

NEOSPORA CANINUM: ESTUDIO SEROEPIDEMIOLÓGICO EN BOVINOS DE LA PROVINCIA DE LA PAMPA

Marcelo Fort. 2017. INTA Anguil.

www.produccion-animal.com.ar

Volver a: [Enfermedades parasitarias en general y de bovinos](#)

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un protozoario que fue reconocido por primera vez en 1984 por Bjerkas et al. en Noruega. Sin embargo hasta 1988 (Dubey et al.) fue erróneamente clasificado como *Toxoplasma gondii*. La enfermedad producida por este protozoario fue primeramente asociada con una encéfalo mielitis congénita de los perros (Dubey & Lindsay, 1990^a). Posteriormente infecciones fetales y neonatales fueron descritas en bovinos, ovejas, cabras, ciervos y caballos (Buxton et al., 1997; Dubey et al., 1990; Lindsay et al., 1995; Barr et al., 1992).

Anticuerpos contra *N. caninum* han sido demostrados en sueros de búfalos, coyotes, zorros y camellos, naturalmente expuestos. (Dupey et al., 1999). Por otra parte infecciones experimentales han sido llevadas a cabo con éxito en conejos, gatos, ratas, ratones, cerdos, y monos. El ciclo de vida de *Neospora* fue recientemente confirmado cuando sus ooquistes fueron encontrados en heces de perro (McAllister et al., 1998). Si bien es cierto que la ingestión de ooquistes es una de las rutas de infección para bovinos, muchos estudios han demostrado que la infección por la vía transplacentar es la forma de transmisión más importante (Shares et al., 1998; Paré et al., 1996; Davison et al., 1999-b). El aborto es el signo clínico más importante de esta enfermedad observado en las vacas (Thilsted & Dubey, 1989; Barr et al., 1991). Neosporosis ha sido considerada como la mayor causa de abortos en bovinos lecheros en EEUU, donde estiman que entre el 5 y el 15% de las preñeces terminan en aborto y alrededor del 33% de estos abortos son producidos por *Neospora caninum* (Anderson et al., 1991 & 1995).

En el caso de producirse el nacimiento, los terneros son frecuentemente más pequeños que lo normal, presentan un lento crecimiento y pueden presentar signos neurológicos (Barr et al., 1991; Dubey et al., 1992). En el caso de producirse abortos debidos a *Neospora* los estudios histopatológicos e inmunohistoquímicos son las técnicas más utilizadas para el diagnóstico de esta enfermedad. (Otter et al. 1997; Hessler & Halbur, 1999). Sin embargo existe una creciente evidencia que demuestra que la técnica de PCR aumenta sensiblemente las probabilidades del diagnóstico (Sager et al., 2001). La detección de anticuerpos específicos en suero de vacas ha probado ser de mucha utilidad, no solo en el diagnóstico de abortos bovinos, sino también en estudios de seroprevalencia y seroepidemiología de la enfermedad (Shares et al., 1999; Davison et al., 1999-b; Paré et al., 1998). El primer test utilizado en el diagnóstico serológico fue la inmunofluorescencia (IFAT) el cual fue ampliamente utilizado y actualmente es considerado estándar de comparación para los otros tests que se han ido desarrollando: como el Immunoblotting (IB), el test de aglutinación y varios ELISA (Atkinson et al., 2000). Estas técnicas permitieron la realización de estudios serológicos de *Neospora caninum* en muchos países. En Argentina *Neospora caninum* ha sido reportada por Campero et al., 1999 y Venturini et al., 1999. Como consecuencia existe una necesidad en conocer su real prevalencia, distribución y consecuencias económicas sobre la producción bovina.

CICLO DE VIDA Y FORMAS DE TRANSMISIÓN

El ciclo de vida de *Neospora caninum* (Figura 1) ha sido postulado desde que se descubrió que el parásito tenía un ciclo de vida similar a *T. gondii* (Dubey et al., 1988). Sin embargo este ciclo no fue validado hasta que se confirmó la presencia de ooquistes de *Neospora* en materia fecal de perros (McAllister et al., 1998). Los perros pueden actuar como hospedadores intermediarios y definitivos (Dubey, J.P., 1999). Los perros se transforman en hospedadores definitivos cuando ingieren tejidos con quistes de *N. caninum*, diseminando luego ooquistes a través de las heces. McAllister et al (1998) demostraron experimentalmente que solo unos pocos quistes de *N. caninum* eran eliminados con las heces a partir del día 8 siguiente a la infección, siendo excretados irregularmente por un corto período de tiempo. Sin embargo nada era conocido con respecto a la presencia de ooquistes en heces de perros naturalmente infectados hasta que Basso et al (2001) encontraron ooquistes de *N. caninum* en heces de perros naturalmente infectados.

Los hospedadores susceptibles se infectan ingiriendo forraje y agua contaminada con heces que contienen ooquistes de *N. caninum*. Seguidamente a la ingestión los esporozoitos son liberados en el tracto intestinal. Estos se dividen rápidamente, causando daño tisular y diseminando la infección a otros tejidos del hospedador (Dubey and Lindsay, 1996). Los taquizoítos penetran en las células neurales transformándose en bradizoítos y en quistes tisulares. Los quistes se encuentran solamente en el cerebro, médula espinal y retina (Lindsay et al., 1989). Los

bradizoítos y quistes tisulares son resistentes a las soluciones ácidas de pepsina, indicando que los carnívoros juegan un importante rol en el ciclo del parásito. (Antony and Williamson; 2001). De tal manera que el rol epidemiológico de los carnívoros de vida silvestre, como los zorros, ha adquirido una creciente importancia. Buxton et al. (1997), detectaron anticuerpos contra *Neospora caninum* en muestras de suero provenientes de zorros de Bélgica. Linday et al. (1996) encontraron anticuerpos contra *Neospora caninum* en sueros de coyotes provenientes de Texas.

TRANSMISIÓN VERTICAL

La transmisión de madre a hija fue sugerida como la principal vía por varios autores. Shares et al. (1998) demostraron que *N. caninum* puede ser mantenida por varias generaciones a un nivel constante de prevalencia, aparentemente sin la necesidad de dispersión de un hospedador definitivo, corroborando la teoría de que la ruta transplacentaria es la más importante en la especie bovina. Shares et al. (1998), examinaron la asociación de las infecciones a *Neospora caninum* en familias de vacas de tambo con abortos esporádicos. Catorce(93%) de los 15 descendientes de 10 vacas seropositivas fueron seropositivas. En otro estudio llevado por Jolley et al. (1999), donde ovejas preñadas fueron inoculadas con cultivos de taquizoítos de *Neospora caninum*, la transmisión vertical fue también demostrada. En este estudio taquizoítos y/o lesiones histológicas indicativas de neosporosis fueron encontradas en 11 de los 15 fetos examinados. Davison, et al. (1999c) estudiaron la transmisión de *Neospora caninum* en un rodeo lechero con historia de abortos asociada con el protozoario, encontrando que la probabilidad de transmisión vertical fue muy alta; 95% de las vacas seropositivas produjeron terneros que eran seropositivos antes del consumo de calostro. Wouda et al. (1998) determinaron la transmisión vertical en 4 rodeos lecheros que habían tenido abortos debidos a *N. caninum*. Los anticuerpos precalostrales contra *N. caninum* fueron demostrados en el 68% de los terneros F1 y en el 82% de los F2 provenientes de vacas que habían abortado. Hietala y Thurmond (1999) también enfatizan la importancia de la transmisión congénita en el mantenimiento de la infección, al considerar las extremadamente bajas tasas de infecciones postnatales encontradas (menores del 1%).

TRANSMISIÓN HORIZONTAL

A pesar de la eficiencia de la transmisión vertical es evidente, de acuerdo a los modelos teóricos, que la infección no podría mantenerse a niveles constantes en un rodeo, si no existiera cierto grado de infección postnatal (Davison et al., 1999c). Además, estudios epidemiológicos y observaciones de campo están generando cada vez más evidencia sobre las infecciones postnatales de bovinos con *N. caninum*. Por otra parte una falta de asociación en la seropositividad entre madre e hija ha sido claramente demostrada en rodeos con abortos epidémicos (Thurmond et al, 1997). Seguidamente, en varios estudios la asociación entre la presencia de forraje contaminado con ooquistes provenientes de material fecal de perros y tormentas de aborto han sido identificadas. McAllister et al (2000) reportan un brote de neosporosis en un rodeo de vacas, indicando que la epidemia de abortos y nacimientos prematuros resultó luego de una posible exposición con forraje contaminado con ooquistes. La curva de incidencia para este brote tuvo figuras que son consistentes con aquellas que siguen a un punto de exposición inicial. Kashiwazaki et al. (2001) en un estudio serológico de *Neospora*, conducido en la región noreste de Tailandia encontró que la prevalencia se incrementó en un período de dos años del 37.5% al 60% y los abortos fueron detectados 1-3 meses después de la introducción de bovinos en el área bajo estudio. Patitucci et al.(1999) también citan el contacto con una fuente de infección seguido de una tormenta de abortos en un rodeo lechero. Sin embargo la fuente de infección inicial no permaneció lo suficiente para infectar un grupo de vaquillonas que llegaron con posterioridad al establecimiento. Otra evidencia de transmisión horizontal fue sugerida por Atkinson et al. (2000b) en un rodeo donde la asociación de seropositividad madre/hija se presentó en el rodeo antes de que los abortos a *N. caninum* fueran detectados. La explicación de acuerdo a los autores fue que la epidemia en este rodeo infectado estuvo asociada a una reciente exposición de forraje contaminado con ooquistes provenientes de materia fecal de perro.

Recientemente, Dijkstra et al.(2002), evaluaron las rutas de transmisión natural de *Neospora caninum* entre perros de campo y bovinos en un estudio de casos y controles. Los resultados mostraron que el consumo de placenta, material procedente de los fetos abortados y/o descargas uterinas en combinación con defecación en los comederos o lugares de conservación de forrajes fue observada en el 19% de los rodeos controles y en el 75% de los rodeos con problemas. Anderson, (2000) describió que los perros en los tambos mostraban una tendencia a defecar en los silos y en las mezclas de ración, al igual que en la alfalfa fresca que era distribuida diariamente en los comederos.

Otra de las posibles potenciales rutas de transmisión horizontal para bovinos es a través del consumo de leche. Gula et al. (1998) muestran que esta vía es apta al alimentar terneros recién nacidos con calostro conteniendo taquizoítos de *N. caninum*. Se constató que los terneros sero-convirtieron y pudo demostrarse DNA compatible con *N. caninum* por la técnica de PCR en material procedente de cerebro. A pesar de ello esta ruta debe ser mejor evaluada en estudios epidemiológicos.

