

NEOSPORA CANINUM: CAUSA DE ABORTO EN BOVINOS

Bruno Gottstein Institute of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine and Faculty of Medicine, University of Bern.

Neospora caninum es el agente causal de neosporosis, enfermedad que afecta preferentemente a caninos y bovinos. Las principales manifestaciones clínicas son parálisis bilateral y muerte en caninos y aborto y mortalidad neonatal en bovinos. Pueden infectarse también otras especies tales como ovejas, cabras, equinos y ciervos.

Debido a su alta prevalencia en el bovino, *Neospora caninum* es considerada una de las causas más importantes de aborto en el mundo y se la reconoce como una enfermedad de alto impacto económico en la producción.

Dubey y colaboradores, en 1999 aislaron el parásito en cultivos celulares y propusieron el nuevo género *Neospora* especie *caninum*.

En el ganado es común la infección asintomática como consecuencia del pasaje frecuente de la madre al ternero (transmisión vertical), sin síntomas clínicos. La enfermedad aparece cuando el parásito se multiplica en el feto en gestación y la placenta y causa suficiente daño como para desencadenar el aborto o el nacimiento de terneros muertos. Las investigaciones realizadas hasta el presente, sugieren que la infección del feto al inicio de la gestación es generalmente fatal, más que la infección tardía. Sin embargo también se vió que la infección se transmite durante la preñez avanzada. La mayoría de las infecciones no son fatales, de este modo se mantienen en el rodeo como infecciones inaparentes.

La transmisión vertical es la mayor ruta de transmisión pero los ooquistes de *N. caninum* producidos en el perro y excretados por sus heces, pueden también infectar al ganado, cuando ingieren alimentos o agua contaminada (transmisión horizontal).

El control de la neosporosis bovina es difícil. Hay fármacos que matan la *Neospora* pero su uso para el control de la enfermedad en el bovino necesita mayor evaluación a campo. Y aún no hay vacunas efectivas para prevenir el aborto en hembras persistentemente infectadas.

El control consiste actualmente en aplicar ciertas medidas estratégicas de manejo que son solo parcialmente satisfactorias.

BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA DE *N. CANINUM*

Neospora caninum es un parásito perteneciente al Phylum apicomplexa, estructuralmente muy similar pero diferente antigénicamente de *Toxoplasma gondii*.

Es un parásito intracelular obligado y los taquizoítos se detectan en una gran variedad de tejidos como por ejemplo cerebro, medula espinal, corazón, pulmón, hígado, membranas fetales, músculo, placenta y piel y en diferentes tipos de células incluyendo los macrófagos.

Neospora caninum tiene poca o ninguna especificidad por la célula huésped y es capaz de invadir un amplio rango de células nucleadas de diferentes especies.

Los taquizoítos proliferan por endogénesis y producen varios cientos de nuevos parásitos en pocos días pos infección.

Los taquizoítos forman un pseudo quiste que luego libera taquizoítos infectantes para las células vecinas. En un estadio posterior, los bradizoítos de *Neospora caninum* (que se dividen lentamente), forman quistes tisulares intracelulares que se rodean de una sólida membrana.

Estos quistes pueden persistir en el huésped infectado durante varios años sin causar manifestaciones clínicas significativas y se han detectado preferentemente en el sistema nervioso central.

El análisis pos mortem demostró la presencia de necrosis multifocal en el cerebro fetal, corazón, pulmón hígado, placenta y nódulos linfáticos. El examen histopatológico revela lesiones histológicas mínimas tales como gliosis focal en el SNC y lesiones neurales severas tales como encefalomiелitis no supurativa, caracterizada por infiltración multifocal no supurativa con o sin necrosis multifocal e infiltración leucocitaria de las meninges y ocasionalmente calcificaciones.

La presencia de múltiples focos de necrosis pequeños en placenta o cerebro podrían sugerir una infección del protozario en el feto, pero como esta lesión no es patognomónica, se necesitan mayores estudios, tales como la inmunohistoquímica para determinar cual es la etiología.

No se sabe si la infección persistente con *Neospora caninum* puede afectar la salud animal o la producción potencial del ganado.

En Suiza se llevó a cabo un estudio que permitió determinar una alta incidencia de mastitis en rodeos con neosporosis y una baja producción láctea en vacas seropositivas a *Neospora*.

Es evidente también que las hembras seropositivas a *Neospora caninum* tienen 4 veces mas riesgo de aborto comparado con las vacas seronegativas.

MODO DE TRANSMISIÓN

Thilstedt y Dubey fueron en 1989, los primeros en asociar a *Neospora caninum* con abortos en el ganado lechero, demostrándose más tarde que *Neospora* es la mayor causa de aborto en bovinos de varios países.

La transmisión de taquizoítos por vía transplacentaria puede inducirse por medio de la infección experimental. **Hoy está claro que la infección transplacentaria a través de los taquizoítos como en el caso de la toxoplasmosis congénita, es una de las formas de transmisión de la neosporosis.** Pero a diferencia de la toxoplasmosis, donde la transmisión transplacentaria ocurre solamente durante la fase aguda de la infección primaria de la hembra preñada, en los animales infectados con *Neospora caninum*, este proceso puede ocurrir repetidamente en el mismo animal.

Sin embargo, aún cuando se produzca la infección prenatal del feto, no siempre se desarrolla la enfermedad y el parásito puede residir silenciosamente en el tejido de los terneros recién nacidos en forma inaparente.

Un segundo modo de transmisión tiene lugar a través de la ingestión de tejidos que contienen quistes de *Neospora caninum*. Se ha demostrado que los bradizoítos, dentro del quiste de los tejidos, son resistentes a una solución de pepsina y la infección experimental de gatos y perros confirma la hipótesis que sostienen que *Neospora caninum* podría transmitirse a otro animal por la ingesta de tejidos que encierran quistes viables.

Si bien estos estudios no demuestran en forma concluyente en qué momento los caninos y felinos pueden ser huéspedes definitivos de *Neospora caninum*, las inoculaciones orales llevadas a cabo en forma experimental, demostraron que los perros son huéspedes definitivos, pero no los gatos. Los ooquistes diseminados por los perros infectados en forma oral con bradizoítos contenidos en quistes tisulares, tienen el estado sexual del parásito, o sea, los

esporozoítos. **La ingestión oral de estos esporozoítos que contienen ooquistes, representa el tercer modo de transmisión de la neosporosis.**

DIAGNÓSTICO

La eficiencia y capacidad para reconocer que la neosporosis es la enfermedad que provoca el aborto bovino en el rodeo y para demostrar que *Neospora caninum* es el agente causal en el feto abortado o la placenta, dependerá de la herramienta utilizada para el diagnóstico.

Los métodos convencionales son la demostración directa de *Neospora caninum* por cultivo "in vitro" y la histopatología o inmunohistoquímica. Es evidente que la utilización de PCR, técnica muy específica y sensible, puede aumentar significativamente su detección y la identificación especie-específica del parásito o su DNA.

La alta correlación entre PCR y la detección de lesiones necróticas en la histopatología, aportan una sólida evidencia de que *Neospora caninum* es la causa del aborto. Más aún, PCR parece estar menos afectada por la autólisis que la histopatología.

Por lo tanto, los cerebros de los fetos momificados y autolíticos, que no pueden estudiarse por medio del examen histológico, pueden analizarse por PCR.

Los métodos serológicos tales como la inmunofluorescencia o ELISA se utilizan para el diagnóstico indirecto de la infección por *Neospora caninum* en el ganado adulto y en el feto abortado. Sin embargo se encuentran fluctuaciones en la concentración de los anticuerpos anti *Neospora caninum* durante la preñez, a veces por debajo de las concentraciones límites para ser detectados. Animales positivos, se negativizan y animales negativos se positivizan. La seroconversión en ambas direcciones suele ser frecuente en la neosporosis bovina.

Otra cuestión es determinar el origen de los anticuerpos encontrados en los animales recién nacidos seropositivos, para poder diferenciar si son de producción propia o adquiridos vía calostro. Características clínicas y epidemiológicas La infección experimental de vacas preñadas en distintos momentos de la gestación demostró que la parasitemia durante las 10 primeras semanas produce una fetopatía y reabsorción del tejido fetal, a las 3 semanas después de la infección. La infección a las 30 semanas de gestación da lugar al nacimiento de terneros asintomáticos, congénitamente infectados. El periodo entre ellas es aprovechado por *Neospora caninum* para inducir al aborto. No hay relación entre el aborto y la edad de las madres. La mayoría de los abortos ocurren entre el 5 y el 7 mes de gestación, aunque se pueden presentar casos durante toda ella. En un estudio realizado con el objeto de conocer los agentes causales de abortos, se vio que *Neospora caninum* se encuentra en el 21 % de los fetos abortados y el virus de BVD en el 7 %. La presencia simultánea de ambos se encontró en 1 solo caso.

Con respecto a la serología, las madres abortadas demostraron un alto % de seropositividad a *Neospora caninum* (44 %) en comparación con la seroprevalencia del 12 % encontrada en una población de vacas al azar. La serología no permite predecir los problemas de aborto a debidos a neospora.

En cuanto al riesgo de infección con el parásito, hay 2 niveles que predeterminan el rol de *Neospora caninum* asociado al aborto:

- 1 - el riesgo primario para una vaca de infectarse con el parásito (riesgo de infección).
- 2 - el riesgo secundario para una vaca infectada de abortar (riesgo de aborto).

Las hembras seropositivas tienen elevado riesgo de aborto. Dado que el perro fue definido como huésped definitivo, se relacionaron las tormentas de aborto con la transmisión horizontal del parásito por medio de alimento contaminado con ooquistes.

Se demostró que la presencia de perros en el establecimiento aumenta el riesgo de aborto por *Neospora caninum* en el ganado.

En el año 2001, Basso et al comunicaron el primer aislamiento de *Neospora caninum* a partir de heces de perros naturalmente infectados. Recientemente se publicó un método que utiliza la biología molecular para identificar el parásito en materia fecal de caninos.

Por lo tanto, en este momento se está comenzando a estudiar mas en detalle el rol epidemiológico que desempeña el canino como huésped definitivo en la historia de los abortos del rodeo.

Otro factor de riesgo se relaciona con la presencia de aves y la alimentación con silaje de maíz húmedo durante el periodo de verano.

CONTROL Y PREVENCIÓN

Medidas epidemiológicas

Hay varias posibilidades para reducir el riesgo potencial de transmisión horizontal modificando las condiciones higiénico sanitarias de los establecimientos. Una de las preguntas más frecuentes es cuándo eliminar o no los bovinos en riesgo y definir si se eliminan los animales que han presentado abortos producidos por *Neospora* o todos los animales seropositivos del rodeo. Hasta el momento, no se ha calculado el costo de las medidas de eliminación de los animales sobre la producción. Más aún tales recomendaciones podrían ser prematuras hoy en día.

VACUNACIÓN

Neospora caninum puede transmitirse al huésped intermediario ya sea de la madre al feto o a través del consumo de ooquistes eliminados por el huésped definitivo, el perro.

El desarrollo de la enfermedad está relacionado en gran medida por la efectividad del sistema inmune del huésped.

El ganado infectado con *Neospora caninum* desarrolla una respuesta humoral y celular, sin embargo a diferencia de lo que ocurre con el parásito relacionado *T. gondii*, la inmunidad de *Neospora caninum* parece no proteger de la reactivación durante el periodo de gestación y de la transmisión tras placentaria del parásito al feto.

