

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EVALUACION DE TRES TECNICAS
COPROLOGICAS PARA LA DETERMINACION DE
OOCISTOS DE NEOSPORA CANINUM EN
PERROS DE ESTABLOS DE LA COMARCA
LAGUNERA**

POR

NOEL DE ROA ALDAZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

NOVIEMBRE DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TESIS

**EVALUACION DE TRES TECNICAS
COPROLOGICAS PARA LA DETERMINACION DE
OOCISTOS DE NEOSPORA CANINUM EN
PERROS DE ESTABLOS DE LA COMARCA
LAGUNERA**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TITULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**Por
NOEL DE ROA ALDAZ**

ASESOR PRINCIPAL

MVZ. MC. Francisco J Carrillo Morales

TORREÓN, COAHUILA

NOVIEMBRE DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



TESIS

**EVALUACION DE TRES TECNICAS
COPROLOGICAS PARA LA DETERMINACION DE
OOCISTOS DE NEOSPORA CANINUM EN
PERROS DE ESTABLOS DE LA COMARCA
LAGUNERA**

Tesis Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO

MVZ. MC. Francisco J. Carrillo Morales

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**

MC. José Luis Fco. Sandoval Elías

TORREÓN, COAHUILA

OCTUBRE DE 2007

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**EVALUACION DE TRES TECNICAS
COPROLOGICAS PARA LA DETERMINACION DE
OOCISTOS DE NEOSPORA CANINUM EN
PERROS DE ESTABLOS DE LA COMARCA
LAGUNERA**

Tesis Aprobada por el H jurado examinador

MVZ. MC. FRANCISCO J CARRILLO MORALES
PRESIDENTE

I.Z JORGE H. BORUNDA RAMOS
VOCAL

MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS
VOCAL

MVZ. JUAN MANUEL GUILLEN SÁENZ
VOCAL SUPLENTE

TORREÓN, COAHUILA

OCTUBRE DE 2007

DEDICATORIA

Primero que nada quiero darle gracias a DIOS por haberme dado la oportunidad de existir y haber concluido unas de las etapas de mi vida.

También a la **UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** por la sencillez por como nos trata como alumnos y todos los conocimientos que transmite a través de todos los catedráticos de la misma, ya que sin ellos me hubiera sido muy difícil adquirir todos los conocimientos y los buenos consejos que con la experiencia laboral va adquiriendo uno en el camino de la vida

A mis PADRES por darme la oportunidad de vivir y por apoyarme en todos mis objetivos y metas de la vida por todo el amor y apoyo incondicional que me dieron tanto moral como económico, que nunca me dejaron decaer en los momentos difíciles, gracias

A todos mis HERMANOS (Sofía, cristina, Eusebia, Leobardo e Israel) que siempre hemos estado en los buenos momentos como en los malos quiero darle gracias a todos ellos por su apoyo incondicional

A el M.C Francisco j. carrillo morales por su valioso tiempo que me otorgo como asesor y por sus buenos consejos que me brindado como amigo.

A mis compañeros de grupo por todos los consejos buenos que me dieron y también por los momentos felices.

INDICE GENERAL

Dedicatoria.....	
....I	
Índice	
general.....	II
Índice	de
figuras.....	cuadros y
	IV

Resumen.....		
..V		
I.-		
Introducción.....		
1		
I.I.-Antecedente.....		
.....	2	
I.I.I.-		
Taxonomía.....		2
1.2.-Espectro de hospederos		
.....	4	
1.3.Ciclo biológico		
.....	5	
1.4.-Diversidad inespecífica		
.....	8	
1.5.-Transmisión		
.....	8	
1.5.1.-transmision		vertical
.....	8	
1.5.2.-transmicion		
horizontal.....	10	
1.6.-Sintomatología		
.....	13	
1.7.-		
Lesiones.....		15
1.8.-Neosporosis		en
perros.....	19	
II.-		
Objetivo.....		21
III.-Revisión		de
literatura.....	22	
IV.-materiales		y
Métodos.....	25	

4.1.-Descripción	del	sitio
experimental.....		25
4.2.-Fase		de
campo.....		27
4.2.1.-Toma		de
muestras.....		27
4.3.-Método	de	Concentración
Formol.....		28
4.4.-Análisis		
estadístico.....		30
V.-		
Resultados.....		31
VI.-		
Discusión.....		32
7.1.-Trinquete		de
Muller.....		34
7.2.-		
Explicación.....		35
VII.-Literatura		
citada.....		37

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Figura 1.- Taxonomía de neospora caninum.....	3
--	---

Figura 2.- Ciclo biológico de neospora caninum.....	6
Figura 3.- Consecuencias clínicas de neosporosis bovino.....	14
Figura 4.- Lesiones en fetos por neospora caninum.....	18
Figura 5.- Mapa de la comaraca lagunera.....	26
Figura 6.- Material utilizado.....	29
Figura 7.- Oocistos de neospora caninum.....	30
Cuadro I.- Materiales y reactivos utilizados.....	29
Cuadro II.-Resultados estadísticos.....	31
Tabla 1.- Paracitos gastrointestinales diagnosticados en heces en el laboratorio de la UAAAN UL.....	31

RESUMEN

El presente estudio se llevo acabo en muestras fecales de perros de establos de la Comarca Lagunera y sus alrededores, durante el periodo de abril a Septiembre del 2007, con el objetivo de evaluar tres técnicas coprológicas para determinar la Prevalencia de occistos de Neospora caninum , en 130 muestras fecales de perros de 65 establos, habiendo obtenido los siguientes resultados: de 130 muestras, 17 positivas, a Trichuris vulpis, y 113 negativas, dando un porcentaje de prevalencia de 13%, y un 0% a Occistos de Neospora caninum, resalta en el presente trabajo que no se encontraron parasitosis mixtas del total de las muestras analizadas y dominando solo los huevecillos de Trichuris vulpis como parasitosis única, lo cual resulta de gran interés por ser

un indicador de zoonosis parasitaria en la salud pública, así mismo el presente trabajo, hace referencia y se resalta, en lo referente a Neospora, que de los establos analizados todos tenían referencia a serología positiva, En consideración a nuestro resultado se debe hacer mención de tomar en cuenta que en el caso de Neospora la ausencia de Occistos en las heces fecales de los perros pudo haberse debido a las medidas profilácticas y terapéuticas tomadas por los propietarios de los establos en cuanto a la práctica de desparasitar continuamente a los perros o bien al poder de la capacidad adaptativa de los taquizoitos de *N. caninum* en ausencia de reproducción sexual, y a la variabilidad de comportamiento de distintas cepas del parásito.

Estudios realizados sugieren tomar en cuenta, por otra parte, la teoría del “trinquete de Muller” (High, 1978), el cual predice que los organismos con reproducción asexual (caso del Taquizoíto de *N. caninum*) tendrían problemas para propagarse indefinidamente en el tiempo, si carecen de grandes mecanismos reparadores genéticos. Este resultado coincide y difiere con otros trabajos realizados en otras partes del mundo como, Chile, Brasil, España, Argentina y de México. Sugiriéndose ampliar la investigación a periodos mas prolongados en diferentes épocas del año.

I INTRODUCCIÓN

Se denomina neosporosis a la enfermedad producida por protozoos del género *Neospora*. Esta parasitosis se diagnosticó por primera vez en Noruega, en 1984, por Bjerkas et al. (1984), los cuales describieron una encefalopatía mortal en perros, caracterizada por encefalomielitis y miositis asociadas a un parásito semejante a *Toxoplasma gondii*. En la actualidad, el proceso más relevante por sus repercusiones económicas es la neosporosis bovina, que cursa con aborto, mortalidad neonatal y nacimiento de terneros con sintomatología neuromuscular o clínicamente sanos, pero crónicamente infectados.

El género *Neospora* se describió por primera vez en 1988, incluyéndose una única especie en ese momento: *Neospora caninum* (Dubey et al., 1988b). Ese mismo año se obtuvo el primer aislado del parásito a partir de muestras de origen canino (Dubey et al., 1988a). Desde ese momento, comienzan a desarrollarse diversas pruebas diagnósticas como la inmunofluorescencia indirecta (IFI) en 1988, para la detección de anticuerpos en el suero frente a *N. caninum*, y la inmunohistoquímica (Lindsay Dubey, 1989) con objeto de detectar al parásito en los tejidos infectados. También comienzan a desarrollarse los primeros modelos experimentales de la enfermedad por Lindsay Dubey (1989d, 1990c), que realizaron las primeras inoculaciones del parásito en ratones y ratas.

En relación con la importancia de la enfermedad en el ganado bovino, Thilsted Dubey (1989) describieron, originalmente, a *N. caninum* como agente etiológico del aborto en esta especie doméstica. Posteriormente, Anderson et al. (1991) y Barr et al. (1991), consideran a la neosporosis como la primera causa de aborto en el ganado lechero en California (EE.UU.). En 1992, se confirma experimentalmente, la transmisión vertical del parásito en la especie bovina (Dubey et al., 1992). En este sentido, tuvo gran relevancia para las investigaciones experimentales el hecho de que a pesar de intentarse desde 1988, no fue hasta 1993 cuando se consiguió el primer aislado de *N. caninum* a partir de tejidos infectados bovinos (Conrad et al., 1993; Barr et al., 1994).

A partir de ese momento, los avances alcanzados en el conocimiento de la biología molecular del parásito y de sus mecanismos de patogenicidad, así como en el diagnóstico y epidemiología de la enfermedad, han sido especialmente significativos. Dichos avances han permitido un mejor conocimiento del ciclo biológico, incluyendo el hallazgo del perro como hospedador definitivo en el mismo (McAllister et al., 1998). Este descubrimiento ha alertado, en los últimos años, la discusión acerca de la importancia relativa de las distintas vías de transmisión y en la permanencia de la enfermedad en el ganado bovino.

Hoy en día, la neosporosis bovina está considerada una enfermedad parasitaria de distribución cosmopolita y una de las causas más frecuentes de fallo reproductivo en las principales zonas productoras del mundo (Dubey & Lindsay, 1996; Dubey, 1999, Dubey, 2003).

1.1 Antecedentes

1.1.1 Taxonomía

N. caninum se incluye dentro del phylum Apicomplexa, clase Sporozoea, subclase Coccidia, orden Eucoccidia, suborden Eimeriina y familia Sarcocystidae, junto con los géneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Hammondia* y *Besnoitia* (Dubey Lindsay, 1996). Los integrantes de la familia Sarcocystidae se caracterizan por tener ciclos biológicos heteroxenos y formar quistes en el hospedador intermediario. Como tales actúan diferentes especies de herbívoros y omnívoros, y como hospedadores definitivos fundamentalmente, diferentes especies de carnívoros.

La situación taxonómica de *N. caninum* ha sido cuestionada desde su descripción, siendo objeto de importantes controversias. Estudios filogenéticos basados en el análisis de la secuencia de la subunidad menor del ARN ribosomal (nss-ARNr), mostraron un elevado grado de homología entre *N. caninum* y *T. gondii*, sugiriendo que los dos organismos podrían pertenecer al mismo género (Holmdahl et al., 1994). Sin embargo, cuando se investigaron los genomas de *Neospora*, de *Toxoplasma* y de *Sarcocystis* mediante técnicas de RAPD-PCR se encontraron diferencias significativas (Guo Jonson, 1995). Otros estudios genéticos han corroborado el hecho que *N. caninum* y *H. heydorni* son especies diferentes (Ellis et al., 1999; Mugridge et al., 1999; Mugridge et al., 2000). Desde el punto de vista biológico, son notables las diferencias en cuanto a la composición antigénica y al ciclo biológico.

