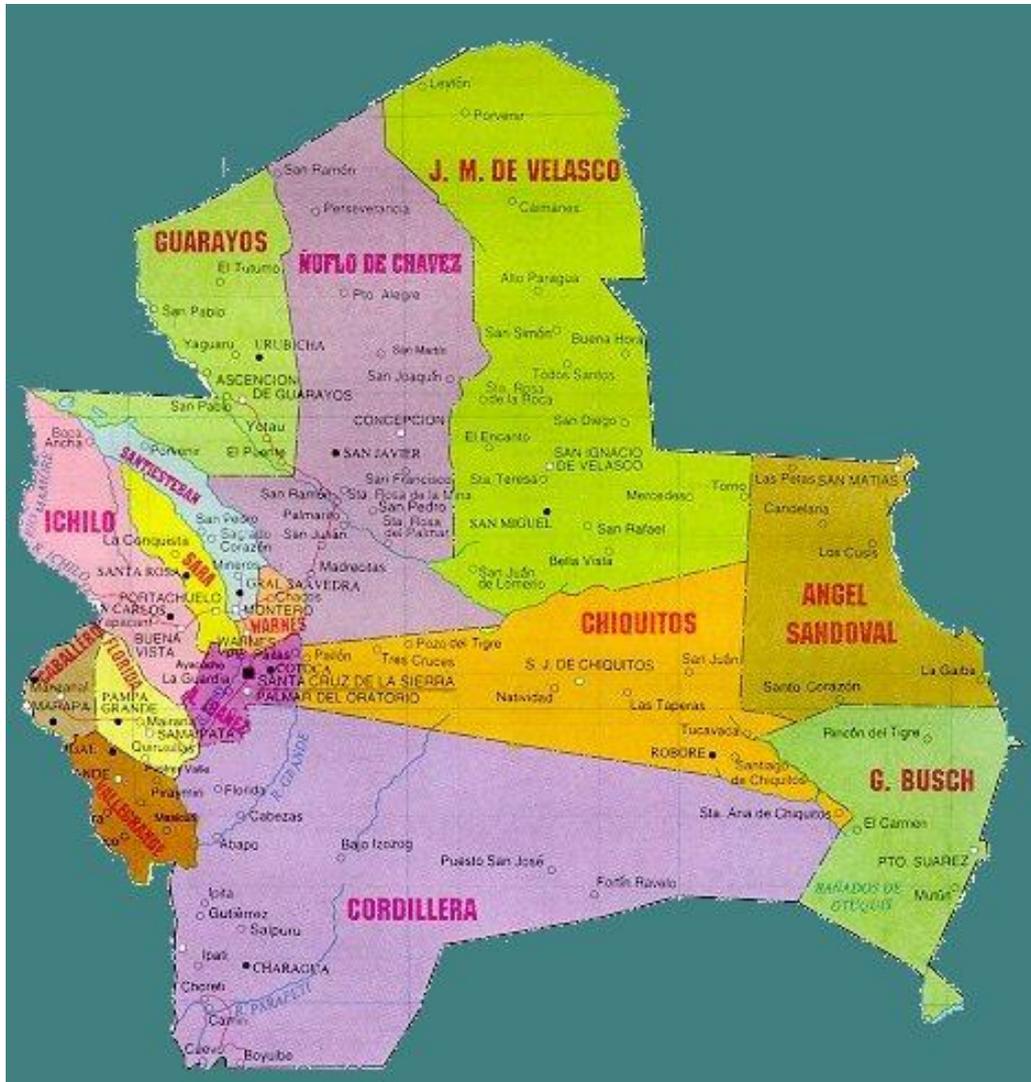


Figura 5.- Mapa del Departamento de Santa Cruz.