Se han desarrollado vacunas para proteger al ganado del aborto y aunque las vacunas con taquizoítos muertos de *Neospora caninum* inducen la síntesis de anticuerpos específicos, fallan en su capacidad para prevenir la infección del feto en las vacas preñadas

Aun debe ser dilucidado si y cómo una vacunación eficiente puede proteger contra la infección primaria y si el desarrollo de nuevas vacunas podría aumentar la inmunidad de vacas persistentemente infectadas, como para prevenir las del aborto.

QUIMIOTERAPIA

La quimioterapia podría ser un intento para controlar la infección si se contara con una droga apropiada y de aplicación estratégica. Pero hay muy poca información disponible sobre la quimioterapia en bovinos. Lindsay et al probaron la actividad de 43 agentes quimioterápicos sobre taquizoítos de *Neospora caninum* cultivados "in vitro", incluyendo

sulfonamidas, dehidrofolatos, timidilatos e ionoforos, macrólidos y tetraciclinas, pero la clindamicina demostró tener la mayor actividad. Un derivado de la triazinona, el toltrazuril, se ha utilizado tanto para la terapia como para la metafilaris de los coccidios en aves y mamíferos. Para evaluar la medicación con toltrazuril y ponazuril como modo de prevenir la diseminación del parásito y la subsiguiente formación de lesiones cerebrales, se utilizó el modelo ratón. Ambos previenen eficientemente la formación de lesiones cerebrales en los ratones tratados, lo que fue demostrado por análisis con PCR e inmunohistoquímica. También se probaron los quimioterápicos en terneros infectados experimentalmente, constatándose que el ponazuril redujo los síntomas, (fiebre), disminuye cuantitativamente la respuesta inmune humoral e impide la detección del DNA y la formación de lesiones en los cerebros de los terneros tratados.

Estratégicamente podría ser interesante ahora, probar la eficacia del tratamiento en terneros recién nacidos, hijos de madres seropositivas, de modo de prevenir que se establezcan las lesiones crónicas en los recién nacidos y de ese modo producir líneas libres de Neospora, independientemente del estado de infección inicial. Alternativamente la terapia estratégica de hembras preñadas, positivas a Neospora podría prevenir el aborto. Sin embargo, el tiempo, la duración y la frecuencia de la medicación necesitan mayores estudios.

RECOMENDACIONES PRÁCTICAS

Las recomendaciones prácticas que podrían ser útiles para el control estratégico de los problemas de aborto asociados a Neospora caninum son las siguientes:

- 1.-para un diagnóstico certero de problemas de aborto asociados a Neospora caninum, **la serología única no es adecuada**. Es necesario demostrar la presencia del parásito en el feto e incluir si fuera posible, estudios histopatológicos. Concretamente, se recomienda a los médicos veterinarios remitir fetos enteros o por lo menos su cabeza y suero de la madre para la investigación en el laboratorio. Si no se encuentra el feto, se debe enviar sangre de las madres abortadas y también de por lo menos 3 hembras mas del lugar con problemas de aborto o infertilidad durante los últimos meses.
- 2.-recomienda identificar las líneas de animales positivos a Neospora caninum y planear su eliminación del rodeo, como hembras de reposición.
- 3.- como también puede haber transmisión horizontal, se recomienda descartar cualquier posible fuente de infección tanto para los huéspedes intermediarios como para los definitivos. **Esto incluye, en primer término, la apropiada eliminación de los fetos abortados, cualquier material fetal y placentas y la adecuada higiene de los alimentos y eliminación de heces de perros propios y de otros perros extraños que puedan tener acceso al establecimiento y a sus pasturas.**
- 4.- si se ha logrado bajar el nivel de prevalencia de Neospora caninum, es muy importante evitar la introducción de animales seropositivos al parásito, aunque se tiene que tener en claro que la seronegatividad, no garantiza en absoluto la ausencia de la Neospora.

*Presentación realizada en el XXII Congreso Mundial de Buiatria, Hannover, Alemania 18-23 Agosto de 2002
Traducción: Susana Conigliaro*

NEOSPORA CANINUM: CAUSA DE ABORTO EN BOVINOS

Bruno Gottstein Institute of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine and Faculty of Medicine, University of Bern.

Neospora caninum es el agente causal de neosporosis, enfermedad que afecta preferentemente a caninos y bovinos. Las principales manifestaciones clínicas son parálisis bilateral y muerte en caninos y aborto y mortalidad neonatal en bovinos. Pueden infectarse también otras especies tales como ovejas, cabras, equinos y ciervos.

Debido a su alta prevalencia en el bovino, *Neospora caninum* es considerada una de las causas más importantes de aborto en el mundo y se la reconoce como una enfermedad de alto impacto económico en la producción.

Dubey y colaboradores, en 1999 aislaron el parásito en cultivos celulares y propusieron el nuevo género *Neospora* especie *caninum*.

En el ganado es común la infección asintomática como consecuencia del pasaje frecuente de la madre al ternero (transmisión vertical), sin síntomas clínicos. La enfermedad aparece cuando el parásito se multiplica en el feto en gestación y la placenta y causa suficiente daño como para desencadenar el aborto o el nacimiento de terneros muertos. Las investigaciones realizadas hasta el presente, sugieren que la infección del feto al inicio de la gestación es generalmente fatal, más que la infección tardía. Sin embargo también se vió que la infección se transmite durante la preñez avanzada. La mayoría de las infecciones no son fatales, de este modo se mantienen en el rodeo como infecciones inaparentes.

La transmisión vertical es la mayor ruta de transmisión pero los ooquistes de *N. caninum* producidos en el perro y excretados por sus heces, pueden también infectar al ganado, cuando ingieren alimentos o agua contaminada (transmisión horizontal).

El control de la neosporosis bovina es difícil. Hay fármacos que matan la *Neospora* pero su uso para el control de la enfermedad en el bovino necesita mayor evaluación a campo. Y aún no hay vacunas efectivas para prevenir el aborto en hembras persistentemente infectadas.

El control consiste actualmente en aplicar ciertas medidas estratégicas de manejo que son solo parcialmente satisfactorias.

BIOLOGÍA Y PATOLOGÍA DE *N. CANINUM*

Neospora caninum es un parásito perteneciente al Phylum apicomplexa, estructuralmente muy similar pero diferente antigénicamente de *Toxoplasma gondii*.

Es un parásito intracelular obligado y los taquizoítos se detectan en una gran variedad de tejidos como por ejemplo cerebro, médula espinal, corazón, pulmón, hígado, membranas fetales, músculo, placenta y piel y en diferentes tipos de células incluyendo los macrófagos.

Neospora caninum tiene poca o ninguna especificidad por la célula huésped y es capaz de invadir un amplio rango de células nucleadas de diferentes especies.

Los taquizoítos proliferan por endogénesis y producen varios cientos de nuevos parásitos en pocos días pos infección. Las taquizoítos forman un seudo quiste que luego libera taquizoítos infectantes para las células vecinas. En un estadio posterior, los bradizoítos de *Neospora caninum* (que se dividen lentamente), forman quistes tisulares intracelulares que se rodean de una sólida membrana.

Estos quistes pueden persistir en el huésped infectado durante varios años sin causar manifestaciones clínicas significativas y se han detectado preferentemente en el sistema nervioso central.

El análisis pos mortem demostró la presencia de necrosis multifocal en el cerebro fetal, corazón, pulmón hígado, placenta y nódulos linfáticos. El examen histopatológico revela lesiones histológicas mínimas tales como gliosis focal en

el SNC y lesiones neurales severas tales como encefalomiелitis no supurativa, caracterizada por infiltración multifocal no supurativa con o sin necrosis multifocal e infiltración leucocitaria de las meninges y ocasionalmente calcificaciones. La presencia de múltiples focos de necrosis pequeños en placenta o cerebro podrían sugerir una infección del protozoario en el feto, pero como esta lesión no es patognomónica, se necesitan mayores estudios, tales como la inmunohistoquímica para determinar cual es la etiología.

No se sabe si la infección persistente con *Neospora caninum* puede afectar la salud animal o la producción potencial del ganado.

En Suiza se llevó a cabo un estudio que permitió determinar una alta incidencia de mastitis en rodeos con neosporosis y una baja producción láctea en vacas seropositivas a *Neospora*.

Es evidente también que las hembras seropositivas a *Neospora caninum* tienen 4 veces más riesgo de aborto comparado con las vacas seronegativas.

MODO DE TRANSMISIÓN

Thilstedt y Dubey fueron en 1989, los primeros en asociar a *Neospora caninum* con abortos en el ganado lechero, demostrándose más tarde que *Neospora* es la mayor causa de aborto en bovinos de varios países.

La transmisión de taquizoítos por vía transplacentaria puede inducirse por medio de la infección experimental. **Hoy está claro que la infección transplacentaria a través de los taquizoítos como en el caso de la toxoplasmosis congénita, es una de las formas de transmisión de la neosporosis.** Pero a diferencia de la toxoplasmosis, donde la transmisión transplacentaria ocurre solamente durante la fase aguda de la infección primaria de la hembra preñada, en los animales infectados con *Neospora caninum*, este proceso puede ocurrir repetidamente en el mismo animal. Sin embargo, aún cuando se produzca la infección prenatal del feto, no siempre se desarrolla la enfermedad y el parásito puede residir silenciosamente en el tejido de los terneros recién nacidos en forma inaparente.

Un segundo modo de transmisión tiene lugar a través de la ingestión de tejidos que contienen quistes de *Neospora caninum*. Se ha demostrado que los bradyzoítos, dentro del quiste de los tejidos, son resistentes a una solución de pepsina y la infección experimental de gatos y perros confirma la hipótesis que sostienen que *Neospora caninum* podría transmitirse a otro animal por la ingesta de tejidos que encierran quistes viables.

Si bien estos estudios no demuestran en forma concluyente en qué momento los caninos y felinos pueden ser huéspedes definitivos de *Neospora caninum*, las inoculaciones orales llevadas a cabo en forma experimental, demostraron que los perros son huéspedes definitivos, pero no los gatos. Los ooquistes diseminados por los perros infectados en forma oral con bradyzoítos contenidos en quistes tisulares, tienen el estado sexual del parásito, o sea, los esporozoítos. **La ingestión oral de estos esporozoítos que contienen ooquistes, representa el tercer modo de transmisión de la neosporosis.**

DIAGNÓSTICO

La eficiencia y capacidad para reconocer que la neosporosis es la enfermedad que provoca el aborto bovino en el rodeo y para demostrar que *Neospora caninum* es el agente causal en el feto abortado o la placenta, dependerá de la herramienta utilizada para el diagnóstico.

Los métodos convencionales son la demostración directa de *Neospora caninum* por cultivo "in vitro" y la histopatología o inmunohistoquímica. Es evidente que la utilización de PCR, técnica muy específica y sensible, puede aumentar significativamente su detección y la identificación especie-específica del parásito o su DNA.

La alta correlación entre PCR y la detección de lesiones necróticas en la histopatología, aportan una sólida evidencia de que *Neospora caninum* es la causa del aborto. Más aún, PCR parece estar menos afectada por la autólisis que la histopatología.

Por lo tanto, los cerebros de los fetos momificados y autolíticos, que no pueden estudiarse por medio del examen histológico, pueden analizarse por PCR.

Los métodos serológicos tales como la inmunofluorescencia o ELISA se utilizan para el diagnóstico indirecto de la infección por *Neospora caninum* en el ganado adulto y en el feto abortado. Sin embargo se encuentran fluctuaciones en la concentración de los anticuerpos anti *Neospora caninum* durante la preñez, a veces por debajo de las concentraciones límites para ser detectados. Animales positivos, se negativizan y animales negativos se positivizan. La seroconversión en ambas direcciones suele ser frecuente en la neosporosis bovina.