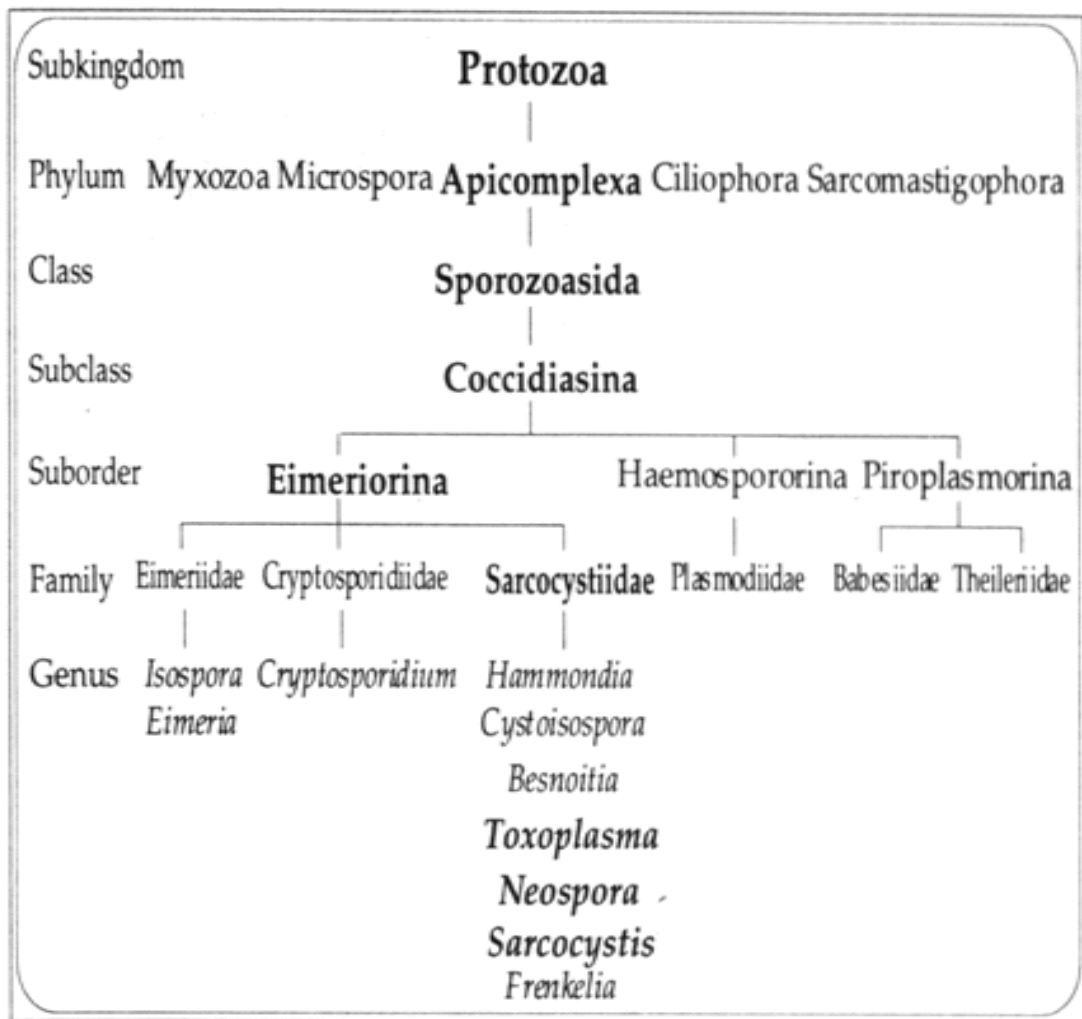


Figura 1. Taxonomía de neospora caninum.

El empleo de pruebas diagnósticas serológicas específicas han permitido diferenciar a *N. caninum* de otras especies gracias a su diferente composición antigénica. Por otra parte, el perro es el hospedador definitivo de *N. caninum* y *H. heydorni*, mientras que el gato es el hospedador definitivo de *T. gondii* y *H. hammondi*. También destacan las diferencias ultraestructurales existentes entre estas especies, tanto en los quistes tisulares como en los taquizoítos. Los quistes tisulares de *N. caninum* presentan una pared quística más gruesa que los de *T. gondii* y *H. heydorni* (Speer et al., 1999). Así mismo, la presencia, localización y el número de determinadas organelas en el citoplasma de los taquizoítos difieren en los tres géneros mencionados (Speer Dubey 1989; Dubey et al., 2002).

Últimamente se ha cuestionado de nuevo la existencia del género *Neospora* (Mehlhorn Heydorn 2000; Heydorn Mehlhorn 2002), aunque también algunas publicaciones recientes demuestran la diferenciación biológica, inmunológica, morfológica y molecular de *N. caninum* y *H. heydorni* (Dubey et al., 2002).

1.2 Espectro de hospedadores

N. caninum tiene un amplio espectro de hospedadores domésticos y silvestres. La infección se ha descrito, en el perro, en el ganado bovino, en la cabra (Barr et al., 1992; Dubey et al., 1996), la oveja (Dubey Lindsay, 1990), el caballo (Lindsay et al., 1996), el búfalo de agua (Dubey et al., 1998; Huong et al., 1998; Guarino et al., 2000), el camello (Hilali et al., 1998) la liebre parda europea (Ezio et al., 2003) y los camélidos sudamericanos (Chaves-Velázquez et al., 2004). En animales silvestres, la infección ha sido detectada en el ciervo (Woods et al., 1994; Dubey et al., 1996), el antílope (Peters et al., 2001b), el mapache (Lindsay et al., 2001b), el coyote (Lindsay et al., 1996a), el zorro (Jakubek et al., 2001; Schares et al., 2001; Almería et al., 2002), el dingo (Barber et al., 1997), felinos salvajes (Cheadle et al., 1999) y el rinoceronte (Williams et al., 2002). Por su parte, la infección experimental se ha llevado a cabo en el ratón (Lindsay Dubey, 1989d, 1990 a y b), la rata (Lindsay Dubey, 1990c), el gerbo (Dubey Lindsay, 2000), el gato (Dubey Lindsay, 1989), el perro (Dubey Lindsay, 1989), el coyote (Lindsay et al., 1996a), el zorro (Schares et al., 2002b), la vaca (Barr et al., 1994; Adrianarivo et al., 2000, 2001), la oveja (McAllister et al., 1998; Buxton et al., 1998; Buxton et al., 2001; O'Handley et al., 2002), la cabra (Lindsay et al., 1995), el cerdo (Jensen et al., 1998), el macaco (Barr et al., 1994b) y en diversas especies de pájaros (Baker et al., 1995). El papel de cada una de estas especies hospedadoras en el ciclo biológico del parásito y su importancia en relación con la transmisión de la infección no es del todo conocido. (Dubey et al., 2007)

1.3 Ciclo biológico

En la actualidad, los únicos hospedadores definitivos conocidos de *N. caninum* son el perro (McAllister et al., 1998) y el coyote (Gondim et al., 2004), que además pueden actuar como hospedadores intermediarios. McAllister et al., (1998) identificaron ooquistes sin esporular en heces de perros a los que se había alimentado con cerebros de ratones infectados con el parásito. Los ooquistes esporulan en el medio ambiente a las 24 horas (Lindsay et al., 1999). Más tarde, Lindsay et al., (2001) confirmaron estos datos, comprobando la eliminación de ooquistes en perros que habían sido alimentados

Los ooquistes, tienen forma esférica de pared lisa, presenta un grosor de 0,6-0,8mm. En su interior se encuentran dos esporoquistes elipsoidales (8,4mm de longitud por 6,1mm de ancho) cuya pared de 0,6mm de grosor no contiene el cuerpo de Stidea. A su vez, en el interior de cada esporoquiste se encuentran cuatro esporozoitos (6,5mm de longitud por 2,0mm de ancho) y el cuerpo residual esporoquístico. La fase sexual y asexual del parásito pueden completarse en el perro, si bien las fases enteroepiteliales del parásito no se han identificado hasta el momento.

Ooquistes No esporulados son los eliminados por los perros infectados experimentalmente, midiendo entre 11.3mm de diámetro.

Los ooquistes esporulados son los que después de tres días en el medio ambiente contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoitos cada uno son morfológicamente similares a los ooquistes de *Toxoplasma gondii* y *Hammondia* en perros. (Aycachi, 2005)

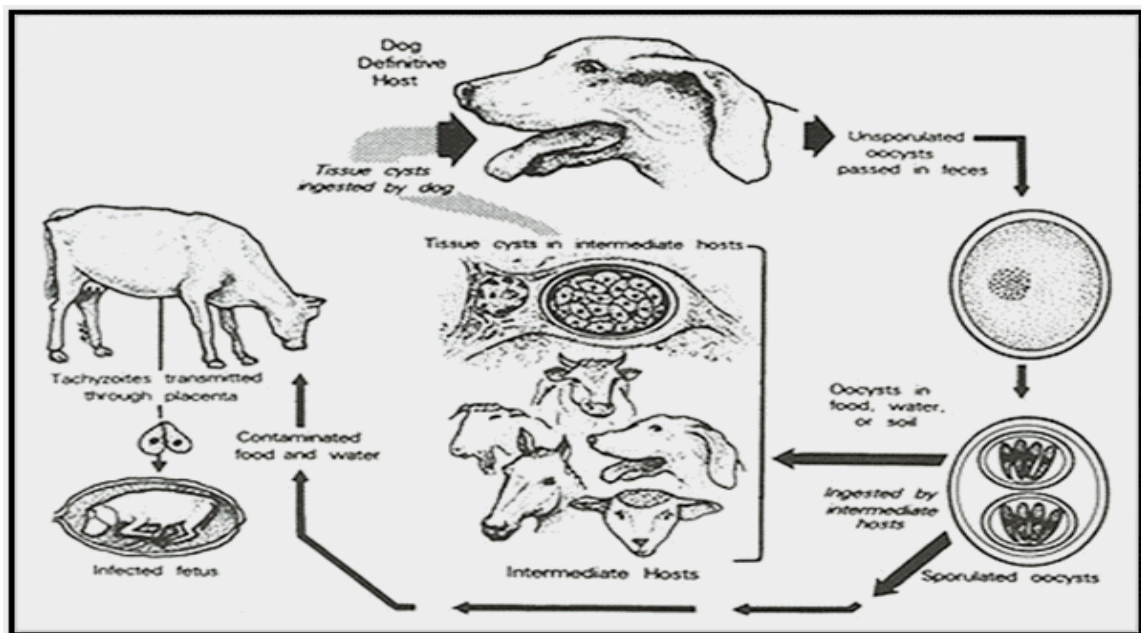


Figura 2. Ciclo biológico de la neospora caninum

A pesar de estos avances, muchos aspectos del ciclo biológico en relación con el hospedador definitivo se desconocen: los estadios enteroepiteliales del parásito antes de la formación del ooquiste, la excreción de ooquistes después de la ingestión de ooquistes esporulados, etc. Los hospedadores intermediarios pueden infectarse mediante transmisión vertical, ya sea por vía transplacentaria (Dubey, 2003) ó por ingestión de calostro o leche (Ugglá et al., 1998; Davison et al., 2001), o por transmisión horizontal, mediante la ingestión de alimentos o agua contaminados con ooquistes (De Marez et al., 1999; Trees et al., 2002), e incluso de placentas que contengan taquizoítos (Dijkstra et al., 2001).

