

**ESTUDIO DE SEROPOSITIVIDAD DE ANTICUERPOS FRENTE A *Neospora caninum*
EN EL GANADO BOVINO DE LA ZONA DE TENJO – CUNDINAMARCA**

JENNY PATRICIA FERNÁNDEZ ALARCÓN
MARIANA MOLANO MANRIQUE



UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ D.C, 2022

**ESTUDIO DE SEROPOSITIVIDAD DE ANTICUERPOS FRENTE A *Neospora caninum*
EN EL GANADO BOVINO DE LA ZONA DE TENJO – CUNDINAMARCA**

JENNY PATRICIA FERNÁNDEZ ALARCÓN
MARIANA MOLANO MANRIQUE

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE;

MÉDICO VETERINARIO

Director:

DRA. NELITZA LINAREZ

Co-Director:

DR. ERIC SCHACHTEBECK

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ D.C, 2022

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	9
ABSTRACT	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
OBJETIVO GENERAL	13
Objetivos específicos	13
JUSTIFICACIÓN	14
MARCO TEÓRICO	15
Etiología	17
Ciclo Biológico	18
Transmisión	23
Signos clínicos	26
Patogénesis	29
Lesiones	31
Diagnóstico	32
Control y Prevención	34
Contexto en América Latina y Colombia	36
METODOLOGÍA	39
Técnica ELISA	40

RESULTADOS	42
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	45
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXOS	60

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Frecuencia de *Neospora caninum*

Tabla 2. Disposición de fetos y placentas de bovinos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vacuola de *Neospora caninum*.

Figura 2. Taquizoíto de *N. caninum*

Figura 3. Estructura de un Bradizoito

Figura 4. A) Ooquiste sin esporular B) Ooquiste esporulado, contiene dos esporocistos (C) cada uno de ellos contiene cuatro esporozoitos (D).

Figura 5. Ciclo biológico de *N. caninum*

Figura 6. Feto momificado (A) de una vaca con serología positiva (B) Reacción positiva a *N. caninum*. Inmunofluorescencia indirecta.

Figura 7. Feto Abortado por *Neospora caninum*

Figura 8. Cortes histopatológicos del cerebro de fetos bovinos provenientes del matadero. (A, B y C) se observa gliosis a nivel de cerebro, (D) además de un foco de gliosis se observan vasos sanguíneos congestionados (flechas).

Figura 9. Variación colorimétrica en sueros bovinos mediante test de ELISA a *N. caninum*: Positivos (verde intenso) y Negativos (verde claro).

Figura 10. Reacción positiva a *N. caninum* (IFAT)

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Seropositividad de anticuerpos frente a *Neospora caninum* en el ganado bovino de la zona de Tenjo / Cundinamarca.

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 Encuesta Plan Vacunal de la Ganadería

RESUMEN

Neospora caninum es un protozoo intracelular obligado perteneciente al phylum Apicomplexa, responsable de la enfermedad denominada Neosporosis, que ocasiona importantes alteraciones reproductivas en los bovino, tales como abortos entre el tercer y noveno mes de gestación, mortinatos, momificación fetal o abortos en un grado avanzado de autólisis y reabsorción embrionaria; afecta principalmente al ganado lechero y ha sido reportada como una importante causa de aborto en diferentes partes del mundo.

Algunos estudios sobre Neosporosis Bovina en Colombia muestran la presencia del parásito en los hatos lecheros, con reportes de prevalencia que van del 10,2% al 89,0 %. Sin embargo, son pocos los estudios que contemplan información acerca de la presencia del protozoario en hatos lecheros.

En el presente trabajo se realizó un estudio de tipo descriptivo prospectivo en el que se determinó la presencia de anticuerpos específicos frente a *Neospora caninum* a partir de muestras de sangre tomadas al azar, de vacas provenientes de diferentes fincas del municipio de Tenjo del departamento de Cundinamarca; estas muestras fueron analizadas utilizando un Tests de ELISA para anticuerpos frente a *Neospora caninum*. Cuyos resultados nos indican la presencia del protozoo en la mayoría de las fincas muestreadas; el 48% de las fincas mostraron resultados positivos frente a *N. caninum* y un promedio de 3 abortos en el año por finca. La presencia de caninos es notable en la zona, que además, comparten su espacio con los bovinos y aprovechan los momentos de parición para alimentarse de los desechos biológicos (fetos, placenta).

Palabras clave: *Neospora caninum*, Neosporosis, seropositividad, abortos, ganado lechero, ELISA.

ABSTRACT

Neospora caninum is an obligate intracellular protozoan belonging to the phylum Apicomplexa responsible for the disease called Neosporosis, which causes important reproductive alterations in cattle, such as abortions between the third and ninth month of gestation, stillbirths, fetal mummification or abortions in an advanced stage of pregnancy. autolysis and embryonic resorption; It mainly affects dairy cattle and has been reported as an important cause of abortion in different parts of the world.

Some studies on bovine neosporosis in Colombia show the presence of the parasite in dairy herds, with prevalence reports ranging from 10.2% to 89.0%. However, there are few studies that include information about the presence of the protozoan in dairy herds.

In the present work, a prospective descriptive study was carried out in which the presence of specific antibodies against *Neospora caninum* was determined from blood samples taken at random from cows from different farms in the municipality of Tenjo in the department of Cundinamarca; these samples were analyzed using an ELISA test for antibodies to *Neospora caninum*. Whose results indicate the presence of the protozoan in most of the farms sampled; 48% of the farms came out with positive results for *N. caninum* and with an average of 3 abortions in the year per farm. The presence of canines is notable in the area and by sharing the space with cattle, they take advantage of calving moments to feed on biological waste (fetuses, placenta).

Keywords: *Neospora caninum*, neosporosis seropositivity abortions, dairy cattle, ELISA.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Neospora caninum es un protozoario con gran importancia a nivel mundial, puede infectar entre otras muchas especies, a perros y a bovinos (Zambrano *et al.*, 2000). En el bovino se caracteriza por causar aborto entre el tercero y noveno mes de gestación y siendo más frecuente entre el quinto y sexto mes de gestación (Morales, 1996).

La Neosporosis podría estar implicada en los eventos de abortos que se presentan en el ganado bovino que forma parte de los rebaños de producción de leche en el Municipio de Tenjo (Cundinamarca), donde los caninos conviven y comparten con ellos; lo cual posibilita la transmisión horizontal y por consiguiente la transmisión vertical en estos animales. Por tal razón, hemos evaluado la presencia de anticuerpos frente a *N. caninum* en ganado bovino de esta zona, con el fin de poder orientar apropiados planes de prevención y control que permitan mejorar el desempeño reproductivo de los animales en estos sistemas de producción.

En Colombia se han realizado varios estudios en diferentes zonas del país. En Montería – Córdoba se reportó en el 2007, una seropositividad frente a *N. caninum* del 10,2 % (Oviedo *et al.*, 2007). En Sopó – Cundinamarca se encontró en el 2014 una prevalencia de 21,26 % frente a *N. caninum* en vacas de alta producción lechera (García *et al.*, 2014). Sin embargo, al momento de buscar reportes de seropositividad frente a *N. caninum* en el municipio de Tenjo – Cundinamarca, no se encuentran datos que indiquen la prevalencia de este agente como uno de los principales causantes de abortos en bovinos; por tal razón se busca determinar la seropositividad de

anticuerpos frente a *N. caninum* en bovinos de dicha zona, tomando muestras de suero sanguíneo de 150 bovinos seleccionados al azar de 15 diferentes fincas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia de anticuerpos específicos frente a *Neospora caninum* en bovinos del Municipio de Tenjo (Cundinamarca).

Objetivos específicos

- Analizar las condiciones de manejo en cada una de las fincas muestreadas del municipio de Tenjo, departamento de Cundinamarca.
- Demostrar la presencia de anticuerpos frente a *Neospora caninum* en bovinos en el municipio de Tenjo (Cundinamarca).
- Identificar posibles medidas de control para *Neospora caninum* en los sistemas de producción bovina del municipio Tejo, departamento de Cundinamarca.

JUSTIFICACIÓN

La neosporosis es una enfermedad parasitaria causada por el protozoo *Neospora caninum*, un protozoario cuyo ciclo de vida se cumple en varias especies de animales como el perro y el coyote que actúan como hospedadores definitivos; los bovinos actúan como hospedador intermediario, produciendo alteraciones reproductivas, manifestaciones clínicas y disminución de la producción lo que repercute en productividad de pequeños, medianos y grandes productores (Parrado, 2016).

Así *Neospora caninum* ha adquirido gran importancia por alta prevalencia a nivel mundial y su asociación a casos de abortos en los sistemas de producción bovina, con las consecuentes pérdidas económicas que esto implica (Rivera, 2001). Los problemas infecciosos que interrumpen la gestación ocasionan cuantiosas pérdidas en los hatos lecheros (Contreras, 2012). Solo en California, Estados Unidos, las pérdidas económicas asociadas con el aborto bovino por neosporosis se estiman en 35 millones de dólares anuales (Atoccsa, *et al.*, 2005). En Colombia no se conoce un valor estimado de las pérdidas económicas causadas por la infección con este protozoario.

Una característica importante de esta enfermedad en el vacuno es que el parásito puede permanecer latente como una infección crónica, de allí que la transmisión vertical o transplacentaria sea un elemento crucial en el establecimiento y la diseminación de la infección (López, *et al.*, 2007). Durante los últimos años, este protozoo ha sido considerado como una causa de aborto epidémico en hatos lecheros (Cevallos & Morales, 2021).

El primer reporte de aislamiento en Colombia se realizó en 1998 donde se evaluaron 354 sueros bovinos procedentes de 74 fincas que tenían problemas reproductivos y aborto en diferentes períodos de la gestación; para los cuales no fue posible definir un diagnóstico serológico para entidades como Brucelosis, Leptospirosis, IBR y DVB (Zambrano, *et al.*, 2001). Los reportes que evidencian la existencia del parásito, muestran la necesidad de estudiar la presencia y comportamiento de este protozoo en nuestros rebaños, para de este modo poder diseñar planes sanitarios que nos permitan controlar, prevenir y establecer medidas adaptadas a nuestras condiciones socioeconómicas y ambientales.

