

Capítulo LXXX

¿Es la Neosporosis un problema a considerar en el búfalo de agua (*Bubalus bubalis*)?

Datty Rosales-Zambrano

Neospora caninum, es un protozooario intracelular estrechamente relacionado con *Toxoplasma gondii*. Su primer reporte data de 1984, cuando se describe en perros (Bjerkas *et al.*, 1984) y luego en terneros con mieloencefalitis (Parish *et al.*, 1987). Esta entidad clínico-patológica es causa de una enfermedad grave y abortos en perros y ocasionalmente en cabras, ovejas, venados, rinocerontes, llamas y alpacas. En la actualidad, es reconocida como una de las principales causas de aborto infeccioso en países productores de bovinos. Aunque en los primates se ha demostrado que pueden infectarse, la transmisión al humano aún no ha sido confirmada, por lo cual no puede considerarse todavía como una enfermedad zoonótica. Los anticuerpos contra este agente, han sido reportados en búfalos de agua, venados de cola blanca, camellos, gatos y otros canidos salvajes (Dubey, 2003).

La infección por *Neospora caninum*, ha sido estudiada en la última década en países de Suramérica como Argentina, Chile, Paraguay, Perú, Brasil y Uruguay siendo ya reconocida como una de las principales causas de fallas reproductivas en bovinos. La evidencia de la exposición a este parásito en Suramérica, ha sido mencionada en vacunos, cabras, ovejas, búfalo de agua, llamas, alpacas y canidos salvajes (Moore *et al.*, 2005). El primer aislamiento realizado en búfalos de agua, fue hecho en Brasil de manera experimental, a partir de tejido cerebral de búfalas infectadas con ooquistes de *Neospora caninum*, los cuales fueron confirmados mediante pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y por PCR con sondas específicas para este protozooario (Rodríguez *et al.*, 2004; García-Melo *et al.*, 2009).

Venezuela es un país en el cual, la producción bufalina, ha venido creciendo de manera constante, debido a las múltiples bondades de esta especie, caracterizada por una mayor eficiencia de la conversión alimenticia, eficiencia reproductiva y sólidos totales de la leche. El estado Zulia, como principal cuenca lechera del país, presenta en la actualidad una importante población bufalina lechera, estimada para 2008 cercana a los 36000 animales (MPPAT, 2007).

Las patologías abortivas causadas por enfermedades bacterianas como *Brucella* y *Leptospira* son bien conocidas como causantes de problemas en el búfalo en Venezuela, sin embargo, trabajos recientes hacen referencia a hallazgos serológicos de importancia de *N. caninum*, en algunos rebaños bufalinos lecheros venezolanos (Valbuena-Carzon *et al.*, 2013). Por estos hallazgos, es significativo hacer algunas consideraciones desde el punto de vista etiológico, transmisión, diagnóstico y control en esta especie en Venezuela, ya que en la mayoría de trabajos están fundamentados en el modelo vacuno.

BIOLOGÍA GENERAL DE *NEOSPORA CANINUM*

N. caninum es parásito del phylum *Apicomplexa* con un ciclo de vida heteroxeno (participan dos o más huéspedes), siendo solo los perros (*Canis familiaris*) y los coyotes (*Canis latrans*) reconocidos como sus huéspedes definitivos (MacAllister *et al.*, 1998; Gondim *et al.*, 2004). Los bovinos y un amplio rango de animales de sangre caliente pueden actuar como hospedadores intermediarios. Los tres estados infecciosos del parásito son taquizoítos, bradizoítos y esporozoítos (Dubey, 2006). El aislamiento de *Neospora* viable ha sido logrado solo a partir de pocos hospedadores (ganado, oveja, búfalo de agua, perro, caballo, bisonte y venado de cola blanca), habiéndose realizado los aislamientos más recientes en ganado, perros y bisonte (Dubey & Schares, 2011)

Los taquizoítos y bradizoítos (Figura 1) están presentes en tejidos de hospedadores infectados (intermediarios y definitivos), sin embargo, los esporozoítos están presentes en los ooquistes que son excretados en las heces del hospedador definitivo, los caninos. Los taquizoítos se dividen rápidamente dentro de las células y quizás infecten muchos tipos de células, que incluyen neurales, del endotelio vascular, miocitos, hepatocitos, células renales, macrófagos alveolares y trofoblastos placentarios (Dubey *et al.*, 2002).