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

Con el presente trabajo de investigación, mediante el método de ELISA indirecta para la identificación de anticuerpos, se obtuvieron los siguientes resultados:

### CUADRO N° 1

#### PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Neospora caninum* EN LA ZONA NORTE DE LA CUENCA LECHERA DEL DEPARTAMENTO DE SANTA CRUZ

(Octubre – Noviembre, 2003)

PARASITO	N°	POSITIVOS		I C 95%
		N°	%	
<i>Neospora caninum</i>	912	260	28,5	25,6 – 31,5

- La prevalencia de anticuerpos para *Neospora caninum*, en la zona norte de la cuenca lechera del departamento de Santa Cruz, de un total de 912 muestras, se encontraron 260 positivas, que equivalen a un 28,5 % con un intervalo de confianza al 95% de 25,6 – 31,5% (Cuadro N°1).

Estos resultados nos indican la presencia de la enfermedad en el ganado lechero de la cuenca lechera del departamento de Santa Cruz siendo aparentemente la principal causa la permanencia constante del hospedero definitivo (canino).

**Lozada, F. 2004.** En el trabajo titulado, Determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la sierra Centro Norte del Ecuador, por Prueba Inmunoenzimática, se analizaron, 395 vacas adultas no preñadas o en el primer tercio de gestación de 34 ganaderías lecheras encontró diferentes tasas de abortos y reabsorciones. Todas con control vacunal, los

resultados de laboratorio determinaron que el 42% de las muestras eran positivas a la presencia de anticuerpos anti-***N. caninum***; 2,8% sospechosas y el 55,2% es negativas.

Comparando con nuestro trabajo de investigación con el de **Lozada**, hay una diferencia significativa, pudiendo deberse al tamaño de la muestra, el estado general de animal ó al tiempo de presencia de la enfermedad en la zona.

## CUADRO N° 2

### PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Neospora caninum* POR HATO (Octubre – Noviembre, 2003)

PARASITO	N° HATOS	POSITIVOS	
		N°	%
<i>Neospora caninum</i>	81	34	42

- En lo respecta a la prevalencia por hatos se tiene que en *Neospora caninum* se obtuvo de un total de 81 hatos muestreados 34 resultaron positivos (42%) (Cuadro N°2).

**Moore, 2001.** Recientes estudios seroepidemiológicos en las provincias de Santa Fe y Córdoba detectaron una prevalencia del 15 al 27,5% en 320 bovinos lecheros, siendo positivos los 8 rodeos en estudio. Otro trabajo de similares características, reveló una seroprevalencia del 16,1% en 416 vacas lecheras de 22 tambos sin datos previos referidos a *Neospora caninum* ubicados en la cuenca Mar y Sierras. Este mismo estudio detectó animales seropositivos en 21/22 (95,4%) rodeos lecheros.

Con respecto a nuestro estudio por hatos lecheros, se encontró una prevalencia inferior (42%), comparando con los resultados mencionados en la parte superior, que al parecer el sistema de manejo de estos animales difiere al nuestro al igual que en el tamaño de la muestra.

### CUADRO N° 3

#### PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Neospora caninum* POR PROVINCIA

(Octubre – Noviembre, 2003)

PARASITO	PROVINCIA	N° Lecherías	POSITIVOS	
			N°	%
<i>Neospora caninum</i>	A. IBAÑEZ	9	5	56
	WARNES	32	11	34
	OBISPO S.	29	13	45
	SARA *	11	4	36

\* Municipio de Portachuelo.

**(P> 0,05)**

- En cuanto a distribución de la prevalencia por Provincia, con respecto a *Neospora caninum*, se encontró que en la Provincia de Andrés Ibáñez de 9 lecherías resultaron 5 positivas (56%); en la Provincia de Warnes de 32 lecherías, se encontraron 11 positivas (34%); en la Provincia de Obispo Santiesteban de 29 lecherías resultaron 13 positivas (45%) y en la Provincia Sara de 11 lecherías se encontraron 4 positivas (36%), por lo tanto no se presentó una diferencia significativa (P> 0,05) (Cuadro N°3).

Aunque en la provincia Andrés Ibáñez la cantidad de hatos es menor comparado con Warnes y Obispo Santiesteban, las prevalencias son similares con las mencionadas provincias, esto se puede deber a la falta de conocimiento por parte de los productores sobre esta nueva enfermedad lo cual lleva a no tener un control estricto en el manejo sanitario para prevenir la misma. Como se puede observar en estos resultados la provincia A. Ibáñez posee la prevalencia más elevada, esto quizás

se debe a la compra de animales provenientes de la zona que fue inicialmente infectada o de otro país.