MARCO TEÓRICO

La Neosporosis es considerada como una de las enfermedades parasitarias que causa abortos, momificaciones, mortalidad neonatal y un mayor número de días abiertos en bovinos, provocando grandes pérdidas económicas al sector ganadero (Dubey, Barr y Barta, 2002). *Neospora caninum* es un protozoo del tipo Apicomplexa responsable de la enfermedad denominada Neosporosis. El primer caso de infección por *N. caninum* se diagnosticó en 1984 en Noruega (Bjerkas y Presthus, 1989), en un perro con paresia de las extremidades y lesiones de carácter inflamatorio en su sistema nervioso central y muscular, producida por un parásito protozoo formador de quistes, parecido morfológicamente a *Toxoplasma gondii*, pero serológicamente negativo a este protozoo.

En 1988 (Dubey, Bryan, Gajadhar & Haines, 1994) en EEUU identifican un parásito similar y proponen su denominación como un nuevo género, *Neospora*; y como especie tipo *N.*

caninum. Ese mismo año se consigue el primer aislamiento del parásito en cultivo celular. La inoculación experimental a perros confirma a *N. caninum* como causa de las alteraciones neurológicas, paresia, parálisis y muerte en los perros infectados (Dubey, Buxton & Wouda, 2006). Además, desarrollan la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos frente a *N. caninum*. Igualmente ponen a punto técnicas inmunohistoquímicas para la detección del parásito en tejidos infectados (Dubey, 2003). Así se demuestra que el parásito procedente de Noruega es el mismo que el de EEUU.

El estudio de casos retrospectivos indica que en 1987 O'Toole y Jeffrey describen un caso de encefalomiелitis por un esporozoario en un ternero recién nacido en Inglaterra que fue negativo a *T. gondii* y *Sarcocystis spp.* (Paulo *et al.*, 2005). En 1989 Thilstedt y Dubey indican la presencia de un protozoo en fetos de ganado lechero abortados en California que reaccionan frente a anticuerpos específicos a *N. caninum*. A partir de 1991 se identifica a *N. caninum* como una de las principales causas de aborto en ganado vacuno en California (Dubey, *et al.*, 2002; Peters, Wagner & Schares, 2000).

Colombia cuenta con aproximadamente 27 millones de animales de especie bovina, concentrando el 11.3% del ganado en el departamento de Antioquia (ICA, 2021). Viéndose más afectado el ganado lechero por *Neospora caninum* con una prevalencia de 54,1% de seropositividad, mediante la Técnica de diagnóstico ELISA (Zambrano, 2001).

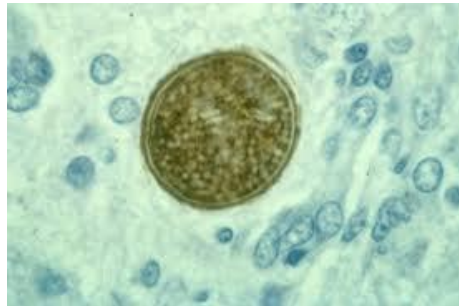
Etiología

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria producida por *Neospora caninum*, un protozoo intracelular obligado clasificado en el phylum Apicomplexa, clase Sporozoea, subclase

Coccidia, orden Eucoccidiida, suborden Eimeriina y familia *Sarcocystidae*, el cual causa abortos, mortalidad neonatal y el nacimiento de crías con deficiencia neuromusculares en bovinos (Dubey *et al.*, 2002, Peters *et al.*, 2000, Dubey, 1999, Dubey & Lindsay 1996).

Dentro del género *Neospora caninum*, se ha descubierto otra especie en caballos (*N. hughesi*) que presenta pequeñas diferencias a nivel molecular con *Neospora caninum*. A pesar de existir diversidad biológica y genética entre los aislamientos de *Neospora caninum* en bovinos y caninos, ambos son capaces de causar aborto en bovinos (Dubey & Schares, 2006; Barber, *et al.*, 1995).

Figura 1 *Vacuola de Neospora caninum.*



Fuente. Adaptado de Espinosa, 2021

Las estructuras morfológicas de *Neospora caninum* están conformadas por anillos polares, microtúbulos internos y conoides. Los organelos están formados por roptries y micronemas (Hemphyll *et al.*, 2006). Los estadios parasitarios reconocidos en su ciclo son: taquizoíto, bradizoíto y esporozoito (MacAllister *et al.*, 1998).

Ciclo Biológico

El ciclo biológico de este parásito, cumple con la participación de hospedadores definitivos e intermediarios que favorecen la diseminación del mismo, de igual modo, se identifica

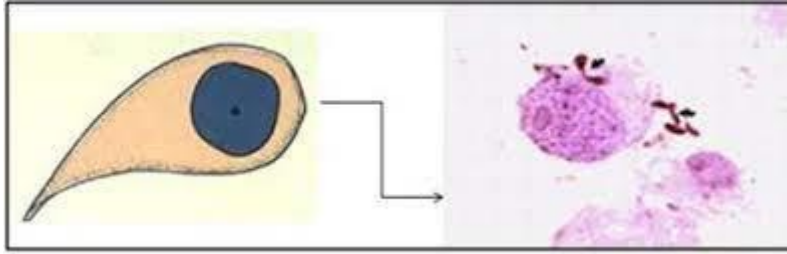
transmisión vertical y horizontal (Dubey, 2003, Basso *et al.*, 2001). Los hospedadores definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos de hospedadores intermediarios conteniendo quistes. La pared del quiste es degradada por los jugos gástricos liberando las formas parasitarias que iniciarán los estados entero-epiteliales (Dubey y Lindsay, 1996). En la transmisión horizontal, los perros se infectan por consumo de los ooquistes presentes en placentas y en fetos abortados de bovinos infectados (Miró, *et al.*, 1999).

Luego de realizar una fase de reproducción asexual y sexual en el intestino, los ooquistes son eliminados en las heces del hospedador definitivo (Dubey, *et al.*, 2002). La multiplicación asexual ocurre en el anfitrión intermedio, principalmente en el cerebro y médula espinal; como también pueden ubicarse en diversos órganos. El ciclo de vida está tipificado por tres etapas infecciosas: taquizoítos, quistes tisulares y ooquistes. Las etapas de taquizoítos y quistes tisulares se encuentran en los hospederos intermedios, estas formas parasitarias sobreviven intracelularmente (Morales, 2015).

Taquizoítos

En el hospedador intermedio es intracelular, generalmente a nivel citoplasmático, específicamente, en la vacuola parasitófaga de la célula del hospedero (Aycachi, 2005). Los taquizoítos han sido descritos en neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miocitos, células renales y hepatocitos (Oviedo., *et al.*, 2006).

Figura 2 *Taquizoíto de N. caninum*



Fuente. Adaptado de Álvarez, 2016

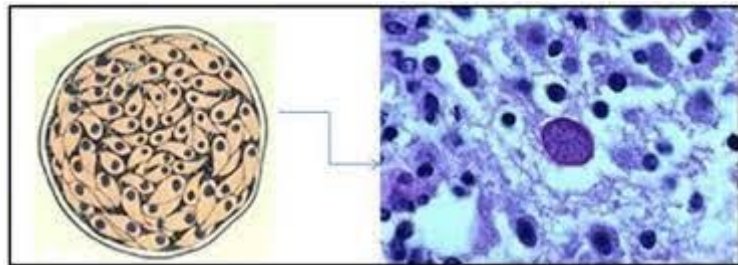
Quiste tisular o Bradizoitos

Los Bradizoitos se dividen lentamente, tienen forma de coma y están rodeados de una verdadera membrana formando un quiste, y parasitan diferentes células del organismo. El bradizoíto se presenta en conglomerados microscópicos envueltos por una pared llamados quistes, en el músculo o tejido infectado. Los quistes tisulares, solamente han sido observados en el tejido nervioso, sin embargo, se ha descrito el hallazgo de este estadio en el músculo ocular de un potrillo (Moore, *et al.*, 2001).

Los quistes tisulares usualmente son redondos u ovalados, llegan a tener hasta 107 μm de longitud. La pared tiene un grosor de hasta 4 μm . Algunos tejidos a parte del nervioso, especialmente los músculos, pueden contener quistes tisulares (Dubey, Schares & Ortega-Mora, 2007). Los quistes que se forman pueden contener hasta 200 bradizoitos alcanzando un número aproximado de 100 μm de diámetro con formas ovales o redondeadas; la pared de estos quistes poseen dos membranas: la externa, es densa y la otra interna es gruesa y con estructuras tubulares (Kang *et al.*, 2008).

Los taquizoitos y los quistes tisulares se encuentran en el huésped intermediario y ocurren en el interior de la célula, (Dubey, *et al.*, 2007). El enquistamiento también ayuda al microbio a dispersarse con facilidad, desde un huésped a otro o hacia un ambiente más favorable. Cuando el organismo enquistado alcanza un ambiente favorable para su crecimiento y supervivencia, la barrera quística se rompe, y el organismo se desenquista y madura en un bradizoito (Dubey y Lindsay, 1996).

Figura 3 *Estructura de un Bradizoito*



Fuente. Adaptado de Zambrano *et al.*, 2001.

Ooquistes

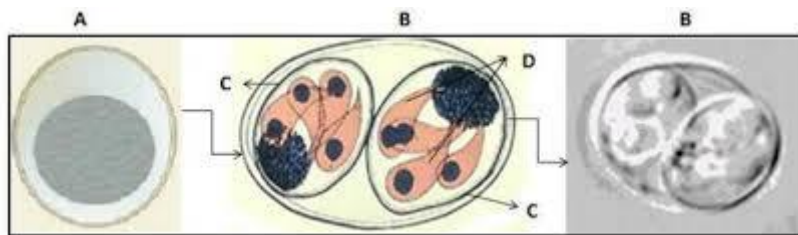
Es un estado que puede sobrevivir por largos períodos de tiempo fuera del hospedador por su alta resistencia a factores del medio ambiente. Existen dos tipos de ooquistes, los no esporulados, pueden medir entre 11.7 a 11.3 μm de diámetro, y los esporulados, los cuales contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoitos cada uno, que después de tres días de ser

eliminados y en condiciones medioambientales favorables pueden esporular, es decir, reventar y lanzar al ambiente el vector (Glauber, 2011).