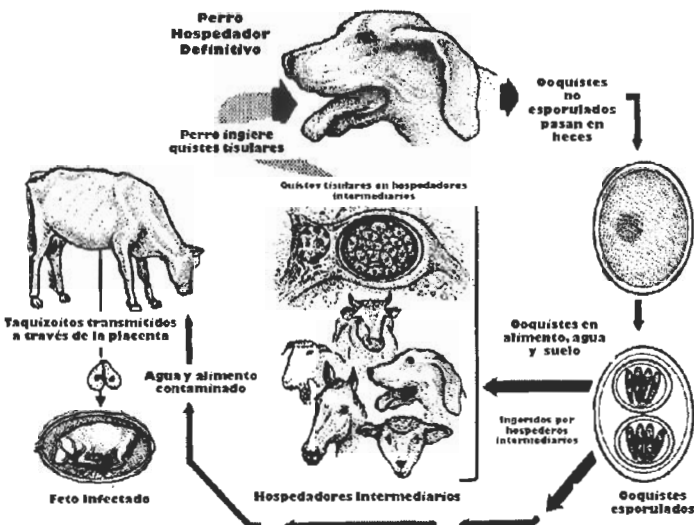


Figura 1. Ciclo de vida de *Neospora caninum*. Tomado de Dubey, 2003.

Existen estudios bien sustentados que sugieren que el estado de bradizoíto puede estar presente en la placenta bovina, donde estudios inoculando vacas demostraron que los animales infectados pueden producir terneros sanos y terneros infectados en sucesivas gestaciones. Lo cual posiblemente se deba a que esté asociado con la presencia en la fase de bradizoíto en el tejido placentario, lo cual es importante en la epidemiología de la enfermedad, si consideramos la gran cantidad de tejido placentario que puede ingerir un carnívoro, con la posterior excreción de taquizoítos en heces (Dubey, 2006).

La transmisión de este parásito es muy eficiente en el ganado. Tanto la transmisión horizontal como la vertical, juegan roles importantes en la infección y son vitales en la sobrevivencia de *N. caninum*. La transmisión horizontal, se da cuando el ganado ingiere ooquistes esporulados de *N. caninum*; la transmisión vertical es responsable de diseminar la infección a partir de madres persistentemente infectadas a sus crías durante la preñez (Figura 2) (Dubey *et al.*, 2006).

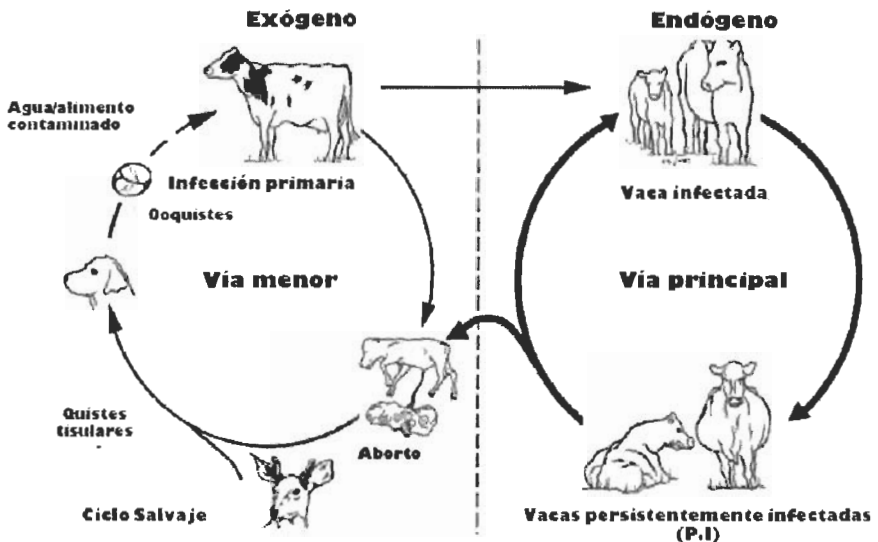


Figura 2. Transmisión de la Neosporosis Bovina. Tomado de Dubey *et al.*, 2006.

Dentro del ciclo de transmisión, como hospedadores se han descrito más recientemente a las aves y roedores domésticos y salvajes, así como algunos lagomorfos, en los cuales se ha detectado anticuerpos anti-Neospora y detección de ADN por medio de PCR. Es importante destacar que la presencia de ADN de Neospora no garantiza que produzca la enfermedad (Dubey & Schares, 2011).

