
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

UNIDAD LAGUNA.

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“SITUACIÓN ACTUAL DE LA RESPUESTA INMUNE A
NEOSPORA”**

PRESENTADA POR:

YESENIA IBÁÑEZ CRUZ.

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER**

EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.

OCTUBRE 2007

INDICE.

1.-INTRODUCCIÓN.....	1
2.-ANTECEDENTES.....	2
2.1 Características de <i>Neospora caninum</i>	4
2.2 Morfología del parásito.....	4
2.3 Clasificación.....	7
2.4 Rango de hospedadores.....	8
2.5 Estructuras de los Apicomplexa.....	8
2.6 Características de la familia Apicomplexa.....	9
3.- CICLO BIOLÓGICO.....	10
4.-PROTEÍNAS DE NEOSPORA CANINUM.....	12
4.1 Proteína McMIC3.....	12
4.1.1 Localización subcelular de la proteína NcMIC3.....	13
4.2 Localización y función de proteínas de <i>N. caninum</i>	13
4.2.1 Gránulos densos.....	13
4.2.2 Roptrias.....	14
4.2.3 Micronemas.....	14
4.2.4 Superficie.....	15
4.3 Antígenos que caracterizan a <i>N. caninum</i>	15
5.- NEOSPOROSIS BOVINA.....	17
5.1 Ciclo de vida.....	17
5.2 Lesiones.....	18
5.3 Epidemiología.....	19
5.4 Transmisión.....	20
5.5 Patogenia.....	20
5.6 Diagnóstico.....	21
5.7 Prevalencia en México.....	21
5.8 Transmisión Vertical.....	21
5.9 Forma epizootica.....	24
5.10 Infección Natural.....	24
5.11 Relación parásito-ambiente.....	24
6.- SINTOMATOLOGIA.....	26
6.1 Anatomía patológica del feto.....	27
6.2 Cambios patológicos.....	27

7.- MECANISMOS DE DEFENSA.....	28
7.1 Vacunación, inmunización y protección.....	28
7.2 Sensibilización, Inmunización y Refuerzo.	28
8.- INMUNIDAD.....	29
8.1 Inmunidad adquirida.....	29
9.- RESPUESTA INMUNE PARA <i>N.caninum</i>.....	30
9.1 Inmunidad mediada por células.....	30
9.2 Inmunidad mediada por anticuerpos.....	31
9.3 Aspectos inmunes en las infecciones por <i>N. caninum</i>	32
9.4 Aspectos inmunes durante la gestación.....	33
9.5 Inmunorespuestas maternas y fetales.....	35
9.6 Inmunidad, gestación e infección por <i>N. caninum</i>	35
9.7 Detección del microorganismo.....	36
10.- DIAGNOSTICO.....	37
10.1 Diagnóstico epidemiológico y clínico.....	38
10.2 Diagnóstico laboratorio.....	38
10.2.1 Técnicas histológicas.....	39
10.2.1.1 Histología convencional.....	39
10.2.1.2 Inmunohistoquímica.....	40
10.2.2 Técnicas Serológicas.....	40
10.2.2.1 Inmunofluorescencia indirecta.....	40
10.2.2.2 ELISA.....	40
10.2.2.3 Western blot.....	41
10.2.2.4 Aglutinación directa.....	41
10.2.2.3 Serología fetal.....	42
10.2.2.4 Serología precalostral.....	42
11.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE <i>N. CANINUM</i>.....	43
12.- CONTROL DE LA TRANSMISIÓN VERTICAL.....	44
14.1 Manejo del rebaño.....	44
14.2 Control de perros.....	45
14.3 Medidas para reducir el número de hembras seropositivas...	45
13.- IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	46
14.- REFERENCIAS	47
15.- GLOSARIO.....	52

LISTA DE FIGURAS.