En el hospedador intermediario podemos encontrar los dos estadios asexuales del parásito: taquizoítos y quistes tisulares con bradizoítos. Los taquizoítos son los responsables de la fase aguda, multiplicándose intracelularmente por endodiogenia en muchos tipos de células, incluyendo macrófagos, neutrófilos, células neuronales, hepatocitos, fibroblastos, miocitos y células endoteliales de los vasos sanguíneos y renales (Dubey et al., 1988; Bjerkas Presthus, 1989; Speer Dubey, 1989; Hemphill, 1999).

La división del parásito dentro de la célula hospedadora provoca la aparición de una vacuola parasitófora integrada por taquizoítos. Subsiguientes divisiones se siguen produciendo dentro de la vacuola, pudiendo albergar ésta más de 100 taquizoítos. Tras la rotura celular, los taquizoítos salen al medio extracelular y en pocas horas se iniciarán los mecanismos de adhesión e invasión de nuevas células diana (Hemphill et al., 1996).

En la fase crónica, los taquizoítos se diferencian en bradizoítos formando los quistes tisulares, que se localizan principalmente en el tejido nervioso de diversas especies tanto en la infección natural como experimental (Dubey et al., 1988; Barr et al., 1992; Kobayashi et al., 2001), aunque también se han encontrado quistes tisulares en tejido muscular esquelético de perro y vaca con infecciones naturales (Peters et al., 2001a). Los mecanismos implicados en la conversión del taquizoíto en bradizoíto, y por tanto en el paso de una fase de infección aguda a una crónica, no han sido aclarados si bien están siendo objeto de estudio en la actualidad. Los bradizoítos en el interior del quiste tisular conservan su capacidad infectante durante períodos de tiempo prolongados, al menos 1 año, en el cerebro de ratones con infección experimental (Lindsay Dubey, 1990).

1.4 Diversidad intraespecífica.

Desde 1988 se consiguiera el primer aislado de *N. caninum* (Dubey et al., 1988), han sido relativamente numerosos los aislados obtenidos, en principio, las variables que definen a cada aislado son: la localización geográfica, la especie origen de la muestra (canina y bovina fundamentalmente), el grado de desarrollo del animal (básicamente en bovinos: fetos, terneros o animal adulto) y el tipo de muestra (cerebro o SNC en la mayoría de casos). Basándose en estos parámetros, han sido numerosos los trabajos que han estudiado las diferencias intraespecíficas de *N. caninum*, encontrando diferencias biológicas, antigénicas y genéticas (Lindsay Dubey, 1989, 1990, Lindsay et al., 1995b, McGuire et al., 1997, Buxton et al., 1998, Atkinson et al., 1999, Shock et al., 2001, Quinn et al., 2002, Miller et al., 2002).

1.5 Transmisión

Como ya se ha señalado, *N. caninum* es un protozoo Apicomplexa, estrechamente relacionado con *T. gondii* y que presenta grandes similitudes en su ciclo biológico y sus modos de transmisión. Aunque, como hemos visto, *N. caninum* tiene un amplio espectro de hospedadores, la gran importancia que tiene la neosporosis bovina ha sido causa de que la mayor parte de los estudios estén referidos a esta especie. Sin embargo, es probable que muchas de las conclusiones obtenidas en el ganado bovino sean extrapolables al resto de hospedadores intermediarios.

1.5.1 Transmisión vertical.

La importancia de este modo de transmisión en la epidemiología de la neosporosis es dependiente de la especie animal. En este sentido, es un hecho admitido que la

transmisión vertical vía transplacentaria es el principal modo de infección en el ganado bovino. La ausencia de variaciones en las tasas de prevalencia entre los diferentes grupos de edad y la detección de anticuerpos precalostrales frente a *N. caninum* en el suero de terneros nacidos de vacas seropositivas (Davison et al., 1999; Hietala Thurmond, 1999), sugieren la idea de que la transmisión vertical vía transplacentaria juega un papel muy importante en la propagación y mantenimiento de la neosporosis bovina (Björkman et al., 1996; Paré et al., 1996; Anderson et al., 1997; Schares et al., 1998).

Una vez adquirida la infección (en el útero o desde el medio) las hembras permanecen infectadas, probablemente de por vida, y pueden transmitir la infección a su descendencia en distintas gestaciones, consecutivas o no, con porcentajes que oscilan entre el 50% y el 95% (Wouda et al., 1998; Davison et al., 1999; Pereira-Bueno et al., 2000). La transmisión vertical vía transplacentaria se produce tanto en animales en los que no se observa patología abortiva como en aquellos que han abortado (Dubey Lindsay, 1996), y se ha demostrado experimentalmente en el ganado bovino, en la oveja (Dubey Lindsay, 1990; McAllister et al., 1996; Buxton et al., 1998), la cabra (Lindsay et al., 1995), el perro (Dubey Lindsay, 1989; Cole et al., 1995), el gato (Dubey Lindsay, 1989), el mono (Barr et al., 1994), el cerdo (Jensen et al., 1998) y el ratón (Cole et al., 1995).

La existencia de la infección sólo en determinadas líneas familiares y la ausencia aparente de transmisión horizontal observadas en las explotaciones, indican que el parásito puede transmitirse desde las madres infectadas a la descendencia durante varias generaciones y que la infección puede mantenerse en las granjas, donde la reposición con ganado propio sea la norma, en ausencia de un hospedador definitivo. Experimentalmente, se ha demostrado que la transmisión vertical en el ganado bovino, vía calostro o leche, durante el periodo neonatal es posible (Uggla et al., 1998; Davison et al., 2001). Sin embargo, este tipo de transmisión vertical no ha sido demostrado en la naturaleza y no parece tener grandes repercusiones desde el punto de vista epidemiológico.

En lo que se refiere a la transmisión de la infección mediante la transferencia de embriones, Baillargeon et al. (2001), observaron que la infección por *N. caninum* no se detectó en ninguno de los 70 fetos o terneros nacidos de vacas seronegativas, las cuales habían recibido embriones de vacas seropositivas, mientras que 5 de 6 terneros procedentes de embriones donados por madres seronegativas e implantados en madres seropositivas, resultaron estar infectados por el parásito. Landman et al. (2002) confirmaron este hecho y expusieron que la transferencia de embriones previene la transmisión del parásito de vacas donantes seropositivas a receptoras seronegativas. Barber Trees (1998), estudiaron en el perro la importancia relativa de los distintos modos de transmisión. Para ello, investigaron la seropositividad mediante IFI de perras naturalmente infectadas por *N. caninum*. Aunque en estudios retrospectivos obtuvieron un 52% de cachorros seropositivos cuando éstos provenían de perras seropositivas, en los estudios prospectivos se obtuvo únicamente un 3% de cachorros

seropositivos nacidos de perras seropositivas. Los resultados finales determinaron que el 80% de los cachorros nacidos de perras seropositivas no nacieron infectados.

Este estudio demuestra que la frecuencia de la transmisión vertical en perros naturalmente infectados por *N. caninum* es variable, pero en cualquier caso es demasiado baja para mantener por sí sola la infección en la naturaleza. Por lo tanto, otras formas de transmisión, que impliquen infección postnatal, han de estar presentes en esta especie.

1.5.2 Transmisión horizontal

El descubrimiento del perro como hospedador definitivo de *N. caninum*, puso de manifiesto la posibilidad de transmisión horizontal de la infección, ya que este cánido elimina ooquistes con sus heces (McAllister et al., 1998; Lindsay et al., 1999). Posteriormente, se demostró que los ooquistes son infectantes cuando se administran experimentalmente por vía oral a terneros (De Marez et al., 1999) y a vacas gestantes (Trees et al., 2002). Así pues, la infección postnatal en los hospedadores intermediarios puede tener lugar por ingestión de ooquistes eliminados en las heces del hospedador definitivo que contaminarían el alimento (pastos, forrajes y piensos almacenados) y el agua de bebida. Existen evidencias seroepidemiológicas que apoyan la teoría de la infección postnatal.

La presencia de seroconversión en rebaños bovinos, junto con la falta de asociación entre los resultados serológicos de la madre y de su descendencia sugiere la existencia de infección postnatal, en la cual podría estar implicado el perro (Paré et al., 1996; Davison et al., 1999; Dijkstra et al., 2001). Por otra parte, diversos estudios han sugerido la existencia de una relación entre la presentación de aborto epidémico por neosporosis bovina en algunos rebaños y una exposición puntual a una fuente de infección externa, señalando la presencia del perro en el rebaño como un factor de riesgo implicado en la presentación de brotes de aborto asociados a la infección por *N. caninum* (Bartels et al., 1999; Wouda et al., 1999; McAllister et al., 2000).

La transmisión venérea del parásito vía semen también podría ocurrir, ya que recientemente se ha descrito la presencia esporádica de ADN de *N. caninum* en semen fresco y congelado procedente de sementales bovinos con infección natural crónica (Ortega-Mora et al., 2003). Por el momento, las implicaciones epidemiológicas de esta posible vía de transmisión en la epidemiología de la neosporosis bovina se desconocen.

Los quistes con bradizoítos presentes en el hospedador intermediario se encuentran principalmente en el tejido nervioso (cerebro y médula). En los quistes, los bradizoítos conservan su capacidad infectante durante períodos de tiempo prolongados (al menos 1 año en cerebro de ratones con infección experimental) y son resistentes a la acción del

ácido clorhídrico y la pepsina lo que indica que el carnivorismo podría contribuir a la transmisión del parásito entre determinados hospedadores que participan en el ciclo biológico.

Por otra parte, diversos autores han señalado la presencia de *N. caninum* en la placenta (Shivaprasad et al., 1989; Barr et al., 1994; Bergeron et al., 2001), aunque, únicamente, Dijkstra et al. (2002), han demostrado, recientemente, que la ingestión de placenta infectada naturalmente por *N. caninum* podría ser un posible modo de transmisión entre la vaca y el perro. La infección postnatal en el perro, por lo tanto, tendría lugar por la ingestión de tejidos infectados (restos de animales muertos, placentas o fetos abortados). Sin embargo, los fetos bovinos infectados por *N. caninum* no parecen ser una vía de transmisión (Bergeron et al., 2001). Tampoco la leche o el calostro parecen ser fuentes de infección para el perro (Dijkstra et al., 2001, 2002).