Los ooquistes se excretan en las heces de perros y coyotes en una etapa no esporulada, al esporular pasan a su etapa infectante para el huésped intermediario (Dubey et al., 2007; Guimarães, Souza, Bergamaschi & Gennari, 2004). Estos oocistos llegan a esporular estando fuera del huésped definitivo en un periodo de 24 horas (Dubey & Schares, 2011). Y los ooquistes esporulados, son los que después de tres días en el medio ambiente contienen dos esporocistos con cuatro esporozoitos cada uno (Aycachi, 2005).

Los ooquistes tienen la llave en la epidemiología de la Neosporosis bovina en la adaptabilidad al medio ambiente (Neto *et al.*, 2011).

Figura 4 A) *Ooquiste sin esporular* B) *Ooquiste esporulado, contiene dos esporocistos (C) cada uno de ellos contiene cuatro esporozoitos (D).*



Fuente. Adaptado de Álvarez, 2016

Las tres fases del parásito, *N. caninum* (taquizoitos, bradizoítos y oocistos) participan en la transmisión del parásito. Los huéspedes definitivos se infectan al ingerir tejidos que contienen

bradizoítos, y los intermediarios probablemente se infecten por la ingestión de ooquistes esporulados presentes en el alimento o el agua de bebida (Dubey, *et al.*, 2007).

En el bovino, que opera como huésped intermediario, se desarrollan dos estadios: los taquizoitos y los bradizoitos. Los taquizoitos infectan y se multiplican rápidamente en neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miocitos, hepatocitos y células renales, invadiendo al feto por vía transplacentaria. Los taquizoitos pueden separarse a través del cuerpo e invadir las células de una variedad de órganos dando por resultado daño del tejido correspondiente (Dubey, *et al.*, 1995).

Los perros se infectan por consumo de los ooquistes presentes en placenta y fetos abortados de bovinos infectados (Benavides, 2013). Luego de la transmisión horizontal, se produce la fase de reproducción sexual, con la eliminación de ooquistes no esporulados en las heces, entre 8 y 14 días post-infección (McAllister, *et al.*, 1998). La reproducción asexual se produce en el hospedero intermediario, los bovinos principalmente, luego de ingerir los ooquistes esporulados presentes en agua o alimento contaminado con materia fecal de los caninos (Dijkstra, Barkema, Eysker & Wouda, 2001; Tunev, Mcallister, Anderson & Weiss, 2002). La infección de los animales ocurre principalmente en época de lluvia, ya que, la viabilidad de los ooquistes disminuye notablemente durante la estación seca y cálida. Los ooquistes en el tracto intestinal liberan los esporozoitos, que penetran las células entéricas para transformarse en taquizoitos. Estos taquizoitos dentro de la célula hospedadora se dividen por endodiogenia, multiplicándose y rompiéndola, para luego diseminarse hacia otras células del cuerpo y repetir el mismo mecanismo. Los taquizoitos pueden seguir su etapa de división o diferenciarse en bradizoitos que formaran los quistes tisulares. Tanto

los taquizoitos, como los bradizoitos se localizan principalmente en feto, placenta y tejido nervioso de la madre; sin embargo, los taquizoitos muestran mayor tropismo hacia las células del sistema nervioso central, células musculares de tipo esquelético y cardiaco, células endoteliales y la placenta (Wouda, 1998; Dubey, *et al.*, 1998; Barling, 2000).

Se ha demostrado la transmisión vertical, que se produce en el hospedero intermediario, sea herbívoro o carnívoro y se presenta frecuentemente en forma natural en los bovinos y los perros. En las vacas, es la ruta principal de la infección y la forma en que permanece dentro de los hatos lecheros; el 80 % de vacas seropositivas pueden infectar a sus crías (Wouda, 1998).

Transmisión

La vía más frecuente de transmisión de *N. caninum* es la transmisión vertical o endógena; pero también se da la transmisión horizontal o postnatal.

Vía horizontal

Esta se presenta cuando se transmite del huésped definitivo al huésped intermediario, mediante la contaminación de pasturas, concentrado y agua por heces y su posterior ingestión. Los perros se infectan por consumo de los ooquistes presentes en placentas y en fetos abortados de bovinos infectados (Dubey, *et al.*, 2003). En los perros, luego de la transmisión horizontal, se produce la fase de reproducción sexual, con la eliminación de ooquistes no esporulados en las heces, entre 8 y 14 días post-infección (McAllister *et al.*, 1998).

En ellos el parásito llega a su estado de madurez sexual en el intestino excretando a través de las heces el ooquiste formado al medio ambiente, contaminando así pasturas, alimento y el agua que consume el huésped intermediario y se infecta con los oocistos esporulados (Dubey,2003).

Vía vertical

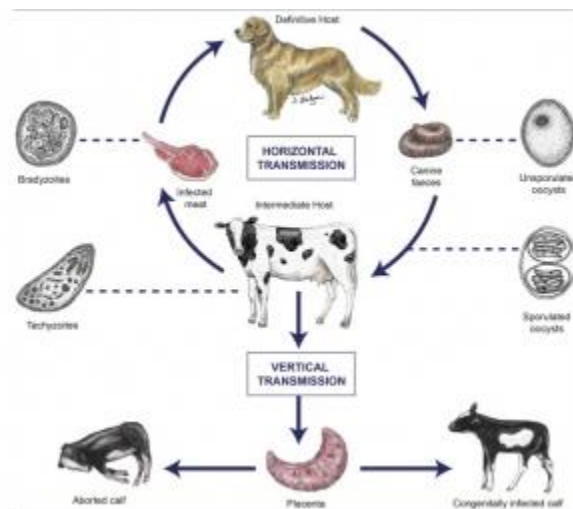
Ocurre cuando existe transmisión de la madre seropositiva a la cría en etapa de gestación. Los eventos que rodean a la transmisión vertical está dada de una generación a la siguiente, cuando un bovino es seropositivo a *N. caninum* puede permanecer así toda la vida pero en ocasiones presenta partos normales con crías vivas pero infectadas, los animales jóvenes tienen mayor riesgo de abortar en la primera gestación (Dubey *et al.*, 2007). Esta vía de transmisión puede aumentar la proporción de animales infectados dentro de los rebaños, y al parecer, la mayoría de los abortos endémicos y esporádicos en vacas por *N. caninum* son por una reactivación de una infección crónica, donde las vacas seropositivas tienen dos a tres veces más riesgo de abortar que las vacas seronegativas (Jara, 2010), y una altísima probabilidad (95,2%) de producir descendencia infectada (Davison *et al.*, 1999), permitiendo que la transmisión congénita sea la vía más importante para mantener la infección en un hato (Anderson *et al.*, 1997).

En bovinos la principal vía de transmisión es vertical o transplacentaria, caracterizándose por ser asintomática; en casos de presentarse sintomatología clínica la principal manifestación es el aborto, baja producción de leche, muerte de neonatos y pérdida de animales adultos (Dubey, *et al.*, 2002). Más del 80 % de las vacas seropositivas transmiten la infección a su descendencia siendo responsable de la perpetuación de la infección en el hato permitiendo que la infección se

mantenga en el rebaño durante varias generaciones (Dubey, Schares & Ortega–Mora, 2007; Dubey, Buxton & Wouda, 2006; Davison, *et al.*, 2001). Sólo son necesarios 300 ooquistes esporulados para infectar a una ternera (Gondim *et al.*, 2002).

La transmisión lactogénica es poco posible en condiciones naturales y parece no tener importancia epidemiológica (Ortega-Mora, *et al.*, 2003; Serrano, *et al.*, 2007). La transmisión por vía venérea es poco probable aunque se ha detectado ADN del parásito en semen bovino (Ferre, *et al.*, 2005; Buxton, McAllister & Dubey, 2002). En un estudio con unas vaquillas infectadas por inseminación intrauterina con semen congelado y descongelado contaminado con taquizoitos, no lograron desarrollar la infección (Dubey *et al.*, 2007).

Figura 5 *Ciclo biológico de N. caninum*



Fuente. Extraído de Rubiano & Murcia, 2015

Signos clínicos

En la Neosporosis el signo más importante en vacas de cualquier edad es el aborto, el cual sucede en cualquier etapa de la preñez, pero generalmente ocurre entre el cuarto y el quinto mes de gestación. Los fetos pueden morir en el útero, ser reabsorbidos, autolisados o nacer vivos pero débiles, adicionalmente se reporta momificación fetal, nacimientos prematuros, placentitis, disentería aguda y fiebre aguda por dos o tres días (Anderson *et al.*, 2000; Dubey, 2003; Björkman, 2003). Lo anterior dependerá del momento en que la madre se ha infectado, del tiempo en que se produce la reactivación de la infección crónica, de la magnitud de la parasitemia y de las características particulares de la cepa actuante. Aún no está claro si la intensidad de los signos clínicos depende de la cepa de Neospora o de factores propios del hospedero (McAllister y Latham, 2002).

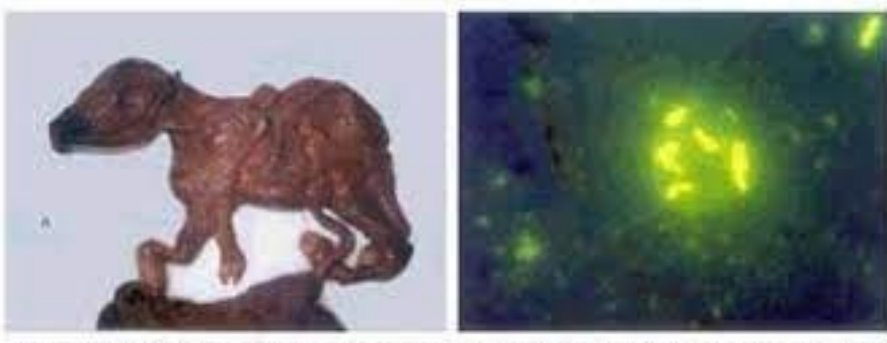
La fertilidad después del aborto no está afectada y los animales salen en celo normalmente. Entre el 5 y el 6% de estos animales pueden abortar de nuevo, produciéndose la repetición del aborto durante la gestación siguiente o en otras posteriores (Anderson *et al.*, 1995). Las vacas infectadas muestran una disminución en la producción de leche durante la primera lactancia, produciendo aproximadamente 1 litro menos de leche/vaca/día que las vacas no infectadas (Radostitis., *et al*, 2002).