Fig. No 1.- Morfología de las fases de <i>Neospora</i>	7
Fig. No 2.- Estructura de los <i>Apicomplexa</i>	9
Fig. No 3.- Ciclo biológico de <i>N. caninum</i>	11
Fig. No 4.- Ciclo de propagación vertical y ciclo de trans. heterotoxénico....	23

ABREVIATURAS Y SIGLAS.

aa	Aminoácido.
CMSP	Células mononucleares de sangre periférica.
DNA	Acido desoxirribonucleico.
ELISA	Ensayo inmunoenzimático.
HC	Histología convencional.
HD	Hospedador definitivo.
IFI	Inmunofluorescencia indirecta.
IMA	Inmunidad mediada por anticuerpos.
IMC	Inmunidad mediada por células.
IFN- γ	Interferon- γ .
IHQ	Inmunohistoquímica.
IL-12	Interleucina 12
kDa	Kilodalton.
ON	Oxido nítrico.
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa.
pi.	Post infección
SAG	Antígenos superficiales.
SNC	Sistema nervioso central.
SRS	Secuencias relacionadas con SAG 1.
VP	Vacuola parasitófara.

1.- INTRODUCCIÓN.

Neospora caninum, es un agente causal de aborto en bovinos de regiones ganaderas de todo el mundo. Su ciclo de vida es heteroxeno siendo el perro el hospedador definitivo conocido hasta el momento. La infección transplacentaria es un eficiente mecanismo de transmisión de la enfermedad pero existe evidencia que muestra la transmisión postnatal en los bovinos.

Debido a sus pérdidas económicas que causa la neosporosis, existen diferencias entre las investigaciones sobre la importancia e impacto en salud animal y sobre la productividad de las explotaciones pecuarias se ve una tendencia mayoritaria en el sentido de que la enfermedad tiene un gran impacto, económico en las ganaderías como consecuencia de los abortos producidos, por lo que se han desarrollado nuevas técnicas diagnósticas para evitar el aborto. La modulación del sistema inmune por efecto de la gestación ocasiona un periodo de susceptibilidad al aborto por *N. caninum*, aunque la resistencia al parásito ha sido asociada con una respuesta de linfocitos T tipo 1 dicha respuesta inmune es compatible con una gestación exitosa.

Sin embargo, los mecanismos inmunes presentes en animales crónicamente infectados protegen del aborto ante una segunda exposición al protozooario. La comprensión de una respuesta inmune adquirida constituye un desafío para el desarrollo de inmunógenos. Este trabajo incluye conceptos generales de la neosporosis bovina haciendo énfasis en la respuesta inmune a *Neospora caninum*.

2.- ANTECEDENTES.

La literatura mundial es cada día mas abundante sobre la importancia que tiene *Neospora caninum* como causa de aborto en bovinos prácticamente en todos los países donde se ha investigado, se ha demostrado su presencia ya sea por identificación de microorganismos con pruebas como cultivo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), inmunohistoquímica y/o pruebas serológicas. (Aycachi, 2005).

La neosporosis se diagnosticó por primera vez en 1984 en Noruega como una encefalopatía mortal en perros, que parecía estar asociada a un parásito similar a *Toxoplasma gondii*. (Vonlaufen et al., 2004). Sin embargo, el nuevo género *Neospora* fue descrito hasta 1988 junto con su única especie representativa hasta en momento, *Neospora caninum*. Seguidamente Dubey 1988 obtuvo el primer aislado de *Neospora caninum* en cultivo celular en ratón, a partir de muestras de cerebro y músculos de origen canino. Una segunda especie en el género *Neospora* fue descubierta, el *N. hughesi* que causa la mieloencefalitis en los equinos. (Naguleswaran et al., 2001).

La obtención in Vitro del primer aislado de *N. caninum* permitió el desarrollo de una prueba de inmunofluorecencia indirecta (IFI) para el diagnostico serológico de la neosporosis y un año mas tarde en 1989 se desarrollo la prueba de inmunohistoquímica para la detección del parásito en tejidos de animales infectados. Speer y Dubey en 1989 realizaron estudios sobre la ultraestructura de los taquizoitos, bradizoitos y quistes titulares, como *N. caninum* como agente etiológico de abortos en ganado bovino.