SIGNOS CLÍNICOS DE LA NEOSPOROSIS

En el bovino y posiblemente en el búfalo, el aborto es el principal signo clínico, el cual puede darse en cualquier momento a partir de los tres meses de gestación, aunque la mayoría ocurre entre el 5to y 6to mes. Los fetos que mueren en el útero, quizás sean reabsorbidos, momificados, autolisados o ser mortinatos. Los que nacen pueden tener signos clínicos o nacer normales pero crónicamente infectados. Las vacas sero-

positivas son más propensas al aborto. Es importante destacar que hasta un 95% de los terneros nacidos de estas vacas, nacen infectados, pero se mantienen clínicamente normales. Siendo la transmisión vertical más eficiente en vacas jóvenes que en las más viejas.

Los signos clínicos de enfermedad solo se reportan en bovinos menores de 2 meses de edad, pudiendo presentarse signos neurológicos, bajo peso o no tener signos evidentes de enfermedad. Se puede observar flexión o hiper extensión de medios posteriores o anteriores. El examen neurológico puede revelar ataxia, reflejos patelares disminuidos y pérdida de la propiocepción. Los becerros pueden estar exoftálmicos o mostrar una asimetría ocular. Ocasionalmente se observan defectos congénitos como hidrocefalia o estenosis del cordón espinal (Dubey, 2003).

DIAGNÓSTICO

En el diagnóstico de *N. caninum*, la historia clínica y los datos epidemiológicos son importantes. Los datos acerca de las características del aborto, edad del feto y condición deben ser consideradas. Existen dos patrones de abortos a considerar, epidémico y endémico, ambos descritos en Neosporosis (Thurmond *et al.*, 1997). Los rebaños con una tasa de abortos mayor al 5% anual, son endémicos. En el patrón epidémico, hay presencia de tormentas de abortos en un corto periodo de tiempo, que se presenta en el 10% de hembras en riesgo (gestación del día 58 al 260), que pierden la preñez en un periodo de 42 días desde que iniciaron los abortos (Schaes *et al.*, 2002).

Las principales técnicas empleadas en el diagnóstico *in vivo* de la infección por *N. caninum* en diferentes especies están basadas en la determinación de anticuerpos específicos. Los más importantes son: inmunofluorescencia indirecta (IFI), el ensayo inmunoenzimático (ELISA), el inmunoblot y los test de aglutinación directa, de los cuales algunos están disponibles comercialmente.

En el caso particular de los búfalos, la mayoría de los análisis de anticuerpos reportados en Asia, Europa y América son realizadas por IFI o ELISA. La información está disponible de numerosos ensayos efectuados en Egipto, Italia, Vietnam, Brasil y Argentina (Moore *et al.*, 2005), los cuales reflejan el impacto que tiene la infección por *N. caninum* en los abortos de rebaños bufalinos y es por lo tanto, considerado un agente importante en las patologías abortivas de esta especie.

En Venezuela, un estudio reciente, realizado en el Municipio Colon del estado Zulia, a partir de 174 muestras sanguíneas de búfalas, se determinó una prevalencia de 30,4% en los sueros evaluados por medio de la técnica ELISA y presencia de la infección en 100% de las fincas participantes (Valbuena-Carzon *et al.*, 2013). Estos datos concuerdan con las pruebas procesadas por la autora de este trabajo, en el servicio de diagnóstico que manejamos. En los últimos meses del año 2013, procedentes de fincas bufalinas lecheras del Sur del lago de Maracaibo (Táchira, Mérida y Zulia), sobre un total de 125 sueros evaluados por ELISA con el kit de *Idexx HerdCheck anti-Neospora*, se lograron un total de 25 animales seropositivos (prevalencia del 20%). Además, en el 100% de las fincas evaluadas se encontraron anticuerpos contra *N. caninum*, coincidiendo con lo reportado en un estudio previo (Valbuena *et al.*, 2013). Es interesante destacar que en muchos de los casos reportados, la clínica se presentó con abor-

tos epidémicos y signos presentes en bucerros; sin embargo no se logro hacer necropsias ni estudios de histopatología, los cuales deben ser ejecutados para conocer el impacto real que tienen en la transmisión de los portadores asintomáticos, así como la importancia de los caninos, felinos y fauna silvestre, implicada en el ciclo de transmisión de *N. caninum*.