Los terneros infectados en el útero pueden tener signos neurológicos y bajo peso al nacimiento (Barr, 1993). El examen clínico puede revelar ataxia, disminución del reflejo patelar o falta de sensibilidad propioceptiva y flexión o hiperextensión de miembros anteriores y/o

posteriores (Dubey, 1999). En terneros menores de 2 meses se describen signos como baja de peso o incapacidad para aumentar de peso; en algunos casos puede observarse exoftalmia o asimetría en los ojos (Dubey, 2003).

En los animales jóvenes las manifestaciones son múltiples, producto de la afectación de diferentes órganos y se caracteriza por ataxia moderada, tetraparálisis, convulsiones, rigidez muscular, dermatitis ulcerante, neumonía, anemia, disminución de peso (Obendorf et al., 1995). Los terneros y terneras infectadas vía vertical nacen clínicamente sanos y alrededor del 5% mueren (Muñoz et al., 2001). Los terneros que nacen vivos, en la medida que se van desarrollando pueden presentar signos nerviosos alrededor de los 50 a 60 días, como también, ataxia, bajos reflejos, disminución del peso, exoftalmia y extensión de los miembros (Venturini, 2009).

Figura 6 *Feto momificado (A) de una vaca con serología positiva (B) Reacción positiva a N. caninum. Inmunofluorescencia indirecta.*



Fuente. Extraído de Rivera, 2001

En los fetos abortados no se encuentran alteraciones macroscópicas aparte de la autolíticas y el aumento de los líquidos cavitarios. Los terneros muertos en el periparto pueden presentar,

además de subdesarrollo, desvíos de los miembros y la columna vertebral, hipoplasia del cerebelo o malformaciones de la médula espinal (Rosenberger, 2005).

Figura 7 *Feto Abortado por Neospora caninum*



Fuente. Extraído de Bovilis, 1999

Patogénesis

La patogenia en hembras gestantes es compleja y cualquiera que sea el origen de la infección generará una parasitemia que trae como consecuencia la infección fetal. El parásito invade las células del útero grávido provocando brotes de aborto, tanto en ganado infectado antes de la gestación, como en ganado infectado durante la gestación (Lindsay, Steimberg & Dubielzig, 1996). Las hembras infectadas serán seropositivas durante toda la vida, teniendo más probabilidades de abortar al llegar a adultas (Naguleswaran, Müller & Hemphill, 2003; Innes, *et al.*, 2001).

El proceso de invasión celular entre los apicomplexa es similar e incluye receptores de superficie y proteínas de micronemas, roptrias y gránulos densos que mediaran la adhesión a la superficie celular y la formación de vacuolas parasitóforas intracelulares y su posterior maduración (Dubey, *et al.*, 1999). Se ha informado que mediante PCR es posible detectar el ADN del parásito en sangre, lo cual demuestra la presencia del parásito de manera directa en animales vivos con infección (Buxton, McAllister & Dubey, 2002).

Posteriormente el taquizoito es reorientado y su porción apical se dirige hacia la célula uniéndose a ella. Las organelas empiezan a descargar su contenido en la vacuola parasitófora en formación (Hietala & Thurmond, 1999). El mayor daño patógeno parece ser debido a la rápida multiplicación de los taquizoitos en el interior de las células, fundamentalmente en células nerviosas, con lisis celular y focos de necrosis. Alrededor de estas áreas se produce una fuerte reacción inflamatoria, fundamentalmente de células mononucleares, la cual se produce incluso con escasa presencia del parásito. Por su parte los quistes tisulares no parecen causar gran daño tisular ya que no generan una respuesta inflamatoria (Lindsay, Steimberg & Dubielzig, 1996). Los eventos claves en la patogénesis de la neosporosis bovina involucran la recrudescencia de una infección persistente, el momento y la severidad de la parasitemia durante la preñez (Dubey, *et al.*, 1995).

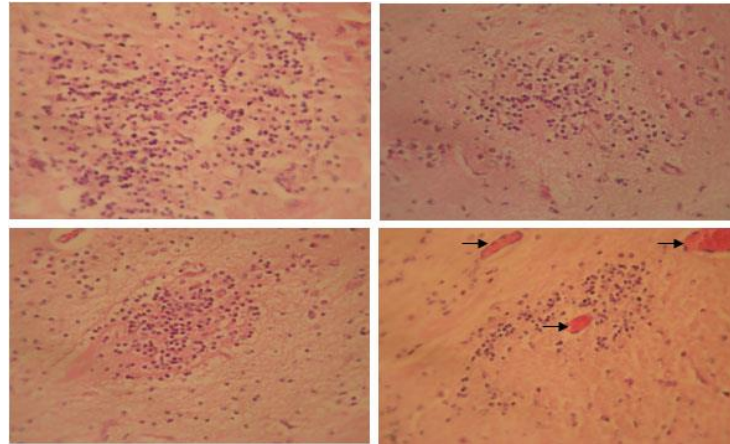
Los abortos debidos a *N. caninum* son causados por lesiones en la placenta y en el feto, que impiden su supervivencia, y por la liberación de prostaglandinas que provocan luteolisis y posterior aborto. También la liberación de citoquinas pro-inflamatorias que podrían provocar la expulsión fetal (Dubey, Buxton & Wouda, 2006). Antes de los 100 días de gestación el feto es incapaz de reconocer ningún patógeno, por tanto, debido a la inmadurez del sistema inmune, el

feto es más vulnerable a la infección durante la fase temprana de gestación, ocasionando muerte fetal. La mayoría de los abortos diagnosticados por neosporosis ocurren entre los 5 y 7 meses de gestación (Dubey, *et al.*, 1995). De este modo ocurre la muerte del feto, o el nacimiento de animales congénitamente infectados. Según avanza la gestación, la posibilidad de transmisión aumenta. Consecuentemente, si la infección se produce en la última fase de la gestación ocurre el nacimiento de terneros congénitamente infectados (Dubey, 2003). La invasión de los tejidos fetales, principalmente del sistema nervioso central, se localiza inicialmente alrededor de los vasos sanguíneos causando destrucción del neuropilo en los fetos menos desarrollados. En fetos más desarrollados que ya pueden defenderse del parásito, la multiplicación es más restringida y la necrosis se limita a focos con reacción inflamatoria intensa. También se puede presentar una meningitis leve y lesiones de órganos fetales como músculo esquelético, corazón, pulmón e hígado (Hietala & Thurmond, 1999).

Lesiones

Las principales lesiones son producidas en el sistema nervioso central evidenciando una encefalitis y a nivel placentario conllevando un proceso inflamatorio y necrosis focal. Destacándose la presencia de meningoencefalitis no supurativa, miositis necrosante, neuritis, necrosis hepática multifocal, atrofia de los músculos, necrosis multifocal, hidropericardio, edema subcutáneo, hidrotórax, hígado de color amarillo moteado con hemorragias difusas y friables, necrosis en medula espinal, artrogrifosis, inflamación del ciego, colitis hemorrágica, neumonía intersticial, adenitis adrenal y nefritis intersticial no supurativa focal (Sawada, *et al.*, 2000).

Figura 8 Cortes histopatológicos del cerebro de fetos bovinos provenientes del matadero. (A, B y C) se observa gliosis a nivel de cerebro, (D) además de un foco de gliosis se observan vasos sanguíneos congestionados (flechas).



Fuente. Tomado de Oviedo, Bustamante & Mejía, 2008

Diagnóstico

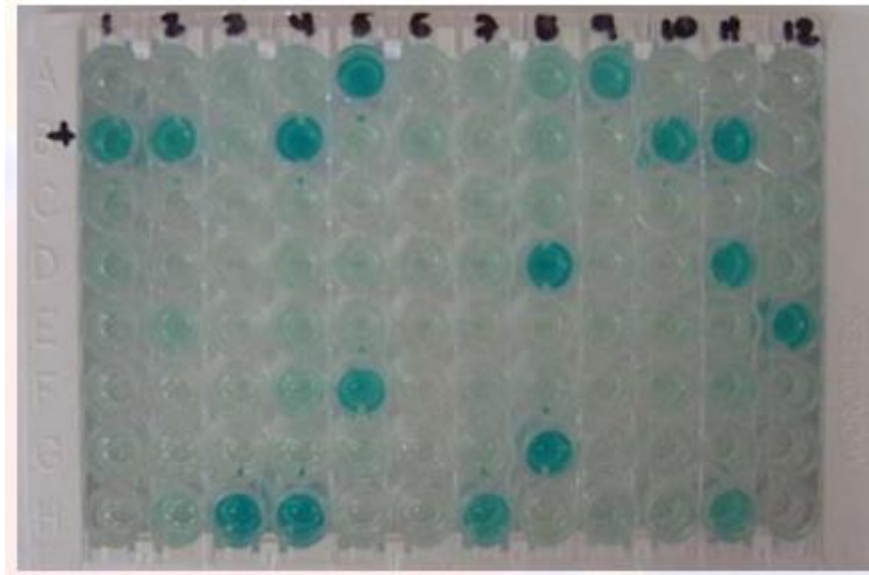
De manera similar a como se hace con otras enfermedades, el diagnóstico constituye la integración de los datos de la anamnesis, las características epidemiológicas y del entorno y la observación de signos clínicos y lesiones. Sin embargo, la confirmación definitiva debe hacerse mediante la identificación de anticuerpos séricos a *N. caninum* o bien de antígenos parasitarios (Sawada *et al.*, 2000). Se deben analizar el feto, y los sueros del feto y de la madre (Dubey, 2003). La identificación de *N. caninum* en los tejidos de fetos o terneros perinatales, mediante técnicas directas, ofrecen mayor certeza diagnóstico (Echaide, 2000).