SIGNOS CLÍNICOS

Abortos y lesiones encontradas en los fetos

El aborto es el único signo clínico observado en las vacas. El aborto puede ocurrir desde los 3 meses hasta el final del período de gestación, sin embargo la mayoría de las pérdidas se producen a los 5-7 meses de gestación, según Hattel et al (1998). Los fetos pueden morir en útero, nacer vivos pero enfermos o nacer clínicamente normales pero crónicamente infectados. La infección experimental de vacas preñadas a distintos meses de gestación, mostró que la parasitemia durante las primeras dos semanas resultó en una fetopatía y reabsorción de los tejidos fetales en un período de tres semanas siguientes a la descarga. Las infecciones producidas a las 30 semanas de gestación dio como resultado el nacimiento de terneros infectados congénitamente pero asintomáticos (Williams et al., 2000). En un estudio de casos y controles *Neospora caninum* fue detectada por PCR en el cerebro del 21% de todos (226) los fetos abortados, Sager et al. (2001). La mayoría de los abortos ocurrió entre el 5° y el 7° mes de gestación. Solamente hubo 5 abortos de 1-3 meses de gestación y ninguno de ellos fue positivo a *N. caninum*. La mayor proporción de fetos positivos a *N. caninum* por PCR fue encontrada en el grupo que tenía 5 meses de gestación. En todos los casos las lesiones histológicas más frecuentemente encontradas fueron una encefalitis multifocal en combinación con miocarditis (Otter et al., 1997; Barr et al., 1991^a). La naturaleza de las lesiones encontradas en los fetos fue también estudiada por Wouda et al., (1997). La examinación histológica reveló lesiones en tres órganos (cerebro, corazón, hígado) en 73 (91%) de los 80 fetos examinados. En 7 de los fetos las lesiones no fueron encontradas en uno de los órganos pero pudieron ser reconocidas en los otros dos. Encefalitis focal no supurativa y miocarditis difusa fueron vistas en el 97% de los fetos y hepatitis periportal fue observada en el 96% de los hígados estudiados.

Encefalomiелitis en terneros

El nacimiento de terneros a término, débiles o muertos, ha sido asociado a infecciones debidas a *Neospora caninum* (Graham et al., 1996). Este síndrome ha sido caracterizado por terneros que nacen vivos pero no pueden respirar o respiran por no más de 10 minutos. También es posible encontrar terneros que nacen con pesos inferiores a los normales, tienen un lento desarrollo y pueden presentar signos neurológicos (ataxia, disminución de los reflejos). La exoftalmia es otro de los síntomas que pueden observarse.

El diagnóstico de la infección producida por *Neospora caninum*

La examinación de los fetos es necesaria para el correcto diagnóstico de neosporosis. Como se dijo anteriormente, el tejido más consistentemente afectado en los fetos es el cerebro y aunque la encefalitis no supurativa no es una lesión patognomónica, un diagnóstico presuntivo puede efectuarse. La inmunohistoquímica (IHC) es la técnica más usada para demostrar la presencia de *Neospora* en los tejidos (Lindsay & Dubey, 1989). Sin embargo, raramente es posible detectar cantidad suficiente de protozoarios en cada corte histológico. Hessler et al. (1999) describieron la frecuencia de detección de *Neospora caninum* en tejidos de fetos abortados. El cerebro fue el órgano en el cual *Neospora* fue detectado con mayor frecuencia. Debido a que no hay dudas en cuanto a la pobre sensibilidad de la IHC en el diagnóstico de neosporosis fetal, la serología materna es considerada una ayuda importante en el diagnóstico. McNamee et al. (1996) compararon los títulos a la inmunofluorescencia (IFAT) en sueros de 40 vacas cuyos fetos habían sido examinados por IHC. De 22 casos confirmados por IHC, 21 de las vacas tuvieron títulos ³ 1:640 mientras que de 18 casos negativos solamente una vaca tuvo título significativo. Otter et al. (1997) encontraron que las serologías materna y fetal fueron altamente específicas y sensibles para el diagnóstico de infecciones por *N. caninum*. En la actualidad la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha probado ser un método suficientemente robusto para detectar DNA de *N. caninum* (Sager et al., 2001). Gottstein et al. (1998) examinaron 83 fetos bovinos en Suiza encontrando DNA específico de *Neospora* en 24 de ellos (29%). El mismo año en Australia, Ellis et al. encontraron DNA específico de *Neospora* en 16 (40%) de un total de 40 fetos examinados.

Diagnóstico serológico

La serología ha sido usada frecuentemente como herramienta para desarrollar estudios epidemiológicos buscando la asociación entre *N. Caninum* y abortos en bovinos. La mayoría de los autores encontraron que existía una alta correlación entre ambas.

Para la detección de anticuerpos específicos contra *N. caninum* una amplia variedad de antígenos inmutoreactivos ha sido descritos (Marks et al., 1998; Harkins et al., 1998; Jenkins et al., 1997; Barr et al., 1995; Packham et al., 1998; Björkman & Lúden, 1998; Atkinson et al., 2000; Björkman et al., 1997). Han sido reconocidas por lo menos 20 proteínas de taquizoítos en el rango de los 16 a 80 Kda, en western blots, usando anticuerpos policlonales. Los antígenos inmunodominantes fueron detectados como un grupo comprendiendo moléculas con un peso de 16/17, 29/30, 37 y 46 Kda. Los antígenos de 29/30 y 37 Kda son los que se detectan con mayor consistencia por lo que se reconocen como los más importantes para ser utilizados en los tests serológicos, Barta et al., (1992) y Bjerkas et al., (1994). El antígeno de 29/30 Kda fue asociado con la estructura de gránulos densos, la red tubular y las membranas de las vacuolas del parasitophorus. El antígeno correspondiente a los 17 Kda está asociado con la estructura conocida como rhoptries. Aunque no existe diferencia en la constitución antigénica de

los distintos aislamientos, Atkinson et al., (1999) compararon las propiedades biológicas y genéticas de los aislamientos caninos y bovinos de *N. caninum*, demostrando una marcada diferencia en la patogenicidad y respuesta antigénica entre los distintos aislamientos. Un antígeno de aproximadamente 50 Kda parece ser significativamente más inmunogénico entre los aislamientos caninos comparados con aquellos bovinos.

Neospora caninum y *Toxoplasma gondii* tienen varios antígenos en común sin embargo no comparten sus antígenos dominantes (Hemphill et al., 1999).

Test de inmunofluorescencia indirecta (IFAT)

IFAT fue el primer test aplicado a la detección de anticuerpos contra *N. caninum* y ha sido ampliamente usada para el diagnóstico, siendo considerada la técnica estándar para comparación con otras (Dubey & Lindsay, 1996). En la IFAT (Barr & Anderson, 1995), suspensiones de taquizoítos de *Neospora caninum* (5×10^6 ml⁻¹) son secadas al aire sobre portaobjetos y fijadas en acetona. Las muestras de suero son evaluadas comenzando con una dilución de 1:80. Después de la incubación y lavado un anticuerpo específico conjugado con isotiocianato de fluoresceína es agregado. Luego del último lavado los portaobjetos son examinados y solamente la presencia de fluorescencia periférica es considerada como específica, porque anticuerpos no específicos pueden producir una parcial fluorescencia en la superficie apical. El título alcanzado es también importante considerándose las diluciones 31:320 específicas de *N. caninum*. Conrad et al. (1993a) encontró en 60 bovinos adultos sin antecedentes de infección a *N. caninum*, títulos 1:160, mientras que 63 de 64 vacas que habían abortado fetos infectados con *N. caninum* tuvieron títulos 31:640. Este autor considera que un título de 1:640 en IFAT puede ser considerado específico de *N. caninum* aunque el punto de corte está aún en discusión. Shares et al. (1999) propusieron un punto de corte de 1:200 como el más apropiado para identificar vacas que habían abortado recientemente como consecuencia de una infección a *N. caninum*. También hay que considerar la posibilidad de que en vacas próximas a parir, los anticuerpos puedan ser secuestrados en el calostro conduciendo a una reducción temporaria de los mismos en suero. En un estudio, Stenlund et al. (1999) monitorearon a un grupo de vacas naturalmente infectadas con *Neospora caninum* durante las primeras dos preñeces para determinar la cinética de los anticuerpos contra *Neospora* en suero. Los anticuerpos permanecieron altos en todas las vacas durante las dos preñeces. Los títulos siguieron un patrón uniforme con una elevación 4 – 5 meses antes de la parición y una caída después del parto. Estos cambios de título fueron significativos en ambas preñeces ($p < 0.001$), sin embargo no hubo diferencias significativas en los títulos entre las dos preñeces estudiadas.

Immunoblotting (IB)

Este test es usualmente usado junto a otros, más que como una herramienta individual, siendo considerado un test esencial para la determinación de antígenos inmunodominantes (Atkinson et al., 2000). Como se dijo anteriormente, los animales infectados con *N. caninum* reconocen predominantemente antígenos con un peso molecular de 17, 29/30 y 37 Kda. En IB un resultado es considerado positivo cuando 2 ó 3 de 4 antígenos inmunodominantes están presentes (Bjerkas et al., 1994). La reactividad cruzada con *T. gondii* dependerá del antígeno utilizado y de la dilución del suero usada. Por otra parte la correlación entre IFAT y IB dependerá fundamentalmente del cut-off usado en IFAT. Shares et al (1998), compararon los niveles de concordancia entre 3 tests diferentes: IFAT, IB y ELISA. Los niveles de concordancia entre ELISA y IFAT, o IB e IFAT fueron determinados a diferentes cut-offs para IFAT. Usando el mas bajo cut-off en IFAT, esto es un título de 1:50, se obtuvo una concordancia moderada con ELISA y IB, siendo los valores de kappa observados de 0.696 (ELISA) y 0.752 (IB). Ahora incrementando el cut – off de IFAT a 1:100 resultaron en valores de kappa más bajos, 0.421 (ELISA) y 0.390 (IB). De todos modos la concordancia entre ELISA e IB en este estudio fue muy alta, con un valor de kappa de 0.950 indicando una concordancia casi perfecta entre ambos tests. Esto reafirma la importancia de la técnica ELISA como prueba para ser utilizada en gran escala para el screening de rodeos bovinos.