En España, estudios de la provincia de León en los que se citan que el 55,1% de los rebaños de carne y el 83,2% de los de leche tienen algún animal seropositivo con una seroprevalencia individual del 17,9% y del 35,9% respectivamente para cada tipo de ganadería. En Asturias en ganaderías de leche tenemos un 90,7% de rebaños positivos con una seroprevalencia individual del 29,6%. En Zaragoza, en ganado lechero, se encontró un 76% de los rebaños con algún animal positivo y una prevalencia individual del 17,3% ([www.veterinaria.org](http://www.veterinaria.org), 2004).

Pero lo rescatable de esta variable es la distribución en casi todas las provincias, ya que se muestreo el municipio de Portachuelo y es un buen indicador de esta distribución pero que es necesario en el futuro establecer áreas o micro caracterizar las lecherías ó establecimiento de cría ó engorde de bovinos, para poder determinar si esta enfermedad podría provenir de otra zona que no sea esta cuenca lechera.

#### CUADRO N° 4

#### PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Neospora caninum* POR SEXO

(Octubre – Noviembre, 2003)

PARASITO	SEXO	N°	POSITIVOS	
			N°	%
<i>Neospora caninum</i>	HEMBRA	879	254	29
	MACHO	33	6	18

(P> 0,05) Resultados obtenidos en base a la Prevalencia General 28%

- En la prevalencia por sexo, se obtuvo que en *Neospora caninum*, 879 muestras pertenecen a hembras, de las cuales 254 fueron positivas (29%); y 33 muestras son de machos, siendo seis positivos (27%). No observándose una diferencia estadística significativa (P> 0,05) entre ambos sexos, por lo tanto no hay predilección de este parásito por esta variable (Cuadro N°4).

Estos resultados nos indican que no existe predilección de este protozooario por esta variable, al no presentarse diferencia significativa entre ambas.

Otros trabajos, realizados sobre 55 rodeos para cría pertenecientes a 5 estados ubicados al noroeste de EE.UU. revelaron una seroprevalencia del 24% en los 2585 sueros analizados mediante una prueba ELISA de inhibición competitiva presentando todos los rodeos animales seropositivos. Waldner et al., describe en Canadá una seroprevalencia a *Neospora caninum* que varió del 16 a 27% en 8 rodeos para carne. Quintanilla-Gonzalo et al., en España, hallaron una seroprevalencia a *Neospora caninum* del 18% en los 1712 sueros evaluados.

Resultando positivos 119/ 216 (55,1%) rodeos para carne (www.portalveterinaria.com, 2004).

**Campero, 2003.** En un trabajo utilizando la prueba de inmunofluorescencia (IF) analizaron sueros de vacas de 22 tambos de la cuenca Mar y Sierras en la Provincia Santa Fe – Argentina sin información previa referente a ***Neospora caninum***. El mismo permitió detectar 16,1% de vacas seropositivas existiendo al menos un animal positivo en el 95,4% de los rodeos lecheros en estudio (www.veterineriosursf.com.arg, 2003).

Como se puede observar en estos resultados la presencia de esta enfermedad no está condicionada al tipo de producción, ya sea en ganado de carne o de leche y que afecta tanto hembras como machos, o entre el impacto de un aborto o repetición de celo es más notorio en hembras lo cual quizás sea de mayor importancia a estas, pero es importante considerar que toros seropositivos quizás en algún momento podrían ser la causa principal de diseminación, obviamente hasta el momento no se ha comprobado la transmisión de esta enfermedad por vía sexual.

En España, recientemente se pretende realizar un trabajo de investigación titulado "Detección de ***Neospora caninum*** en muestras de semen bovino" en el cual se desea comprobar la importancia de la posible eliminación del parásito en el semen y la transmisión venérea o mediante la inseminación artificial, este estudio está respaldado por diversos hechos epidemiológicos, como la presencia de anticuerpos específicos frente a la infección por el parásito en sementales bovinos, pero sobre todo por la demostración de la eliminación seminal del parásito en el semen de toros congénitamente infectados.