La identificación de anticuerpos a *Neospora caninum* en un animal es indicativa de exposición al protozoo (Dubey, J.P., 1999). Diversas pruebas serológicas tales como: inmunofluorescencia indirecta (IFI), el enzima inmuno ensayo (ELISA) y la micro aglutinación (MA) han sido utilizadas para demostrar anticuerpos en el suero o en el fluido corporal de fetos (Martín y Díaz, 2017).

La serología fetal puede ser útil para el diagnóstico de infección congénita y abortos, junto a las demás pruebas. Sin embargo, por la gran frecuencia de nacimientos de terneros normales, pero con infección congénita, los resultados deben interpretarse con precaución. La ausencia de anticuerpos en fetos infectados puede deberse a la falta de inmunocompetencia (Betancur, C, 2011)

Figura 9 *Variación colorimétrica en sueros bovinos mediante test de ELISA a N*

caninum: Positivos (verde intenso) y Negativos (verde claro).

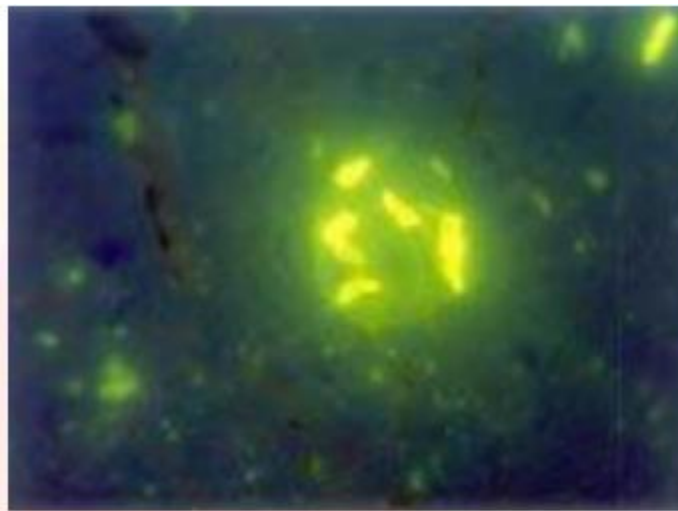


Fuente. Tomado de Oviedo, 2006

La prueba Inmunohistoquímica que usa los anticuerpos de *Neospora* es un método muy eficaz para identificar las etapas del quiste y del taquizoíto de los parásitos en tejidos fetales (Benavides, 2013). La confirmación definitiva debe hacerse mediante la identificación de anticuerpos séricos a *N. caninum* o bien de antígenos parasitarios. En tal caso, se debe enviar el feto completo y el suero de la madre para el diagnóstico (Dubey, 2003). Las pruebas de mayor valor confirmativo para el diagnóstico de neosporosis, en la actualidad, son los exámenes de histopatología, pruebas serológicas y por PCR. El diagnóstico histopatológico convencional es difícil por la similitud de *N. caninum* con *T. gondii* y *Sarcocystis sp* (Wouda, 1998). Las pruebas serológicas que se realizan son la inmunofluorescencia indirecta y ELISA, para las cuales se usa el suero o cualquier fluido del cuerpo del animal afectado (Dubey, 2003). Los resultados positivos establecen la infección con *N. caninum*, aun cuando, los resultados negativos no descartan la presencia de esta enfermedad (Pereira *et al.*, 1999; Dubey, 2003). Estas técnicas se basan en la

identificación de los anticuerpos, producto de la exposición al protozoo; con una alta sensibilidad y una baja especificidad (Lindsay, Steimberg & Dubielzig, 1996).

Figura 10 *Reacción positiva a N. caninum* (IFAT)



Fuente. Tomado de Rivera, 2001

Control y Prevención

Según Anderson *et al*, (2000) no hay un tratamiento efectivo para la neosporosis bovina, el control se basa en prevenir la transmisión y eliminar las vacas infectadas (Cebrián, 2003). Aún no existe información concluyente respecto a la eficacia de la vacuna muerta en reducir la infección fetal o abortos en vacas infectadas o en prevenir la infección post natal en vacas no infectadas. Sin embargo, estudios preliminares indican que la vacuna tiene la capacidad de reducir la incidencia de abortos, pero no genera protección contra la transmisión vertical del parásito (Valenzuela, 2005).

Por tanto las siguientes pueden ser las recomendaciones para el control y prevención. La primera medida de prevención y control es el monitoreo serológico de todos los animales del hato y las adquiridas a otros ganaderos, con la intención de reducir los animales seropositivos dentro del hato (Ortega-Mora, *et al.*, 2003).

Algunas medidas son:

- Realizar exámenes serológicos a las hembras para reposición, tanto las nacidas en el hato, como las adquiridas de otras ganaderías (Valverde, 2007).
- Eliminar las vacas seropositivas si la tasa de infección es baja, aunque la Neosporosis no intervenga en la tasa de abortos (Andresen, 2009).
- No dejar las hijas de vacas seropositivas para reposición dado su alto riesgo de ser congénitamente infectadas. (Moore, *et al.*, 2001).
- Si no es posible la eliminación de animales, separar las vacas seropositivas con abortos que tienen crías seropositivas primero y luego las vacas seropositivas con antecedentes de aborto y por ultimo vacas seropositivas.
- En los hatos ganaderos donde se realiza Transferencia de embriones, se debe comprobar que las donantes y receptoras sean seronegativas (Valverde, 2007).
- Cuando hay abortos por segunda vez es preferible descartar al animal, ya que va a presentar el problema durante toda su vida reproductiva.
- Dejar para reposición solo terneras nacidas de vacas seronegativas.

Con relación a la transmisión horizontal, siendo el perro el único hospedador definitivo, se sugiere:

- Eliminar los fetos, fluidos y placentas evitando que puedan ser ingeridos por los perros.
- Tratar de controlar que los perros contaminen las pasturas, raciones o aguadas con sus heces (Andresen, 2009).
- Desinfección de los materiales contaminados por el aborto.
- Controlar y disminuir en lo posible el contacto de perros con lugares de alojamiento de otros animales (Gondim, *et al.*, 1999).
- Es necesario realizar desparasitaciones a todos los perros de la granja y también realizar exámenes serológicos 2 veces al año para asegurar la seronegatividad de la neosporosis dentro de la granja.

Contexto en América latina y Colombia

En América latina se reportó un trabajo hecho en Brasil en 1999, donde se estudiaron 447 bovinos provenientes de 14 fincas lecheras en donde se detectó un 14,09 % de seropositividad, indicando que la infección por *N. caninum* está ampliamente en el ganado lechero (Moore, *et al.*, 2002). En el 2002, Corbellini reporta una prevalencia del 23,3 % en vacas Holstein con antecedentes de aborto y de un 8,3 % en aquellas sin historial de aborto (Osawa, *et al.*, 2002).

En el 2002 se reportaron infecciones por Neosporosis en Argentina con una prevalencia de 16,6 % de aborto en animales sin antecedentes de aborto y de 43,1 % en aquellos que manifestaron antecedentes de aborto (García-Vázquez, *et al.*, 2002). En Paraguay se encontró un 29,8 % de bovinos seropositivos a *N. caninum* (Silva, Chavez, Rivera & Casas, 2002). En México se determinó un 59 % de prevalencia de la enfermedad (Romero & Frankena, 2003). En Perú, se reportó un 78 % de los hatos infectados por Neosporosis (Quevedo, *et al.*, 2003). En Costa Rica, un estudio realizado por Romero y Franquena en 2003 mostraron la seroprevalencia dentro de rebaños en 20 fincas lecheras con antecedentes epidemiológicos de seropositividad de *N. caninum* entre 25 % y 70,5 % (Antony & Williams, 2001).

En Colombia la presencia de *N. caninum* se comenzó a sospechar a finales de la década de los 90, en 1998 y 1999 se realizó un muestreo en hatos con problemas reproductivos y se reportó la primera reactividad serológica al agente por medio de la técnica de ELISA (Dubey, 1988; Álvarez, Collantes & Gómez-Bautista, 1999). En ese primer reporte nacional se evaluaron 357 sueros bovinos procedentes de 74 fincas que tenían problemas reproductivos, con aborto en diferentes etapas de la gestación y para los cuales no fue posible definir un diagnóstico serológico para Brucelosis, Leptospirosis, IBR y DVB. De las 357 muestras examinadas, 193 resultaron positivas para *N. caninum*, lo que corresponde a una prevalencia de 54,1 % (Hietala & Thurmond, 1999).

Se han realizado varios estudios en diferentes regiones, que han demostrado la presencia del parásito. En el Amazonas se encontró una prevalencia del 40,4 % en bovinos de raza Brown swiss (Reyes-Sandoval, *et al.*, 2021); en Fredonia (Antioquia) una prevalencia entre 34,6 % y 39,2

%, en animales de raza Holstein y Angus, respectivamente (Hall, Reichel & Ellis, 2005) y en el municipio de Montería (Córdoba) en el 2007 encontraron 10,2 % de bovinos positivos a *Neospora caninum* que además tienen reporte de aborto y momificaciones (Obando, Bracamonte, Montoya & Cadenas, 2010). En Caquetá en el 2014, se investigaron siete predios para determinar la prevalencia de *N. caninum* en bovinos y bufalinos y los resultados mostraron una mayor prevalencia de anticuerpos en bufalinos que en bovinos con 45,4 % y 12,5 % respectivamente (Motta, Clavijo, García & Abeledo, 2014). En Sogamoso (Boyacá) en el 2013, se determinó una prevalencia de 57,5% de 400 hembras bovinas muestreadas (Motta, Clavijo, García & Abeledo, 2014). En el 2013 en Pasto (Nariño) se reportó una prevalencia a *N. caninum* de 76,9 % (Zambrano, *et al.*, 2001).

El Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, estableció en la resolución 3714 de 2015 el listado de las enfermedades, infecciones e infestaciones de animales de declaración obligatoria en Colombia (ICA, 2015).