Pruebas inmuno-enzimáticas - ELISA

Varias pruebas de ELISA han sido utilizadas en el diagnóstico de Neosporosis en bovinos. Una técnica de ELISA-sandwich para la detección de anticuerpos bovinos contra *N. caninum* fue desarrollada por Shares et al. (1999). La sensibilidad y especificidad del test fueron del 94.2% ambas, al evaluarlas contra IFAT e IB. Björkman et al. (1994) desarrollaron también un ELISA soluble el cual usa como antígeno un extracto de taquizoítos incorporado a un complejo inmunoestimulante (ISOCOM- ELISA). Este ELISA fue comparado con uno que utiliza un extracto crudo solubilizado de taquizoítos como antígeno. La sensibilidad y especificidad del ISOCOM- ELISA fueron sustancialmente mejores (97.6% y 95.6%, respectivamente). Baszler et al. (1996) describieron un ELISA competición (CI-ELISA) que usa un anticuerpo monoclonal contra taquizoítos. Este anticuerpo se une específica y consistentemente a la superficie del taquizoíto de *N. caninum*. Otro ELISA desarrollado por Williams et al.(1997) también utiliza como antígeno taquizoítos de *Neospora caninum* (NC-Liverpool) formolados. Con este ELISA se obtuvo un 95% de concordancia comparado con IFAT. Un ELISA múltiple para detectar anticuerpos específicos contra *Neospora* en sueros bovinos ovinos y caprinos fue desarrollado por Osawa et al. (1998), donde una fracción soluble en agua de taquizoítos sonicados de la cepa NC-1 es utilizada como antígeno. Este ELISA resultó tener una buena sensibilidad y especificidad cuando se lo correlacionó con IFAT. No se detectó reacción cruzada

cuando fue probado con sueros de bovinos, ovinos y caprinos que habían sido infectados con *T. gondii*. Tampoco se detectaron reacciones cruzadas con *Sarcosystis cruzi*, *Babesia divergens*, *B. Bovis* y *B. Bigemina*.

Björkman et al (1999) describen un ELISA de avidéz que puede discriminar entre infecciones recientes y crónicas. Shares et al (1999) con un ELISA desarrollado recientemente encontraron diferencias serológicas en rodeos con abortos endémicos y epidémicos a *N. caninum*.

ELISA de avidéz.

La presencia de anticuerpos contra *N.caninum* en suero indica que un individuo está infectado por el parásito, pero no da ninguna información con referencia a la fecha en la cual la infección se produjo. Esto es porque los anticuerpos pueden persistir a niveles altos por largos períodos de tiempo y pueden tener fluctuaciones durante la preñez (Bjorkman et al., 1999; Sager et al., 2001; Jenkins et al., 1997, Stenlund et al., 1999). Por lo tanto los niveles de anticuerpos o la demostración de aumento de los títulos, no puede ser usada para estimar si un individuo sufre de neosporosis aguda o crónica. Una de las formas para la identificación de infecciones primarias podría ser estimada midiendo la avidéz que tienen los anticuerpos para unirse con los antígenos específicos de *N. caninum*. Esta avidéz o afinidad es inicialmente pobre y madura lentamente a medida que transcurren las semanas. Esta avidéz de los anticuerpos específicos ha sido usada para diagnosticar infecciones recientes a *T. gondii* (Hedman et al., 1989) y Rubeola (Rousseau & Hedman, 1988) en humanos, y distinguir de esta forma las infecciones primarias de las secundarias. La prueba de avidéz está basada en el hecho de que el agregado de urea durante el desarrollo del ELISA disocia las uniones de anticuerpos que están débilmente constituidas, por el contrario los anticuerpos con alta avidéz permanecen firmemente acoplados al antígeno. De esta forma el test permite distinguir infecciones primarias o recientes (con pobre unión Ag-Ac) de las infecciones preexistentes (con fuertes uniones Ag-Ac). Bjorkman et al. (1999) trabajando con sueros pareados de terneros experimentalmente infectados con *N. caninum* encontraron que la avidéz se incrementó significativamente durante el curso de la infección. La avidéz de los anticuerpos fue estimada por primera vez a las tres semanas de la inoculación inicial y a las 6 semanas los valores de avidéz se ubicaron entre el 21% y el 33% en todos los animales en ensayo. Valores altos de avidéz solo pudieron demostrarse a las 8 semanas post-inoculación, de manera que esto podría utilizarse como método para determinar que la respuesta no correspondería a una infección reciente. Stirrer et al. (2000) también encontraron en vacas preñadas y no preñadas inoculadas con taquizoítos de *Neospora caninum* un aumento de los índices de avidéz a partir de la segunda semana siguiente a la inoculación, alcanzando valores del 45-47% recién a las 8 semanas de la inoculación. Estos resultados sugieren que una avidéz $\geq 35\%$ puede ser usada para indicar una infección aguda a *N.caninum*.

Prueba de aglutinación

Un test de aglutinación en microplacas, usando taquizoítos como antígeno también es utilizado para el diagnóstico de Neosporosis. Este test es muy útil porque no requiere anticuerpos secundarios, conjugados, equipamiento para ELISA o microscopio para inmunofluorescencia. Packham et al. (1998) desarrollaron un test de aglutinación el cual fue comparado con IFAT y ELISA. Muestras de sueros procedentes de 16 especies diferentes de animales cuyos diagnósticos habían sido confirmados histopatológicamente fueron testeadas. La prueba de aglutinación dio una mayor sensibilidad (100%) y especificidad (97%) que la prueba de ELISA (74 y 95%, respectivamente) y tuvo una mayor sensibilidad pero menor especificidad que la IFAT (98 y 99%, respectivamente).

Infecciones concurrentes

Debido a que muchas tormentas de aborto ocasionadas por *Neospora caninum* parecen ser inducidas por factores que causan una recrudescencia de la infección más que como resultado de una reciente introducción, las infecciones concomitantes podrían explicar la ocurrencia de abortos simultáneos en estos rodeos con altas seroprevalencias. Particularmente el virus de la diarrea vírica bovina (BVDV) ha sido sospechado de jugar un rol debido al efecto inmunosupresivo del mismo. Bartels et al. (1999) usaron el diagnóstico serológico para evaluar el rol de las infecciones concomitantes. Basándose en los niveles de seroprevalencia presentes en los rodeos, ellos no encontraron ninguna relación entre las tormentas de aborto asociadas a *N. caninum* y las infecciones producidas por BVDV, IBR, L. Hardjo y S. Dublin. En un estudio de casos y controles realizado en bovinos en Inglaterra y Gales, Davison et al. (1999), observaron que la prevalencia a BVDV, IBR y L. hardjo no fue mayor en las vacas que abortaron en comparación con el grupo control. Sin embargo Smith et al (1997) infectando experimentalmente vacas preñadas con *Leptospira hardjo*, no encontró evidencia de L. Hardjo en los fetos analizados. Por el contrario dos de los fetos presentaron lesiones histopatológicas consistentes con una infección debida a *Neospora caninum*. En otro estudio de casos y controles, Häsig y Gottstein, (2002) indicaron que los abortos asociados a *N. caninum* ocurrieron con mayor frecuencia en rodeos que presentaron niveles mayores de anticuerpos contra el virus de la diarrea vírica bovina (OR= 2.57, CI: 1.2, 6.1) mientras que esta probabilidad fue inferior en los rodeos que presentaron anticuerpos asociados a *Coxiella*, *Clamidia psittaci* o *Leptospira*.

Epidemiología e impacto económico de las infecciones.

Las infecciones producidas por *Neospora caninum* han sido reportadas en muchos países en el mundo y en algunos han sido reconocidas como la causa más importante de aborto bovino e infecciones congénitas. Es por

ello que un número creciente de trabajos se han centralizado en el estudio de los factores de riesgo, examinando su impacto en rodeos lecheros especialmente, menos en rodeos de carne, y solamente existen algunos trabajos que evaluaron los factores de riesgo en tambo y cría en rodeos de la misma región. La mayoría de estos estudios fueron designados como caso-control y solo unos pocos como estudios transversales. Las variables analizadas en estos estudios podemos clasificarlas como relacionadas a la transmisión vertical de la enfermedad (transmisión transplacentaria, asociación con infecciones intercurrentes), relacionadas con la transmisión horizontal (perros, tamaño del rodeo, superficie del establecimiento, localización del rodeo, política de reemplazo, prácticas de pastoreo, etc.) y las relacionadas con las consecuencias de las infecciones producidas por *Neospora caninum* (abortos, eliminación de animales, disminución de las ganancias de peso, disminución de la producción de leche, etc.).

Situación de la Neosporosis en bovinos en la Argentina En Argentina la pérdida de preñeces en la ganadería bovina tiene un importante impacto económico, siendo las causas más comunes de aborto reportadas, los agentes infecciosos tales como *Brucella abortus*, *Campylobacter fetus* subs. *fetus*, *Leptospira*, otras bacterias, *Trichomonas fetus* y agentes virales (IBR, BVDV). Sin embargo el porcentaje de pérdidas fetales investigadas y exitosamente diagnosticadas es particularmente bajo. Esto es atribuible en parte a la baja proporción de fetos que son recuperados y enviados para diagnóstico. Además las probabilidades de determinar la causa del aborto varían entre el 20 y el 40% dependiendo de la complejidad del laboratorio de diagnóstico. Desde que *N. caninum* fue por primera vez diagnosticada en bovinos (1989), ha habido un creciente interés en el estudio de este agente en nuestros rodeos. En 1995 Venturini et al corroboran que la Neosporosis estaba presente en los rodeos de cría y tambo en Argentina. En 1997 Campero et al. encontraron lesiones de encefalitis no supurativa, hepatitis y miocarditis en varios fetos examinados. Un año más tarde *Neospora caninum* fue diagnosticada por métodos histopatológicos e inmunohistoquímicos. Más recientemente Basso et al.(2001) realizaron el primer aislamiento de *Neospora caninum* de heces de perros naturalmente infectados.