**CUADRO N° 5**

**PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Neospora caninum*  
POR EDAD**

**(Octubre – Noviembre, 2003)**

PARASITO	EDAD (Meses)	N°	POSITIVOS	
			N°	%
<i>Neospora caninum</i>	<b>1-12</b>	242	65	27
	<b>13-24</b>	113	43	38
	<b>25-36</b>	186	55	30
	<b>37-48</b>	114	31	27
	<b>49-60</b>	64	19	30
	<b>&gt; 61</b>	193	48	25

**(P < 0,05)**

- Tomando en cuenta la prevalencia de *Neospora caninum*, por edades, de 242 muestras de animales de uno a 12 meses de edad resultaron 65 positivos (27%); de 113 muestras de animales entre 13 a 24 meses de edad, 43 fueron positivos (38%); de 186 muestras de animales entre los 25 a 36 meses de edad 55 resultaron positivos (30%); de 114 muestras entre los 37 a 48 meses de edad 31 dieron positivos (27%); de 64 muestras de animales entre los 49 a 60 meses de edad 19 fueron positivos (30%) y de 193 muestras de animales mayores a 61 meses de edad 48 resultaron positivos (25%). Se encontró una diferencia significativa (P < 0,05) entre los animales comprendidos entre las edades de uno a 12 y 13 a 24 meses de edad así como también entre los animales de uno a 12 y mayores a 61 meses de edad (Cuadro N°4).

Estas diferencias encontradas en la prevalencia por edades posiblemente se deben a que los del grupo de 1 a 12 pueden nacer congénitamente infectados, con respecto al grupo de 13 a 24 meses presenta una prevalencia mayor debido a que éstos animales están entrando a la edad reproductiva y en el último grupo de animales mayores a los 61 meses de edad, la prevalencia encontrada pudo deberse a que éstos ya son casos crónicos.

**Patitucci, 2000.** En un estudio titulado prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum*, trabajó en dos establecimientos lecheros de la IX Región de Chile, los cuales presentaron abortos con diagnóstico serológico de *N. caninum* y negatividad por serología y/o cultivo a brucelosis, leptospirosis, campilobacteriosis, diarrea viral bovina (DVB) y rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB). Se tomaron muestras de sangre de 173 animales (106 vaquillas y 66 vacas adultas) del predio A y de 198 animales (66 terneras, 45 vaquillas y 87 vacas adultas) del predio B; dichas muestras fueron extraídas con un intervalo de 6 meses de ocurrido el episodio de aborto. Los valores de prevalencia encontrada en los rebaños estudiados (predio A: 30,2% y B 15,7%) sugieren, que si bien existen diferencias entre establecimientos, la enfermedad está presente en forma considerable en el país. Existen diferencias en el tipo de alimentación suministrada a las diferentes categorías, por lo que se podría pensar que el suplemento estuvo contaminado con heces de caninos infectados y fue el responsable de causar infección en aquellos animales que lo consumieron (www.scielo.cl, 2004).

## VI. CONCLUSIONES

El presente trabajo de investigación concluye lo siguiente:

Con relación a la prevalencia de anticuerpos para ***Neospora caninum*** en bovinos de la zona norte de la cuenca lechera del departamento de Santa Cruz, los resultados nos indican la presencia de anticuerpos contra este parásito en las zonas de estudio.

***Neospora caninum*** viene a transformarse es una de las causas de aborto en nuestro país y seguirá expandiéndose a menos que se tomen las medidas adecuadas tanto sanitarias como de control, al mismo tiempo se deben seguir realizando mas trabajos de investigación sobre esta enfermedad para así poder llegar a una solución eficaz.