Neospora es un parásito (protozooario) que pertenece a la familia Apicomplexa donde están agrupados también los géneros *Toxoplasma*, *Isospora* y *Sarcocystis* que difieren por los huéspedes que utilizan en su ciclo de vida y algunas características morfológicas. Los bovinos, ovinos caprinos y algunos equinos son huéspedes intermediarios donde *Neospora caninum* cumple la fase de reproducción asexual pudiendo desarrollar la enfermedad

que en los bovinos se caracteriza por aborto. (*Baszler et al., 2001; Staka et al., 2003*).

El perro actúa como huésped definitivo al ingerir fetos, placenta y carne de animales portadores, donde ocurre la fase asexuada a nivel intestinal, produciendo ooquistes, que son eliminados por heces que estas a su vez contaminan pastos y aguas infestando a los bovinos.

El parásito se halló por primera vez en Noruega en 1984, aunque estudios retrospectivos demostraron que el parásito ha sido endémico por lo menos desde 1957 en Estados Unidos. En 1988 se localizó en perros de Estados Unidos de América (EUA), en donde se aisló en cultivo de tejidos y se le denominó *Neospora caninum*. En perros jóvenes se asocia con parálisis severa y progresiva. (*Morales et al., 1997; Salinas et al., 2005*).

En 1987, se realizó la primera asociación de aborto por un protozoario parecido a *Neospora caninum* en el ganado lechero, en Nuevo México, EUA en un neonato Shorthorn proveniente de Maryland, EUA. Desde 1985 *Neospora sp.* Se ha identificado en más de 600 fetos abortados provenientes de más de 250 hatos. (*Morales et al., 1997*).

En México la neosporosis fue detectada en 1997 en un feto abortado de la raza Holstein, macho de 5 meses de gestación, que presento lesiones histológicas características, confirmándose la presencia del parásito a través de inmunohistoquímica (IHQ). (*Salinas et al., 2005*).

Estudios serológicos realizados en México donde se encontró seroprevalencia de 72% en vacas de hatos con tasas anuales de abortos entre 30% y 35 en estos últimos años (aborto epizoótico) y de 36% en vacas de hatos con tasas de abortos hasta de 12% anual en los últimos tres años (aborto enzoótico) por lo que se considero que la enfermedad podría estar ampliamente difundida en los principales hatos lecheros mexicanos. (*Salinas et al., 2005*).

2.1 Características de *Neospora caninum*.

N. caninum se incluye dentro del phylum *Apicomplexa*, clase *Sporozoea*, subclase *Coccidia*, orden *Eucoccidia*, suborden *Eimeria* y familia *Sarcocystidae*, junto con los géneros, *Toxoplasma*, *Sarcocystis*, *Hammondia* y *Besnoitia*. Los integrantes de la familia *Sarcocystidae* se caracterizan por tener ciclos biológicos heteroxenos y formar quistes en el hospedador intermediario. Tiene como hospedadores intermediarios a diferentes especies de herbívoros y como hospedadores definitivos a diferentes especies de carnívoros. Estos últimos eliminan ooquistes sin esporular en las heces las cuales, tras esporular en el medio ambiente, presentan en su interior dos esporoquistes con cuatro esporozoitos cada uno. (Vonlaufen et al., 2004; Morales et al., 1997; Aycachi, 2005).

2.2 Morfología del parásito

En el ciclo biológico de *N. caninum* se ha identificado tres estadios diferentes, los taquizoitos, los quistes tisulares con bradizoitos en su interior y los ooquistes. Los primeros son muy similares en *N. caninum* y *T. gondii* cuando se observan mediante microscopia óptica si bien existen notables diferencias ultraestructurales. (Mark et al., 1997).