Si bien la neosporosis en bovinos ha sido reportada en Argentina, no existe información sistemática sobre su distribución y prevalencia, especialmente para la provincia de La Pampa. Es por ello que hay una necesidad de determinar su prevalencia para poder evaluar la importancia que esta enfermedad tiene tanto en la cría bovina como en el tambo. La información seroepidemiológica puede ser útil, también para identificar factores de riesgo predominantes y posteriormente desarrollar estrategias para el control de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características del área y de la población bovina

La provincia de La Pampa tiene una superficie de 143.440 Km² y una población bovina de 3.5 millones de cabezas distribuidas en 10780 rodeos (año 2001). La ganadería bovina y en particular la cría se desarrollan en el 85% de la superficie de esta provincia. La producción bovina ocupa el segundo lugar dentro del producto bruto provincial. La población bovina está localizada principalmente en las regiones central y este. El tipo de manejo es extensivo en donde la densidad de bovinos depende de las condiciones climáticas y consecuentemente de la disponibilidad forrajera de cada región. Es por ello que la densidad bovina decrece de este a oeste y de norte a sur. En general podemos distinguir tres regiones con densidades de 0.75, 0.40 y 0.18 bovinos por hectárea. Podemos también encontrar una cuarta región en el extremo Oeste con una condición semidesértica en donde las cargas animales son muy bajas con una ganadería de subsistencia. Con relación a los tambos, la mayoría de ellos se encuentran en la región este y con una menor frecuencia en la región Central.

Muestreo

Un estudio transversal fue realizado en bovinos procedentes de rodeos localizados en la provincia de La Pampa. La mayoría de las muestras habían sido tomadas y enviadas al laboratorio para el diagnóstico de brucelosis (Programa Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina) correspondiendo en su totalidad a sueros de vacas mayores de 2 años. Las muestras de suero fueron colectadas en dos períodos, mayo-junio del año 2000 y mayo-junio del año 2001. Un promedio de 36 muestras de suero sanguíneo por rodeo procedentes de 97 establecimientos de cría y 24 tambos fueron seleccionadas.

Muestras Año del muestreo	Número de rodeos	Tipo de rodeo		Número promedio de vacas muestreadas por rodeo	Número total de sueros procesados por ELISA para el diagnóstico de Ac de <i>N. caninum</i>
		Cría	Tambo		
2000	42	34	8	28	1168
2001	79	63	16	40	3166
Total	121	97	24	36	4334

En total 4334 sueros fueron analizados para determinar la presencia de anticuerpos (IgG) contra *Neospora caninum* (NC) para lo cual se utilizó un ELISA de acuerdo a la descripción hecha por Osawa y col. (1999) , donde el antígeno estaba constituido por una fracción soluble de taquizoositos de NC.

La avidéz de las IgG específicas fue determinada con un ELISA modificado, como fue descrito por Schriever y col. Datos sobre la prevalencia sérica a brucelosis fueron también analizados en 100 de los 121 rodeos estudiados y comparados con la seroprevalencia a NC.

En una segunda etapa se evaluó la importancia de algunos factores de riesgo para NC en bovinos, cuantificando la asociación entre el status serológico y el factor hipotetizado.

Para el estudio de riesgo dos cuestionarios fueron diseñados, uno para cría y otro para tambo, donde los principales factores fueron agrupados en 6 categorías asociados a: localización geográfica, prácticas de manejo, prácticas de alimentación, prácticas reproductivas, otras especies de animales y abortos. Los cuestionarios fueron completados por los veterinarios que asesoraban los establecimientos y retornados por correo. Si los cuestionarios no eran recibidos en un período de dos meses, el veterinario era contactado por TE.

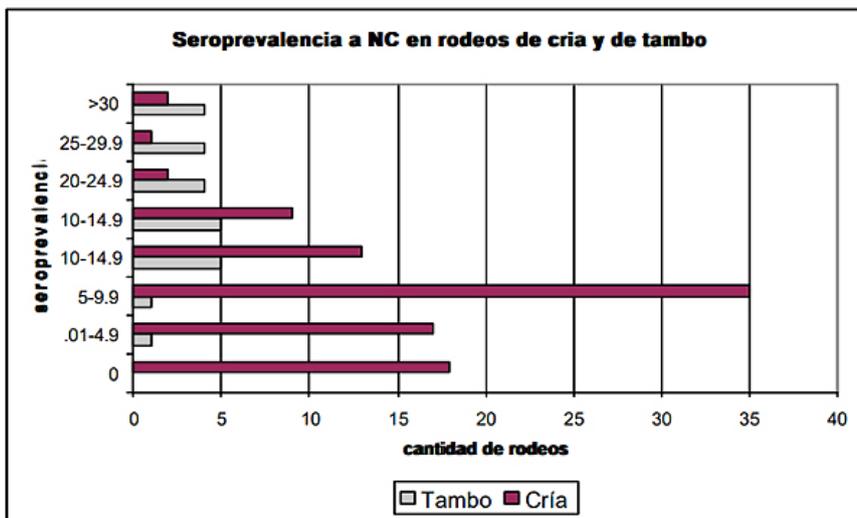
Los resultados fueron analizados usando las opciones ANÁLISIS y EPITABLE del programa EPI INFO V.6 y los niveles de asociación de las variables evaluados por medio de los tests de Chi cuadrado o de probabilidad de Fisher en tablas de contingencia. Odds ratio e intervalos de confianza fueron también calculados.

RESULTADOS DEL ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA

Seroprevalencia a NC en vacas, en diferentes regiones

De los 4334 sueros analizados por la técnica de ELISA, 415 (9.6%) fueron seropositivos a NC. De los 121 rodeos comprendidos en el estudio 103 tenían al menos un animal seropositivo. Todos los rodeos de tambo fueron positivos a NC por consiguiente los 18 rodeos negativos correspondieron en su totalidad a rodeos de cría. El porcentaje de animales seropositivos fue significativamente(p=0.000) más alto en vacas de tambo (20.3%) que en vacas de cría (7.0%).

Para conocer si la distribución de la prevalencia fue igual en rodeos de cría y lecheros, los niveles de prevalencia fueron agrupados en intervalos del 5%. La figura muestra claramente una distribución diferente, donde solo el 28% de los rodeos de cría, comparado con el 92% de los rodeos lecheros tuvieron una prevalencia igual o superior al 10%.



La distribución geográfica de la seroprevalencia a NC se puede observar en los mapas 1 y 2, y en el siguiente cuadro:

Seroprevalencia en rodeos por región

Región	Numero de rodeos	Rodeos positivos	Prevalencia % (95% IC)
Caldenal	31	22	70.9 (53.3, 84.8)
Central	46	39	84.8 (72.2, 93.1)
Este	44	42	95.4 (85.5, 99.2)

($\chi^2=8.62$; p=0.013445)

Seroprevalencia en vacas por región

Región	Numero de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95% IC)
Caldenal	1120	38	3.4 (2.4, 4.6)
Central	1645	128	7.8 (6.5, 9.1)
Este	1569	249	15.9 (14.1, 17.7)

($\chi^2=127.3$; $p=0.000000$)

Incidencia acumulada o infecciones recientes a *Neospora caninum*.

Un total de 302 sueros positivos a NC fueron evaluados para determinar la avidéz de las inmunoglobulinas, considerándose infecciones recientes aquellas que presentaban un índice $\geq 35\%$. Los resultados indicaron que de las 168 vacas de cría y las 134 vacas de tambo positivas por ELISA a NC 13(7.7%) y 11(8.2%) presentaron índices indicativos de infecciones recientes. Si se refieren estos resultados al total de la población estudiada que fue de 2331 vacas de cría y 640 vacas de tambo, los niveles de infecciones recientes registrados durante el período de estudio serían del 0.56% y 1.71% para vacas de cría y tambo respectivamente. La distribución geográfica de los rodeos que presentaron animales positivos a la prueba de avidéz fue la siguiente: 1/20 (5%) en la región del Caldrenal, 7/27 (26%) en la región central y 12/27 (44.5%) en el este de la provincia.

Incidencia a acumulada o infecciones recientes a *Neospora Caninum*.

	Población muestreada	Muestras positivas	% de infecciones recientes (95% IC)
Cría	2331	13	0.56 (0.3, 0.9)
Tambo	640	11	1.71 (0.9, 2.9)

$p=0.006665$ (Fisher)

Brucelosis y Neosporosis

Con el objeto de comparar la seroprevalencia de NC con la de Brucelosis, fueron recolectados datos sobre la seroprevalencia de esta enfermedad en 100 de los 121 rodeos bajo estudio. A nivel de rodeo brucelosis fue detectada en 48/78 (61 %) de los establecimientos de cría, mientras que en los tambos solo se detectó esta enfermedad en 2(9.1%). Los resultados de prevalencia en vacas se muestran en la siguiente tabla:

Seroprevalencia a brucelosis en rodeos de tambo y de cría

	Número de rodeos	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95% IC) en vacas
Tambo	22	4410	27	0.61 (0.4, 0.9)
Cría	78	15501	484	3.12 (2.8, 3.4)

($\chi^2=86.5$; $p=0.000000$)

La relación entre la seroprevalencia a Brucelosis y *N. caninum*.

Los rodeos fueron clasificados de acuerdo a la prevalencia registrada a brucelosis en tres categorías y luego se compararon con las prevalencias a *Neospora* presentes en cada una de ellas. Siendo los niveles de seroprevalencia a *Neospora* encontrados de: 5.05% en la categoría de 0% de brucelosis, 6.62% en la categoría entre 0.1 a 3.5% de brucelosis y 10.37 en la categoría donde la brucelosis fue mayor al 3.5. Las diferencias encontradas fueron altamente significativas. Tabla

Seroprevalencia a *B.abortus* y *N.caninum* en vacas

Niveles de seroprevalencia a <i>B. Abortus</i>	<i>Neospora caninum</i>		
	Tamaño de la muestra	Muestras positivas	Prevalencia % (95% IC)
0%	1108	56	5.0 (3.8, 6.5)
0.1-3.5%	1239	82	6.6 (5.3, 8.1)
> 3.5	482	50	10.4 (7.9, 13.33)

($\chi^2=15.32$; $p=0.000472$)

En la tabla 1 se pueden observar las razones más probables de todas las variables analizadas en el estudio de seroprevalencia.

Estudio de factores de riesgo

110 cuestionarios fueron enviados, de los cuales solo 75 (68%) fueron completados y retornados para su análisis. 57 de los mismos correspondieron a rodeos de cría, mientras que los 18 restantes fueron de rodeos lecheros.

Factores de riesgo en rodeos de cría

Los niveles de seroprevalencia encontrados fueron estadísticamente diferentes tanto en bovinos con diferentes manejos: cría pura (2.6%), cría con recria(4.6%) y ciclo completo (10.0%), como entre bovinos localizados en distintas regiones: caldenal (3.4%), central (5.6%) y este (13.8%).