Ello parece ser debido a la presencia de taquizoítos en lugar de quistes en estos productos. Además, dada la estrecha relación filogenética entre *N. caninum* y *T. gondii*, probablemente el perro desempeña en el ciclo biológico de *N. caninum* el mismo papel que el gato en el ciclo biológico de *T. gondii*. Por lo tanto, otra posible forma de transmisión para el perro sería la ingestión de ooquistes eliminados por el mismo o por otro perro. Experimentalmente, se ha observado que la cantidad de ooquistes eliminados por los perros después de la ingestión de tejidos infectados es muy baja, y su presencia en perros naturalmente infectados, se ha descrito en pocas ocasiones (Basso et al., 2001; Slapeta et al., 2002; McGarry et al., 2003). Sin embargo, la cantidad de ooquistes aumentó sensiblemente cuando los perros eran alimentados con tejidos de vacas experimentalmente infectadas (Gondim et al., 2002). Por otra parte, apenas se conoce la frecuencia de eliminación de los ooquistes, aunque McGarry et al. (2003), señalaron que los perros podían eliminar ooquistes en más de una ocasión.

Recientemente, se ha descrito al coyote como hospedador definitivo (Gondim et al., 2004). Sin embargo se desconoce la importancia de este hecho en la epidemiología de la neosporosis. También se ha investigado la eliminación de ooquistes en zorros, y sólo en uno de los estudios se ha logrado su identificación en heces (McGarry et al., 2003). Por otro lado, se han detectado anticuerpos anti- *N. caninum* en el zorro (Schaes et al., 2001; Almería et al., 2002), el coyote (Lindsay et al., 1996a) y el dingo (Barber et al., 1997). En este sentido, hasta el 51% de 300 zorros alimentados con carne cruda de origen bovino, presentaban anticuerpos anti- *N. caninum* (Tees Williams, 2000), sin embargo son necesarios más estudios para determinar la importancia real de estas especies animales en la epidemiología de la neosporosis.

La gran importancia económica de la neosporosis bovina ha provocado que la mayoría de las investigaciones se hayan centrado en el ganado vacuno. También sucede así en el

estudio de la patogenia, en donde las referencias a otras especies domésticas son prácticamente inexistentes.

1.6 Sintomatología

En el ganado bovino adulto, y en ausencia de sintomatología en el macho, el aborto es el único signo clínico observado en las hembras gestantes infectadas. En los rebaños seropositivos, los abortos pueden producirse en cualquier época del año y presentarse de forma esporádica, endémica o en forma de brotes epidémicos, pero sin síntomas previos de enfermedad. El aborto puede llegar a aparecer tanto en novillas como en vacas. 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; Wouda et al., 1998). Como se ha señalado previamente, el aborto repetido por neosporosis en el mismo animal se produce en muy pocas ocasiones (menos del 5%), sin embargo, la transmisión repetida de la infección desde las madres infectadas a la descendencia es frecuente.

La infección fetal puede producirse en cualquier momento de la gestación, pero las consecuencias para el feto son más graves al comienzo de ésta (figura 3). En los primeros momentos de la gestación, la neosporosis puede ocasionar la muerte del embrión o del feto en el útero y su reabsorción. Generalmente, el aborto tiene lugar entre el 3er y el 9º mes de la gestación, siendo más frecuente en torno a los 4-7 meses (Anderson et al., 1995; Moen et al., 1998; Campero et al., 1998; Sager et al., 2001). La infección del feto no siempre provoca la muerte del mismo y, en ocasiones, se produce el nacimiento de terneros congénitamente infectados con sintomatología nerviosa, los cuales probablemente morirán dentro de las cuatro primeras semanas de vida (Dubey Lindsay, 1996).

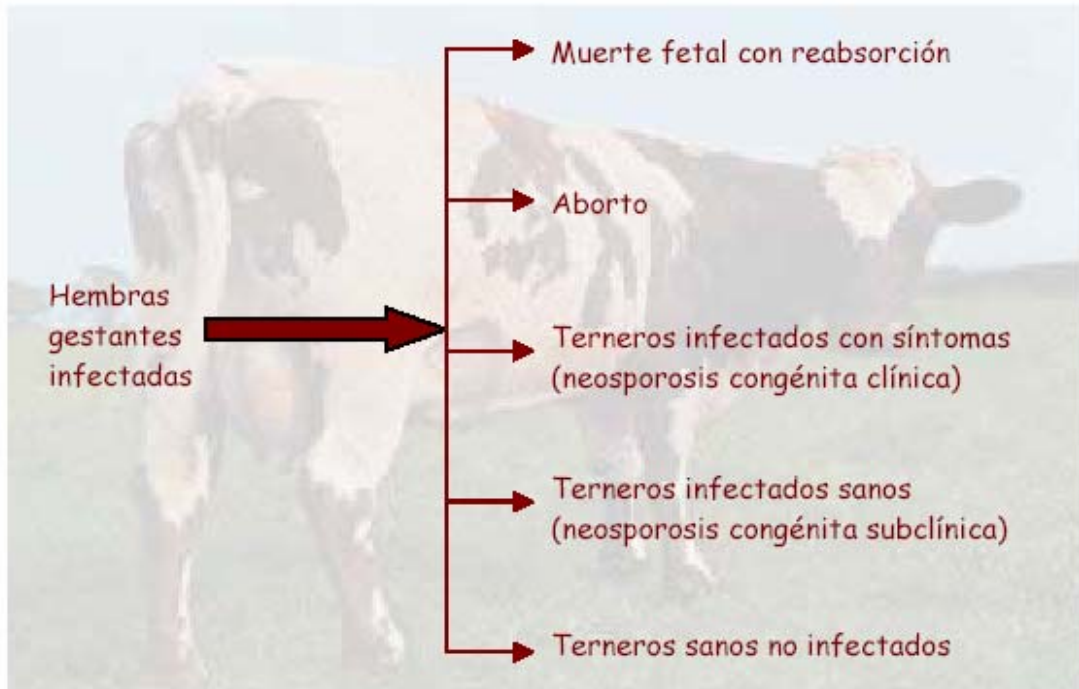


Figura 3.- consecuencias clínicas de la neosporosis bovinas.

En estos animales que nacen vivos, los primeros signos clínicos aparecen, frecuentemente, a los 4-5 días del parto o pueden retrasarse hasta 2 semanas. La casuística de la neosporosis congénita clínica es reducida. Estos animales suelen presentar problemas neuromusculares muy variables -desde incoordinación ligera hasta parálisis completa-, debilidad y dificultad para levantarse. Los miembros anteriores y/o posteriores están flexionados o hiperextendidos y el examen neurológico revela ataxia, disminución del reflejo patelar y pérdida de coordinación (Barr et al., 1991; Barr et al., 1993). En ocasiones hay exoftalmia, posición asimétrica de los ojos y otras deformaciones asociadas con la lesión de las células nerviosas embrionarias (Bryan et al., 1994). La infección congénita subclínica parece ser más frecuente, produciéndose el nacimiento de terneros clínicamente sanos aunque infectados en el útero (Anderson et al., 2000).

La mayor parte de los casos graves de neosporosis canina aparecen en animales jóvenes, principalmente cachorros congénitamente infectados. (Dubey, 1999 y 2003).

Estos animales desarrollan paresia de los miembros posteriores, que evoluciona progresivamente hacia una parálisis. Los miembros anteriores están menos afectados que los posteriores que llegan a presentar hiperextensión rígida (Cuddon et al., 1992; Barber Trees, 1998). También pueden aparecer otros síntomas como la dificultad en la deglución, la parálisis mandibular (Hay et al., 1990), la flaccidez muscular, la atrofia muscular e incluso el fallo cardíaco. Los perros con paresia posterior pueden llegar a vivir meses. La enfermedad puede

ser localizada o generalizada, y cualquier tejido puede estar afectado, incluida la piel. La neosporosis puede afectar a perros de cualquier edad.

Las perras infectadas subclínicamente pueden transmitir el parásito a los fetos pudiendo nacer infectadas camadas sucesivas. Sin embargo, no se ha descrito la presencia de aborto en la infección natural del perro.

1.7 Lesiones

En el ganado bovino, las lesiones se localizan, principalmente, en el feto abortado y en la placenta. Los animales adultos, aunque infectados, no manifiestan alteraciones anatomopatológicas evidentes. Como ya se ha señalado, el aborto es el signo clínico más característico de la neosporosis bovina. Los fetos pueden aparecer totalmente autolíticos o momificados, siendo esta última presentación relativamente común en los abortos causados por este parásito. En ocasiones, se observan, únicamente, restos del esqueleto óseo del feto ya que los otros tejidos pueden ser reabsorbidos en el útero. La placenta suele ser eliminada con el feto abortado, sin que exista retención. Alrededor de un 50% de los casos de neosporosis presentan alteraciones inespecíficas en la placenta, que se caracterizan por la presencia de un moderado edema y de pequeños focos blanquecinos de necrosis en los cotiledones.

Las lesiones más características se van a presentar en los fetos abortados. Las alteraciones macroscópicas son raras y suelen presentarse en la musculatura, tanto esquelética como cardíaca, en forma de pequeñas áreas blanquecinas que profundizan a la sección. Microscópicamente, las alteraciones que aparecen en el feto son altamente específicas de esta infección, siendo el estudio histopatológico de los fetos abortados uno de los principales métodos de diagnóstico. Estas lesiones, como ya se ha señalado, van a tener una naturaleza inflamatoria y degenerativa (focos de necrosis) y, virtualmente, pueden aparecer en cualquier órgano o tejido fetal, aunque por frecuencia de aparición destacan el SNC, el corazón, el músculo esquelético y el hígado. En otros órganos como el riñón, el pulmón, el páncreas o las glándulas adrenales también se han encontrado lesiones asociadas a esta parasitosis (Barr et al., 1991; Rogers et al., 1993).

En el SNC, este parásito invade de forma activa neuronas y astrocitos, provocando trastornos neuromusculares graves por la destrucción de estas células nerviosas. También están afectados los nervios craneales y espinales por lo que la transmisión del impulso nervioso está alterada (Mayhew et al., 1991; Dubey de Lahunta, 1993).

La lesión más característica es una encefalomiелitis no purulenta de distribución multifocal. Ocasionalmente, se ha observado la formación de granulomas alrededor de los quistes tisulares y bradizoítos en degeneración (Dubey et al., 1990; Mayhew et al., 1991).

Esporádicamente, pueden apreciarse manguitos perivasculares de células mononucleares alrededor de estas lesiones. En el corazón, la alteración típica es una miocarditis que puede variar desde focal a difusa (Wouda et al., 1996).

En el resto de órganos, y aunque en principio todos son susceptibles de presentar lesiones, éstas aparecen con menos frecuencia. El hígado presenta una hepatitis no purulenta (Barr et al., 1990; Wouda et al., 1996, 1997).

Con menor frecuencia, pueden detectarse infiltrados inflamatorios semejantes a los descritos en otros órganos como el pulmón, el riñón, el páncreas o la glándula adrenal. En los ganglios linfáticos únicamente se observa una hiperplasia reactiva, con presencia de folículos linfoides prominentes. *N. caninum* es detectado casi exclusivamente en las lesiones del SNC. Con mucha menos frecuencia aparece en el corazón. En el resto de los órganos afectados es más difícil encontrar al parásito. En muchas ocasiones, son necesarias secciones seriadas del tejido para poner de manifiesto al agente, aún en presencia de lesiones evidentes.