Otra cuestión es determinar el origen de los anticuerpos encontrados en los animales recién nacidos seropositivos, para poder diferenciar si son de producción propia o adquiridos vía calostro. Características clínicas y epidemiológicas La infección experimental de vacas preñadas en distintos momentos de la gestación demostró que la parasitemia durante las 10 primeras semanas produce una fetopatía y reabsorción del tejido fetal, a las 3 semanas después de la infección. La infección a las 30 semanas de gestación da lugar al nacimiento de terneros asintomáticos, congénitamente infectados. El periodo entre ellas es aprovechado por *Neospora caninum* para inducir al aborto. No hay relación entre el aborto y la edad de las madres. La mayoría de los abortos ocurren entre el 5 y el 7 mes de gestación, aunque se pueden presentar casos durante toda ella. En un estudio realizado con el objeto de conocer los agentes causales de abortos, se vio que *Neospora caninum* se encuentra en el 21 % de los fetos abortados y el virus de BVD en el 7 %. La presencia simultánea de ambos se encontró en 1 solo caso.

Con respecto a la serología, las madres abortadas demostraron un alto % de seropositividad a *Neospora caninum* (44 %) en comparación con la seroprevalencia del 12 % encontrada en una población de vacas al azar. La serología no permite predecir los problemas de aborto a debidos a neospora.

En cuanto al riesgo de infección con el parásito, hay 2 niveles que predeterminan el rol de *Neospora caninum* asociado al aborto:

- 1 - el riesgo primario para una vaca de infectarse con el parásito (riesgo de infección).
- 2 - el riesgo secundario para una vaca infectada de abortar (riesgo de aborto).

Las hembras seropositivas tienen elevado riesgo de aborto. Dado que el perro fue definido como huésped definitivo, se relacionaron las tormentas de aborto con la transmisión horizontal del parásito por medio de alimento contaminado con ooquistes.

Se demostró que la presencia de perros en el establecimiento aumenta el riesgo de aborto por *Neospora caninum* en el ganado.

En el año 2001, Basso et al comunicaron el primer aislamiento de *Neospora caninum* a partir de heces de perros naturalmente infectados. Recientemente se publicó un método que utiliza la biología molecular para identificar el parásito en materia fecal de caninos.

Por lo tanto, en este momento se está comenzando a estudiar más en detalle el rol epidemiológico que desempeña el canino como huésped definitivo en la historia de los abortos del rodeo.

Otro factor de riesgo se relaciona con la presencia de aves y la alimentación con silaje de maíz húmedo durante el periodo de verano.

CONTROL Y PREVENCIÓN

Medidas epidemiológicas

Hay varias posibilidades para reducir el riesgo potencial de transmisión horizontal modificando las condiciones higiénico sanitarias de los establecimientos. Una de las preguntas más frecuentes es cuándo eliminar o no los bovinos en riesgo y definir si se eliminan los animales que han presentado abortos producidos por *Neospora* o todos los animales seropositivos del rodeo. Hasta el momento, no se ha calculado el costo de las medidas de eliminación de los animales sobre la producción. Más aún tales recomendaciones podrían ser prematuras hoy en día.

VACUNACIÓN

Neospora caninum puede transmitirse al huésped intermediario ya sea de la madre al feto o a través del consumo de oocistos eliminados por el huésped definitivo, el perro.

El desarrollo de la enfermedad está relacionado en gran medida por la efectividad del sistema inmune del huésped.

El ganado infectado con *Neospora caninum* desarrolla una respuesta humoral y celular, sin embargo a diferencia de lo que ocurre con el parásito relacionado *T. gondii*, la inmunidad de *Neospora caninum* parece no proteger de la reactivación durante el periodo de gestación y de la transmisión tras placentaria del parásito al feto.

Se han desarrollado vacunas para proteger al ganado del aborto y aunque las vacunas con taquizoitos muertos de *Neospora caninum* inducen la síntesis de anticuerpos específicos, fallan en su capacidad para prevenir la infección del feto en las vacas preñadas

Aun debe ser dilucidado si y cómo una vacunación eficiente puede proteger contra la infección primaria y si el desarrollo de nuevas vacunas podría aumentar la inmunidad de vacas persistentemente infectadas, como para prevenir las del aborto.

QUIMIOTERAPIA

La quimioterapia podría ser un intento para controlar la infección si se contara con una droga apropiada y de aplicación estratégica. Pero hay muy poca información disponible sobre la quimioterapia en bovinos. Lindsay et al probaron la actividad de 43 agentes quimioterápicos sobre taquizoitos de *Neospora caninum* cultivados "in vitro", incluyendo sulfonamidas, dehidrofolatos, timidilatos e ionóforos, macrólidos y tetraciclinas, pero la clindamicina demostró tener la mayor actividad. Un derivado de la triazinona, el toltrazuril, se ha utilizado tanto para la terapia como para la metafílaxia de los coccidios en aves y mamíferos. Para evaluar la medicación con toltrazuril y ponazuril como modo de prevenir la diseminación del parásito y la subsiguiente formación de lesiones cerebrales, se utilizó el modelo ratón. Ambos previenen eficientemente la formación de lesiones cerebrales en los ratones tratados, lo que fue demostrado por análisis con PCR e inmunohistoquímica. También se probaron los quimioterápicos en terneros infectados experimentalmente, constatándose que el ponazuril redujo los síntomas, (fiebre), disminuye cuantitativamente la respuesta inmune humoral e impide la detección del DNA y la formación de lesiones en los cerebros de los terneros tratados.

Estratégicamente podría ser interesante ahora, probar la eficacia del tratamiento en terneros recién nacidos, hijos de madres seropositivas, de modo de prevenir que se establezcan las lesiones crónicas en los recién nacidos y de ese modo producir líneas libres de *Neospora*, independientemente del estado de infección inicial. Alternativamente la terapia estratégica de hembras preñadas, positivas a *Neospora* podría prevenir el aborto. Sin embargo, el tiempo, la duración y la frecuencia de la medicación necesitan mayores estudios.

RECOMENDACIONES PRÁCTICAS

Las recomendaciones prácticas que podrían ser útiles para el control estratégico de los problemas de aborto asociados a *Neospora caninum* son las siguientes:

- 1.-para un diagnóstico certero de problemas de aborto asociados a *Neospora caninum*, **la serología única no es adecuada**. Es necesario demostrar la presencia del parásito en el feto e incluir si fuera posible, estudios histopatológicos. Concretamente, se recomienda a los médicos veterinarios remitir fetos enteros o por lo menos su cabeza y suero de la madre para la investigación en el laboratorio.
Si no se encuentra el feto, se debe enviar sangre de las madres abortadas y también de por lo menos 3 hembras más del lugar con problemas de aborto o infertilidad durante los últimos meses.
- 2.-recomienda identificar las líneas de animales positivos a *Neospora caninum* y planear su eliminación del rodeo, como hembras de reposición.
- 3.- como también puede haber transmisión horizontal, se recomienda descartar cualquier posible fuente de infección tanto para los huéspedes intermediarios como para los definitivos. **Esto incluye, en primer término, la apropiada eliminación de los fetos abortados, cualquier material fetal y placentas y la adecuada higiene de los alimentos y eliminación de heces de perros propios y de otros perros extraños que puedan tener acceso al establecimiento y a sus pasturas.**
- 4.- si se ha logrado bajar el nivel de prevalencia de *Neospora caninum*, es muy importante evitar la introducción de animales seropositivos al parásito, aunque se tiene que tener en claro que la seronegatividad, no garantiza en absoluto la ausencia de la *Neospora*.

Presentación realizada en el XXII Congreso Mundial de Buiatría, Hannover, Alemania 18-23 Agosto de 2002

Traducción: Susana Conigliaro

FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN CON *NEOSPOORA CANINUM* ASOCIADOS A TORMENTAS DE ABORTO EN RODEOS LECHEROS DE HOLANDA

En 47 rodeos lecheros se realizó un estudio en el cual se analizaron 120 variables consideradas como factores de riesgo potencial tanto para la introducción de la infección por *N. caninum* como para la reactivación de la infección crónica. Los principales factores considerados como potencialmente significativos fueron la presencia de perros y la presencia de aves de corral. Ambos factores tienen relación con el riesgo de tormentas de aborto.

Estos hallazgos sugieren un posible rol de estas especies en la transmisión de *N. caninum*. Evidencia del papel que juegan los caninos es la significativa asociación entre la presencia de perros y la presencia de bovinos seropositivos en los rodeos controlados.

La alimentación con forraje enmohecido es un factor que puede inducir a la reactivación de una infección latente de *N. caninum* debido a las micotoxinas que son causa de inmunosupresión.

También se encontró alguna evidencia sobre la posible influencia de las prácticas de manejo de los terneros y la alta prevalencia de retención placentaria.

No se encontró una asociación significativa en los rodeos con alta prevalencia de anticuerpos anti virus de BVD, herpesvirus bovino, *Leptospira hardjo* ó *Salmonella dublin*.

La transmisión vertical de vacas a terneros ya ha sido establecida y puede contribuir significativamente en la persistencia de la infección en el rodeo causando un aumento de la tasa de aborto, sin embargo hay también evidencia sobre una forma de transmisión post natal ya que se encontró una alta prevalencia de infección a *N. caninum* en rodeos lecheros. Hoy se sabe que los perros actúan como huéspedes definitivos de *Neospora* y tienen un importante papel en la epidemiología de la neosporosis bovina.

Hay dos hipótesis que podrían explicar la tormenta de abortos. La primera hipótesis sostiene que los abortos están causados por la introducción de la infección en el rodeo por exposición a los ooquistes infecciosos. La segunda hipótesis sostiene que los abortos están causados por la reactivación de la infección en vacas con infección latente por factores que provocan inmunosupresión particularmente infecciones virales y micotoxicosis.

Los resultados obtenidos del presente estudio indican que de las 8 principales variables con significado de factor de riesgo para *N. caninum* asociados a abortos, las 4 primeras son: 1.- Presencia de perros, 2.- Presencia de aves de corral 3.- Uso de pasturas comunes y 4.- Contacto con animales de otros rodeos.

Se encontró una significativa asociación entre la presencia de perros y la de animales seropositivos a *N. caninum*. Estos mismos resultados se obtuvieron en trabajos realizados en Canadá, demostrando el rol de los perros en la transmisión de la infección y la eliminación de ooquistes de *N. caninum*. Otra variable significativa es la presencia varias especies de aves domésticas tales como gallinas, patos y gansos. Se encontró una significativa relación entre el número de animales y el riesgo de tormenta de abortos. Estos animales pueden servir como vectores de los ooquistes. Además las aves pueden jugar el rol de huéspedes intermediarios a partir de los cuales se infectan los perros ya que estos habitualmente se alimentan de las aves muertas.

El uso de pasturas comunes por parte de animales jóvenes junto con los de otros rodeos también resultaron significativos.

Se puede decir que el contacto con restos de placenta y descargas uterinas puede servir como fuente de infección ya que se ha demostrado la presencia de taquizoítos de *N. Caninum* en esos materiales.

Con respecto a la alimentación con silo de maíz húmedo durante el verano ó con restos de forrajes, ambos están relacionados a alimentos de baja calidad. Particularmente la presencia de hongos es considerado un factor de riesgo potencial por la producción de micotoxinas. Varias micotoxinas han demostrado tener un efecto inmunosupresor después de la repetida ingestión de pequeñas dosis. Esta inmunosupresión puede conducir a la ruptura del tejido del ooquiste.

La explicación para el modelo estacional de la infección con *N. caninum* asociada a tormentas de abortos es que las condiciones de temperatura y humedad favorables para el crecimiento de hongos en los meses de verano también favorecerían la esporulación de los ooquistes.