Seroprevalencia a *N. caninum* en vacas pertenecientes a distintos tipos de rodeos

Tipo de rodeo	Vacas muestreadas	Cantidad de positivas	Prevalencia (95% IC)
Cría pura	576	15	2.6(1.5; 4.1)
Cría-recria	456	21	4.6 (2.9; 6.8)
Ciclo completo	1054	105	10.0 (8.2; 11.9)

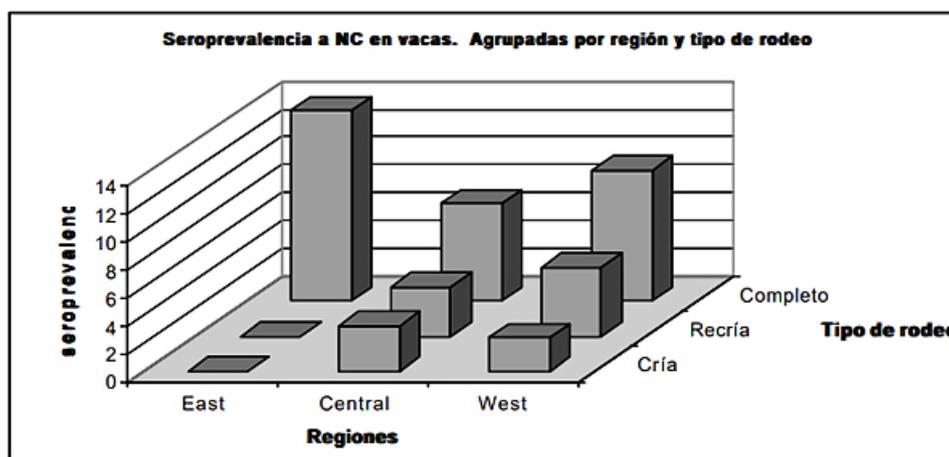
($\chi^2=36.29$; $p=0.000000$).

Seroprevalencia a *N. caninum* en vacas de diferentes regiones

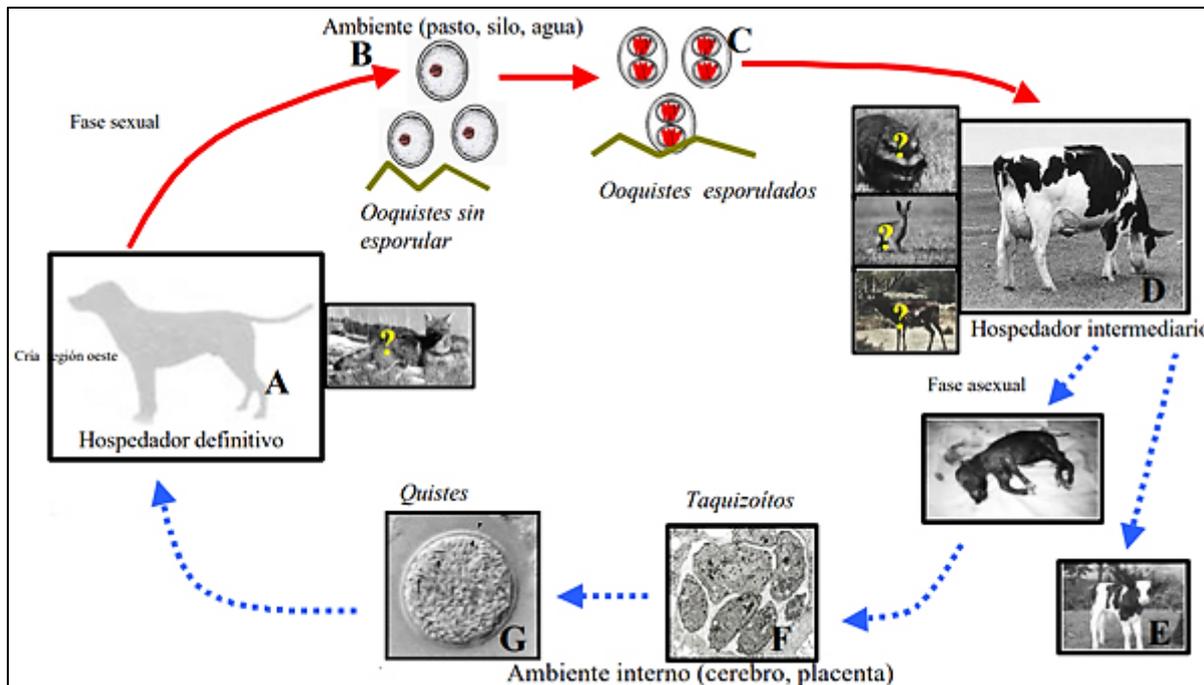
Región	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95% IC)
Oeste	1120	38	3.4 (2.4, 4.6)
Central	1645	128	7.8 (6.5, 9.1)
Este	1569	249	15.9 (14.1, 17.7)

($\chi^2=127.3$; $p=0.000000$)

Hay que destacar que los valores de prevalencia correspondientes a tipo de rodeo y a localización se superponen, esto es porque los rodeos de cría tienden a ser de ciclo completo en la medida que las condiciones ecológicas(clima, suelo, pasturas) son más favorables. Y estas condiciones como se explicó anteriormente mejoran de oeste a este. En la siguiente figura se puede observar que la tendencia al incremento de la prevalencia estaría asociado más con el tipo de rodeo que con la región geográfica.



De acuerdo a las diferentes políticas de ingreso de hacienda, los rodeos fueron clasificados en dos categorías: rodeos abiertos y rodeos cerrados. Diferencias significativas fueron encontradas en los niveles de seroprevalencia a NC, entre bovinos pertenecientes a rodeos cerrados (5.6%) y bovinos en rodeos abiertos (9.7%). Sin embargo esa diferencia no se registró en bovinos de la región del Caldenal.



Política de reemplazo

Entrada de animales de reemplazo	Animales muestreados	Muestras positivas	Prevalencia (95% IC)
Frecuente	566	55	9.7 (7.5; 12.4)
Esporádica	352	16	4.5 (2.7; 7.1)
Rara	1168	70	6.0 (4.7; 7.5)

(X²=11.68; p=0.002904)

Política de reemplazo en bovinos del Caldenal

Entrada de animales de reemplazo	Animales muestreados	Muestras positivas	Prevalencia (95% IC)
Frecuente	120	3	2.5 (0.6; 6.6)
Esporádica	136	6	4.4 (1.8; 8.9)
Rara	416	14	3.4 (1.9; 5.4)

p=0.781 (test de Fisher)

Diferencias significativas también se encontraron dependiendo del tipo de pastizal usado. En bovinos que pastoreaban pasturas cultivables, la seroprevalencia a NC fue del 9.0, 8.2, 8.5 y 8.3%, mientras que aquellos que utilizaban pastizales naturales o perennes los valores fueron de 4.8, 4.9, 4.7 y 4.8% para los meses de invierno, primavera, verano y otoño respectivamente.

Seroprevalencia en bovinos pastoreando diferente tipo de pasturas- Invierno

Tipo de pastura	Cantidad de muestras	Muestras positivas	Prevalencia (95% IC)
Cultivables	923	83	9.0 (7.2; 10.9)
Perennes	1123	54	4.8 (3.6; 6.1)

(X²=14.19; p=0.000165)

Seroprevalencia en bovinos pastoreando diferente tipo de pasturas- Primavera

Tipo de pastura	Cantidad de muestras	Muestras positivas	Prevalencia (95% IC)
Cultivables	1101	90	8.2 (6.7; 9.9)
Perennes	945	47	5.0 (3.7; 6.5)

(X²=8.34; p=0.003880)

Seroprevalencia en bovinos pastoreando diferente tipo de pasturas-Verano

Tipo de pastura	Cantidad de muestras	Muestras positivas	Prevalencia (95% IC)
Cultivables	1026	87	8.5 (6.9; 10.3)
Perennes	985	47	4.8 (3.6; 6.2)

($\chi^2=11.11$; $p=0.000859$)

Seroprevalencia en bovinos pastoreando diferente tipo de pasturas-Otoño

Tipo de pastura	Cantidad de muestras	Muestras positivas	Prevalencia (95% IC)
Cultivables	1096	91	8.3 (6.8; 10.0)
Perennes	950	46	4.8 (3.6; 6.3)

($\chi^2=9.76$; $p=0.001787$)

Diferentes tipos de suplementos usados en la alimentación animal fueron analizados como posibles factores de riesgo, encontrándose que las vacas suplementadas con silo tuvieron niveles de seroprevalencia significativamente mayores(12.2%) que las vacas no suplementadas (5.9%).

Suplementación con silo

Suplementadas	Animales muestreados	Muestras positivas	Prevalencia (95% IC)
Si	286	35	12.2 (8.8, 16.4)
No	1800	106	5.9 (4.9, 7.0)

($\chi^2= 15.78$; $p=0.000071$)

Con relación a los abortos 37 establecimientos reconocieron haber registrado abortos en los últimos tres años mientras que en los 19 restantes los abortos no fueron observados. La seroprevalencia a NC fue del 8.6% y del 2.8% en bovinos pertenecientes a rodeos con y sin abortos respectivamente.

Abortos

Reportaron	Animales muestreados	Muestras positivas	Prevalencia (95%-IC)
Si	1367	118	8.6 (7.2, 10.2)
No	703	20	2.8 (1.8, 4.3)

($\chi^2= 25.0$; $p=0.000001$)

La causa del aborto fue motivo de diagnóstico en muchos rodeos, sin embargo en varios de ellos no se pudo identificar ningún agente. La prevalencia a NC en rodeos donde la causa de aborto fue identificada(5.2%) fue significativamente menor que en aquellos en los que no se identificó ningún agente (9.4%).

Diagnóstico de causales de aborto

Diagnóstico	Animales muestreados	Muestras positivas	Prevalencia (95%-IC)
Si	573	30	5.2 (3.6, 7.2)
No	564	53	9.4 (7.1, 12.0)

($\chi^2= 7.27$; $p=0.006995$)

Los perros juegan un importante rol en la epidemiología de la Neosporosis, a pesar de ello no se registró ninguna relación entre el número de perros presente en el establecimiento y la seroprevalencia a NC en vacas. Sin embargo una asociación fue encontrada entre la entrada de nuevos perros al establecimiento y los niveles de seroprevalencia en vacas; siendo los valores de 4.2% para animales de establecimientos con bajos índices de entrada de perros y 7.3% cuando los índices fueron mayores.

Entrada de nuevos perros al establecimiento

Tasa de entrada	Animales muestreados	Muestras positivas	Prevalencia (95%-IC)
Menor al 1.5	736	31	4.2 (2.9, 5.8)
Mayor al 1.5	907	66	7.3 (5.7, 9.1)

($\chi^2= 6.87$; $p=0.0087606$)

No se detectaron diferencias significativas para los siguientes factores evaluados: densidad bovina, superficie del establecimiento, superficie ganadera, razas, suplementación con heno, grano, sales minerales, tipo de servicio, largo de servicio, edad al destete, presencia de gatos, cerdos y animales salvajes (ciervos, pumas, vizcachas).