Pueden aparecer taquizoítos asociados a las zonas de necrosis del SNC en número escaso difícilmente identificables sin la ayuda de técnicas inmunohistoquímicas. Los quistes tisulares de *N. caninum* son menos frecuentes y aparecen en el tejido nervioso sin asociarse con la presencia de lesiones, aunque, excepcionalmente, pueden observarse en zonas de infiltrado inflamatorio. Recientemente, Peters et al. (2001), han detectado quistes tisulares en tejido muscular de animales con infección natural. Las técnicas inmunohistoquímicas, utilizando anticuerpos específicos frente a *N. caninum*, son también de gran ayuda en la identificación de los quistes.

Las lesiones aparecidas en los terneros nacidos con neosporosis clínica congénita se van a localizar principalmente en el SNC. Macroscópicamente, pueden observarse áreas de malacia, con o sin hemorragia, semejantes a las descritas en los fetos abortados. Estas lesiones se localizan sobre todo en la médula espinal, que también puede presentar malformaciones (Barr et al., 1991; Bryan et al., 1994). Microscópicamente, se aprecia encefalomiелitis no purulenta, manguitos perivasculares, focos de gliosis, vacuolización del neurófilo y la degeneración walleriana de los axones con presencia de esferoides. Diferentes partes de la musculatura pueden presentar atrofia. En estos terneros no es extraño observar taquizoítos y quistes parasitarios en los tejidos, tanto en el encéfalo como en la médula espinal, asociados o no a zonas lesionadas.

Las lesiones encontradas en el perro durante la necropsia consisten en la aparición de decoloraciones rayadas grises amarillentas en los músculos atrofiados y dermatitis exudativa (Dubey, 1999). Histológicamente, en el SNC se aprecia encefalomiелitis granulomatosa multifocal parcialmente supurativa en asociación con necrosis focal, gliosis, proliferación vascular y manguitos perivasculares. Se han descrito quistes tisulares en cerebro, nervios

craneales y médula espinal. Así mismo, se observan lesiones inflamatorias en la musculatura esquelética. También puede aparecer inflamación en el ojo (coroiditis del cuerpo ciliar), corazón, hígado, bazo, riñón y glándulas adrenales.



Figura 4.- lesiones en fetos por neospora

1.8 Neosporosis en perros

La Neosporosis se reconoció por primera vez en perros en Noruega por Bjerkås y otros. (1984). Visto de manera retrospectiva, el primer diagnóstico de la neosporosis en los perros fue en un brote en 1957 en los EE.UU. (Dubey et al., 1990).

Los informes de los exámenes clínicos y las infecciones subclínicas en varias partes del mundo fueron resumidos por Dubey y Lindsay (1996) y Lindsay y Dubey (2000), y los reportes de los anticuerpos a *N. caninum* se han notificado en diversos estudios realizados así, de 121 de 320 (37,8%) perros procedentes de la Argentina (Basso., 2001), 22% de 200 perros procedentes de Nueva Zelanda (Reichel., 1998), 10 % De 150 perros procedentes de Turquía (Co y skun., 2000), el 6,7% de 163 perros procedentes de Brasil (Mineo., 2001), el 10% de 500 perros y 25% de 611 perros procedentes de Brasil (Gennari., 2002), el 6,4% de los 1.058 perros de Italia (Cringoli., 2002), y en el 12. % De los 120 perros de zonas urbanas y 26% de 81 perros rurales de Chile (Patitucci., 2001). Klein y Müller (2001) informan anticuerpos de *N.caninum* en el 4% de 50 perros en Alemania, sin signos clínicos y el 13% de 200 perros con signos clínicos. Así también Los anticuerpos a *N. caninum* se encontraron en el 21,6% de 134 perros de ganado en Paraná, Brasil (de Souza y otros., 2002). Tres estudios compararon la prevalencia de *N. caninum* en perros urbanos y rurales. Sawada. (1998) informan la prevalencia de anticuerpos de *N. caninum* en el 31% de 48 perros. Así mismo en granjas lecheras. El 7% de 198 perros de las zonas urbanas de Japón.

Wouda., (1999), informan una mayor prevalencia en perros de granja (23,6% de 152) frente a los perros de zonas urbanas (5.5% de 344) en los Países Bajos.

Basso., (2001), informó sobre una mayor seroprevalencia en perros de explotaciones lecheras (48% de 125) y las explotaciones de carne de vacuno (54,2% de 35) que en los perros de las zonas urbanas (22,2% de 160) de la Argentina. Además de las infecciones clínicas resumidas por Dubey y Lindsay (1996), Lindsay y Dubey (2000), Boydell y Brogan (2000), Cantile y Arispici (2002) informó de neosporosis clínica neurológica en los perros. Dubey (2000).

Cuatro casos de neosporosis cutánea e infección mixta con *Leishmania* sp. Informan Boydell y Brogan (2000) Barber y Trees (1998) informan de una interesante seroepidemiología de infecciones de *N. caninum* en 373 en una cría de perros en Reino Unido en donde (13,4%) de 373 perras mostraron un título de IFAT > 1:50. aproximadamente el 50% de las crías nacidas eran seropositivas, y el 25% de las crías nacidas de madres seropositivas desarrollaron neosporosis. Tres perras dieron sucesivas camadas de cachorros infectados por *N. caninum*. , la transmisión vertical por sí sola no puede mantener el parásito en el perro (Barber y Trees., 19988). *Dubey., (2005)*.

Los casos graves de neosporosis se producen en perros jóvenes, infectados congénitamente desarrollando una parálisis progresiva. Los signos neurológicos son dependientes en el sitio parasitado. Las extremidades traseras son más afectadas que las extremidades anteriores mostrando una hyperextention. Otras disfunciones que se producen incluyen dificultad en la deglución, parálisis de la mandíbula, flacidez muscular, atrofia muscular e incluso insuficiencia cardíaca. los perros con parálisis puede ser una alerta de esta enfermedad.

La enfermedad puede ser localizada o generalizada y prácticamente todos los órganos pueden estar implicados incluyendo la piel. La dermatitis puede ser grave. Los perros de cualquier edad pueden ser afectados.

La neosporosis fatal se ha informado en perros de diferentes edades, perras infectados puede transmitir el parásito a sus fetos, y en sucesivas camadas de la misma perra puede nacer infectadas. No se conoce si hay predisposición de raza, sexo y susceptibilidad a la neosporosis en los perros. ([Dubey](#), [Schares G](#), [Ortega-Mora](#)., 2007).

La mayoría de los casos se han descrito en el Labrador retrievers, Boxers, Greyhounds, Golden retrievers, y Basset sabuesos. *Neospora caninum* ha sido aislado en varias ocasiones de los perros, en su mayoría de los perros con signos neuromusculares. Estudios epidemiológicos de coprología parasitaria en perros, son pocos los que se han realizados y sobre todo en establos lecheros en donde la serología es positiva. (*Dubey., 2005*).

II.- Objetivos

Evaluación de tres técnicas coprológicas para la determinación de Occistos u ooquistes de *Neospora caninum* en perros de establos de la Comarca Lagunera.

III.-REVICION DE LITERATURA

REICHEL., ELLIS., DUBEY.,(2007). Reportan que el perro como hospedador definitivo de *Neospora caninum*, en donde en muchas partes del mundo, la infección es relativamente común según lo determinado por serología. Informes de seroprevalencias normalmente van de 0 a 20 por ciento, sin embargo, los informes de los perros afectados clínicamente son poco frecuentes. Los Perros afectados son por lo general menores de seis meses de edad y presentan predominantemente signos de una creciente parálisis de extremidades asociados con lesiones como polyradiculoneuritis granulomatosa polimiositis, aunque cualquier órgano puede verse afectado, las infecciones son más comunes en el sistema nervioso central, los músculos, los pulmones y la piel.

El diagnóstico ante mortem es difícil, pero la serología y citología puede ayudar al diagnóstico. El diagnóstico puede ser confirmado por la histología, la inmunohistoquímica, o con la utilización de técnicas moleculares en el material de biopsia, o en exámenes post mortem. Los ooquistes *Neospora caninum* rara vez se encuentran en las heces y debe diferenciarse de ooquistes de las

coccidias como *Hammondia heydorni* y *T.gondii*. *Hammondia heydorni* puede causar diarrea en perros inmunodeprimidos. La Neosporosis se debe sospechar en jóvenes cachorros con una parálisis ascendente de la piernas. La alimentación con la carne cruda es un factor de riesgo potencial para la infección de los perros.

Schaes G, et al., (2005). Del Instituto federal de investigaciones de epidemiología Friedrich-Loeffler., Wusterhausen, Alemania, en su artículo (Oosistos de *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* y *Hammondia hammondi* en las eses de los perros colectadas en Alemania).

Reportan el diagnóstico en Muestras fecales de 24.089 de perros que fueron examinadas coproparasitoscópicamente en dos laboratorios veterinarios en Alemania entre marzo de 2001 y octubre de 2004, con resultados de 47 perros positivos a ooquistes de 9-14 micras de tamaño. Su morfología era similar a los de *Hammondia heydorni* y *Neospora caninum*. Dando de esa forma la manera de desarrollar criterios para una identificación preliminar de *N. caninum* en las heces del perro en base al estudio de como arrojar huevos enquistados naturalmente infectados por un perro y la *Neospora caninum* NC - 1 no se pueden distinguir, y se describe la transmisión de los experimentos con *Hammondia heydorni* con ooquistes aislados en 1996 de un perro naturalmente infectado. El aislado fue designado como *H. heydorni* - Berlin - 1996. El examen de sueros de huéspedes intermediarios infectados mostraron inmunidad a las reacciones que se asemejan a los patrones observados después de *Neospora caninum* NC - 1 infección. Además, el estudio demuestra claramente que *N. caninum* puede ser fácilmente transmitida por los perros que han ingerido exclusivamente músculos esqueléticos de huéspedes intermediarios infectados. Por lo tanto, el estudio tiene consecuencias en cuanto a las recomendaciones para los ganaderos para prevenir la transmisión postnatal, de *N. caninum* para el ganado. Indica que la alimentación de cualquier tejidos de los posibles huéspedes intermediarios (incluyendo ovejas, cabras, roedores) pueden inducir el derramamiento de ooquistes por los perros y por tanto, suponen un riesgo para la infección postnatal de los animales. Con

respecto a la morfología de ooquistes y la infectividad de los tejidos musculares, no se observaron diferencias en comparación con las observaciones realizadas en el pasado sobre *Isoospora bigemina* / *I. Heydorni* / *H. Heydorni*. Por lo tanto, estudios anteriores realizados sobre *I. bigemina* / *I. Heydorni* / *H. Heydorni* tienen que ser reevaluado críticamente para determinar si han incluido *N. caninum* u otros protozoarios parásitos que utilizan perros como huéspedes definitivos por su parecido a la morfología de ooquistes de *I. bigemina* / *I. Heydorni* , *H. Heydorni*.