★ Entre las enfermedades que tienen que ser declaradas al ICA están:

- Carbunco Bacteridiano
- Cowdriosis
- Encefalitis japonesa
- Fiebre azul
- Diarrea viral bovina
- Viruela ovina y viruela caprina
- Muermo

- Enfermedad hemorrágica epizoótica

★ Las enfermedades de control oficial continúan siendo las mismas:

- Fiebre Aftosa.
- Estomatitis vesicular (EV)
- Brucelosis bovina (*Brucella abortus*).
- Tuberculosis bovina (*Mycobacterium bovis*).
- Rabia silvestre.
- Encefalitis Equina Venezolana (EEV)
- Enfermedad de Newcastle.
- Salmonelosis aviar (Pulorosis: *Salmonella pollorum*, Tifosis aviar: *Salmonella gallinarum*).
- Peste Porcina Clásica (PPC)

METODOLOGÍA

Con este proyecto se buscó establecer la presencia de Neosporosis en ganado lechero evidenciando serológicamente la presencia de anticuerpos frente a *Neospora caninum* en 15 fincas del municipio de Tenjo en el departamento de Cundinamarca.

Obtención de la muestra: Se seleccionaron diez vacas al azar, en cada una de las quince fincas de lechería especializada incluidas en el estudio. Además, se muestrearon todas las vacas de una de las unidades de producción incluidas en el grupo, en el Municipio de Tenjo (Cundinamarca).

Se tomaron muestras de sangre de la vena coccígea de los animales seleccionados. Las muestras de sangre se centrifugaron y el suero obtenido fue almacenado a 4 °C hasta su análisis. Los sueros fueron analizados para la detección de anticuerpos frente a *N. caninum* usando el kit comercial ELISA Herdcheck® de laboratorios IDEXX S.A. (EEUU), según las indicaciones de la casa comercial.

Los registros sanitarios ofrecen datos sobre los agentes que cotidianamente están vinculados a abortos en los sistemas de producción de ganadería de leche. Las enfermedades de declaración obligatoria reportadas por la Organización mundial de la salud animal (OIE) son; Anaplasmosis bovina, Campilobacteriosis genital bovina y Diarrea viral bovina. (OIE, 2018). La *Neospora caninum* es la principal enfermedad abortiva de orden parasitario, aun así no es una enfermedad de declaración obligatoria por lo que es muy difícil hallar cifras que nos den un aproximado de abortos bovinos en Colombia a causa de esta patología.

Prueba de ELISA

Para la detección de anticuerpos específicos contra *N. caninum* se empleó la técnica de ELISA competitiva para lo cual se utilizó el kit de la casa comercial VMRD (*NEOSPORA CANINUM* ANTIBODY TEST KIT, cELISA); este competitivo ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (cELISA) detecta anticuerpos contra *Neospora caninum* en suero bovino. Todo el proceso se realizó en el laboratorio de Biología Molecular de la Facultad de Medicina Veterinaria, sede Bogotá, de la Universidad Antonio Nariño.

Procedimiento:

Se almacenaron las muestras a una temperatura entre 4 °C, luego se aclimatan los reactivos, controles (Positivo y Negativo), y las muestras a ser procesadas; se colocó 50 ul de controles (Positivo y Negativo) y de los sueros en la placa de microelisa, se agitó y se cubrió con papel aluminio procediendo a incubar la placa por una hora a temperatura ambiente (21-25°C). Después de la hora de incubación se lavó 3 veces con la solución de lavado, (290 ul) por cada pocillo. Conjugado: se adicionó 50 ul del diluido del conjugado por cada pocillo y se incubó la placa por 20 minutos a temperatura ambiente (21-25C). Después de la incubación de 20 minutos se repitió el lavado. Sustrato: se colocó 50ul de la solución de sustrato y se incubó por 20 minutos. Inmediatamente luego de adicionar la solución Stop se leyó en un filtro de 620 nm. Se imprimieron las densidades ópticas y se procedió a realizar los cálculos. Validando con la prueba de Control Negativo: $DO \geq 0.30$ y < 2.50 y Control Positivo: $> 30\%$. Los criterios de interpretación de la prueba de *Neospora caninum* según el fabricante son: Positivo: $\% I \geq 30$ y Negativo: $\% I < 30$.

Análisis de resultados:

El análisis estadístico de los resultados (positivos y negativos), fueron procesados mediante el programa estadístico SPSS 19 con la finalidad de determinar la frecuencia y factores asociados.

RESULTADOS

En la presente investigación se tomaron 150 muestras de sangre de bovinos, de los cuales el 48% (72/150) resultaron seropositivos frente a *Neospora caninum*, mientras que el 52% (78/150) fueron negativos (ver tabla 1).

Tabla 1 *Frecuencia de Neospora caninum*

Categoría	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa
Positivo a <i>N. caninum</i>	72	48%
Negativo a <i>N. caninum</i>	78	52%
Total	150	100%

Datos obtenidos en la investigación de campo

Fuente. Elaboración propia

Las encuestas que realizamos en las fincas muestreadas nos arrojaron resultados útiles para el proyecto. Se evidencio que el 80% de las fincas hacen disposición de los fetos abortados

enterrándolos y el otro 20% dejan que los caninos dispongan de los cadáveres. La placenta de vacas recién paridas las entierran en un 60% y un 33% se las comen los caninos de la finca o aves carroñeras (ver tabla 2). Las vacas que abortan por segunda vez o más, son destinadas a matadero el 40% y un 53% se quedan en la misma finca. De las fincas muestreadas un 7% no presento problemas de abortos durante el año (2015). De los fetos abortados no se envían muestras para patología en ninguna de las fincas muestreadas.

De las quince fincas muestreadas para el proyecto, solo el 20% son libres de Brucelosis y el 33% llevan a cabo un plan vacunal para IBR (Rinotraqueitis Infecciosa Bovina), Leptospirosis y DVB (Diarrea Viral Bovina). Todas las fincas vacunan contra Brucelosis como lo indica el ICA.

Tabla 2 *Disposición de fetos y placentas de bovinos*

Destino	Enterrado		Otros	
	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa
Fetos	12	80%	2	13%
Placentas	9	60%	5	33%

Datos obtenidos en la investigación de campo

Fuente. Elaboración propia

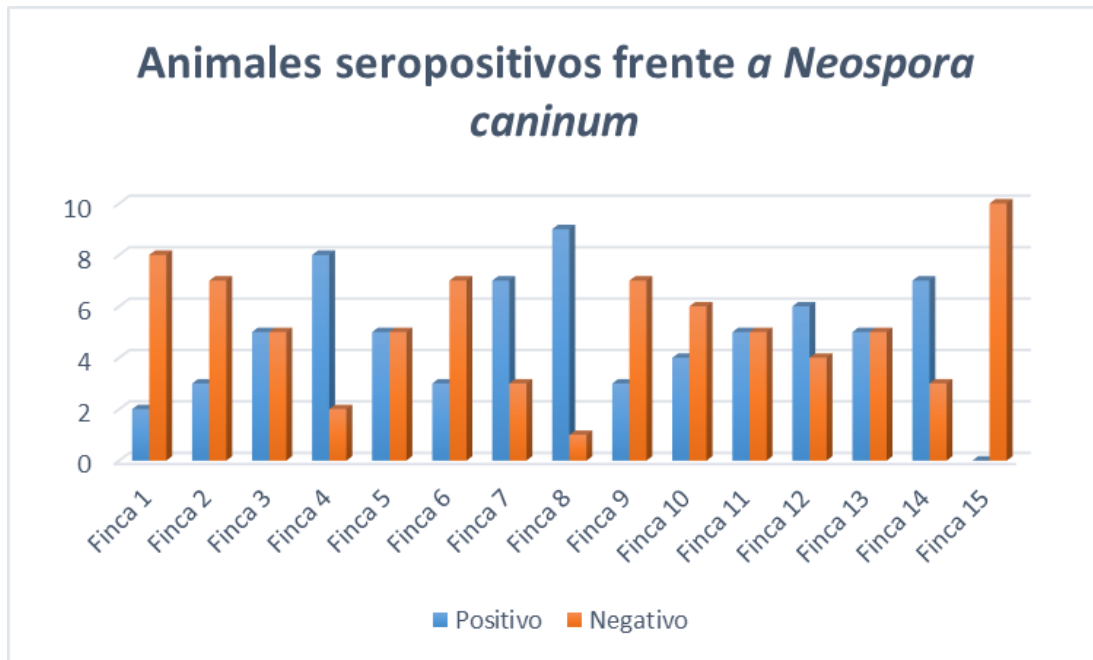
En todas las fincas encontramos caninos propios del lugar y otros que llegan de fincas vecinas. El pastoreo es la forma más utilizada para alimentar el ganado bovino, acompañado en la mayoría de los casos de alimento concentrado comercial; en un 40% lo complementan con ensilaje

y otro 13% con pasto de corte o subproductos como el ponqué, melaza, semilla de algodón o afrecho de cebada. Como fuente de agua para el consumo del ganado bovino, el 99% de las fincas usan pozos profundos. En promedio se observó que se presentan 3 abortos al año en vacas entre los tres y seis meses de gestación.

Interpretación de resultados: Las muestras de suero con valores S/P mayores o iguales a 0,5 son consideradas positivas a la presencia de anticuerpos frente a *N. caninum*. El análisis estadístico de los resultados (positivos y negativos), fueron procesados mediante el programa estadístico SPSS 19 con la finalidad de determinar la frecuencia y factores asociados.

Con los resultados de las muestras hemos observado que el 48% de los bovinos muestreados fueron positivos a la presencia de anticuerpos frente a *N. caninum*. Cuatro de las fincas muestreadas mostraron más del 50% de seropositividad frente a *N. caninum*; de las cuales 3, solo vacunan contra Brucelosis y Aftosa, con un promedio de 2 abortos por año, entre los tres y seis meses de gestación. Lo anterior dependerá del momento en que la madre se ha infectado (Anderson et al., 2000; Dubey, 2003; Björkman, 2003), del tiempo en que se produce la reactivación de la infección crónica, de la magnitud de la parasitemia y de las características particulares de la cepa actuante.

Gráfica 1 *Seropositividad de anticuerpos frente a Neospora caninum en el ganado bovino de la zona de Tenjo / Cundinamarca*



Datos obtenidos en la investigación de campo

Fuente. Elaboración propia

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La Neosporosis Bovina es considerada una de las principales causas de abortos en el ganado vacuno en todo el mundo. Se caracteriza principalmente por provocar abortos, el nacimiento de becerros clínicamente sanos pero persistentemente infectados o el nacimiento de becerros débiles y con signos clínicos nerviosos.