Los taquizoitos se encuentran en el hospedador intermediario y en forma intracelular, generalmente a nivel citoplasmático, específicamente, en la vacuola parasitofaga de la célula hospedadora, puede parasitar a un gran número de células como neuronas, macrófagos, fibroblasto, células endoteliales, miocitos, hepatocitos. Los taquizoitos son el resultado de la proliferación que están presentes durante la fase aguda de la infección y la formación de quistes de tejido fino. (Vonlaufen et al., 2004).

Los taquizoitos en su citoplasma se encuentran hasta 150 micronemas y de 8 a 18 roptrias. El número de micronemas es muy variable y pueden encontrarse orientados de forma perpendicular a la membrana interna. Las roptrias contienen material muy electrodensos y son de 2 a 4 veces más gruesas

que los micronemas. Lindsay en 1993 demostró que la ultraestructura de los taquizoitos de tres aislados de origen canino NC-1, NC-2 y NC-3 era muy similar.

Los taquizoitos se dividen por endodiogénesis en forma rápida, miden aproximadamente 7-5 μm aproximadamente 3-7 μm de longitud, dependiendo de la etapa de división en la que se encuentren, tienen entre 6 -16 roptrias y en algunos casos presentaron entre 4-6 roptrias localizadas posterior al núcleo, raramente se observa un microporo, son de forma ovoide, semilunar o globosa. (Aycachi, 2005; Vonlaufen et al., 2004).

Los quistes es un estado encontrado en el hospedador intermedio. Estos en el tejido son ovalados o redondos y miden hasta 107 μm de diámetro y se encuentran primariamente en el sistema nervioso central, dentro de los cuales encontramos los bradizoitos aproximadamente 50-500 su pared es lisa y gruesa. (Aycachi, 2005).

La pared puede llegar a medir hasta 4 μm de grosor, esta compuesta por una pared quística primaria y una capa granular gruesa. La pared primaria consiste en una única membrana, la cual tiene su origen en la membrana de la vacuola parasitófara, mientras que la capa granular contiene vesículas electrodensas incluidas dentro de una matriz.

En las fases iniciales de la formación del quiste tisular, este presenta un tamaño de aproximadamente 17 μm y una pared delgada y regular, mientras que los quistes maduros son más grandes y su pared es más gruesa con un número mayor de invaginaciones de la pared primaria. En su interior se pueden encontrar hasta 200 bradizoitos. (Speer and Dubey, 1989; Speer et al., 1999).

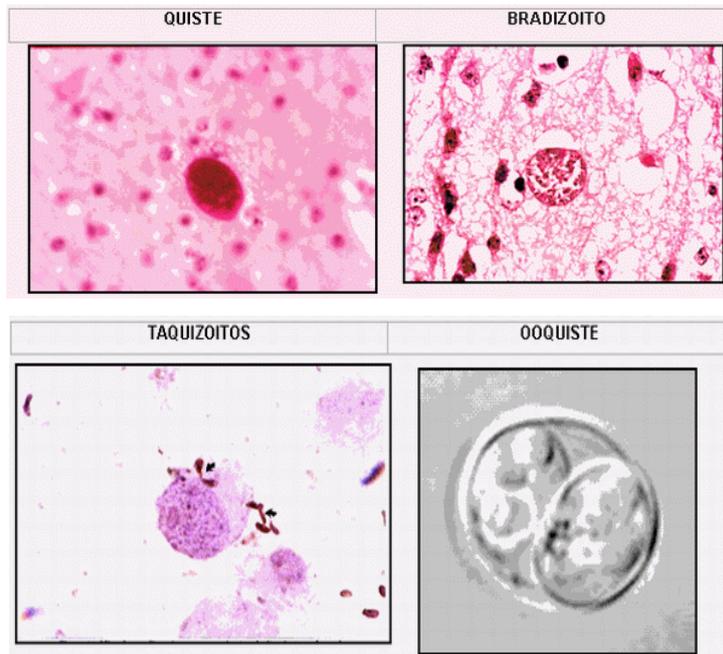
Los quistes de tejido fino que contienen bradizoitos de *N. caninum* pueden persistir en el bovino afectado por varios años sin causar ninguna reacción aunque la formación de granulomas alrededor del quiste o de bradizoito de tejido fino se ha observado degeneración, la ruptura del quiste antes o después causa focos de inflamación. La reactivación de los quistes del