En China la primera identificación de infección por *Neospora caninum* en los tejidos de fetos abortados en vacas. De los fetos abortados se obtuvieron muestras de suero y 16 muestras las cuales 12 tenían altos títulos de anticuerpos en suero a *N. caninum*, determinándose mediante la prueba de ELISA. El gen de *N. caninum* fue amplificado a partir de muestras de ADN extraídas de los cerebros de cuatro fetos abortados utilizando un *Neospora* específicos de ensayo de PCR, lo que confirma la infección por *N. caninum* en los fetos abortados. Histología e inmunohistoquímica se mostraron quiste en 25 μ m de diámetro en el cerebro de un feto. Encefalomiелitis, no supurativas se observaron, en las lesiones hepáticas se observo la infiltración de linfocitos y hemorragia también, así como en el corazón y pulmón del feto. Con esto, nos han confirmado por primera vez la infección de *N. caninum* en fetos abortados de animales bovinos en la República Popular de China.

Gondim y McAllister., Del departamento de parasitología veterinaria, colegio de medicina veterinaria y la universidad de Illinois de estados unidos, en el año 2004, reportan un experimento en cuatro coyotes cachorros en cautiverio les dieron a consumir tejidos de terneras infectadas con *Neospora caninum*. Las heces se analizaron a partir de 4 días antes de 28 días después de la infección. Una de las crías arrojo oocitos similares, con pruebas de PCR dieron positivas a *N. caninum* y negativos para *Hammondia heydorni*. y determinan que los coyotes son el segundo hospedador definitivo de *N. caninum*, después de los perros. En América del Norte, la ampliación de nacimientos de coyotes aumenta la probabilidad de contacto con el ganado doméstico. Para reducir el riesgo de transmisión de *N. caninum* en la cría intensiva de ganado, se recomienda la protección de los piensos utilizando vallas, y llevar a cabo una cuidadosa eliminación de animales muertos.

IV.-MATERIALES Y METODOS

4.1 Descripción del sitio experimental

La Comarca Lagunera esta situada en la parte central de la porción norte de los Estados Unidos Mexicanos. Se encuentra ubicada entre los meridianos 102° 22' y 104° 47' longitud oeste y los párelos 24° 22' y 26° 23' latitud norte, la altura media sobre el nivel de el mar es de 1139 mts. Cuenta con una extensión montañosa en donde se localizan las áreas agropecuarias y urbanas.

La topografía de la comarca lagunera que en términos generales es plana y de pendientes suaves que varían de 0.2° a 1.0 mst. Por km., generalmente así el norte y el noroeste. Esta conformada por parte de los estados de Coahuila y Durango y debe su nombre a los cuerpos de agua que se formaban alimentados por dos ríos, el Nasas y el Aguanaval, hasta antes de la construcción de las presas Lázaro Cárdenas y Francisco zarco, que en la actualidad regulan sus afluentes. La laguna, como comúnmente es conocida la región, esta integrada por 16 municipios, 11 del estado de Coahuila y 5 del estado de Durango (INEGI, 1994, INEGI 1998).

Este proyecto se realizo en establos ubicados en la región lagunera comprendiendo el municipio de Gómez Palacio y los municipios de Matamoros y Viesca Coahuila.

Este proyecto se realizo en establos ubicados en la región lagunera comprendiendo el municipio de Gómez Palacio y los municipios de Matamoros y Viesca Coahuila.

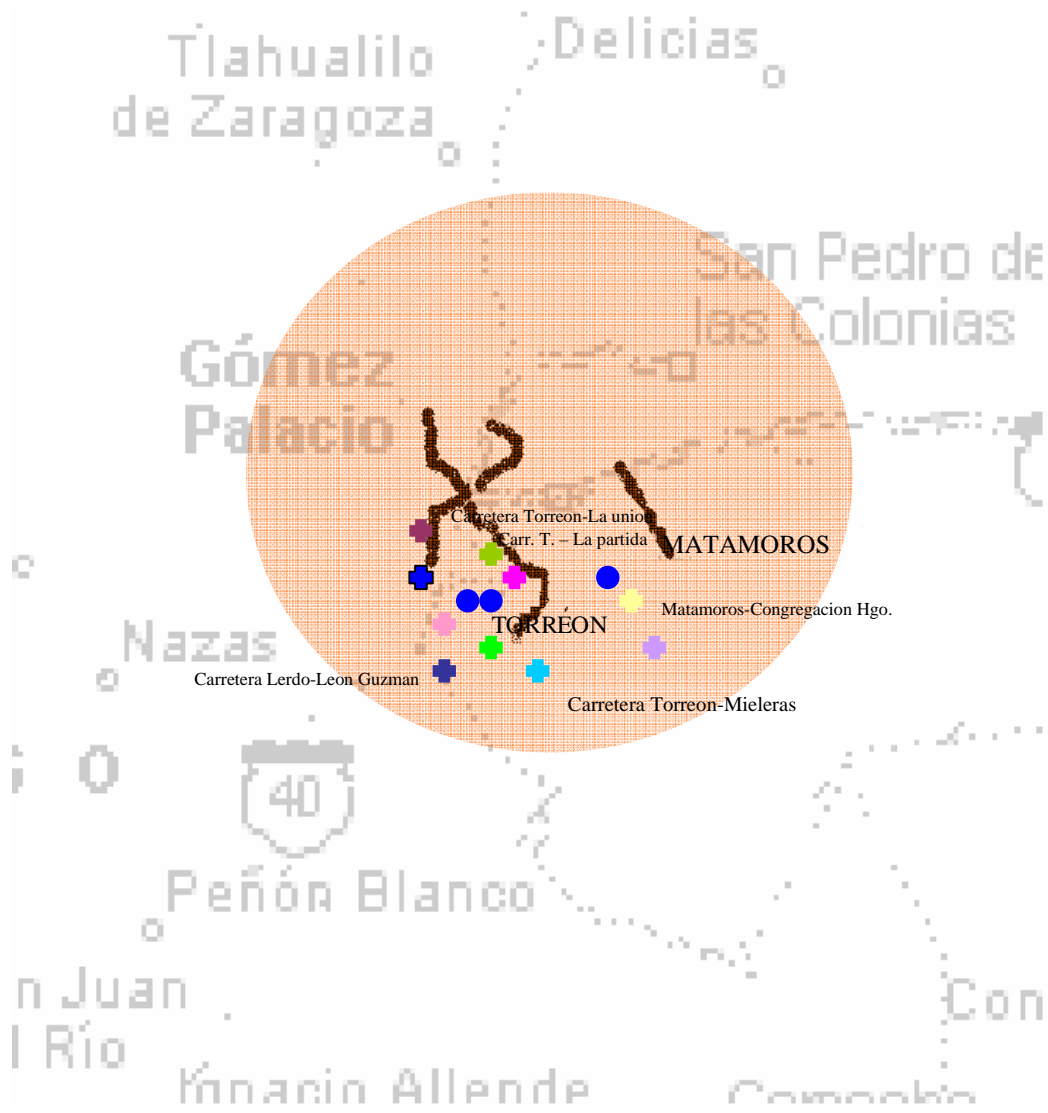


Figura 5.- mapa de la comarca lagunera

- | | | | |
|-----------------|-----------------|------------|---------------|
| ■ EL CAMPANARIO | ■ AMPUERO | ■ BRAÑ | ■ LOS ANGELES |
| ■ MAPULAS | ■ CAMPO SAGRADO | ■ PARTIDA | ■ LA CABAÑA |
| | ★ EL LUCERO | ● CARMELAS | |

4.2 Fase de campo

4.2.1 Toma de muestras

Como la información exacta del numero total de la cantidad de perros no existe, se toman muestras completamente al azar de diversos establos, de heces de perros que conviven dentro y a los alrededores de los establos entre los que destacan por citar algunos, Establo el milagro, carretera Torreón-El milagro k-6 Clima árido, Establo el faro, Carretera Torreón-mieleras k-16 Clima árido. Granja las Carmelas carretera torreón-Gómez P Clima árido., los perros muestreados no deberán tener antecedentes de desparasitacion contra parásitos gastrointestinales pero algunos podrán mostrar signos de desnutrición marcada.

Los muestreos se realizaron durante el periodo Abril – Septiembre, del 2007.

Las muestras de material fecal fueron recolectadas en bolsas de polietileno de los establos y sus alrededores. Se realizó 1 muestreo longitudinal, identificando con la dirección sexo, raza, edad, las heces de los perros a evaluar, se mantuvieron en refrigeración, para ser transportadas a el laboratorio de parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, donde se realizaron la las 3 técnicas de flotación, Sol. Glucosada, Sol, salina Método de Concentración Éter – Formol, se recolectaron 150 muestras.

El procesamiento de las heces se realizó en su mayoría inmediatamente después de su colección y aquellas muestras que no se lograron procesar en el día, fueron examinadas en todos los casos dentro de las 48 horas posteriores.

Cada muestra fue procesada por el Método de Concentración Éter-Formol (MCEF) .y las técnicas de flotación con Sol. Glucosada, y Sol, salina

4.3 Método de Concentración Éter – Formol

Las muestras preservadas con el fijador fueron homogenizadas con formol adicional dependiendo de la cantidad y viscosidad de la muestra. Se tamizo a través de dos capas de gasa en un tubo de centrifuga cónico de 15 ml, completándose con formol hasta 10 ml, luego de lo cual fue centrifugada a 2500 r.p.m. por 10 minutos para obtener de 0.5 a 1ml de sedimento. Se decanta el sobrenadante.

Posteriormente se agrega NaCl al 0.09% hasta completar un volumen de 10ml y se centrifuga a 2500 r.p.m. por 10 min. Se decanta obteniéndose un sedimento de aproximadamente 1ml. Se adiciona formol al 10% hasta 5ml y acetato de etilo hasta completar un volumen de 10 ml, agitándose vigorosamente la mezcla por 30seg. Se emplea acetato de etilo como sustituto del éter, debido a que es menos inflamable, de menor costo y menos dañino para su uso en el laboratorio y porque se ha demostrado que no se presentan

distorsiones ni alteraciones en la morfología de los huevos, larvas o quistes de las muestras estudiadas.