Finalmente la presencia de este parásito en la zona de estudio demuestra una vez más la fragilidad de un sistema de sanidad animal integral; ya que la introducción de nuevas enfermedades al país son prevenibles siempre y cuando deban cumplirse las normas sanitarias correspondientes para evitar la introducción de nuevas enfermedades y que no solo pueden afectar a bovinos sino a otras especies animales del país.

## VII. BIBLIOGRAFIA

- ANDREOTTI, R. 2001.** Neosporosis: un posible problema reproductivo para el ganado bovino. EMBRAPA Campo Grande-Brasil. [www.cnpqg.embrapa.br](http://www.cnpqg.embrapa.br)
- BRENER, J. 2000.** Los perros son portadores del *Neospora caninum*. Revista Hereford. Iowa-EE.UU. [www.imperiorural.com.ar](http://www.imperiorural.com.ar)
- CAMPERO, C. 2002.** Perdidas provocadas por *Neospora caninum* en bovinos. Grupo de sanidad animal, INTA. Balcarce-Argentina. [ccampero@balcarce.inta.gov.ar](mailto:ccampero@balcarce.inta.gov.ar)
- CEBRIAN, L. 2003.** Neosporosis y aborto en el ganado bovino. Dpto. de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Zaragoza. Zaragoza-España. [www.veterinaria.org](http://www.veterinaria.org)
- COTRINO, V. 2003.** Neosporosis: enfermedad emergente. Director Científico Laboratorio Médico Veterinario. Bogotá-Colombia. [www.lmvltda.com](http://www.lmvltda.com)
- ECHAIDE, I. Y VALENTINI, B. 1997.** La Neosporosis en los Bovinos Lecheros. <http://www.inta.gov.ar/noveda/comunica/jun12.htm>. [chaide@rafaela.inta.gov.ar](mailto:chaide@rafaela.inta.gov.ar)
- LOZADA, E. 2003.** Determinación de la presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la sierra centro norte del Ecuador, por prueba inmunoenzimática. Universidad Central del Ecuador. [eflozada2003@yahoo.es](mailto:eflozada2003@yahoo.es)
- MOORE, D. 2002.** Evaluación de anticuerpos ANTI-*Neospora caninum* en ciervos colorados. Grupo de sanidad animal, INTA. Balcarce-Argentina. [ccampero@balcarce.inta.gov.ar](mailto:ccampero@balcarce.inta.gov.ar)

- PATITUCCI, A. 2004.** Prevalencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en dos rebaños lecheros de la IX Región de Chile. Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Temuco. Temuco-Chile. [www.scielo.cl](http://www.scielo.cl)
- RICE, D. Y GAY, J. 1995.** *Neospora caninum* infection in cattle Field Disease Investigation Unit Washington State University College of Veterinary Medicine. [chr@vetmed.wsu.edu](mailto:chr@vetmed.wsu.edu); [jmgay@vetmed.wsu.edu](mailto:jmgay@vetmed.wsu.edu).
- RIVERA, H. 2003.** *Neospora caninum* y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Nacional Mayor San Marcos. Lima-Perú. [www.visionveterinaria.com](http://www.visionveterinaria.com)
- RIVERA, H. 2003.** Etiología infeccioso del aborto bovino. Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Nacional Mayor San Marcos. Lima-Perú. [www.visionveterinaria.com](http://www.visionveterinaria.com)
- ROJAS, M. 2003.** Neosporosis Canina. Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Nacional Mayor San Marcos. Lima-Perú. [www.visionveterinaria.com](http://www.visionveterinaria.com)
- VENTURINI, M. 2002.** Neosporosis: Epidemiología y Diagnóstico. Lab. de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias.Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata-Argentina. [www.inta.gov.ar](http://www.inta.gov.ar)
- ZABALA, J. 2003.** Valoración de la transmisión vertical de *Neospora caninum* mediante el estudio serológico materno y precalostrado en explotaciones de vacuno lechero. Laboratorios HIPRA. Barcelona-España. [www.anambe.com](http://www.anambe.com).
- ZAMBRANO, J. 2003.** Evaluación serológica de *Neospora caninum* en bovinos en Colombia. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Universidad Nacional de Colombia. [www.encolombia.com](http://www.encolombia.com)