En la tabla 2 se pueden observar las razones más probables de todas las variables analizadas como posibles factores de riesgo de infección en la cría bovina.

Estudio de factores de riesgo en rodeos de tambo

Todos los rodeos de tambo encuestados estuvieron localizados en las regiones este y central, con 13 sobre 18 de los mismos ubicados en la región este. La prevalencia a *N. caninum* registrada en vacas de ambas regiones fue similar, 20.9% en la región central y 20.7% en la región este (Tabla)

Seroprevalencia a *N. caninum* en rodeos lecheros de distintas regiones ecológicas

Región	Número de vacas	Vacas con serología positiva	Prevalencia % (95%-IC)
Central	196	41	20.9 (15.6; 27.0)
Este	516	107	20.7 (17.4; 24.4)

($\chi^2=0.00$; $p=0.957384$)

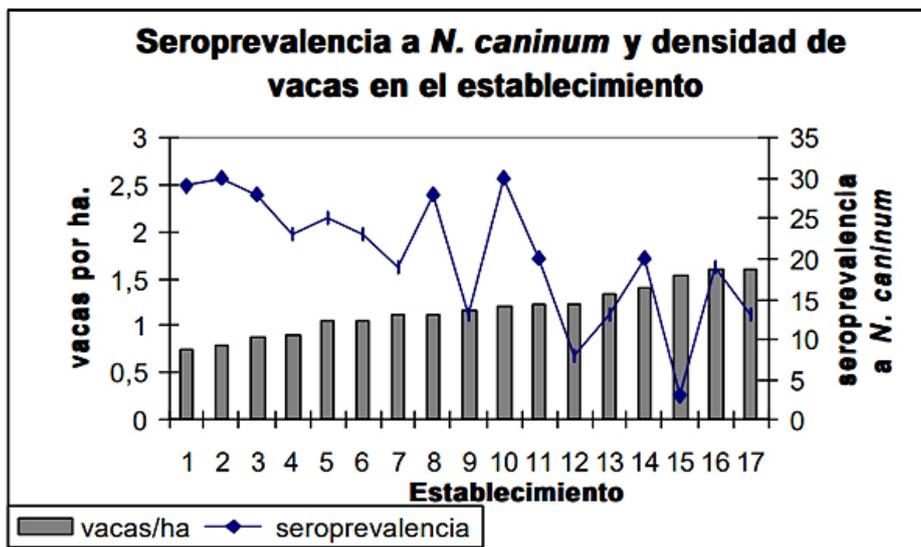
De acuerdo a la superficie de los establecimientos se conformaron dos grupos, los que tenían una superficie menor a las 400 hectáreas y aquellos establecimientos con superficies iguales o mayores a las 400. Las diferencias encontradas en la prevalencia a *N. caninum* en vacas entre ambas categorías fueron estadísticamente significativas.

Superficie de los establecimientos. Tabla

Superficie en hectáreas	Número de vacas	Vacas con serología positiva	Prevalencia % (95%-IC)
<400	314	51	16.2 (12.5; 20.6)
≥400	398	97	24.4 (20.4; 28.8)

($\chi^2=7.05$; $p=0.007946$)

Una significativa correlación fue encontrada también ($r = -0.67$, $p>0.01$) entre la seroprevalencia a *Neospora* y el número de vacas por hectárea en cada establecimiento. De manera que cuando el número de vacas por hectárea se incrementó, la seroprevalencia en el rodeo disminuyó. La distribución puede observarse en la siguiente figura.



De acuerdo a las políticas de reemplazo los rodeos fueron clasificados en tres categorías: con reemplazos frecuentes (regularmente, todos los años), con reemplazos esporádicos (cada 2 o 3 años) y con reemplazos poco comunes (rodeos cerrados). Un incremento en la prevalencia a NC en vacas de rodeos con reemplazos frecuentes puede observarse en la siguiente tabla.

Política de reemplazo

Entrada de animales al rodeo	Vacas muestreadas	Vacas positivas	Prevalencia % (95%-IC)
Frecuente	80	24	30.0 (20.7; 40.7)
Esporádica	320	77	24.6 (19.6, 28.9)
Poco común	312	47	15.1 (11.4; 19.3)

($X^2=13.12$; $p=0.001414$)

La seroprevalencia a *Neospora* fue comparada entre tambos que usaban balanceados en la alimentación de los terneros y aquellos en los que no se utilizaba este tipo de alimento. La seroprevalencia en vacas de tambos que usaron alimentos balanceados fue estadísticamente mayor (25.2%) que la de las vacas procedentes de rodeos en los que el balanceado no se suministraba a los terneros (16.3%). Tabla

Alimentación de los terneros con balanceados

Uso de balanceado	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95%-IC)
Si	356	90	25.3 (20.9; 29.9)
No	356	58	16.3 (12.7, 20.4)

($X^2=94.58$; $p=0.000000$)

Con respecto a las vacas también se encontró que aquellas que recibían alimento balanceado presentaron una seroprevalencia a *Neospora* significativamente mayor (24.2%) que la de vacas procedentes de tambos en los cuales no se utilizó este tipo de alimento (13.9%). Tabla.

Uso de alimento balanceado en vacas

Uso de balanceado	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95%-IC)
Si	476	115	24.2 (20.4; 28.1)
No	236	33	14.0 (9.9, 18.8)

($X^2=9.92$; $p=0.001632$)

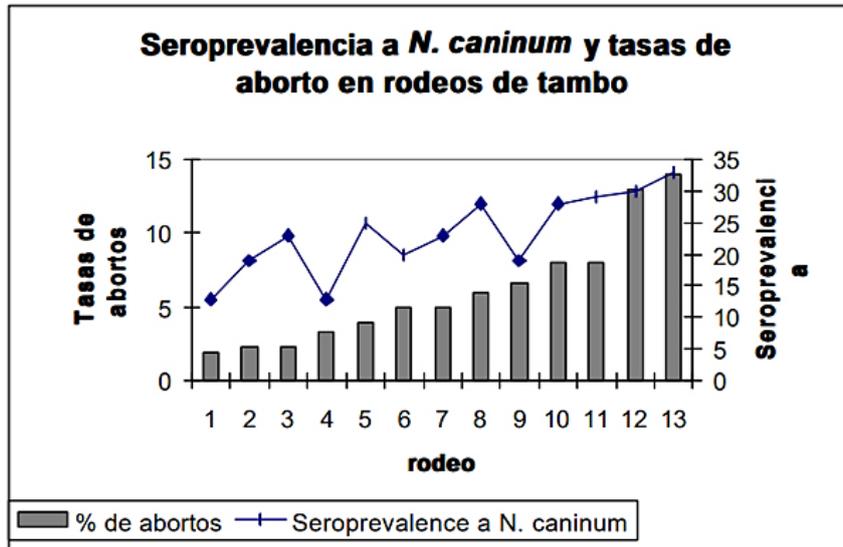
La relación entre seroprevalencia a *Neospora* y abortos también fue evaluada. 16 de los 18 rodeos encuestados declararon presentar abortos, sin embargo en algunos la presentación fue de características endémicas, mientras que en otro grupo fueron de tipo esporádico. Las vacas de tambos con aborto endémico presentaron una prevalencia mayor que las vacas de tambos con abortos esporádicos como muestra la siguiente tabla

Forma de presentación de los abortos

Tipo de aborto	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95%-IC)
Endémica	596	133	22.3 (19.1; 25.8)
Esporádica	116	15	12.9 (7.7; 19.9)

$p=0.012$ (Fisher's)

De los 16 rodeos que reconocieron presentar abortos, 13 de ellos informaron la tasa anual de los mismos. Las tasas variaron de 2% al 14%. Un análisis de correlación fue realizado para conocer si había una asociación entre las tasas de aborto y la seroprevalencia en el rodeo. La correlación fue positiva ($r = 0.78$, $p < 0.01$) indicando que a medida que aumentaban los abortos aumentaba la prevalencia. Sin embargo debido al escaso tamaño de la muestra el intervalo de confianza del análisis fue muy amplio (0.09, 0.87). La distribución de las tasas de aborto y las seroprevalencias se puede ver en la siguiente figura.



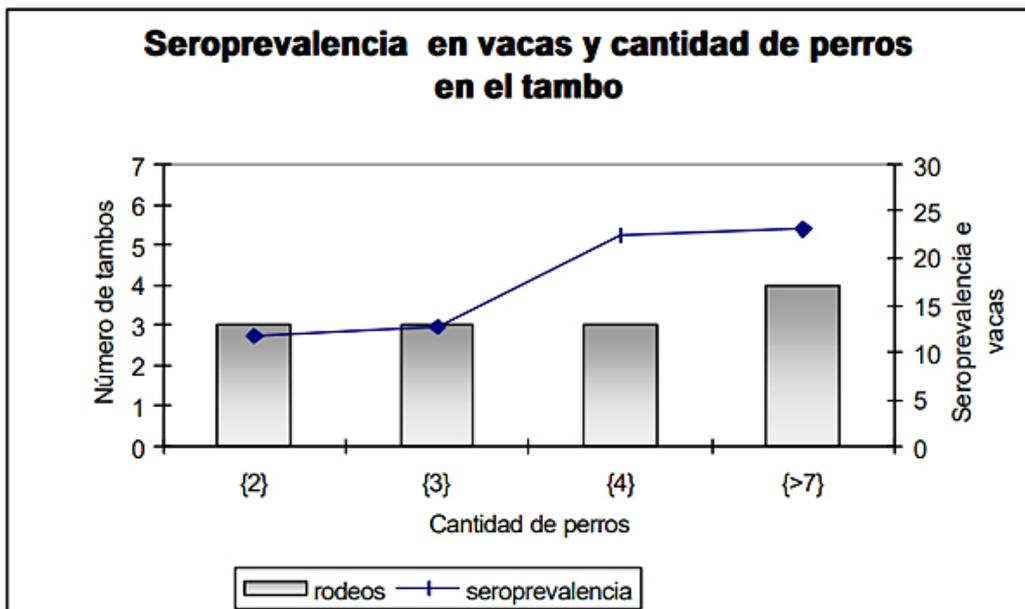
Sobre un total de 16 rodeos en los que se reconocieron abortos, en 12 se trató de buscar la causa del mismo. Los abortifacientes más comúnmente diagnosticados fueron diarrea viral bovina (BVD); rinotraqueítis infecciosa bovina (IBR) y Neosporosis. En seis de los rodeos hubo diagnóstico positivo a *Neospora*, sin embargo no se recolectó información referida al tipo de diagnóstico efectuado (serológico, histológico, inmunohistoquímico). El porcentaje de vacas seropositivas fue significativamente más alto (26.9%) dentro del grupo de vacas procedentes de los rodeos con diagnóstico de *Neospora* comparado con las el grupo de vacas pertenecientes a los rodeos donde el diagnóstico fue otro (17.6%).