Se centrifuga por 10 min. Resultando 4 capas: una cantidad pequeña de sedimento en el fondo del tubo, una capa de formol, un tapón de detritus sobre la capa de formol y una capa de acetato de etilo en la superficie. El tapón de detritus se elimina desprendiéndola por medio de una bagueta. Se decanta todo el sobrenadante y se colocan gotas del sedimento con una pipeta en dos láminas, a las que se les agrega lugol y solución salina, respectivamente. Finalmente las láminas portaobjetos serán cubiertas con laminillas de celofán y observadas al microscopio óptico. Las otras técnicas fueron la técnica de concentración de solución glucosada y la técnica de saturación con cloruro de sodio

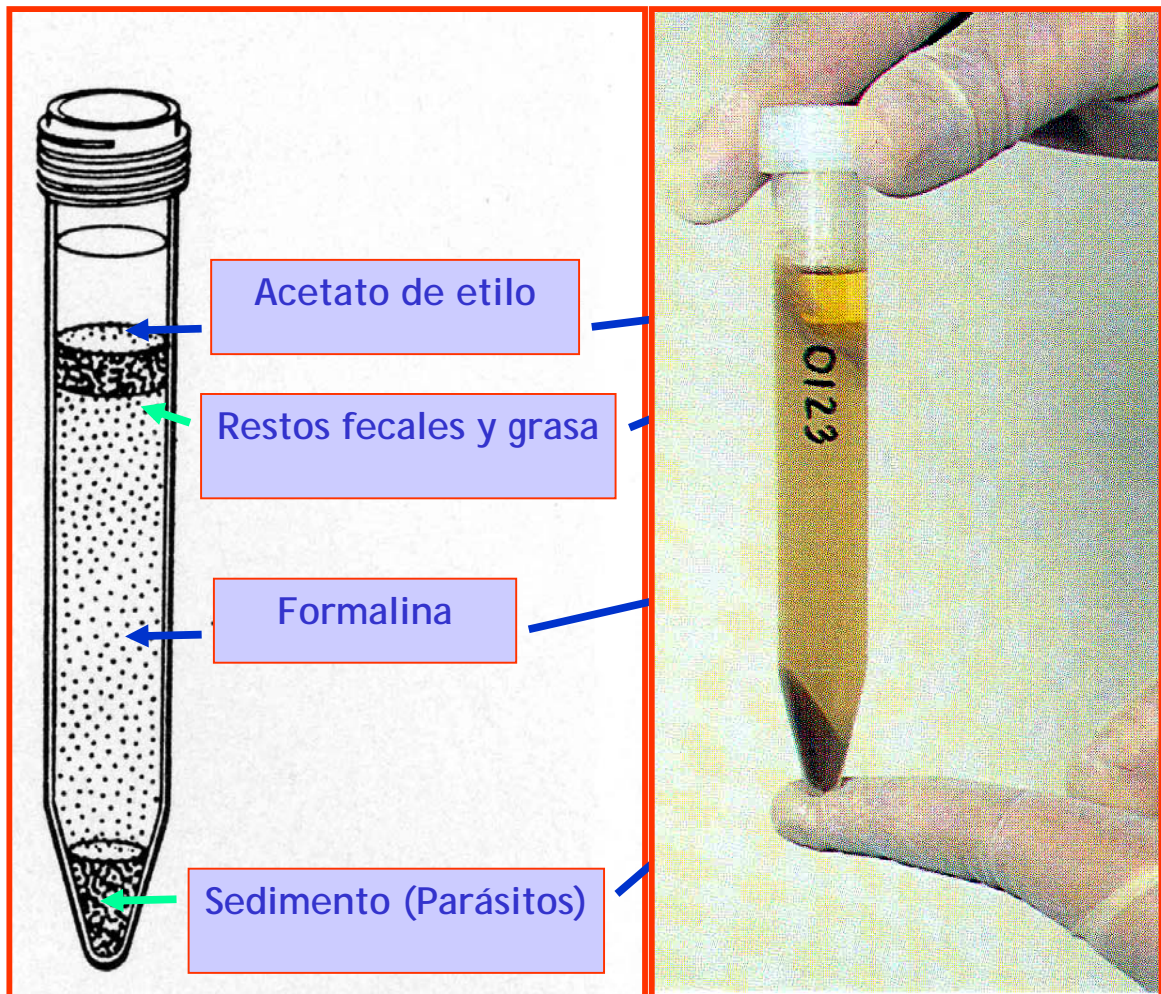


Figura 6.- material utilizado.

FISICOS <ul style="list-style-type: none"> ➤ Bolsas de plástico ➤ Refrigerantes de uso farmacéutico ➤ Tamiz ➤ Colador de 32 mallas/cm. ➤ Cedazo ➤ Tubos de ensaye de base cóncava ➤ Pipeta Pasteur de extremidad curva ➤ Microscopio ➤ Porta objetos y cubreobjetos ➤ Centrifuga ➤ Cubro bocas ➤ Guantes de látex ➤ Mortero ➤ Abate lenguas ➤ Gotero 	QUIMICOS <ul style="list-style-type: none"> ➤ Agua destilada ➤ Lugol ➤ Solución saturada de sal ➤ Solución glucosada ➤ Azúcar ➤ Eter ➤ Formol ➤ Acetato de etilo 	BIOLOGICOS <ul style="list-style-type: none"> ➤ perros
--	---	--

Cuadro I.- material y reactivos utilizados

4.4 Análisis estadístico:

El muestreo se llevo acabo en forma aleatoria,
Para el análisis estadístico de los datos fue por las siguientes formulas:

$$E = [1 - (1 - a)^{1/n}] [N - 1 / ((n - 1) / 2)]$$

Prevalencia = <E/N

Donde:

N= total de individuos en la población.

E= PxN. En donde E es un numero probable de individuos afectados.

A = Nivel de confianza .

La prevalencia se refiere a la proporción de una población que esta afectada por una enfermedad en un punto dado del tiempo. La prevalencia (P) de una enfermedad se obtiene con la siguiente fórmula:

Prevalencia = Número de casos encontrados durante el periodo de estudio

El total de la población en riesgo.

Los resultados se interpretaran en porcentaje

Algunas características mostradas de Occistos de *Neospora caninum*

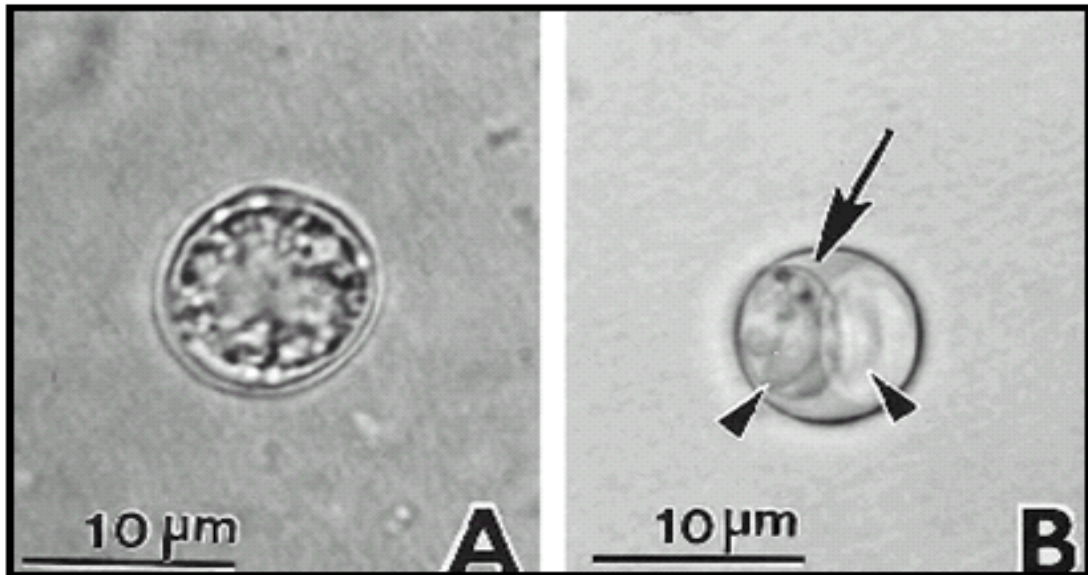


Figura 7.- oocistos de neospora caninum.

V.- RESULTADOS

Tabla 1 Parásitos gastrointestinales diagnosticados en heces de perros en el laboratorio de la UAAAN-UL

Parásito	canino	
	(n- 130)	
	No de heces	(%)
<i>Toxacara canis</i>	0	00%
<i>Toxacara leonina</i>	0	00%
<i>Toxacara cati</i>	0	00%
<i>Uncinaria stenocephala</i>	0	00%
<i>Spirocerca lupi</i>	0	00%
<i>Taenia spp.</i>	0	00%
<i>Dipylidium caninum</i>	0	00%
<i>Ancylostoma canino</i>	0	00%
<i>Trichuris vulpis</i>	130	13.0%
<i>Neospora caninum</i>	0	00%

Total de muestras 130	Positivas (+) a N.caninum	Negativas (-) N.caninum	Porcentaje % N.caninum
130	0.0	0.0	0.0%

Cuadro II.- resultados estadísticos

VI.-DISCUSIÓN.

El parasitismo gastrointestinal en perros de los establos y sus alrededores de la comarca lagunera, son de interés por el grado de patología que causan como la desnutrición, diarreas y anemias, que se caracterizan cuando la signología es clínicamente perceptible.

En el presente estudio se encontró que el parásito *Trichuris vulpis* se mostró como la única especie encontrada, cobrando interés por que la Tricuriasis es un indicador como factor de Zoonosis en la cual se pone en riesgo la salud pública de las personas, especialmente para los niños.

Nuestros resultados coinciden en el porcentaje con los mostrados por: *Ho, S y Wuantanabe Y*, en el año 2005, en Taiwan, con una prevalencia para *Trichuris vulpis* de 13. 2%., y con los mostrados por *Darela Blazius y Emrick*, en el año 2005, en Itapema, Santa Catarina Brasil, mostrando para *Trichuris vulpis* una prevalencia del 13. 9%.

Difiriendo en porcentaje de prevalencia con los mostrados por *Rodríguez y Denegri*, en el año 2005, en el municipio Mar de Plata, Argentina, quienes obtuvieron un porcentaje para *Trichuris vulpis* de 52. 19% y así como también los mostrados por *Andresiuk, M V Y Rodríguez F.*, en la ciudad de Mar del Plata, Argentina, con un porcentaje para *Trichuris vulpis*, del 52. 20%.

De la misma forma nuestros resultados difieren con los mostrados por *Unlu H, y Eren H.*, en el año 2007 en Ayedin Turquía, y *Senlik B. et al.*, en el año de 2006 en bursa Turquía, así como *Yacub Ht., et al.*, en 2006, en Debre Zeit Etiopía, con un 1. 5%, 2. 9% y 3. 0% respectivamente.

En estudios realizados en Yucatán México para tricuriasis canina y otros parásitos gastroentéricos, por *Roger I. Rodríguez-Vivas, Ligia A. Cob-Galera, José L. Domínguez-Alpizar*. Dieron a conocer un 7.35% para *Trichuris vulpis* de 993 muestras analizadas.

Nuestro trabajo determina el hallazgo y la presencia de huevecillos de *Trichuris vulpis* siendo estos de gran interés como indicadores de zoonosis sin embargo el objetivo del presente trabajo fue la evaluación de tres técnicas coprológicas para el hallazgo y determinación de Occistos de *Neospora caninum*, habiéndonos encontrado con una prevalencia nula en estos animales en este periodo de la prueba y con esta metodología.

En consideración a nuestro resultado se debe hacer mención de tomar en cuenta que en el caso de *Neospora* la ausencia de Occistos en las heces fecales de los perros pudo haberse debido a las medidas profilácticas y terapéuticas tomadas por los propietarios de los establos en cuanto a la practica de desparasitar continuamente a los perros o bien al poder de la capacidad adaptativa de los taquizoitos de *N. caninum* en ausencia de reproducción sexual, y a la variabilidad de comportamiento de distintas cepas del parásito

Estudios realizados sugieren tomar en cuenta, por otra parte, la teoría del “**trinquete de Muller**” (High, 1978), el cual predice que los organismos con reproducción asexual (caso del taquizoito de *N. caninum*) tendrían problemas para propagarse indefinidamente en el tiempo, si carecen de grandes mecanismos reparadores genéticos. Este fenómeno es más intenso cuando el número de individuos que componen la población inicial es bajo, tal y como ocurre en el momento de la transmisión en muchos patógenos. El fenómeno llega a ser crucial cuando el microorganismo patógeno utiliza, principalmente, el modo de transmisión vertical (Bergstron et al., 1999) como sucede en el caso de *N. caninum* en la especie bovina (Björkman et al., 1996; Paré et al., 1996; Anderson et al., 1997; Schares et al., 1998). Uniendo ambos conceptos, parece razonable plantear el interrogante de si *N. caninum* en su propagación en el ganado bovino, predominantemente asexual, no “necesitaría” intercalar periodos sexuales para evitar el efecto del “**trinquete de Muller**”. Por ello, conocer si *N. caninum* es capaz de evitar el trinquete en condiciones de asexualidad se plantea como una cuestión relevante desde el punto de vista teórico y práctico.