tejido fino en situación inmunocompresora, por ejemplo durante la gestación, puede producir bradizoitos, taquizoitos y la infección subsecuente de la placenta y/o aborto del feto. (Vonlaufen et al., 2004; Müller et al., 2002).

Los bradizoitos se dividen por endodogénesis, en forma lenta, encontrándose dentro de los quistes tisulares. Son delgados miden aproximadamente 7-8 μm de longitud por 1-18 μm de ancho, contiene las mismas organelas que el taquizoito, pero presentan un número menor de roptrias, morfológicamente son similares a los taquizoitos. Cabe destacar la ausencia de características estructurales diferenciales entre los quistes tisulares y los bradizoitos de origen canino y bovino, los bradizoitos se encuentran en el interior de un quiste no septado, de 100 μm de diámetro, de pared lisa, de 1-4 μm de grosor, localizado exclusivamente en el SNC. (Cordero, Aycachi, 2005).

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

Ooquistes: No esporulados son eliminados por los perros infectados experimentalmente, midiendo entre 11.3 μm 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).



2.3 Clasificación.

De acuerdo a su localización: Es un endoparásito ya que se encuentra ubicado en el intestino tanto de perros (hospedador definitivo) como en vacunos (hospedador intermediario). También se encuentran en hígado, pulmón, cerebro, placenta y músculos.

Comportamiento: Obligario periódico, ya que el hospedador definitivo (perro) expulsa en las heces, ooquistes inmaduros y estos maduran en el ambiente en un periodo de 1 a 3 días, no cumple todo su ciclo dentro del hospedero.

Rango hospedero: Eurígeno ya que parasita tanto a los perros como vacunos, ovinos, equinos y caprinos.

Ciclo de vida: Heterogéneo ya que requiere de un hospedero intermediario, en este caso vacunos (también equinos, caprinos u ovinos).

Tipo de producción: Heterogénico ya que realiza un ciclo de reproducción asexual (esquizogonia) en el hospedador intermediario y un ciclo sexual (gametogonia). (Aycachi, 2005).

2.4 Rango de Hospedadores.

La infección por *N. caninum* se ha descrito, en el perro, ganado bovino, caprino, ovino, equino y recientemente en el búfalo de agua y camello. En animales silvestres, la infección ha sido detectada en ciervos, antílopes, mapache, coyote, zorro, dingo, felinos silvestres y en rinocerontes. La infección experimental ha sido establecida en el ratón, rata, gerbo, gato, perro, coyote, zorro, vaca, oveja, cabra, cerdo, macaco y en diversas especies de pájaros.

2.5 Estructuras del phylum APICOMPLEXA.

En el ciclo biológico de *N. caninum* se ha identificado tres estadios diferentes: los taquizoitos, los quistes tisulares con bradizoitos en su interior y a los ooquistes. En los Apicomplexa se describen las siguientes estructuras: dos anillos polares, un conoide, una película integrada por un plasmalema y una membrana interna, 22 microtúbulos subpeliculares, micronemas, roptrias, una mitocondria, un núcleo, el aparato de Golgi, ribosomas, polisomas, gránulos densos, gránulos de amilopectina, cuerpos lipídicos, vesículas, retículo endoplasmático liso y rugoso, un poro posterior. Fig. 1. (*Speer and Dubey., 1989; Lindsay et al., 1993; Speer et al., 1999*).