Si bien es conocida la inmunosupresión causada por la infección con el virus de Diarrea Viral Bovina, no se halló correlación alguna en este sentido, más aún, no se encontraron infecciones duales con otros agentes abortogénicos en los fetos remitidos para diagnóstico durante las tormentas de abortos.

La conclusión de este trabajo indica que la transmisión vertical y la transmisión post nacimiento juegan un papel epidemiológico de la infección del ganado

La vía de transmisión vertical ya fue establecida. En este estudio se presenta evidencia del

papel que representan los perros como responsables de la transmisión de la infección de *N. caninum* en el rodeo.

C.J.M.Bartels, W.Wouda and Y.H.Schukken 1999

Se agradece al Dr Juan María de Hagen el envío de este interesante material.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS

Dra Susana Conigliaro

GENERALIDADES

En los últimos años se ha visto un aumento significativo de las pruebas de laboratorio disponibles para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas bovinas.

Sin embargo a menudo no solo se utilizan técnicas que poseen diferente grado de sensibilidad y especificidad sino que a veces la misma técnica está implementada de forma distinta y se aplican criterios de interpretación diferentes.

Es por ello que consideramos útil y necesario efectuar un repaso de las principales técnicas disponibles y considerar los criterios básicos de interpretación de los resultados.

Esta información será además de especial utilidad para los veterinarios clínicos que a menudo se enfrentan a graves problemas sanitarios y deben recurrir a laboratorios confiables para poder resolverlos.

Los estudios serológicos se efectúan sobre muestras de sangre aunque algunas enfermedades se pueden estudiar sobre muestras de secreciones o líquidos tisulares. La muestra a remitir tiene que tener la calidad necesaria para la utilización óptima de los servicios que el laboratorio puede ofrecer. Defectos en la recolección de la muestra, volumen inadecuado, defectos en la conservación y envío conspiran contra un estudio adecuado y un resultado acertado.

Un animal infectado presenta inicialmente una fase de incubación y el fin de la misma coincide con la presencia de lesiones y síntomas definidos y con la aparición de anticuerpos circulantes (aunque en algunas enfermedades las lesiones son leves y los síntomas pasajeros o poco evidentes). Si no se produce la muerte, los anticuerpos irán en aumento hasta alcanzar el máximo unos 20 -30 días post infección. Desde ese momento en adelante, los títulos tienden a decaer llegando a valores muy bajos, a veces no detectables por las técnicas convencionales. En otras infecciones los títulos persisten durante toda la vida útil del animal. En otros casos si bien el animal permanece serológicamente positivo, los títulos son fluctuantes.

En el laboratorio podemos analizar muestras de sangre individuales donde se estudia la circulación de los agentes infecciosos, detectando únicamente animales positivos o negativos

Si un animal ha tenido contacto con la enfermedad o ha sido vacunado, normalmente será positivo. Si estudiamos el 100 % de la población estamos haciendo un screening, lo cual es fundamental en la implementación de un programa de control o erradicación.

Si simplemente queremos conocer los problemas sanitarios de una

explotación, haremos un monitoreo sobre un porcentaje de animales frente a los agentes infecciosos buscados. Este estudio solo exige una determinación a dilución única. Un monitoreo correcto hay que hacerlo sobre un 20 % de los animales "objetivo" de la explotación y debe centrarse sobre el "objetivo" que se quiere controlar, hembras de varios partos, terneros al pie de la madre, terneros de destete, hembras abortadas, etc. En una segunda etapa se pueden

titular los anticuerpos y darle interpretación diagnóstica, analizando solo los seropositivos (los que han salido positivos al screening). Los picos de alto título corresponden por lo general a enfermedad. Este estudio exige realizar diluciones de cada suero, sin embargo es la única forma de interpretar de manera confiable el título y por lo tanto la evolución de la enfermedad o la protección de una vacuna.

En algunos casos se puede hacer un estudio retrospectivo (estudiar los títulos de un par de sueros de varios animales tomados con un intervalo de 2 o 3 semanas entre sí) para averiguar la evolución del título de anticuerpos en el tiempo. Es fundamental procesar todos los sueros el mismo día. Los resultados de este estudio van a depender de la elección de los animales a sangrar y del agente infeccioso. Por ejemplo si los animales son terneros de más de 30 días y sin vacunar o vacunados hace tiempo, la evolución de los títulos de anticuerpos debería ser plana. Si hay aumento de título de anticuerpos y no hubiera por medio ninguna vacunación, son sospechosos de una nueva infección. Hay que destacar que el estudio de "sueros pareados" en vacas abortadas con fecha de aborto desconocida no nos va a dar ninguna información ya que han podido seroconvertir en el momento de la primera toma de muestra.

Para numerosas enfermedades las pruebas serológicas constituyen el instrumento de diagnóstico de elección. Estas pruebas determinan la frecuencia y distribución de un agente infeccioso en determinada población a través de la detección de anticuerpos específicos en el suero sanguíneo o reacciones inmunitarias en los animales en estudio. Un resultado positivo solo indicaría entonces la exposición del animal en cuestión al agente en algún momento de su vida previo al estudio, pudiendo encontrarse al momento de la prueba en periodo de incubación, enfermo, recuperándose o inclusive sano. Una vacunación con microorganismos muertos, atenuados o modificados también puede dar un resultado positivo, lo mismo que cuando el animal ha recibido anticuerpos maternos contra el agente. Cualquiera sea la técnica empleada en nuestro país aún resulta imposible diferenciar anticuerpos de origen infeccioso de aquellos de origen vacunal.

Por otra parte existe una serie de resultados de las pruebas serológicas que pueden deberse meramente a la existencia de mecanismos de defensa contra un agente distinto al que se está investigando pero que tiene alguna semejanza antigénica y produce reacciones cruzadas. Positividad no es sinónimo de enfermedad en la totalidad de los casos. Un animal puede resultar negativo cuando realmente está infectado y viceversa, si lo reciente de la infección no ha permitido aún el adecuado desarrollo de anticuerpos, o lo crónico de la enfermedad lo ha hecho pasar a un estado de anergia.

Un título elevado no siempre corresponde necesariamente a una enfermedad en evolución o una enfermedad reciente. El resultado del estudio serológico expresa la cantidad de anticuerpos presente en una muestra (título de anticuerpos). La serología no tiene valor diagnóstico si no demuestra aumento significativo del título entre el 1º y 2º muestreo, tomando la primera muestra al inicio de la enfermedad y la segunda 15-30 días después.

El estudio serológico puede ser cualitativo, indicando sólo la presencia o ausencia de anticuerpos o cuantitativo, donde se efectúan una serie de diluciones en progresión geométrica y el resultado está dado por la fracción que representa la última dilución, en la que se observa el fenómeno investigado.

BRUCELOSIS

La técnica de BPA es una prueba tamiz cuyo resultado se expresa como NEGATIVO O POSITIVO, lo que significa que los animales son NEGATIVOS ó REACCIONANTES, debiendo estos últimos ser sometidos a pruebas complementarias para su diagnóstico definitivo. Los sueros que resulten positivos a BPA serán procesados por la técnica de SAT (seroaglutinación en tubo ó Wright) y 2 mercaptoetanol.

Los animales reaccionantes a la prueba de 2 mercaptoetanol (que fueron vacunados entre los 3 y 8 meses de edad) se deben considerar infectados, es decir que no se debe aceptar ningún título a 2 mercaptoetanol.

Los animales que resulten negativos a 2 mercaptoetanol y tengan títulos de 1/25 o 1/50 a SAT se consideran negativos. Los animales que siendo negativos a 2 mercaptoetanol presentan títulos de 1/100 a SAT, se consideran sospechosos y deberán ser sangrados nuevamente pasados 20-30 días para comprobar su negatividad, de lo contrario se trata de un animal potencialmente positivo, y los que presentan título de 1/200 a SAT se consideran positivos aunque sean negativos a 2 mercaptoetanol.

Los resultados negativos a la prueba de 2 mercaptoetanol se consideran negativos en ese momento, pero si están en el periodo de incubación de la enfermedad aparecen negativos porque aún no pueden detectarse anticuerpos circulantes, de ahí la necesidad de realizar muestreos periódicos.

Para la interpretación de los resultados de Brucelosis es necesario tener muy en cuenta la edad de los animales en el momento de la realización del análisis y la edad a la que fueron vacunados ya que los animales vacunados por encima de la edad de 8 ó 9 meses mantienen anticuerpos durante más tiempo.

RINOTRAQUEÍTIS INFECCIOSA BOVINA (IBR) Y/O DIARREA VIRAL BOVINA (BVD)

El título de anticuerpos se informa como negativo (cuando no hay anticuerpos) o positivo (cuando hay presencia de anticuerpos en cantidades variables según las diluciones realizadas y la técnica empleada). La presencia de anticuerpos está indicando contacto con el virus y respuesta del individuo con formación de anticuerpos, pero no es posible saber si se debe a un contacto con el virus infeccioso causa de enfermedad o un virus vacunal.

En el diagnóstico por inmunofluorescencia de muestras individuales, los resultados se informan como positivos o negativos.

El diagnóstico por la prueba de seroneutralización en una prueba cualitativa (que es la que se utiliza por ejemplo para los toros de los centros de inseminación artificial) se informa como positivo (cuando se detectan anticuerpos neutralizantes) o negativos (cuando no se encuentran anticuerpos).

En caso de contar con muestras pareadas se puede realizar un estudio cuantitativo haciendo diluciones del suero problema. El resultado es el índice de seroneutralización, que expresa el logaritmo de la inversa de la dilución que neutraliza 100 partículas virales en 1 ml de virus.

En el caso de utilizar la técnica de inmunofluorescencia para muestras pareadas, las diluciones que se realizan son 1/5, 1/10, 1/20 y 1/40. Los títulos 1/10, 1/20, 1/40 se consideran positivos e indican contacto con el virus y la consiguiente respuesta de anticuerpos. El título 1/5 expresa escasa cantidad de anticuerpos o a veces puede indicar inespecificidad por lo cual como dato aislado no se debe tener en cuenta y se sugiere repetir el análisis 20 días después.

El diagnóstico por medio de la prueba de Elisa se expresa como positivo o negativo.

En el caso de BVD algunos terneros puedan llegar a nacer después de un proceso infeccioso de la madre en las primeras etapas de gestación lo que los convierte en inmunotolerantes (animales persistentemente infectados). Esto es, no seroconvierten (no aparecen anticuerpos en sangre), pero excretan virus. Estos animales al no reconocer el virus como cuerpo extraño (dado que la infección fue antes de que se desarrollara su sistema inmune) no producen o producen pocos anticuerpos, por lo que su detección mediante pruebas serológicas se complica. Normalmente estos terneros mueren antes de los dos años de vida. Es decir que en el caso de diagnóstico de virus de BVD una muestra negativa no siempre indica ausencia de contacto viral.

PARAINFLUENZA 3 (PI3)

El diagnóstico serológico para virus de PI3 se realiza por la técnica de inhibición de la hemoaglutinación (IHA) que mide la cantidad de anticuerpos capaces de inhibir la actividad hemoaglutinante del virus de PI3. Los resultados se expresan en unidades inhibitoras de la hemoaglutinación (UIHA) y se interpretan de la siguiente forma:

Hasta 80 UIHA: negativo

Entre 80 y 320 UIHA: exposición previa al virus de PI3

640 ó más UIHA: infección reciente al virus de PI3.

LEPTOSPIROSIS

El diagnóstico serológico de leptospirosis se realiza por medio de la técnica de microaglutinación de Martín y Pettit. Se realizan diluciones en base 2 desde una dilución inicial 1/200 hasta la última dilución que presenta título aglutinante. En el diagnóstico de leptospirosis es fundamental contar con muestras pareadas ya que se encuentra a menudo que la mayoría de los animales muestrados presentan títulos hemoaglutinantes bajos a la serovar Wolffii. También es necesario considerar que los anticuerpos protectores que confieren las vacunas son anticuerpos neutralizantes, mientras que los anticuerpos detectados por la prueba de Martín y Pettit son anticuerpos aglutinantes.