La discriminación entre infección aguda y crónica en *N. caninum* es desde el punto de vista epidemiológico muy importante en hembras bovinas adultas. En años recientes, se han descrito ELISAs basados en proteínas recombinantes NcGRA7 y NcSAG4 para la detección de fase aguda (replicación de taquizoíto) y crónica (bradizoítos) respectivamente (Aguado-Martínez *et al.*, 2008), lo cual podría utilizarse como una técnica de diagnóstico adicional que se podría utilizar en búfalos.

En cuanto a la detección de ADN por medio de PCR, los marcadores genéticos como los espaciadores internos de transcripción (abreviados ITS en inglés) son los más reportados en la literatura, con la limitante de que la detección de ADN de Neospora, no está ligada a la viabilidad del parásito y a su efecto patológico. Por lo cual, la interpretación de los resultados de serología y biología molecular y su asociación con el aborto son muy complejas y difíciles de establecer (Dubey & Schares, 2011).

En el diagnóstico de lesiones en fetos infectados con *N. caninum* se emplean con frecuencia, pruebas inmunohistoquímicas y PCR; en estudios realizados en California para observar la asociación entre *N. caninum* y abortos, se evaluaron lesiones fetales encontrando que cerca de 20% de los abortos en vacas era debido a *N. caninum* (Dubey & Schares, 2011).

Otros estudios en Minas Gerais en Brasil han demostrado la presencia de co-infecciones entre *N. caninum* con herpesvirus bovino tipo 1 (BHV1) y diarrea viral bovina (DVB) en ganado vacuno, encontrando que 40 de 476 (casi un 10%) de los sueros presentaban anticuerpos contra estos tres agentes, en rebaño no vacunados contra BHV1 y BVDV (García-Melo *et al.*, 2004).

PREVENCIÓN Y CONTROL

Las principales pérdidas económicas debido a Neosporosis son fallas reproductivas del ganado bovino y posiblemente en el búfalo. Esto involucra costos directos del aborto, que incluyen apoyo profesional para establecer el diagnóstico, pérdidas en lactaciones e incremento en los costos de reemplazo de animales. El diagnóstico del aborto por *N. caninum* es complejo y más difícil de monitorear, cuando se da en el primer trimestre de gestación, ya que en el ganado adulto, la pérdida de la gestación es el único signo clínico observable.

Algunas medidas de prevención y control en esta enfermedad, empleadas en vacunos pero también aplicables en búfalos son por transferencia de embriones (TE), sacrificio de animales seropositivos, descarte de novillas, quimioterapia y vacunación (Dubey *et al.*, 2007). La TE solo debe realizarse en receptoras seronegativas y puede ser útil para producir terneros de alto valor genético, de madres donadoras infectadas con *N. caninum*, previo a su descarte. Como consecuencia la evaluación a las receptoras es un protocolo necesario para la TE, ya que cuando la receptora es seropositiva, la transmisión congénita y el aborto pueden ocurrir (Paz *et al.*, 2007; De Oliveira *et al.*, 2010).

Esta última situación, en el caso de búfalas sometidas a TE, ha podido ser corroborada en el servicio de diagnóstico privado, donde hembras receptoras seropositivas a *N. caninum*, han abortado entre el mes 4to y 6to de gestación. En la actualidad, este aspecto es muy importante ya que la biotecnología reproductiva (IA y TE) ha tenido un impacto positivo en el rebaño bufalino nacional, al ser utilizado con el fin de obtener un mayor progreso genético con intervalos generacionales más cortos, por lo cual la selección de búfalas seronegativas a *N. caninum*, es fundamental en el éxito de estos programas.

Una de las acciones que más impacto pueden tener en el control de la enfermedad es el monitoreo anual de anticuerpos contra *N. caninum*, así como el chequeo de las hembras de reemplazo, previa incorporación al programa de reproducción y biotecnología de manera continua, tal cual se debe hacer en Brucelosis bovina. En el caso de rebaño sospechosos podría realizarse cada semestre (Ortega-Mora *et al.*, 2006). Una vez que tengamos claro el nivel de anticuerpos contra *N. caninum* podemos tomar estrategias como, la evaluación y descarte de hembras seropositivas y hembras abortadoras seropositivas y la evaluación y exclusión de progenie de madres seropositivas de programas de cría.

El tratamiento en esta enfermedad, no es económicamente aceptable, ya que las drogas disponibles solo se usan como preventivas y por muy largo tiempo, lo cual lo hace inviable por dejar residuos en leche y carne. Los ensayos realizados con toltrazuril y ponazuril con bradizoítos de *N. caninum* de manera *in vitro* e *in vivo*, han arrojado resultados interesantes, pero no conclusivos acerca de un futuro tratamiento. En el caso de la vacuna contra *N. caninum*, en la actualidad, no hay ninguna disponible comercialmente en el país, aunque en la actualidad están en diseño y prueba algunas vacunas a partir de proteínas recombinantes de *N. caninum*.