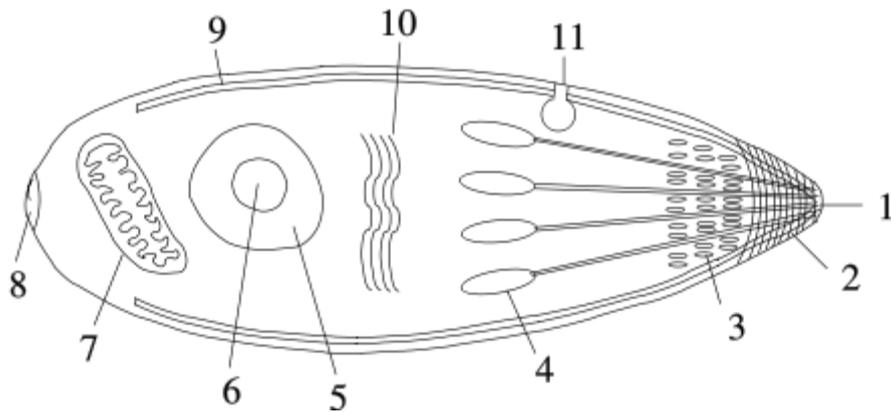


Fig. No.2.- Estructura de Apicomplexa : 1.- anillo polar, 2.- conoide, 3.- micronemas, 4.-roptrias, 5.- núcleo, 6.- nucleolo, 7.- mitocondria, 8.- anillo posterior, 9.- microtúbulo , 10.- aparato de Golgi , 11.- microporo.

2.6 Características de la familia APICOMPLEXA.

Tienen la capacidad de invadir una amplia gamma de células mamíferas y de tejidos finos; así como la especificidad de la célula huésped es muy baja. Emplean un sistema de tres organelas secretoras; los micronemas, las roptrias y los gránulos densos, que representan lo dominante en el proceso de la invasión. El lanzamiento secuencial de moléculas respectivas de estos organelas secretoras se requiere para alcanzar y consolidar la interacción física entre el parásito la superficie de la célula huésped y asegurar la entrada en la célula huésped, la superficie intracelular y el desarrollo. (*Naguleswaran et al., 2001*).