7.1 Trinquete de Muller

En genética evolutiva se conoce por **trinquete de Muller** (en honor a Hermann Joseph Muller) al proceso por el que los genomas de una población asexual acumulan mutaciones perjudiciales de forma irreversible.

Muller propuso este mecanismo como teoría para explicar la evolución del sexo. Debe señalarse que, aunque Muller propuso su trinquete para explicar el éxito de la reproducción sexual sobre la reproducción asexual, el efecto puede no ser común en organismos que se reproducen asexualmente pero realizan otras formas de recombinación, y podría observarse en las partes del genoma de organismos que se reproducen sexualmente pero no están sujetas a recombinación.

7.2 Explicación

La reproducción asexual hace que los genomas se hereden como bloques indivisibles, por lo que en cuanto los genomas menos mutados de una población asexual empiezan a portar al menos una (adicional) mutación perjudicial, no se puede esperar encontrar ningún genoma con menos mutaciones en las generaciones futuras (excepto como resultado de una poco probable retromutación). En poblaciones sexuales, el proceso de la recombinación genética permite que los genomas de la progenie sean distintos de los genomas de los progenitores. En particular, se puede generar progenie con genomas con menos mutaciones a partir de genomas progenitores muy mutados, aportándole al genoma de la progenie cromosomas progenitores sin mutaciones o trozos de cromosomas sin mutaciones.

Entre los protistas y procariontas existe una plétora de organismos supuestamente asexuales. Cada vez se descubren más de ellos que intercambian información genética mediante una diversa variedad de mecanismos. Por otro lado, se conoce con bastante seguridad que los genomas de las mitocondrias y los cloroplastos no se recombinan y sufrirían el efecto del trinquete de Muller si no fueran tan pequeños. Efectivamente, la probabilidad de que los genomas menos mutados de una población asexual terminen portando al menos una (adicional) mutación depende en gran medida de la tasa de mutación, y esta depende más o menos linealmente del tamaño del genoma (más exactamente, del número de pares de bases presentes en los genes activos). Sin embargo, las reducciones del tamaño del genoma, especialmente en parásitos y simbiontes, también pueden ser resultado de la selección directa

para deshacerse de los genes que han dejado de ser necesarios. Por tanto, un genoma más pequeño no es una indicación segura de la acción del trinquete de Muller.

En organismos de reproducción sexual, cromosomas o regiones cromosómicas no recombinantes (por ejemplo, el cromosoma Y mamíferiano) también pueden sufrir el efecto del trinquete de Muller. Y, de hecho, esas secuencias no recombinantes tienden a disminuir en tamaño y evolucionar rápidamente. Sin embargo, esa evolución rápida puede deberse también a la incapacidad de estas secuencias de reparar el ADN mediante la reparación asistida por plantillas que, en la práctica, es igual a un aumento de la tasa de mutación. Por tanto, no es fácil atribuir esos casos de disminución del genoma y/o evolución rápida tan solo al trinquete de Muller *sensu stricto*, es decir, a una acumulación acelerada de mutaciones perjudiciales que está causada por una incapacidad de generar progenie recombinante.

El trinquete de Muller se acelera en poblaciones más pequeñas y se piensa que establece límites para el tamaño máximo de los genomas asexuales y la continuidad evolutiva a largo plazo de los linajes asexuales (pero se piensa que algunos linajes asexuales son bastante antiguos: por ejemplo, los rotíferos Bdelloidea parece que son asexuales desde hace 40 millones de años).

Debe señalarse además que se han propuesto una variedad de procesos ecológicos y de genética de poblaciones para explicar el éxito de las formas sexuales, y todavía no está claro cuál de ellos es verdaderamente crucial (ver Evolución del sexo y la hipótesis de la Reina Roja).

VII.-LITERATURA CITADA

Andresiuk, M V Y Rodríguez F. 2004. Relevamiento de parásitos zoonóticos en materia fecal canina y su importancia para la salud de los niños. Arch. Argent.pediatr.(5) / 325

Castillo D, Paredes C, Zañartu C et al. 2000. Contaminación ambiental por huevos de *Toxocara* sp. en algunas plazas y parques públicos de Santiago de Chile, 1999. Bol Chil Parasitol; 55: 86-91.

Ciarmela M L, Minvielle M C, Lori g, Basualdo j a. Biological interaction between soil fungi and *Toxocara canis* eggs. Vet Parasitol 2002; 103: 251-7.

Chapiro J, Eddi C, Caracostantólogo C et al. Presencia de huevos de enteroparásitos zoonóticos en espacios públicos de la ciudad de Pilar. III Congreso Argentino y II Congreso Latinoamericano de Zoonosis. 2001; Resúmenes: en CD

Chieffi P, Müller E. Prevalência de parasitismo por *Toxocara canis* em cães e presença de *Toxocara* sp. no solo de localidades públicas da zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. Rev Saúde Pú 1976; 10: 367-72.

Chieffi P, Müller E. Estudo da variação mensal na contaminação do solo por ovos de *Toxocara* sp. (Nematoda, Ascaroidea), na zona urbana do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. Rev Inst A Lutz 1978; 38: 13-6.

Comite de expertos de OMS, 2001 Ginebra Suiza

Darela Blazius y Emrick 2005 Occurrence of protozoa and helminthes in faecal samples of stray dogs from Itapema City, Santa Catarina. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 38(1):73-74,

Fonrouge R, Guardis m v, Radman n, Archell s. Contaminación de suelos con huevos de *Toxocara* sp. en plazas y parques públicos de la ciudad de La Plata. Buenos Aires, Argentina. Bol Chil Parasitol 2000; 55: 83-5.

Fouad S, Sami k, Shaden A. Prevalence of intestinal helminths of dogs and foxes from Jordan. Parasitol Res 1999; 85: 928-34.

Gillespie S,H. *Toxocara*: dog walking and playing fields. Br J Sports Med 2001; 35: 6-7.

Giraldio y García 2005 Prevalencia de helmintos intestinales en caninos del departamento del Quindío. Biomédica; 25:346-52

Grassotti G, Papini R, Cardini g. Indagine sulla presenza di uova di *Toxocara* spp. in aree di verde pubblico della città di Pisa. Ann Facoltà Med Vet Pisa 2000; 52: 349-54.

Hendrix c m, Bruce h s, Kellman l j et al. Cutaneous larva *migrans* and enteric hookworm infections. J A V M A 1996; 209: 1763-7.

Hoffmann A N, Beltrao N, Botton S A, et al . Intestinal nematodes of stray dogs as zoonoses agents in D. Pedrito city (RS-Brazil). Bol Chil Parasitol 2000; 55: 92-3.

López y Abarca 2006 Parásitos intestinales en caninos y felinos con cuadros digestivos en Santiago, Chile. Consideraciones en Salud Pública. Rev Méd Chile; 134: 193-200

Maubecin E G, Mentzel R. E. 1995 Parasitosis entéricas en caninos de la ciudad de Posadas. Sel Vet; 3: 303-5.

Milano A M F, Ocherov E B. Contaminación por parásitos caninos de importancia zoonótica en playas de la ciudad de Corrientes, Argentinas. Parasitol Latinoam 2000; 57: 119-23.

Minvielle M C, Pezzani B, Basualdo farjat J A. 1993 Frecuencia de hallazgos de huevos de helmintos en materia fecal canina recolectada en lugares públicos de la ciudad de la plata (argentina). bol chil parasitol; 48: 63-5.

Miyazaki i. *Helminth zoonoses*. International Medical Foundation of Japan. Tokyo, 1991; 494 p.

Oge s, Oge H. Prevalence of *Toxocara* spp. eggs in the soil of public parks in Ankara, Turkey. Deutsh Tieräl Wschr 2001; 107: 72-5.

O'Írcain p. Epidemiology of *Toxocara* spp. in stray dogs and cats in Dublin, Ireland. J Helminth 1994; 68: 331-6.

Paul A J, Todd K S , Dipietro J A. Environmental contamination by eggs of *Toxocara* species. *Vet Parasitol* 1988; 26: 339-42.

Pereira D I, Basualdo Farjat J A, Minvielle M C et al. Catastro parasitológico. Helmintiasis en canes. Área: Gran La Plata, sobre 1000 casos. *Vet Arg* 1991; 7: 165-72.

Quroz, R, H., 2005 *Parasitología y Enfermedades Parasitarias de los Animales domésticos*, Editorial IMUSA

Rodríguez vivos y Cob- Galera. 2001, Frecuencia de parásitos gastrointestinales en animales domésticos diagnosticados en Yucatán, México. *Rev Biomed* 1; 12:19-25.

Rodríguez y Denegri., 2005 Relevamiento de parásitos zoonóticos en materia fecal canina y su importancia para la salud de los niños. *Rev. vet.* 16: 1, 9–12,

Rodríguez Y Denegri., 2005 Relevamiento coproparasitológico de caninos ingresados al Centro Municipal de Zoonosis de Mar del Plata, Argentina *Rev. vet.* 16: 1, 9–12,

Sánchez Murillo, J. M. Y et al., 2003 Prevalencia del parasitismo gastrointestinal canino en calles y parques de la ciudad de Badajoz. *Med Vet*, vol. 20 (4): 45-49.

Sommerfelt I E, Degregorio o, Barrera M et al. Contaminación ambiental urbana con huevos de endoparásitos de origen animal. *Vet Arg* 1994; 11: 457-61.

Uga S, Toshikadzu M, Nagta K. Defecation habits of cats and dogs and contamination by *Toxocara* eggs in public parks sandpits. *Am J Trop Med Hyg* 1996

Vázquez y Valencia., 1998 Tricocefalosis por *Trichuris vulpis* en un niño. *Acta Pediatr Mex* 1998; 19(5): 233.

Zunino M G, de Francesco M V, Kuruc J A et al. Helmintiasis caninas en la provincia del Chubut. II Congreso Argentino de Zoonosis y I Congreso Argentino y Latinoamericano de Enfermedades Emergentes 1998; Resúmenes: 85.

Zunino g, Rubel d, Abramowicz I et al. Helmintiasis en poblaciones caninas del Gran Buenos Aires: diversidad y epidemiología. XIX Reunión Argentina de Ecología 1999; Resúmenes: 253.

Zunino g, Rubel d, Abramowicz I et al. Helmintiasis en poblaciones caninas del Gran Buenos Aires: diversidad y epidemiología. XIX Reunión Argentina de Ecología 1999; Resúmenes: 253.

Zunino S G, de Francesco M V, Kuruc J A et al. Contaminación por helmintos en espacios públicos de la provincia de Chubut, Argentina. *Bol Chil Parasitol* 2000; 55: 78-83