Diagnóstico de las causas de aborto

Causa de aborto	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95%-IC)
<i>N. caninum</i>	238	64	26.9 (21.5; 32.8)
Otras	238	42	17.6 (13.2; 22.8)

($X^2=5.87$; $p=0.015365$)

Sobre el total de los 18 tambos encuestados 16 tenían perros. Tres de los tambos fueron excluidos del presente estudio porque al momento de la encuesta no presentaban perros, pero esto se debía a que los mismos habían sido eliminados 3 ó 4 meses antes de la realización de la encuesta, y el motivo de su eliminación fue que habían tenido abortos en las vacas con diagnóstico positivo a *Neospora*. La cantidad de perros y los niveles de prevalencia de cada grupo de vacas se muestran en la siguiente figura



Con el objeto de evaluar la entrada de nuevos perros al establecimiento como factor de riesgo, un índice fue calculado con el número de perros existentes en el momento de la encuesta y el número de perros que habían pasado por el establecimiento durante los últimos tres años. Las diferencias encontradas en la prevalencia a *Neospora*, en vacas procedentes de tambos con un índice bajo de entrada de perros(13.1%) y en tambos con un índice alto (22.4%), fueron estadísticamente significativas. Tabla

Entrada de perros en los últimos tres años.

Índice de entrada	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95%-IC)
£1.5 (Bajo)	198	26	13.1 (8.9, 18.4)
³ 1.6 (Alto)	236	53	22.4 (17.4, 28.1)

(X²= 6.29; p=0.012144)

Los gatos estuvieron presentes en 13 de los 18 tambos. Se observó una débil asociación negativa (p=0.027478)entre el número de gatos y la seroprevalencia a *Neospora*. La frecuencia en el número de gatos y la prevalencia en los rodeos se puede observar en la siguiente tabla.

Número de gatos	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95%-IC)
Sin gatos	198	57	28.8 (22.8, 35.3)
de 1 a 5	158	27	17.1 (11.8, 23.5)
de 6 a 9	120	20	16.7 (10.8, 24.1)
de 10 a 19	116	22	18.9 (12.6, 26.8)
Más de 20	120	22	18.3 (12.1; 26.0)

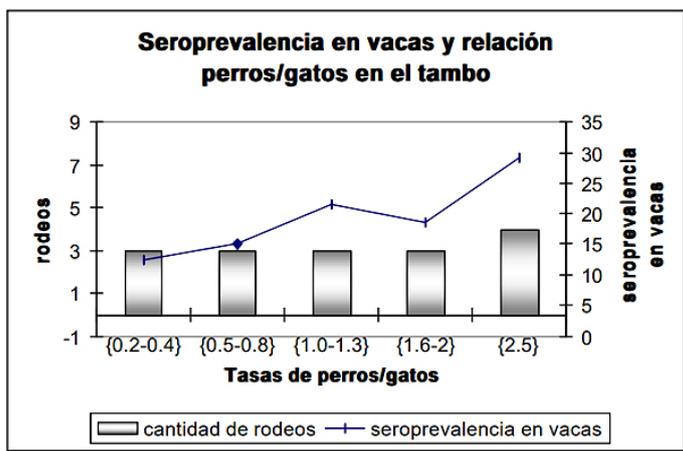
(X²=10.92; p=0.027478)

Presencia de gatos en el tambo

Numero de gatos	Número de vacas	Vacas positivas	Prevalencia % (95%-IC)
No	198	57	28.8 (22.8, 35.3)
de 1 a 5	158	27	17.1 (11.8, 23.5)
6	120	20	16.7 (10.8, 24.1)
10	116	22	18.9 (12.6, 26.8)
20	120	22	18.3 (12.1; 26.0)

(X²=10.92; p=0.027478)

Recientemente una asociación negativa entre el número de gatos presente en el establecimiento y la seroprevalencia a *Neospora* en el rodeo fue descripta por Ould-Amrouche et al, 1999. Los autores sugirieron que en los establecimientos donde existían gatos, los perros estaban ausentes o presentes en menor cantidad. Para saber si esta relación existió, la tasa perros/gatos presentes fue evaluada en el presente estudio. Una correlación positiva fue encontrada entre la tasa perros/gatos y la seroprevalencia en vacas, como se puede observar en la siguiente figura.



No se detectaron diferencias significativas para los siguientes factores evaluados: producción de leche, sistemas de manejo en el destete, suplementación de los terneros con pool de calostro, alimentación de los terneros y vacas con granos, presencia de gatos, cerdos, aves domésticas y animales silvestres (ciervos, pumas, vizcachas).

En la tabla 3 se pueden observar las razones más probables de todas las variables analizadas como posibles factores de riesgo de infección en el tambo.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio indicaron que Neosporosis bovina esta diseminada en la Provincia de La Pampa con una prevalencia del 9.6% (C.I: 8.7, 10.5). Sin embargo, debido a la extensión del área en estudio se registraron diferencias significativas entre regiones (Caldenal, centro y oeste). Vacas de la región este y central tuvieron 4.5 y 2.0 veces mayor probabilidad de ser seropositivas, comparadas con vacas pertenecientes a la región del Caldenal. Esta distribución de la prevalencia estaría asociada con el tipo de manejo, el cual se intensifica en la medida que nos dirigimos hacia el este de la provincia. Lo mismo ocurrió con el tipo de explotación donde las vacas de tambo tuvieron 3.5 veces mayor probabilidad de ser seropositivas comparadas con las vacas de cría.

La cantidad de infecciones recientes, evaluadas por medio de la avidéz de las IgG, fue mayor en los rodeos lecheros (1.71%) que en los de cría (0.56%), indicando que las vacas de tambo estuvieron 3.1 veces más expuestas que las de cría. De acuerdo a Guy y col. (2001) con el ELISA de avidéz solamente estaríamos detectando las infecciones adquiridas por transmisión horizontal.

La comparación entre los niveles de seroprevalencia a NC y Brucelosis en los rodeos estudiados mostraron que las vacas que pertenecían a rodeos donde la prevalencia a brucelosis fue mayor al 3.5% tenían 2.1 veces mayor riesgo de ser NC seropositivas que las vacas pertenecientes a rodeos en donde la prevalencia a brucelosis fue menor. Estos hallazgos necesitan más estudios para ser corroborados. Sin embargo, hay que tener en cuenta la probabilidad de esta relación, considerando la similitud de ambas enfermedades en cuanto a la inducción de abortos y tormentas de abortos, el nacimiento de terneros débiles con bajo peso y la forma en la cual estas enfermedades se difunden, en donde la eliminación de material infeccioso a través del aborto es de vital importancia para ambos agentes etiológicos.

En el estudio de factores de riesgo se exploró la asociación entre distintos factores y el nivel de seroprevalencia encontrado en el rodeo. Este tipo de estudio es principalmente usado para generar hipótesis, de manera que los resultados indican asociaciones y da la magnitud de la misma. Sin embargo la importancia de estas variables significativas debe ser confirmadas biológicamente (Bartels et al., 1999). Como conclusiones del presente estudio podemos decir:

La infección a *Neospora caninum* en bovinos se encuentra distribuida en toda la provincia de La Pampa con una prevalencia del orden del 10%. Sin embargo el riesgo de infección en los rodeos de tambo fue 3.5 veces mayor que en los rodeos de cría. La distribución de la enfermedad estuvo asociada a condiciones climáticas y de manejo, donde el riesgo de infección se incrementó de oeste a este (OR: 4.5) Los niveles de infecciones recientes fueron evaluados a través de un ELISA de avidéz, con resultados del 0.56% para la cría y 1.71% en el tambo. Esto estaría indicando que las vacas de tambo tendrían 3.1 veces mayor riesgo de transmisión horizontal comparado con los rodeos de cría.

En rodeos de cría se observó que la seroprevalencia aumenta en relación a la permanencia de los terneros en el rodeo (cría pura; Cría-recría; ciclo completo). Del mismo modo la localización geográfica demostró ser un factor de riesgo.

El riesgo de infección fue también mayor en rodeos donde la entrada de animales fue frecuente al compararlos con aquellos rodeos cerrados.

El manejo del pastoreo, relacionado a las especies forrajeras utilizadas, también mostró ser un factor de riesgo. Esto está fuertemente relacionado con la distribución geográfica de las especies utilizadas, resultando que las vacas que pastoreaban especies cultivadas presentaron el doble de riesgo cuando se lo comparó con el que presentaban las vacas que estaban sobre pasturas perennes

Las variables asociadas con la utilización de alimentos balanceados silo en la alimentación animal demostraron ser un consistente factor de riesgo para la infección

En lo que se refiere a los abortos, una asociación entre abortos y seropositividad fue demostrada. En la cría bovina los rodeos con alta prevalencia serológica a *N. caninum* presentaron 3.2 veces mayor riesgo de presencia de abortos cuando se los comparo con rodeos de baja prevalencia. En las vacas de tambo esta asociación se presentó en aquellos rodeos que presentaban abortos endémicos

En los rodeos de tambo también se demostró una asociación entre el número de perros presentes en el establecimiento y la seroprevalencia en vacas, también la entrada de nuevos perros tanto en rodeos de cría como de tambo, aumenta el riesgo de infección

Con relación a los gatos una asociación negativa entre el número de gatos presentes y la seroprevalencia en vacas también fue observado.

BIBLIOGRAFÍA

La lista bibliográfica del presente trabajo está a disposición de quien la solicite escribiendo a la siguiente dirección de email: mfort@anguil.com.ar .