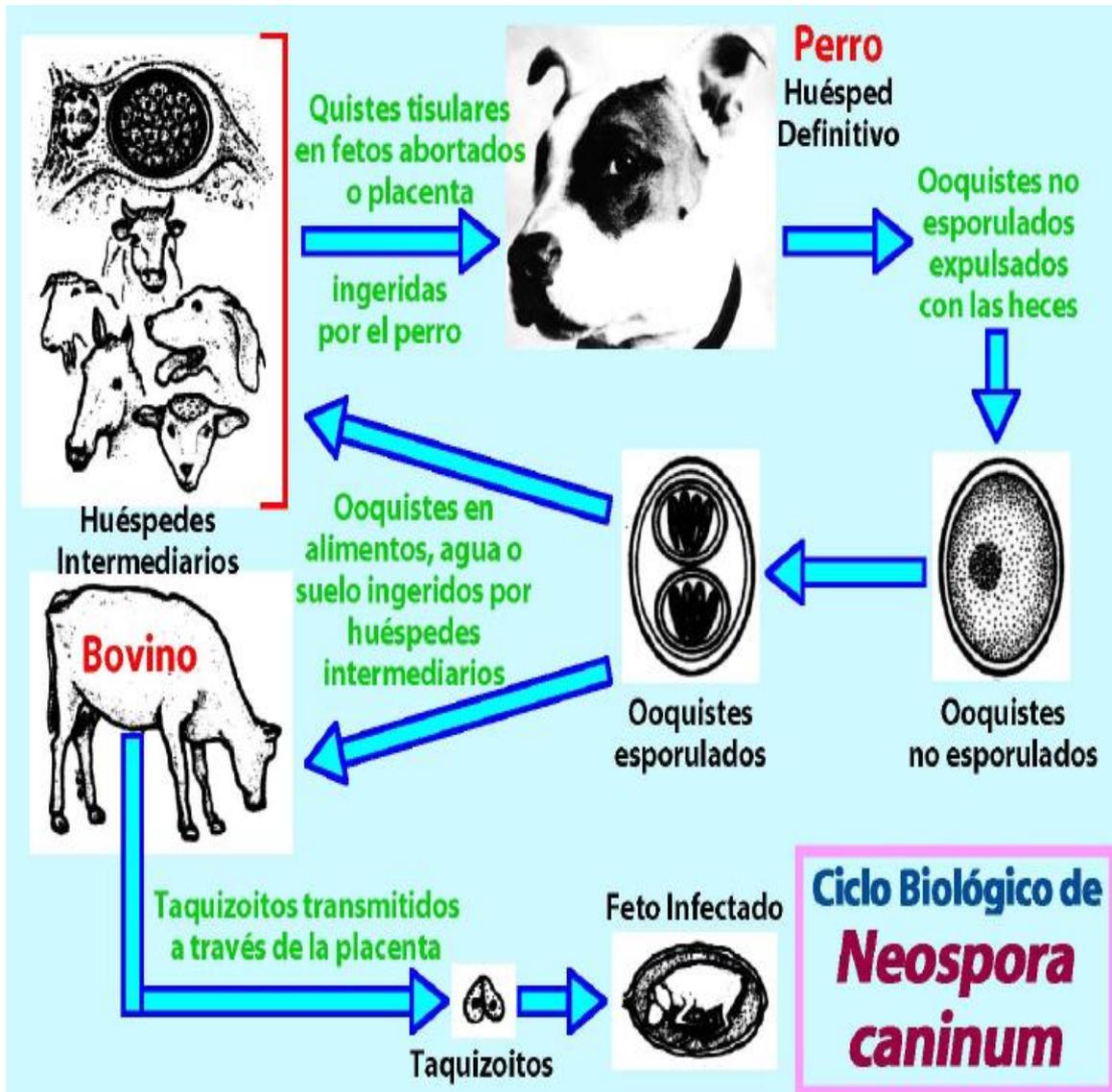
3.- CICLO BIOLÓGICO.

Neospora tiene formas invasivas de división rápida, los taquizoitos, formas de multiplicación lenta capaces de persistir durante años dentro de los quistes tisulares (Ej. SNC de fetos). Invaden las células del intestino y se convierten rápidamente en taquizoitos. Estos se multiplican asexualmente en forma repetida mediante endodiogenia. Esta es una reproducción mediante la cual dos células hijas se forman dentro del parásito progenitor.

Después de algunos ciclos de división asexual, se produce en los eritrocitos la multiplicación sexual que finaliza con la formación de ooquistes que se descarga con materia fecal. La infección en los bovinos se inicia por la ingestión de alimentos y agua contaminados por ooquistes.

En el intestino del bovino, los esporozoitos abandonan los ooquistes, invaden los enterocitos y se diseminan para invadir y multiplicarse en células de distinto origen embrionario formando un acumulo de taquizoitos que los destruyen. Estos zoitos libres invaden células cercanas y reinician su multiplicación. Solo en el SNC, los taquizoitos se reconvierten en bradizoitos y forman los quistes tisulares. En las vacas gestantes, los taquizoitos se localizan en el útero y la placenta e infectan al feto (infección congénita). El perro se infecta cuando ingiere tejidos fetales, placentas u órganos de bovinos o de otras especies infectadas con *N. caninum*. Fig.3. (E. Echaide y Rafaela., 2000).

Fig. 2. Ciclo biológico de *N. caninum*.



4.- PROTEINAS DE *Neospora caninum*.

Existen dos proteínas potencialmente adhesivas del micronema de *N. caninum* NcMIC2, identificado por Lovett, es homólogo a TgMIC2 de *Toxoplasma gondii* es una proteína adhesiva. La segunda proteína del micronema es NcMIC3, es una proteína homóloga a TGMIC3 que es adhesiva a la superficie de la célula huésped y a la superficie del parásito. (Naguleswaran et al., 2001).