CONCLUSIÓN

Debido al fuerte impacto sanitario y económico que implica esta patología reproductiva en el bovino, con especial atención en el búfalo de agua, el cual sabemos no escapa a esta realidad, se convierte la Neosporosis bovina y bufalina en otro eslabón más a controlar en el programa sanitario establecido. Este programa debe ir estrictamente apegado a una vigilancia epidemiológica continua, normas de bioseguridad, control de caninos y fauna silvestre, selección de reemplazos y compra de semovientes libres de *N. caninum*, programas de segregación y descarte de animales seropositivos. Siendo imprescindible una campaña de la difusión del impacto que tiene esta enfermedad entre productores vecinos, los cuales también juegan un papel importante en la epidemiología de la enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguado-Martínez A, Alvarez-García G, Fernández-García A, Risco-Castillo V, Arnaiz-Seco I, Rebordosa-Trigueros X, Ortega-Mora LM. 2008. Usefulness of rNcGRA7-and rNcSAG4-based ELISA tests for distinguishing primo-infection, recrudescence, and chronic bovine neosporosis. *Vet Paras* 157 (3): 182.
- Bjerkås I, Mohn SF, Presthus J. 1984. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Parasitology Res* 70 (2): 271.

- De Oliveira VSF, Álvarez- García G, Ortega-Mora LM, Borges LMF, da Silva AC. 2010. Abortions in bovines and *Neospora caninum* transmission in an embryo transfer center. *Vet Paras.* 173 (3): 206.
- Dubey JP, Barr BC, Barta JR, Bjerkas I, Bjorkman C, Blagburn BL, Bowman DD, Buxton D (2002). Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *Int. J. Parasitol.* 32, 929.
- Dubey JP. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.* 41: 1.
- Dubey JP, Schares G. (2011). Neosporosis in animals: The last five years. *Vet. Parasit* 180: 90.
- Dubey JP, Buxton D, Wouda W. 2006. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J Comp Pathol* 134: 267.
- Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* 20: 323.
- García-Melo DP, Regidor-Cerrillo J, Ortega-Mora LM, Collantes-Fernández E, de Oliveira VSF F, de Oliveira MAP, da Silva AC. 2009. Isolation and biological characterization of a new isolate of *Neospora caninum* from an asymptomatic calf in Brazil. *Acta Parasit* 54 (2): 180.
- Gondim LFP, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. (2004). Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 34: 159.
- McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. 1998. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 28: 1473.
- Moore D. 2005. Neosporosis in South America. *Vet Parasit* 127: 87.
- MPPAT. 2007. Ministerio para el Poder Popular de Agricultura y Tierras. VII Censo Agrícola. En línea: <http://www.censoagropecuario.cl/informe.pdf.03/11/2007>.
- Ortega-Mora LM, Fernández-García A, Gómez-Bautista M. 2006. Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives. *Acta Parasitol* 51 (1): 1.
- Parish SM, Maag-Miller L, Besser TE, Weidner JP, McElwain T, Knowles DP, Leathers CW. 1987. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. *J Amer Vet Med Ass.* 191 (12): 1599.
- Paz GF, Leite RC, Rocha MA. 2007. Associação entre sorologia para *Neospora caninum* e taxa de prenhez em vacas receptoras de embriões. *Arq Bras Med Vet Zootec* 59 (5): 1323.
- Rodrigues AAR, Gennari SM, Aguiar DM, Sreekumar C, Hill DE, Miska KB, Dubey JP. 2004. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. *Vet Parasit* 124 (3): 139.
- Schares G, Bärwald A, Staubach C, Söndgen P, Rauser M, Schröder R, Conraths FJ. 2002. p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum* associated bovine abortion. *Vet Parasit* 106 (4): 293.
- Thurmond MC, Hietala SK, Blanchard PC. 1997. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *J Vet Diag Invest* 9 (1): 44.
- Valbuena R, Valeris R, Sánchez E, Ramírez A, Ochoa K, Uzcátegui D, Angulo Cubillán F. 2013. Detección serológica de *Neospora caninum* (*Apicomplexa, Sarcocystidae*) en búfalos (*Bubalus bubalis*) del municipio Colón, estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*, 23: 5.