Estudio de seroprevalencia **Tabla 1**

Variables estudiadas	Tamaño de la muestra	Chi-cuadrado (Valor P)	Razón de Chance (95% IC)
<i>Rodeos de cría vs. tambo</i>	4334	0.000000	3.45 (2.7, 4.2)
<i>Region Oeste</i>	4334	0.000000	Ref.
<i>Region Central</i>			2.04 (1.6, 2.5)
<i>Región Este</i>			4.50 (3.2, 6.4)
<i>Cría región Oeste</i>	3498	0.000000	Ref.
<i>Cría región Central</i>			1.93 (1.4, 2.5)
<i>Cría región Este</i>			3.93 (2.6, 5.7)
<i>Tambo (región Central vs. Este)</i>	836	0.136000	1.41 (0.9, 2.1)
<i>Infecciones recientes (Tambo vs. Cría)</i>	2971	0.006665	3.12 (1.4, 7.0)
<i>Brucelosis (0% de prevalencia)</i>	2829	0.000472	Ref.
<i>Brucelosis (prevalencia entre el 0.1 y el 3.5 %)</i>			1.46 (1.1, 2.1)
<i>Brucelosis (Prevalencia > 3.5 %)</i>			2.15 (1.4,3.1)

M. Fort y col., 2002

Factores de riesgo en la cría bovina**Tabla 2**

Variables estudiadas	Tamaño de la muestra	Chi-cuadrado (Valor P)	Razón de Chance (95% IC)
<i>Rodeo de cría pura</i>	2086	0.000000	Ref.
<i>Rodeo de cría-recría</i>			2.31 (1.4, 3.7)
<i>Rodeo de ciclo completo</i>			4.14 (2.4, 7.2)
<i>Región Oeste</i>	2086	0.000000	Ref.
<i>Región Central</i>			1.75(1.0, 2.7)
<i>Región Este</i>			4.53 (2.8, 7.4)
<i>Rodeos abiertos vs. cerrado</i>	2086	0.000814	1.8 (1.3, 2.5)
<i>Razas bovinas</i>	1779	0.423782	
<i>Uso de pasturas perennes vs. anuales en invierno</i>	2046	0.000165	1.96 (1.4, 2.8)
<i>Uso de pasturas perennes vs. anuales en primavera</i>	2046	0.003880	1.70 (1.2, 2.5)
<i>Uso de pasturas perennes vs. anuales en verano</i>	2011	0.000859	1.85 (1.3, 2.7)
<i>Uso de pasturas perennes vs. anuales en otoño</i>	2046	0.001787	1.63 (1.1, 2.3)
<i>Suplementación con rollo en las regiones Este y Central</i>	1414	0.792247	
<i>Suplementación con grano en las regiones Este y Central</i>	1414	0.232317	
<i>Suplementación con sales minerales en la región Oeste</i>	672	0.857685	
<i>Suplementación con sales minerales en la región Central</i>	942	0.651453	
<i>Suplementación con sales minerales en la región Este</i>	472	0.026550	1.88 (1.1, 3.3)
<i>Suplementación con silo en las regiones Este vs. Central vs. Oeste</i>	2086	0.000071	2.23 (1.5, 3.3)
<i>Suplementación con silo en las regiones Este vs. Central</i>	1414	0.004869	1.87 (1.2, 2.9)
<i>Utilización de la Inseminación Artificial en la región Este vs. Central</i>	1414	0.508070	
<i>Servicio continuo vs. servicio estacionado en la región Oeste</i>	672	0.411994	
<i>Duración de la temporada de servicio</i>	1790	0.044463	
<i>Edad al destete</i>	2086	0.225892	
<i>Presencia de abortos</i>	1537	0.000001	3.23 (2.0, 5.2)
<i>Pérdidas preñez parición</i>	2086	0.002575	1.81 (1.2, 2.7)
<i>Diagnóstico de causales de aborto</i>	1137	0.006995	1.88 (1.2, 3.0)
<i>Cantidad de perros</i>	2086	0.406287	
<i>Entrada de perros en los últimos tres años</i>	1643	0.008760	1.78 (1.2, 2.8)
<i>Presencia de cerdos</i>	2006	0.001794	1.73 (1.2, 2.5)
<i>Presencia de ciervos en las regiones Central y Oeste</i>	1614	0.834071	
<i>Presencia de pumas en las regiones Central y Oeste</i>	1614	0.569166	
<i>Presencia de vizcachas en todas las regiones</i>	1614	0.374524	

M. Fort. y col., 2002

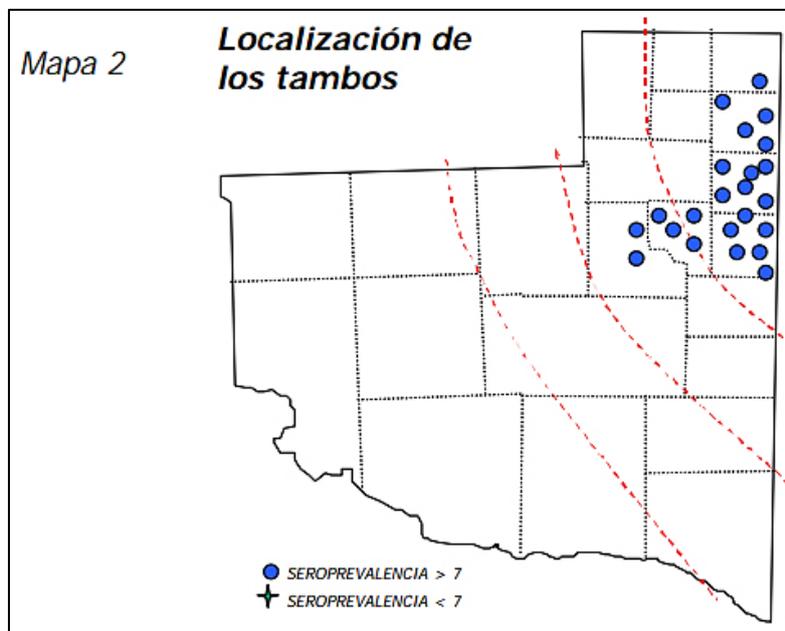
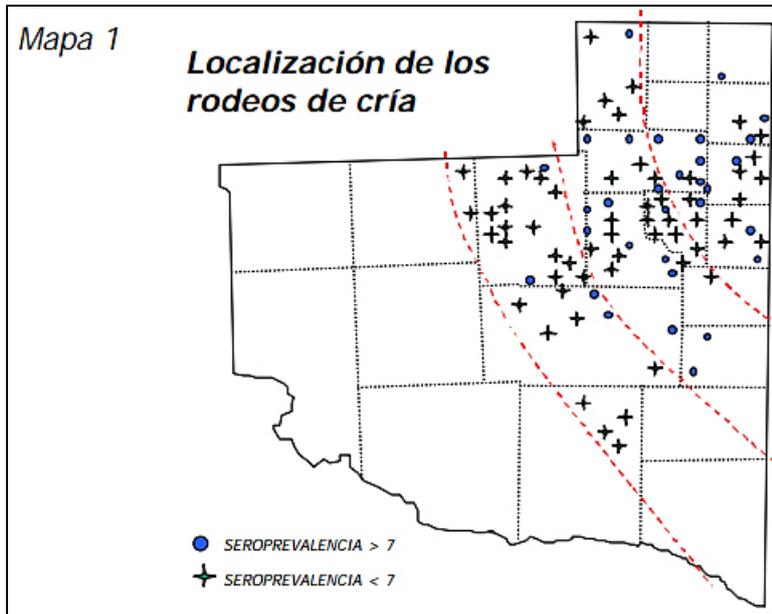
Factores de riesgo en el tambo **Tabla 3**

Variables estudiadas	Tamaño de la muestra	Chi-cuadrado (Valor P)	Razón de Chance (95% IC)
Región Central vs. Este	712	0.957384	
Superficie del establecimiento	712	0.007946	1.76 (1.1, 2.4)
Reemplazo de hacienda frecuente	80	0.001414	Ref.
Reemplazo de hacienda esporádico	320		1.35 (0.8, 2.3)
Rodeo cerrado	312		2.42 (1.4, 4.3)
Producción de leche	712	0.281221	
Días al destete	712	0.355710	
Sistemas de crianza de terneros	712	0.484697	
Suplementación con pool de calostro	712	0.163322	
Alimentación de los terneros con balanceados	712	0.00000	1.74 (1.2, 2.6)
Alimentación de los terneros con granos	712	0.862099	
Alimentación de las vacas con granos	712	0.682127	
Alimentación de las vacas con silo	712	0.260723	
Alimentación de las vacas con balanceados	712	0.008084	1.99 (1.3, 3.1)
Abortos endémicos vs. esporádicos	712	0.012048	1.93 (1.1, 3.4)
Con y sin diagnóstico de causal de aborto	476	0.015365	1.72 (1.1, 2.7)
Cantidad de perros	712	0.019303	*2.13 (1.3, 3.4)
Entrada de perros en los últimos tres años	434	0.012144	1.92 (1.1, 3.2)
Cantidad de gatos	712	0.027478	*1.88 (1.3, 2.7)
Presencia de aves domésticas	712	0.914056	
Presencia de peludos	712	0.123302	

M. Fort y col., 2002.

* Para el cálculo del OR, los estratos con similar prevalencia fueron agrupados

Autor	País	Nº de rodeos	Nº de vacas	Tipo de rodeo	Rodeos positivos	Prevalencia en bovinos	Test
Davison (1999)	Reino Unido		418	Tambo		6.0 %	ELISA
McNamee(1996)	Reino Unido		165	Tambo		3.0 %	IFAT
Trees(1994)	Reino Unido		217	Cría		5.5%	IFAT
Ould-Amrouche(1999)	Francia	42	1924	Tambo	64%	5.7 %	ELISA
Sanderson (2000)	USA	55	2585	Cría	100%	24 .0%	ELISA
Mainar- Jaime (1999)	España	43	889	Tambo	100%	30.6 %	ELISA
Ooi (2000)	Taiwan	25	613	Tambo		44.0%	IFAT
Gottstein(1998)	Suiza	113	1689	Tambo		11.5%	ELISA
Godim (1999)	Brasil	14	447	Tambo		14.1%	IFAT
Huong (1998)	Vietnam		200	Tambo		5.5 %	ELISA/IFAT
Quintanilla (1999)	España	143	1121	Tambo	83.2%	35.9%	ELISA
Quintanilla (1999)	España	216	1712	Cría	55.1%	17.9%	ELISA
Suteerapart (1999)	Tailandia		904	Tambo		6.0 %	IFAT
Osawa (1997)	Paraguay	5	582	Cría	100%	26.6%	ELISA
Osawa (1997)	Paraguay	5	297	Tambo	100%	36.6%	ELISA
Tennent-Brown (2000)	N. Zelandia	40	499	Cría	22 %	2.8%	ELISA



Volver a: [Enfermedades parasitarias en general y de bovinos](#)