Entre los años 2005 y 2009 la Federación Colombiana de Ganaderos realizó análisis de muestras de más de 2000 animales en distintos departamentos con el fin de encontrar la presencia de la enfermedad encontrando una seropositividad del 37% (Fedegán, 2018). En el Amazonas donde se encontró una prevalencia del 40,4% en bovinos de raza Brown swiss (Quevedo *et al.*,

2003); en Fredonia (Antioquia), estuvo entre 34,6% y 39,2%, en animales de raza Holstein y Angus, respectivamente (López *et al.*, 2007) y en el municipio de Montería (Córdoba) Oviedo *et al.*, en el 2007, encontraron 10,2% de vacas positivas que además tienen reporte de aborto y momificaciones.

Entre el 2010 y 2011 se realiza diagnóstico de enfermedades reproductivas gracias a un estudio realizado por el Instituto Colombiano Agropecuario resultando una prevalencia estimada al 37% correspondiente a neosporosis bovina (Girata, 2016). En el 2014 se realizó un estudio en Sopó, Cundinamarca tomando muestras de 397 animales obteniendo un resultado de seropositividad del 21,26% (García, Moreno & Cruz, 2014).

En el municipio de Tenjo aún no se han publicado estudios de la seropositividad de *N. caninum* en la región. Con este proyecto esperamos estimar un promedio de bovinos contagiados con *N. caninum*, evidenciando que el 48% de los animales muestreados salieron positivos. Con respecto a los demás estudios publicados podemos notar que en el municipio de Tenjo la seropositividad con respecto a *N. caninum* es alta. Cabe aclarar que el número de fincas muestreadas fue limitado debido a factores socioeconómicos por lo que sólo se logró muestrear 15 fincas del municipio de Tenjo (Cundinamarca), donde los ganaderos que aceptaron ser muestreados colaboraron con un porcentaje del costo de la investigación.

En el análisis se observó que las fincas con más casos de bovinos seropositivos reportan abortos entre los tres y seis meses de gestación, este resultado concuerda con Moore, Odeón, Venturini & Campero (2005) y Mainato (2011) quienes afirman que las hembras seropositivas

abortan en su mayoría en el tercio medio de gestación. Con respecto a los resultados de la encuesta las vacas que abortan en su mayoría siguen viviendo en las fincas, lo cual favorece la perpetuación de la infección en el hato permitiendo que se mantenga en el rebaño durante varias generaciones . También se observó que en la mayoría de fincas tienen más de tres perros que conviven con el ganado bovino. En este sentido, Cotrino en el 2003, dice que todo animal infectado con *Neospora caninum*, comienza a eliminar este protozooario por materia fecal para equilibrar las cargas parasitarias dentro del organismo.

Según esto se podría considerar la posibilidad de que caninos infectados por el parásito, lo eliminen por las heces y ello posibilita la posterior contaminación del bovino al consumir el alimento y agua contaminados. De este modo, los bovinos serían infectados con la consecuente presentación de problemas reproductivos tales como abortos, mortinatos, entre otros. Además, se puede concluir que aun cuando el 80% de las fincas disponen de los fetos bovinos enterrándolos son seropositivas a *N. caninum* lo que puede dar a suponer que no se están enterrando a una profundidad adecuada para que los caninos no lleguen a sacarlos.

De igual manera Cornejo, 2004 señala que la presencia permanente de caninos domésticos e incluso silvestres, dentro de los hatos es la principal complicación ya que estos pueden eliminar el protozooario de forma intermitente o continua. Según Puray y colaboradores (2016) esta variable está acompañada de aspectos de manejo, pues la ausencia de control de los desechos biológicos que acompañan al parto o aboro en bovinos, permitir el consumo de los tejidos infectados (terneros muertos, placentas, fetos) por los perros y contribuye a la contaminación constante del alimento y el agua.

La prevalencia e incidencia obtenida en este estudio concuerda con Girata (2016) que menciona que el tipo de ganadería más afectada es la de lechería con una prevalencia de 54,1% de positividad utilizando la técnica ELISA. Por otro lado, Guimarães y colaboradores en el 2014, afirman que las hembras de raza Holstein tienen mayor posibilidad de ser seropositivas frente a *Neospora caninum*, componente racial presente en los animales muestreados en nuestro estudio.

Cotrino en el 2015, reporta que en un estudio realizado entre febrero 2003 – diciembre 2004 en 13 fincas de la sabana de Bogotá y una de Ibagué, donde se evaluaron 985 vacas, se les realizó la prueba de ELISA indirecto para evaluar diversos tipos de etiologías asociadas a abortos; se evidenció que la Neosporosis frente a otras patologías (Brucella, Leptospira, DBV, IBR e Idiopáticos) tuvo mayor número de casos positivos. Este resultado coincide con nuestra investigación, si consideramos que las fincas incluidas en nuestro estudio, cuentan con las vacunas relacionadas al denominado complejo reproductivo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Al analizar la seropositividad de Neosporosis Bovina en diferentes fincas del municipio de Tenjo Cundinamarca, se determinó que es elevada comparada con la reportada en varios estudios realizados en el país, lo que sugiere la necesidad de establecer programas de control y prevención para mejorar la calidad de vida del ganado bovino y tener un buen manejo sobre el parásito.

Con este estudio esperamos generar un gran impacto a nivel social, ya que en el municipio de Tenjo Cundinamarca no se había reportado anteriormente la presencia de anticuerpos frente a *Neospora caninum* y por tal razón no existían registros o información de este parásito en los hatos lecheros. Beneficiando tanto a los productores como a las diferentes entidades (agremiaciones de productores, autoridades sanitarias y entes municipales) encargadas de llevar registro del estado sanitario y productivo del ganado bovino de este municipio.

La transmisión vertical es la forma de mantener a *Neospora caninum* en un hato durante periodos prolongados incluso en ausencia de perros, por tanto se recomienda realizar controles serológicos a todas las hembras de reproducción y las de reposición para ir descartando gradualmente las seropositivos para llegar a un hato libre de neosporosis bovina. Se recomienda evitar la presencia de animales infectados en razón a la transmisión vertical que se puede dar y tener un manejo correcto de fetos y placenta, provenientes de madres infectadas.

En la actualidad no existe ningún reporte sobre el control efectivo y la eliminación del protozoario *Neospora caninum* en el hospedero ni definitivo ni intermediario, por lo que se considera, como mejor medida profiláctica evitar que el canino este cerca del hato e impedir la convivencia con los bovinos y así minimizar la contaminación fecal con la posible presencia de ooquistes que contaminen el agua y el alimento. Se recomienda que cada finca del municipio de Tenjo Cundinamarca, estime los factores de riesgo planteados en este estudio para hallar los más influyentes, y replantear el protocolo de manejo que mejor se acople a cada predio.

Para un próximo estudio se recomienda tener en cuenta variables como edad del animal muestreado, estado reproductivo, tiempo de gestación, época del año donde más se presentan abortos, retención de placentas, partos distócicos y procedencia de animales que lleguen a la finca, además de coleccionar muestras fecales de los perros que habiten con el ganado bovino para descartar la presencia del parásitos en estas especies. Esto para tener un mejor análisis de *Neospora caninum* como principal causante de abortos en bovinos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguiar, D., Cavalcante, G., Rodrigues, A., Labruna, M., Camargo, L., Camargo, E,... & Gennari, S. (2006). Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. *Veterinary Parasitology*, 142(1-2), 71-77.

Álvarez, D. (2016). *Neospora caninum* y sus alteraciones sobre la salud reproductiva bovina. Corporación Universitaria Lasallista. Medellín, Colombia.

Antony, A., & Williams B. (2001). Recent advance in understanding the epidemiology of *Neospora caninum* in cattle. *New Zealand veterinary Journal* 49: 42 -47.

Basso, W., Venturini, L. Venturini, M. Moore, D. Rambeau, M. & Unzaga, J. (2001). Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. *J. Parasitol.* 87: 906- 907.

Benavides B. (2013) Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in dairy cattle herds in the municipality of Pasto, Colombia. *Rev MVZ Córdoba*;18(1):3311-3316.

Calzada, P., Morales, E., Quiroz, G., Salmeron, F., García, C., & Hernandez, J. (2002). Valores hematológicos en vacas de raza Holstein-Friesian seropositivas a *Neospora caninum* de la cuenca lechera de Tzayyuza, Hidalgo, Mexico. *Veterinaria México* 33(2).119-123.

Cardona, A. Martinez, Y. & Betancur, C. (2015). seroepidemiología de hembras bovinas naturalmente infectadas por *Neospora caninum* en Córdoba, Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 18 (2): 401 – 408.

Fedegan. (2018).. Carta Fedegan 144: Foros “Ganadería Regional Visión 2014-2018” La ganadería pasa al tablero en todo el país. <http://www.fedegan.org.co/carta-fedegan-144-foros-ganaderia-regional-vision-2014-2018-laganaderia-pasa-al-tablero-en-todo-el>

Cedeño , D., & Benavides B., (2013). Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in dairy cattle herds in the municipality of Pasto, Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 18(1), 3311.

Contreras A, Figueredo G, Carrillo A. (2012) Actualización de la Neosporosis bovina. *Fac Cien Agra*; 2(1): 1789-232

Dijkstra, T., Barkema, H. Eysker, M. & Wouda, W. (2001). Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *Inter. J. Parasitol.* 31: 209-215.

Dubey, J. (2005). Neosporosis in Cattle. *Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice*, 21(2), 473-483.

Dubey, J.(2003). Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*.41(1)1-16.

Dubey, J. Buxton, D. & Wouda, W. (2006). Pathogenesis of Bovine Neosporosis. *Journal Of Comparative Pathology*, 134(4), 267-289.

Dubey, J., & Schares, G. (2011). Neosporosis in animals—The last five years. *Veterinary Parasitology*, 180(1-2), 90-108.

Dubey, J., Janovitz, E., & Skowronek, A. (1992). Clinical neosporosis in a 4-week-old Hereford calf. *Veterinary Parasitology*, 43(1-2), 137-141.