NEOSPOROSIS

El diagnóstico de esta enfermedad causada por el parásito Neospora caninum, se puede realizar por medio de la técnica de inmunofluorescencia indirecta. El resultado se expresa como negativo, cuando no se detectan anticuerpos,

sospechoso, cuando se encuentran anticuerpos en la dilución 1/320 recomendándose repetir en análisis 15-20 días después,

positivo cuando se encuentran anticuerpos en la dilución 1/640 o más.

Los resultados deben analizarse en el contexto del rodeo donde se realiza el estudio. Si en un rodeo con antecedentes de abortos se encuentra un 20-30 % de animales positivos, es posible considerar a Neospora como la causa de los mismos. Por otro lado si solamente el 5 % de los sueros analizados resultaran positivos es muy probable que la causa de los abortos sea otra.

CONCLUSIONES

Para una mejor comprensión se describen a continuación las situaciones que a menudo se presentan en el estudio serológico.

Estudio serológico realizado sobre una muestra única.

Resultado NEGATIVO

a).- Ausencia de contacto con el agente investigado

b).- Animal en período de incubación de la enfermedad

c).- Vacunación realizada recientemente

Resultado POSITIVO

a).- Hubo contacto con el agente investigado, haya o no expresión clínica de la enfermedad

b).- Animal vacunado contra el agente investigado

c).- Presencia de anticuerpos calostrales

ESTUDIO SEROLÓGICO REALIZADO SOBRE MUESTRAS PAREADAS

1º muestra NEGATIVA / 2º muestra POSITIVA

Seroconversión

a).- Vacunación entre 1º y 2º muestreo

b).- Infección entre 1º y 2º muestreo

c).- Animal incubando en el 1º muestreo con enfermedad en posterior evolución

1º muestra NEGATIVA / 2º muestra NEGATIVA

El agente investigado no es la causa del problema

Ausencia de contacto con el agente investigado

1º muestra POSITIVA / 2º muestra NEGATIVA

Fin de la infección

Desaparición de anticuerpos vacunales

Desaparición de anticuerpos calostrales

1º muestra POSITIVA / 2º muestra POSITIVA

1º MUESTRA MAYOR QUE LA 2º

Caída de anticuerpos calostrales

Caída de anticuerpos vacunales

Animal convalesciente

1º MUESTRA MENOR QUE LA 2º

Afección clínica o subclínica en evolución

Incremento de anticuerpos vacunales

1º MUESTRA IGUAL A LA 2º

Infección estabilizada

Anticuerpos vacunales estabilizados

LOS PERROS SON PORTADORES DE NEOSPORA CANINUM

Los productores tienen ahora otro motivo para estar preocupados. Los perros pueden ser portadores de un parásito que mata a los terneros.

Aunque no es tan común en Iowa, los perros son culpables de transportar *Neospora caninum*, un parásito intracelular del ganado bovino que provoca abortos en las vacas. Los perros son los huéspedes del parásito. Esto no significa que necesariamente los perros que tienen el parásito están enfermos, pero sí pueden pasar el parásito a otros animales a través de sus heces.

El único modo de conocer si el aborto está causado por *Neospora caninum* es remitir el feto al laboratorio para diagnóstico. La cabeza del feto es el material más apropiado ya que el parásito se busca en el cerebro. Es importante que el feto no esté congelado, pero sí puede enviarse fresco o refrigerado.

Aunque el feto es el material más certero, hay otro modo de averiguar la presencia del parásito en los animales ya que en la muestra de sangre se pueden hallar anticuerpos que estarían indicando la presencia del parásito en el organismo animal.

Bayer ha desarrollado una vacuna para *Neospora caninum*, pero se necesitan mayor número de pruebas para poder demostrar su efectividad. Los productores deberán luego decidir si es económicamente rentable para ellos vacunar sus rodeos contra el parásito. Hay muchas preguntas que responder antes de conocer si la vacunación puede realizarse en forma rutinaria.

El parásito se encuentra distribuido en todo el mundo y el problema es tanto de los rodeos lecheros como de carne. Las vacas introducen el parásito a través de la ingestión de heces de perros que transportan al parásito. La vaca luego se infecta y aborta.

Las investigaciones sobre la biología del parásito continúan y el propósito es lograr el desarrollo de vacunas que efectivamente prevengan la infección.

Los ganaderos deben tratar de evitar que los perros propios o vagabundos defecuen en los feedlots, pasturas y corrales. El parásito está presente en casi el 7 % de todos los perros y se encontró también en coyotes, zorros y lobos.

*Jennifer Brener
Iowa Farmer Today*

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI NEOSPORA CANINUM EN BOVINOS Y CANINOS

Período Julio 1998 - Julio 2000

Ricci, L.A. ; Fernández, G.J. y Conigliaro, A.S. *

La etiología del aborto bovino comprende entre otros agentes a un protozoario, del phylum Apicomplexa, llamado *Neospora caninum*. No solo afecta a bovinos sino también a otras especies domésticas. Trabajos recientes mencionan a las aves como un potencial vector de *N.caninum* al ser ingeridas por perros a campo y este último el huésped definitivo que eliminaría los ooquistes a través de las heces. En este trabajo se presentan los resultados serológicos obtenidos durante el período julio de 1998- julio de 2000.

OBJETIVO

Estimar la prevalencia de la infección en nuestro rodeos como paso inicial para el desarrollo de estrategias de control del aborto a *Neospora* en bovinos.

Estudiar la prevalencia serológica en la población canina y relacionarlo con la infección de los bovinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se analizaron 3187 muestras de sangre correspondientes a 409 rodeos bovinos que llegaron al laboratorio para diagnóstico de causa de aborto provenientes de las provincias de Buenos Aires, Córdoba, Corrientes, Entre Ríos, La Pampa, Salta y Santa Fe durante el período comprendido entre Julio de 1998 y Julio de 2000 y 36 muestras de sueros caninos correspondientes a cuatro grupos de perros que cohabitaban con rodeos bovinos durante igual período.

Las muestras se analizaron por medio de la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) partiendo de una dilución 1:320 para los sueros bovinos y de 1:50 para los sueros caninos, realizándose diluciones en base 2. Para la detección de anticuerpos, se utilizaron portaobjetos con antígenos de taquizoítos de *Neospora caninum* (VMRD, Inc) y suero marcado anti IgG Bovina FITC (KPL) y suero marcado anti IgG canina FITC (VMRD, Inc). Se utilizaron sueros controles positivos y negativos bovinos y caninos (VMRD, Inc). En el desarrollo de la técnica de inmunofluorescencia indirecta se siguió el protocolo general de rutina.

Diagnóstico virológico: casuística de laboratorio durante el período Julio de 1998- Julio de 2000.

NEOSPOROSIS BOVINA: CAUSA DE PROBLEMAS REPRODUCTIVOS

El género *Neospora* fue identificado por primera vez en 1988 por Dubey en Estados Unidos como agente de encefalitis y miositis en cachorros caninos. Desde entonces ha sido descrito en varias especies animales incluyendo bovinos, ovinos, equinos, caprinos, ciervos, gatos y varias especies silvestres. La presencia de neosporosis ha sido comprobada en diferentes países del mundo incluido el nuestro. No se conoce completamente su ciclo vital aunque se sabe que el perro es su huésped definitivo y que la transmisión del patógeno puede ocurrir por vía trasplacentaria. Las aves domésticas como gallinas, patos y gansos pueden jugar el rol de huéspedes intermediarios a partir de los cuales se infectan los perros que habitualmente se alimentan de aves muertas. Los perros actúan como huéspedes definitivos y juegan un importante papel en la epidemiología de la neosporosis al eliminar los ooquistes por materia fecal y contaminar los pastos que son ingeridos por los bovinos.

Neospora caninum es un parásito que causa problemas reproductivos en rodeos de carne y leche. Las pérdidas se

deben a abortos, muertes perinatales, nacimiento de terneros débiles, o bien terneros que nacen clínicamente normales pero congénitamente infectados. En las vacas infectadas el único signo observado es el aborto. El feto abortado es generalmente autolítico, sin lesiones aparentes y no hay retención de placenta. A veces pueden aparecer fetos momificados. La mayoría de los abortos ocurren entre el 4 y 7 mes de gestación. Los terneros hijos de vacas infectadas pueden ser normales o nacer infectados, muertos o enfermos. Durante las primeras semanas de vida los terneros pueden presentar asimetría ocular o parálisis progresiva. Por ello los miembros pueden estar flexionados o extendidos

Los terneros pueden no presentar síntomas, la serología puede ser negativa y a pesar de ello pueden tener quistes y taquizoítos. En vacas seropositivas nacidas de madres seronegativas, se vio una mayor susceptibilidad al aborto que la observada en vacas seropositivas nacidas de madres seropositivas. La inmunidad congénita en las últimas podría explicar algún tipo de inmunidad al aborto.

CONTROL

Hasta el presente no hay tratamientos ni vacunas disponibles para prevenir la enfermedad debido al desconocimiento sobre la biología del parásito y el modo de transmisión. Solamente se pueden implementar medidas de manejo para paliar esta nueva causa de aborto. El mantenimiento de la infección lo constituyen los animales infectados congénitamente. La vía congénita es la forma más común de transmisión de *Neospora caninum*. La madre infectada pasa la infección al ternero el cual puede ser abortado entre 4 y 7 meses, o puede producirse el nacimiento de un ternero normal pero infectado o puede morir por anomalías nerviosas. La infección puede ser transmitida a su descendencia. Se sugiere adquirir animales seronegativos, procedentes de rodeos libres, eliminar las hembras seropositivas y reemplazarlas por animales seronegativos, revisarlas periódicamente y no utilizar hembras seropositivas si se realiza transferencia embrionaria, efectuar serología de las terneras antes de mamar o a partir de los 5 meses que es cuando disminuyen los anticuerpos colostrales maternos, no ingresar a reposición terneras que hayan tenido títulos serológicos, investigar la presencia de *Neospora* a partir de materiales de fetos abortados o descargas genitales de hembras abortadas, eliminar del establecimiento los restos placentarios de abortos para evitar que los caninos los ingieran y evitar el acceso de los perros a las fuentes de agua y comida de los bovinos. En Argentina la presencia del parásito ya ha sido demostrada mediante estudios inmunohistoquímicos a partir de tejidos fetales y también hay estudios seroepidemiológicos que determinan la presencia de animales serológicamente positivos.

Es posible que el feto capaz de dar una respuesta inmune y prevenir la replicación del parásito, complete su gestación y de nacimiento a un ternero normal, pero si el sistema inmune es incapaz de detener la replicación, el feto puede morir y es abortado o puede nacer con una infección que provoca muerte por daño neurológico.

La quimioterapia no es muy efectiva debido a la capacidad que tiene el parásito de desarrollar quistes lo que le da protección y le permite persistir por tiempo indefinido. Las vacunas hasta ahora desarrolladas y que se encuentran en etapa experimental, pueden disminuir los abortos pero no eliminar las infecciones persistentes debido a los quistes. Para controlar la neosporosis se necesita impedir que los perros estén en contacto con el rodeo y destruir fetos abortados, placentas y terneros muertos.

NEOSPOROSIS: CASUÍSTICA

*Luis Angel Ricci **

Durante los días 26 y 27 de noviembre de 1998, nuestro laboratorio participó de la XII Reunión Científico Técnica de la AAFLD, que se realizó en Mar del Plata. En dicha oportunidad se intercambiaron datos y estadísticas en un intento de dar respuestas a algunos de los objetivos comunes entre los laboratorios.