Dubey, J., & Lindsay, D. (1993). Neosporosis. *Parasitology Today*, 9(12), 452-458.

Dubey, J. Bryan,L. Gajadhar, A. & Haines, D. (1994). Bovine neonatal encephalomyelitis associated with a *Neospora* sp. Protozoan. Brief commnicatios. *The Canadian Veterinay Journal*. 35(2), 111-113.

Dubey, J., Schares, G., & Ortega-Mora, L. (2007). Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(2), 323-367.

Dyer, J., Jenkins, M., Kwok, O., Douglas, L. & Dubey, J. (2000). Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Veterinary Parasitology* .90(1),171-181.

Escalona J., García F., Mosquera O., Vargas F., & Corro A. (2010). Factores de riesgo asociados a la prevalencia de Neosporosis bovina en el municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Zoot Trop*, 28(2):201-211.

Fávero, J., Da Silva, A., Campigotto, G., Machado, G., Daniel de Barros, L. Garcia, L, ... & Mendes, R. (2017). Risk factors for *Neospora caninum* infection in dairy cattle and their possible cause-effect relation for disease. *Microbial Pathogenesis*, 110(1)202-207.

García-Vázquez Z., Cruz-Vázquez C., Medina-Espinoza L., García-Tapia D., & Chavarria-Martinez B. (2002). Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, Mexico. *Vet Parasitol*. 106(2):115-20.

García, F., Moreno, G. & Cruz A. (2014). Prevalencia de *Neospora caninum* y DVB en una finca con problemas reproductivos en Sopó (Cundunamarca). *Ciencia y agricultura*. 11(1) .10-14.

Girata, J. (2016), Estudio zootécnico de la neosporosis bovina: análisis teórico de orientación para los ganaderos de Santander y Boyacá. Universidad Nacional abierta y a distancia, Bucaramanga, Colombia.

Gondim L., McAllister M., Pitt W., & Zemlicka D. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 2004; 34:159–161

Guimarães, J., Souza, S., Bergamaschi, D., & Gennari, S. (2004). Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 124(1-2), 1-8.

Gutierrez J., Cruz C., Medina L., Valdivia A., Islas E., & García Z. (2007), Factores de manejo asociados con la seroprevalencia a la infección por *Neospora caninum*, en ganado lechero de Aguascalientes, México. *Veterinaria México*, 38 (3), 261-169.

Hall C., Reichel M., & Ellis J. (2005) *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Vet Parasitol*; 128:231-241.

Innes E., Wright S., Maley S., Rae A., Schock A., Kirvar E., Bartley P., Hamilton C., Carey I., & Buxton D. (2001). Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *Int J Parasitol*. 31(13):1523-34.

Jensen A., Bjorkman C., Kjeldsen A., Wedderkopp A., Willadsen C., Ugglå A., & Lind P. (1999). Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 40 (1), 151-163

Jiménez C. & Zambrano, J. (2012). Enfermedades que afectan la reproducción bovina en Colombia, no sujeta a control oficial. ICA 1(2) 53-57).

Kul O., Kabakci N., Yildiz K., O'Cal N., Kalender H., & Ilkme N. (2009). *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: The first clinical neosporosis report in Turkey. Vet Parasitol; 159:69-72.

León E. & Duffy, S.(2006). Pruebas diagnósticas: principios y métodos para su evaluación e interpretación. Recuperado de https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp6_cap_zoonosis2006_leon_corregido.pdf

López V., Restrepo M., Restrepo M., Lotero M., Murillo V., Chica A., &...Giraldo, J.(2007). Estudio para evidenciar la prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de la Hacienda San Pedro en el municipio de Fredonia. Revista CES. 2(1).8-19

McAllister M., Dubey J., Lindsay D., Jolley W., Wills R., & McGuire A. (1998) Dogs are definitive host of *Neospora caninum*. Int J Parasitol; 28:1473–1478.

Manual Terrestre: OIE - World Organisation for Animal Health. (2018). Oie.int. Retrieved 14 <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-terrestre/>

Mainato S. (2011). Neosporosis bovina. Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador

Moore D., Odeón A., Verturini M., & Campero, C., (2005). Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación. *Revista argentina de microbiología*, 37(1).218-225

Medina E., Cruz-Vázquez C., Quezada T., Morales S., & García-Vázquez Z. (2006) Survey of *Neospora caninum* infection by nested PCR in aborted fetuses from dairy herds in Aguascalientes, Mexico. *Vet Parasitol*; 136:187-191.

Moore D., Campero C., Odeón A., Posso M., Cano D., Leunda M., Basso W., Venturini M., & Späth E. (2002). Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Vet Parasitol*. 107(4):303-16.

Moore D. (2005). Neosporosis in South America. *Veterinary Parasitology*, 127(2), 87-97.

Moreno, A. López, S. & Corcho A. (2000). Principales medidas en epidemiología. *Salud pública de México*. 42(4), 342,344.

Motta J., Clavijo J., Waltero, I. & Abeledo M. (2014). Prevalencia de anticuerpos a *Brucella abortus*, *Leptospira sp.* & *Neospora caninum* en hatos bovinos y bufalinos en el Departamento de Caquetá, Colombia. *Revista de Salud Animal*.36(2)80-89.

Naguleswaran A., Müller N., & Hemphill A. (2003). *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*: a novel adhesion/invasion assay reveals distinct differences in tachyzoite-host cell interactions. *Exp Parasitol.* 104(3-4):149-58.

Nasir A., Lanyon S., Schares G., Anderson M., & Reichel M. (2012) Sero-prevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in South Australian beef and dairy cattle. *Vet Parasitol* 2012;186:480-485.

Obando C, Bracamonte M, Montoya A, & Cadenas V. (2010). *Neospora caninum* en un rebaño lechero y su asociación con el aborto. *Rev Cient FCV-LUZ.* 20(3):235-239.

Ortega-Mora L., Ferre I., Del-Pozo I., Caetano-da-Silva A., Collantes-Fernández E., Regidor-Cerrillo J., Ugarte-Garagalza C., & Aduriz G. (2003). Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. *Vet Parasitol.* 117(4):301-8.

Ortiz D., Sanchez A., Tobon J., Chaparro Y., Cortes S. Gutierrez M. (2016). Seroprevalence and risk factors associated with bovine leukemia virus in Colombia. *Journal Of Veterinary Medicine And Animal Health*, 8(5), 35-43.

Oviedo, T. Betancur, C. Mestra, A. González, M. Reza, L. & Calonge, K. (2007). Estudio serológico sobre Neosporosis en bovinos con problemas reproductivos en Montería, Córdoba, Colombia. *Revista MVZ Córdoba.* 12(1) 929-933.

Peña L., Araujo A., Rubio D., Mojica C., Falquez J., & Avendaño K. (2012) Estudio serológico de DVB, IBR y Neospora en bovinos de la microrregión del Valle del Cesar. Rev Col Microb Trop;2(2):35-40.

Peters M., Wagner F. & Schares G. (2000). Canine Neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. Parasitol. 86:1-7.

Pulido M., García D. & Vargas J. (2016). Seroprevalencia de *Neospora caninum* en un Hato Lechero de Boyacá, Colombia. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú 27(2) 355-362

Puray N., Chavez A., Casas E., Falcón N. & Casas G. (2016). Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de una empresa ganadera de la sierra central del Perú. Revista de Investigación Veterinaria, 17 (2), 189-194.

Reyes-Sandoval R., Romero-Salas D., Cruz-Romero A., Chaparro-Gutiérrez J., Lammoglia-Villagómez M., López-Hernández K., & Ojeda-Carrasco, J. (2021). Frecuencia serológica de *Neospora caninum* en Unidades de Producción en zona central de Veracruz, México. Revista MVZ Córdoba, 26(3)

Rinaldi L., Fusco G., Musella V., Veneziano V., Guarino A., Tadde, R. & Gringoli G. (2005). *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems. Veterinary Parasitology, 128(1), 219-230.

Rubiano O. & Murcia J. (2015). Neosporosis bovina como causa de falla reproductiva en hatos del cordón lechero de Ubaté y Chiquinquirá. Universidad de La Salle, Bogotá, Colombia.

Sawada M., Kondo H., Tomioka Y., Park C., Morita T., Shimada A. & Umemura, T. (2000). Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. *Vet. Parasitol.* 90(3): 247-252.

Sanderson M., Gay J. & Baszler T. (2000). seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Veterinary Parasitology*, 90(1),15-24.

Serrano E., Ferre I., Osoro K., Aduriz G., Mateos -Sanz A.,... & Mora. (2006) Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers. *Veterinary Parasitology*. 135(1),197-203.

Zambrano J., Cotrino, V., Jiménez, C., Romero, M., & Guerrero, B. (2001). Evaluación Serológica de *Neospora Caninum* en Bovinos en Colombia. *Revista Acovez*. 26(1),12-16.

ANEXOS

Anexo 1 Encuesta Plan Vacunal de la Ganadería

Neospora caninum en Ganadería Bovina del Municipio de Tenjo (Cundinamarca)

1.- Destino de las vacas que abortan:

Matadero _____ Otras fincas _____ Misma finca _____

Otros (¿Cuáles?) _____

2.- Destino del feto abortado:

Enterrado _____ Quemado _____ Otros (¿Cuáles?) _____

3.- Destino de placentas:

Enterrado _____ Quemado _____ Otros (¿Cuáles?) _____

4.- ¿La finca está libre de enfermedades relacionadas al aborto?

Brucelosis Sí ___ No ___ No lo se ___

IBR Sí ___ No ___ No lo se ___

Leptospirosis Sí ___ No ___ No lo se ___

DVB Sí ___ No ___ No lo se ___

Neosporosis Sí ___ No ___ No lo se ___

5.- Uso de vacunas contra:

Brucelosis Sí ____ No ____ No lo se _____

IBR Sí ____ No ____ No lo se _____

Leptospirosis Sí ____ No ____ No lo se _____

DVB Sí ____ No ____ No lo se _____

Neosporosis Sí ____ No ____ No lo se _____

6.- Presencia de perros en la finca

Sí ____ No ____

7.- Comparten los perros con el ganado bovino:

Si ____ No ____