En esta nota se aportan los datos obtenidos por nosotros en lo referente al diagnóstico de Neosporosis, cuyas características e importancia ya se han comunicado en Boletines anteriores.

Durante el año 1998 llegaron al laboratorio para su procesamiento un total de 119 sueros pertenecientes a 19 rodeos. Las muestras correspondían a animales de producción de carne y rodeos lecheros y se puede decir que casi en el 100 % de los casos el motivo del envío era por problemas de aborto y/o muerte perinatal.

Del total de sueros remitidos se obtuvieron 70 muestras seropositivas por la técnica de inmunofluorescencia indirecta, considerándose positivos los sueros reaccionantes a la dilución 1/320 ó mayor, con lo cual se estaría en el 58 % de incidencia. En la práctica los sueros reaccionantes a la dilución 1/320 se consideran sospechosos y los reaccionantes a la dilución 1/640 ó mayor positivos, pero considerando que los sospechosos son potenciales positivos y que en otros países se consideran positivos los reaccionantes a la dilución 1/200, se decidió incluirlos en los seropositivos.

Para este mismo parámetro, otros laboratorios del país han comunicado valores que van desde el 20,8 % al 39,5 %.

Si bien se recibieron para diagnóstico numerosos casos de aborto y varias muestras a partir de cuadros nerviosos, en ningún caso se aisló *Neospora caninum* ó se detectó su presencia por inmunofluorescencia directa a partir de improntas de muestras de músculo cardíaco, pulmón o cerebro. En este sentido los valores comunicados van del 0 al 2 % de abortos por *Neospora*. Por ello consideramos de suma importancia el monitoreo serológico de los rodeos con problemas reproductivos.

** Técnico de Laboratorio de Análisis Clínicos de Centro Diagnóstico Veterinario S.A.*

ABORTOS

CAUSAS, DIAGNÓSTICO Y PROFILAXIS

*Dra Susana Conigliaro **

El diagnóstico de aborto bovino y de las enfermedades reproductivas es uno de los mayores problemas de la medicina veterinaria. El porcentaje de aborto causado por etiología infecciosa está estimado en el 40-60 % del total. Conocer en forma acertada la causa del aborto beneficia al profesional veterinario quien podrá indicar a su cliente la implementación de medidas adecuadas para reducir los mismos en el futuro inmediato y asesorarlo sobre la prevención para el próximo servicio y período de gestación.

Debido a la naturaleza compleja de las causas de aborto bovino y fallas reproductivas, el laboratorio de diagnóstico tiene que hacer un esfuerzo constante para determinar la presencia potencial de microorganismos infecciosos. El

aislamiento de patógenos del feto no siempre es práctico ni efectivo de ahí que la serología es una herramienta útil para determinar la exposición a estos agentes.

Además del aborto, es conveniente tener en cuenta las enfermedades que causan pérdidas reproductivas y que influyen negativamente en su rentabilidad.

Según el momento que afectan el proceso reproductivo, hay:

- 1.- **Enfermedades que afectan el resultado del servicio**, provocando infertilidad transitoria o permanente y mortalidad embrionaria. Estas enfermedades inciden en el porcentaje de preñez.
- 2.- **Enfermedades que provocan abortos y muertes perinatales**. Este grupo se manifiesta por aumento de la diferencia preñez - parición o preñez- señalada.
- 3.- **Enfermedades de la primera edad (1 - 2 meses de vida)**. Estas patologías aumentan la diferencia parto - señalada o parto - destete.
- 4.- **Enfermedades de los bovinos jóvenes**. Aumentan la diferencia señalada - destete.

Si bien la fertilidad es un factor de gran incidencia en la producción total de un rodeo, no debemos confundir fertilidad con porcentaje de preñez. El proceso reproductivo no se agota con lograr que todos los vientres se preñen, debemos considerar las pérdidas globales desde el servicio hasta el destete, ya que de hecho el rodeo más fértil es el que desteta anualmente mayor número de terneros.

Con el conocimiento y la tecnología actualmente disponible es perfectamente posible en términos económicos lograr producciones de destete de más del 85 % sobre los vientres puestos en servicio. Lamentablemente, la realidad indica que los rodeos nacionales destetan menos del 65 % de terneros por año, esta diferencia entre lo posible y lo que realmente se produce está dada por una gran variedad de factores nutricionales, sanitarios, genéticos, de manejo, etc. cuya importancia es variable para cada rodeo.

Es indudable que el porcentaje de preñez tiene enorme importancia en la fertilidad de un rodeo ya que sin un alto porcentaje de preñez es imposible alcanzar altos porcentajes de destete. Hay muchos que se sienten orgullosos de lograr muy buenos porcentajes de preñez, (a veces superiores al 95 %) , pero no deben olvidarse se lo que sucede después.

Así es común ver rodeos que tienen grandes diferencias (12 - 15 % ó más) entre los vientres preñados y los terneros efectivamente destetados. Lo peor de todo es que a veces esto se acepta como normal cuando en un rodeo bien manejado y con medidas sanitarias apropiadas la diferencia entre el tacto y el destete no debería superar el 5 - 6 % . Un animal preñado al tacto que no llega a destetar su ternero, cuesta al productor mucho mas dinero que el que permanece vacío, ya que hay que alimentarlo, cuidarlo y vacunarlo durante un mayor período de tiempo para que en definitiva no produzca nada.

El problema es aún mas serio si tenemos en cuenta que los vientres abortados en su mayoría son diseminadores de enfermedades dentro del rodeo y si el aborto fue originado por una enfermedad venérea, al ser los primeros en alzarse la próxima temporada contagian a los toros que a su vez difunden la enfermedad.

Inclusive la sana practica de eliminar los animales sin cría al pie, al comienzo del servicio, no controla la totalidad del problema sino solo las enfermedades venéreas. Debe quedar claro que hay muchas enfermedades abortivas que no son venéreas o no son exclusivamente venéreas, es decir de transmisión sexual como por ejemplo la Brucelosis.

En general el productor se asusta cuando en su rodeo aparece una tormenta de abortos, grandes y visibles, pero el resto de las pérdidas queda sin control y ello incide en la magra cosecha de terneros.

Cualquier medida que se tome para disminuir las pérdidas debe estar necesariamente amparada por un diagnóstico correcto.

Si bien las causas de aborto pueden ser clasificadas de varias maneras, los dos grandes grupos son las que comprenden causas infecciosas y no infecciosas.

Las causas no infecciosas pueden tener orígenes varios, tales como ambientales, por golpes o traumatismos, por exceso de calor; tóxicas por pastos que contienen alcaloides ó toxinas de hongos ó por plaguicidas, causas hormonales, nutricionales y genéticas. Aún cuando estas causas en determinados momentos pueden ser importantes, las más comunes y peligrosas son las causas infecciosas.

Dentro de ellas tenemos :

TRICHOMONIASIS :

Se caracteriza por la repetición de celos debido a la infertilidad transitoria y mortalidad embrionaria. También produce piómetras y aborto. Los abortos que por lo general no superan el 5 % son abortos chicos que no pasan el tercer mes de gestación. En el rodeo se manifiesta por bajos porcentajes de preñez.

Las muestras apropiadas para el diagnóstico de Trichomoniasis es la muestra prepucial de toro , la descarga genital de la hembra y el feto abortado. El muestreo prepucial puede realizarse por cualquiera de los métodos sugeridos tales como el raspaje, la toma de muestra con pipeta de inseminación o la aspiración. El feto abortado habitualmente no se encuentra porque es muy pequeño y pasa desapercibido o desaparece .

El número de muestreos a realizar dependerá de los antecedentes reproductivos del rodeo. En aquellos establecimientos donde se efectúa un control sanitario periódico, sin antecedentes de enfermedades venéreas, se realizaran 2 o preferentemente 3 muestreos. Si se desconoce la historia reproductiva del rodeo o sus antecedentes y situación actual indican la presencia de venéreas, el número mínimo de muestreos a realizar es 4. Si aparecen animales positivos se realizarán tantos muestreos como sean necesarios hasta obtener dos muestreos sucesivos negativos después del último positivo hallado. Los intervalos entre los muestreos no deben ser menores de 7 - 10 días. Los muestreos se deben realizar luego de transcurridos 30 días después de retirados los toros del servicio. Si los animales hubieran sido sometidos a tratamiento deben transcurrir por lo menos 30 días.

En las hembras el muestreo deberá realizarse cuando se observe que repiten celo, luego de retirados los toros del servicio, o en el momento del tacto al encontrarlas vacías. Cuando se encuentra, lo ideal es enviar el feto y también un trozo de placenta con 3 o 4 cotiledones. El material de elección a partir del feto es el líquido abomasal. Las muestras genitales se deben colocar en un medio de transporte adecuado y luego se siembran en medio de cultivo de Trichomonas. Se observan durante 7 a 10 días según los medios, para verificar la presencia del parásito.

Se debe muestrear la totalidad de los toros, aún los considerados vírgenes. También se debe revisar todos los animales que ingresen al establecimiento aunque estén precedidos de los mejores antecedentes sanitarios.

La enfermedad natural provoca una inmunidad de cierta duración, ya que las lesiones de la mucosa genital de la hembra estimula la producción de IgA e IgG, que lisan al parásito, junto con la colaboración del sistema inmune (complemento y polimorfonucleares), resultando factible la reinfección. En el toro las lesiones producidas por el parásito son escasas y hay ausencia de inmunidad natural siendo el macho un portador persistente de la infección. Las medidas de manejo ayudan a controlar la enfermedad.

No se recomienda el tratamiento de machos con tricomonicidas debido al alto grado de resistencia desarrollado por el parásito. Está en estudio el desarrollo de vacunas para lograr una adecuada inmunidad artificial. Experimentalmente se elaboraron vacunas inactivadas con células enteras del parásito pero su eficacia es limitada porque la inmunidad es de

corta duración. Ahora se están probando vacunas preparadas con fracciones antigénicas con subunidades del parásito y los resultados obtenidos permiten crear buenas expectativas.

CAMPYLOBACTERIOSIS :

Esta enfermedad al igual que Trichomoniasis es una enfermedad venérea productora de infertilidad y mortalidad embrionaria. También provoca abortos esporádicos, que no van más allá de la mitad de la gestación. La prevalencia de esta enfermedad en promedio con Trichomoniasis es del 20 %.

La causa es *Campylobacter fetus* que está dividido en dos subespecies *C. fetus* subespecie *venerealis* y *C. fetus* subespecie *fetus*. La subespecie *fetus* es entérico y se lo conocía como intestinalis. Este se aísla de vacas vacías. La subespecie *venerealis* es solo genital, aislándose del prepucio de toros y de hembras infectadas. El diagnóstico se realiza a partir de la misma muestra que se obtiene para el diagnóstico de Trichomoniasis. El método utilizado es la inmunofluorescencia directa, a partir del medio de transporte de la muestra genital. También puede hacerse el diagnóstico por aislamiento de *Campylobacter* en medios especiales. Este método no es de rutina para la mayoría de los laboratorios.

La utilización de un medio de enriquecimiento previo a la realización de la inmunofluorescencia, descrita por Inta Balcarce permite detectar cepas de *Campylobacter* a partir de muestreos de vacas vacías, aumentando la eficiencia diagnóstica por encima del cultivo bacteriológico, con resultados más rápidos, eficientes y poco costosos.

Los estudios realizados indican que en el primer muestreo se encuentra el 60 % de los animales positivos; en el segundo muestreo el 80 %; en el tercero el 90 % y en el cuarto el 100 % de los animales, de ahí la importancia de realizar los 4 muestreos.

Con respecto al uso de vacunas las opiniones están divididas. Desde ya que es muy difícil lograr inmunidad local con la aplicación de una vacuna por vía general. Además, si a esto sumamos el hecho de que la concentración de *Campylobacter* necesaria para lograr una buena inmunidad es muy alta, los resultados son irregulares. Los estudios realizados para medir anticuerpos indican que la vacuna protege en un 58%. Para aumentar el poder de la vacuna algunos aplican doble dosis y hasta el triple de la dosis indicada y repiten a los 30 días una segunda aplicación.

BRUCELOSIS :

Es la enfermedad abortiva por excelencia y sigue siendo la principal causa de aborto en nuestro país. Su alta prevalencia ocasiona grandes pérdidas económicas, limitando la producción y dificultando además la comercialización de animales y productos de origen animal. Puede producir aborto en cualquier momento de la gestación, pero es más común observar los abortos en el último tercio. Hay casos de rodeos que han tenido hasta el 40 % de abortos por esta causa. La vaca abortada elimina billones de *Brucella* con su descarga genital, feto, envolturas fetales y placenta y es el principal factor de diseminación de la enfermedad.

La hembra no preñada no presenta síntomas de enfermedad y cuando se infecta antes del servicio muchas veces no aborta. Los bovinos se infectan por ingestión de pastos contaminados o por contacto con materiales infectantes.

Sin embargo es importante tener en cuenta que la brucelosis es una enfermedad controlable y que se puede erradicar cuando se dispone de un programa bien administrado y se tiene la voluntad de hacerlo. Es la enfermedad que cuenta con la mayor cantidad de pruebas diagnósticas disponibles. Podemos realizar el aislamiento del agente causal *Brucella abortus*, *suis* o *melitensis* o una gran variedad de pruebas serológicas que evidencian indirectamente la presencia de la enfermedad.

El feto abortado es la mejor muestra para diagnóstico. El líquido abomasal suele contener la bacteria en estado de pureza y cuando se coloca en medios y condiciones apropiadas, el aislamiento de la misma es habitual. También es factible aislar el microorganismo a partir de la placenta. Si no fuera posible procesar el feto abortado, la muestra de sangre para serología es muy apropiada para el diagnóstico de esta enfermedad.

La prueba oficial de diagnóstico es la prueba de BPA que utiliza un antígeno bufferado en placa. Esta es una prueba tamiz es decir que el resultado se informa como positivo o negativo. Los animales negativos a esta prueba se consideran negativos en ese momento. Los animales reaccionantes a esta prueba se consideran positivos y deben someterse a una prueba complementaria para su diagnóstico definitivo. La prueba complementaria de rutina es la prueba de SAT y SAT 2 mercaptoetanol.

Los animales a muestrear son todas las hembras vacunadas a la edad de 3 a 10 meses y que ya cumplieron los 18 meses de edad, y los machos enteros de más de 6 meses. El análisis debe realizarse con un intervalo de 45 a 60 días después de haber eliminado los positivos del muestreo anterior y se debe repetir hasta obtener dos muestreos negativos de todos los animales.

La prueba de SAT (seroaglutinación en tubo ó Wright) mide la totalidad de inmunoglobulinas (IgM + IgG) presentes en el suero de un animal.

La prueba del 2 mercaptoetanol mide solamente la presencia de inmunoglobulinas IgG, ya que el 2 ME desnaturaliza las IgM.

Estas dos pruebas deben realizarse paralelamente y leerse en forma simultánea. La presencia de IgG se asocia generalmente a la presencia de una infección activa. Los resultados negativos a la prueba de 2 mercaptoetanol no son concluyentes porque en el período inicial de la enfermedad la mayoría de los anticuerpos presentes son del grupo IgM.

BPA	WRIGHT (SAT)	2 mercaptoetanol (SAT - 2 ME)	Resultado
POSITIVO	1/25	NEGATIVO	NEGATIVO
POSITIVO	1/50	NEGATIVO	NEGATIVO
POSITIVO	1/100	NEGATIVO	SOSPECHOSO
POSITIVO	1/200	NEGATIVO	POSITIVO
POSITIVO	1/25 - 1/200	1/25 - 1/200	POSITIVO

La vacunación con *Brucella abortus* cepa 19 previene contra el aborto y también contra la infección, pero esta vacuna protege el 60-80 % de los animales vacunados contra una infección de mediana intensidad. La exposición masiva a la bacteria o a una cepa muy virulenta puede vencer la inmunidad proporcionada por la vacuna. Durante muchos años se pensó que el grado de resistencia adquirida por la vacunación podría medirse estableciendo una correlación con los anticuerpos séricos post-vacunales.

Sin embargo, este concepto fue descartado cuando se observó que no todos los animales con anticuerpos estaban inmunizados y que por el contrario podría existir inmunidad en animales que no tenían anticuerpos en suero.

En Brucelosis, el factor inmunitario celular tiene mucha importancia. Las Brucelas son capaces de sobrevivir durante mucho tiempo dentro de los monocitos y hacen aparecer en el huésped células fagocitarias modificadas. Estas células podrían transmitir la información a su descendencia, perpetuando el estado de resistencia aún cuando hayan desaparecido del suero los anticuerpos evidenciables "in vitro".

La aplicación de la vacuna no implica la erradicación de la enfermedad sino su control, al reemplazar dentro del rodeo animales enfermos o susceptibles por animales resistentes a la infección. Al proteger contra el aborto provoca una disminución del riesgo a la infección.

Es necesario tener en cuenta que con solo vacunar no se sana totalmente un rodeo sino le sumamos a esta práctica el diagnóstico y descarte de los animales positivos ; pero haciendo esto solo, sin vacunar, tampoco se logra.

LEPTOSPIROSIS :

Producida por diferentes serovares de *Leptospira interrogans*, produce abortos en el último tercio de la gestación y provoca también muerte de terneros a término o muerte perinatal. Suele presentarse como tormentas de abortos y en todos los animales al mismo tiempo, pero no abortan más del 10 % de los vientres, aunque en vaquillonas de primer parto el porcentaje puede ser mayor. La muerte perinatal de los terneros tiene mayor importancia que los abortos. En el tambero hay disminución de la producción láctea y es frecuente una mastitis atípica con ubre flácida, leche amarillenta, viscosa y a veces teñida de sangre. En los casos graves hay ictericia y hemoglobinuria.

Las leptospirosis patógenas no se multiplican fuera del organismo animal, por consiguiente para que se constituya un foco de enfermedad es necesario que además de animales portadores existan condiciones ambientales favorables para la supervivencia del agente causal en el medio exterior. La bacteria sobrevive en los charcos, cañadas, arroyos, agua de bebida y los animales silvestres actúan como portadores y diseminadores de la enfermedad. Los mayores reservorios de la infección son los animales que tienen una leptospiuria prolongada y generalmente no sufren la enfermedad. Tal es el caso de las ratas que albergan la serovar icterohaemorrhagiae y rara vez tiene lesiones.

La leptospirosis se caracteriza por tener dos fases diferentes, una inicial de leptospiemia y fiebre que dura aproximadamente 7 días y otra de leptospiuria que puede mantenerse durante 2 o 3 meses. La bacteria suele recuperarse a partir de sangre en la primera etapa y a partir de orina y riñón durante la segunda ya que las leptospirosis se establecen en los túbulos renales y se eliminan por orina. El diagnóstico puede realizarse demostrando la presencia de las leptospirosis por observación directa en campo oscuro ó por el aislamiento de las bacterias en medios apropiados para su cultivo.

No siempre se tiene éxito al intentar el aislamiento de leptospirosis a partir de fetos abortados debido a que el tiempo transcurrido entre el aborto y la llegada del feto al laboratorio juega en contra de la viabilidad de la bacteria ya que las leptospirosis se lisan muy fácilmente. Sin embargo es posible detectar la presencia de Leptospirosis en improntas de riñón del feto u orina, si se cuenta con anticuerpos marcados por medio de la inmunofluorescencia. La muestra de humor acuoso y orina de la vaca abortada permiten detectar leptospirosis cuando se las remite en forma apropiada.

El diagnóstico serológico de aborto por leptospirosis debe analizarse cuidadosamente ya que los títulos aglutinantes entre 1/100 y 1/400 pueden persistir durante años después de la infección, pero más del 50 % de las vacas infectadas con algunas serovares presentan títulos menores de 1/100 o resultan negativas. La respuesta inmune de un animal a la infección es una mezcla de Ig A, Ig G e Ig M. La bacterina contra leptospirosis estimula la producción de Ig M que son las que se asocian a la aglutinación. Es la respuesta primaria y persiste poco tiempo 6 - 8 semanas y con niveles de anticuerpos bajos. Como la prueba de Microaglutinación de Martín y Pettit detecta anticuerpos aglutinantes (Ig M) el resultado puede ser negativo a pesar de que los animales están protegidos. La vacunación puede dar títulos altos dentro de las 2 semanas pero declinan a los 8 semanas y a pesar de ello los animales están protegidos, pues con la prueba serológica solo estamos detectando anticuerpos de corta duración, y no precisamente los de protección. Para determinar si la infección por leptospirosis es activa es necesario recurrir al muestreo seriado para determinar la seroconversión.

La prevención y control de leptospirosis esta basada en el uso de vacunas que contengan las serovares que actúan en cada región. La aplicación de la vacuna reduce la aparición de abortos y disminuye el nacimiento de terneros débiles o la muerte perinatal. El mejor momento para la aplicación de la vacuna es al tacto ya que de esa forma nos aseguramos la persistencia de la inmunidad hasta el momento del parto.

Lo bovinos se vacunan hasta los 3 años de edad aproximadamente ya que los de mayor edad se consideran inmunizados. Se indica vacunar tanto machos como hembras ya que la infección no hace diferencia de sexo y un animal no inmunizado tiene grandes probabilidades de convertirse en un portador sano que disemina la enfermedad durante

toda la vida.

Con la vacunación se pretende proteger a los animales jóvenes que son el grupo más susceptible de contagio por los portadores sanos que eliminan la bacteria por orina, y disminuir la cantidad de animales diseminadores del microorganismo.

ENFERMEDADES VIRALES

VIRUS DE IBR :

Este herpes virus es causa de varias formas clínicas de enfermedad. Hay una forma respiratoria, una forma conjuntival, la forma encefalítica y las formas genital y abortiva que son las que nos interesan ahora. La forma genital, en la hembra, se caracteriza por la aparición de pústulas vulvares a veces muy numerosas y confluentes, lo que da el nombre de vulvovaginitis pustular infecciosa, con secreción vaginal escasa, elevación y movimiento de la cola, polaquiria e hiperemia de la mucosa vulvar. Esta forma puede afectar al útero y predisponer a la infección bacteriana secundaria que da por resultado una metritis y un período de infertilidad transitorio.

En el macho las lesiones son en pene y prepucio (balanopostitis) con producción de úlceras y llagas. Este proceso no afecta la calidad del semen ni la capacidad reproductora del animal pero puede convertirlo en impotente transitorio. Los toros infectados pueden transmitir el virus por lo que constituyen un riesgo tanto en servicio natural como en la inseminación artificial.

El virus también produce aborto. Esta es una de las secuelas más importantes de esta infección. El feto bovino es muy susceptible a la infección por el virus de IBR en todos los trimestres, pero por lo general los abortos se presentan en el último tercio. También son frecuentes las repeticiones de celo. En los fetos abortados se puede observar autólisis, edema de piel, y necrosis focal de hígado, riñón y bazo. Esto es debido al tiempo transcurrido entre la muerte del feto y el tiempo de expulsión que por lo general es de 8 a 45 días. El virus puede aislarse de la placenta y también de los órganos fetales.

Los trastornos reproductivos entonces pueden ir desde la repetición de celo y muerte embrionaria hasta el aborto. El virus tiene un mecanismo particular de perpetuarse en el organismo, conocido como estado de latencia. Ante la presencia de factores estresantes tales como destete, traslados, lluvias prolongadas, frío o calor excesivos, escasa disponibilidad de alimento, alta producción láctea, etc. el virus reaparece en la circulación, y alcanza los tejidos susceptibles desencadenando la enfermedad, con liberación del virus al medio ambiente y probabilidad de infectar otros animales. Esta liberación del virus dependerá del estado inmunitario del animal. En animales bien inmunizados la liberación de virus es menor y por corto tiempo. El virus persiste virtualmente en todos los animales infectados, por lo tanto todo animal debe considerarse un portador potencial que con toda seguridad diseminará el virus ante un estado de tensión.

El diagnóstico de IBR se puede realizar por medio del cultivo virológico en monocapas celulares, para tratar de lograr el aislamiento viral. El aislamiento del virus se puede realizar a partir de órganos fetales, siendo el riñón y pulmón las muestras de elección, o también a partir de hisopados vaginales. Otra forma de diagnóstico es la demostración de la presencia del virus en los tejidos infectados como por ejemplo por medio de la inmunofluorescencia o por visualización directa en cortes de tejidos por técnicas de inmunohistoquímica. El estudio serológico implica la demostración de los anticuerpos producidos por el virus en los animales que han tenido contacto con él. Aquí es importante tener en cuenta que el momento óptimo para cada tipo de estudio es diferente, así para el aislamiento del virus, las posibilidades son mayores en los primeros estadios de enfermedad cuando el título del virus es alto y aún no hay invasión bacteriana secundaria. El estudio serológico tiene valor cuando se demuestra la seroconversión en muestras de sangre extraídas con 20-30 días de intervalo.

El virus de IBR ha demostrado tener una gran uniformidad antigénica entre las distintas cepas aisladas de los diferentes cuadros clínicos. Esto hace que la prevención de esta enfermedad se puede realizar por medio de la vacunación. Las vacunas a virus muerto son muy seguras, se pueden aplicar en vacas preñadas y con el agregado de adyuvante oleoso se puede prolongar su efectividad. Las vacunas a virus vivo y/o virus vivo modificado, no están autorizadas en nuestro país, y si bien tienen la ventaja de ser aplicadas una sola vez en la vida, no pueden utilizarse en vacas preñadas, pueden producir síntomas respiratorios y los animales vacunados pueden eliminar el virus al medio ambiente. Según la manifestación clínica de la enfermedad es el momento apropiado para vacunar. En caso de problemas reproductivos y abortos, lo ideal es vacunar 2 meses antes del servicio con doble dosis, la segunda a los 30 días de la primera y repetir un refuerzo anual.

VIRUS DE BVD :

Es un virus del género Pestivirus reclasificado recientemente dentro de la familia Flaviviridae, relacionado antigénicamente con el Virus de Peste Porcina. Hay 2 biotipos, citopáticos y no citopáticos sobre la base de su desarrollo en cultivos celulares, y 2 genotipos, tipo I y II según su secuencia de ácido nucleico. Lamentablemente el nombre de la enfermedad es desafortunado y lleva a confusión. La enfermedad tiene diversas formas de presentación clínica, incluyendo manifestaciones digestivas, muertes embrionarias, malformaciones fetales, alteraciones del SNC, terneros débiles, etc. y a veces diarrea, pero no es éste el síntoma más frecuente.

La infección con virus de Diarrea Viral Bovina en el momento de servicio produce infertilidad y disminución de la tasa de concepción. Cuando las vacas preñadas se infectan con el virus en el primer tercio de la gestación se puede producir el aborto. Si la hembra se infecta entre el día 1 al 45 hay infertilidad por muerte embrionaria. Si se infecta entre los días 45 a 125 hay muerte fetal, defectos del desarrollo, infección persistente (tolerancia). Si se infecta a los 125 días o más, ya hay competencia inmunológica. No todos los vientres abortan, pero como el virus produce lesión durante la organogénesis del embrión, virus teratogénico, nacen terneros con lesiones del sistema nervioso central, ciegos, atáxicos o con atrofia de los folículos pilosos lo que da lugar a la aparición de terneros pelados. La infección transplacentaria del feto conduce a la muerte y reabsorción fetal, momificación, malformaciones congénitas, muerte perinatal, nacimiento de terneros débiles y de menor tamaño, que muchas veces maman y mueren a las pocas horas o terneros persistentemente infectados.

Los animales persistentemente infectados son inmunotolerantes para esa cepa específica de virus de BVD y eliminan virus al medio ambiente transformándose en los principales diseminadores de la infección. Los terneros persistentemente infectados pueden aparecer normales al nacer pero no desarrollan igual que sus compañeros. A menudo mueren de Enfermedad de las Mucosas u otras causas antes de los 18 -24 meses de edad, pero también pueden sobrevivir hasta la edad reproductiva. Las vacas persistentemente infectadas tienen siempre terneros persistentemente infectados.

Estos animales persistentemente infectados por ser inmunotolerantes no tienen anticuerpos, mantienen el virus de por vida y son eliminadores constantes del mismo. Otro aspecto a tener en cuenta con este virus es su efecto inmunosupresor, lo que conduce a la infección por otros agentes.

En cuanto al diagnóstico de esta enfermedad, al igual que IBR se realiza por aislamiento del virus en cultivos celulares o por estudio serológico. A partir del feto la muestra de elección es el riñón. También puede aislarse de sangre. El cultivo

de leucocitos de muestras de sangre con anticoagulante es el método más sensible. Los animales con infección aguda poseen pocos virus en sangre.

Un aspecto importante a considerar con respecto al virus de BVD es su variación antigénica de ahí que se debe tratar de utilizar cepas locales para lograr una efectiva protección por vacunación.

El momento apropiado para la vacunación es uno ó dos meses antes del servicio con doble dosis la primera vez y un refuerzo anual.

CLAMIDIAS :

Son microorganismos intracelulares obligados que se multiplican en el citoplasma de las células infectadas formando inclusiones citoplasmáticas. Producen gran variedad de enfermedades entre ellas aborto y muerte perinatal y nacimiento de terneros débiles.

El diagnóstico microscópico se hace a partir de placenta o tejidos fetales, por medio de la coloración de Giménez, que permite ver los corpúsculos elementales teñidos de rojo. La técnica de anticuerpos fluorescentes permite un diagnóstico más específico. El aislamiento de las clamidias a partir de muestras infectadas en cultivos celulares o inoculación en embrión de pollo es muy difícil sobre todo debido al tiempo transcurrido hasta la llegada de las muestras al laboratorio. La cantidad de aislamientos obtenidos a partir de fetos y placentas infectados es bajo. El método óptimo para detectar la presencia de anticuerpos en los animales infectados es el test de Elisa. Esta enfermedad está asociada a la deficiencia de cobre y también a *Campylobacter*. Son sensibles a los antibióticos tales como cloramfenicol, tetraciclinas, penicilina y cicloserina.

NEOSPORA :

Es un protozoario parásito reconocido recientemente y confundido inicialmente con *Toxoplasma gondii*. Puede causar una encefalomiелitis fatal y esta asociado con abortos y mortalidad fetal y neonatal.

En 1989, sobre 240 vacas Holstein de un rodeo lechero de Nueva Mejico, abortaron 29 vacas en el 5º mes de gestación. 7 de los 9 fetos analizados presentaban una encefalitis necrótica multifocal y miocarditis multifocal. En los tejidos de 3 de los fetos se encontraron protozoarios parecidos a *Neospora*. Mas recientemente se encontró un protozoario que reaccionó positivamente con suero anti *Neospora caninum* como la causa de aborto mas común en Canadá. Varios de estos abortos eran abortos epizooticos, con abortos múltiples después del 1- 2 meses de gestación.

La infección por *Neospora* se diagnosticó por la presencia de lesiones histológicas y la coloración positiva a partir de fetos abortados por técnicas de inmunohistoquímica. Los taquizoítos se encontraron en todos los tejidos de los fetos abortados. La mayoría de los fetos eran de 4 - 6 meses de gestación y se presentaban autolíticos. Las lesiones mas comunes son encefalitis multifocal no supurativa , miocarditis, miositis, y hepatitis. En todos los casos los parásitos son muy difíciles de observar. Algunos taquizoítos se pueden encontrar en secciones de cerebro.

Se ha sugerido que los terneros se infectan en el útero semanas o meses antes del nacimiento. A menudo producen abortos entre los 5 - 7 meses de gestación y en los fetos raramente se ven quistes o taquizoítos.

Las variaciones en la patogénesis de la enfermedad pueden estar relacionadas con la edad de la gestación, la dosis infectiva del parásito, la virulencia y la susceptibilidad del huésped.

Se observó en vacas con problemas de fertilidad. Se puede ver en músculo, corazón , cerebro, riñón, con lesiones características. En ganado lechero se ven lesiones focales en el núcleo de las células esqueléticas del corazón. Algunos animales desarrollan una respuesta inmune tal que los protege contra el aborto.

MICOPLASMAS :

Son los microorganismos de vida libre mas pequeños. A diferencia de las bacterias no tienen membrana celular, por eso presentan un marcado pleomorfismo, a veces son cocos y otras filamentosos. No hay tratamiento con antibióticos y puede causar neumonía y lesiones de artritis en terneros, produce poliartitis en animales de feed lot y meningitis en terneros lactantes.

La infección transplacentaria del feto conduce a la muerte y reabsorción fetal, momificación, malformaciones congénitas, muerte perinatal, nacimiento de terneros débiles, y de menor tamaño que lo normal, que muchas veces no maman.

HAEMOPHILUS SOMNUS :

Desde 1956 año en que *Haemophilus somnus* fue identificado por primera vez, se sabe que gran parte de la población bovina está expuesta a la infección por este agente y se encuentran anticuerpos en el 25 % de los animales analizados. Esta bacteria Gram negativa , pleomórfica es incapaz de sobrevivir muchos tiempo fuera del organismo aunque se mantiene en sangre, moco nasal y/o vaginal. Tanto el macho como la hembra mantienen la bacteria en su aparato reproductivo y urinario, eliminándola al medio ambiente. Históricamente, *H.somnus* se asocia a enfermedad del sistema nervioso, meningoencefalitis tromboembólica, pero también es causa de bronconeumonía , neumonía, miocarditis, artritis, y enfermedad reproductiva.

Puede aislarse de prepucio y de vagina. El aborto ocurre generalmente en la última mitad de la gestación, y muchas veces el aislamiento de *H. somnus* está asociado a la presencia de otra enfermedad como BVD.

La utilización de un medio de enriquecimiento previo propuesto por Inta Balcarce, permite el diagnóstico de *H. somnus* a partir de muestras genitales de vacas vacías.

ABORTO MICÓTICO :

Si bien las causas de aborto mas comunes son de origen bacteriano o vírico, a veces se encuentra la presencia de hongos como responsables del aborto. La placenta se presenta necrosada y en un tercio de los casos aparecen lesiones de piel. Ocasionalmente infecta los pulmones produciendo bronconeumonía. El contenido intestinal de los fetos abortados presenta a la observación previa coloración abundantes hifas de hongos. Los cultivos de material de abomaso y órganos como pulmón permiten el aislamiento del hongo del género *Aspergillus*. El hongo también puede aislarse del cerebro del feto abortado.

** Texto de la Conferencia dictada durante las Primeras Jornadas de Reproducción Bovina. Villa María , Córdoba , 4-5 de Julio de 1997.*