NcMIC3 tiene tres dominios según su DNA; I.- una secuencia del péptido de señal Terminal que conduce la proteína al camino secretor. II.- dos regiones membranosas. III.- a la parte potencialmente adhesiva que consiste en cuatro consecuentes EGF como dominios están las secuencias de 30 a 40 residuos del aa en longitud que se han encontrado y conservado menos forma en una gran cantidad de proteínas extracelulares animales de la matriz y proteínas superficiales de la célula. (Naguleswaran et al., 2001).

4.1 Proteína NcMIC3

En parásitos Apicomplexa, la adherencia de la célula huésped y la invasión subsecuente implican el lanzamiento secuencial de las moléculas que originan de las organelas secretoras nombradas los micronemas, las roptrias y los gránulos densos. Las proteínas de micronemas inician el contacto entre el parásito y la célula huésped así establecen la interacción física entre el parásito y la superficie de la célula huésped. (Naguleswaran et al., 2001).

Esta interacción implica muy probablemente los dominios adhesivos encontrados dentro de las secuencias del polipéptido es una proteína micronema asociada encontrada en taquizoitos y bradizoitos de *Neospora caninum* y una porción grande de esta proteína alcanza el factor epidérmico consecutivo del crecimiento cuatro (EGF) como dominios.

La secreción de NcMIC3 sobre la superficie dio lugar a una exposición exterior del EGF como dominios y coincidió con una capacidad creciente de los taquizoitos de *Neospora caninum* al adherir a las células Vero mononucleares, in Vitro, una capacidad que podría inhibir por la adición de los anticuerpos dirigidos contra EGF como dominios. (Naguleswaran et al., 2001).

4.1.1 Localización subcelular de NcMIC3

Se determina la localización subcelular de NcMIC3 antes y después de la invasión de la célula huésped y encontramos que NcMIC3 es secretado sobre la superficie del taquizoito inmediatamente después de la lisis de la célula huésped de una manera temperatura dependiente. NcMIC3 superficie expuesta se podría detectar hasta 2 a 3 horas después de la invasión de la célula huésped y en puntos mas últimos de tiempo la distribución de la proteína fue restringida otra vez a los micronemas. (Naguleswaran et al., 2001).

Los análisis in Vitro de la secreción que se uso para purificar los taquizoitos demostraron la secreción sobre la superficie, NcMIC3 fueron desplazados en gran parte hacia el extremo posterior del parásito, empleando un mecanismo que requieren un sistema funcional del microfilamento de la actinia. (Naguleswaran et al., 2001).

4.2 Localización y función de las proteínas de *N. caninum*.

La identificación, caracterización y localización de los antígenos del parásito ayudan a determinar el mecanismo de adhesión, invasión y multiplicación de *N. caninum*. Los parásitos apicomplexa realizan la invasión de la célula mediante un proceso activo en el cual intervienen procesos de motilidad, adhesión a moléculas de superficie y penetración a la célula hospedadora.

Para llevar a cabo estos procesos complejos de adhesión e invasión celular, los apicomplexa cuentan con un gran número de proteínas específicas. Las características más importantes de los zoitos (fases invasivas) del

complejo apical localizado en el extremo anterior del parásito el cual interviene en el reconocimiento y penetración de las células hospedadoras.

Antes durante y después de la invasión celular, moléculas específicas son secretadas por organelas secretoras específicas como los gránulos densos, roptrias y micronemas, la mayoría de las cuales se localizan en el extremo anterior del parásito formando parte del complejo apical.

4.2.1 Gránulos densos.

Son organelas secretoras, que se localizan en el extremo anterior del parásito. Las moléculas que secretan los gránulos densos se dirigen hacia la superficie del parásito, facilitando la interacción del zoito con la célula hospedadora y su posterior invasión, o son secretadas dentro de la vacuola parasitofara durante y después de la penetración en la célula hospedadora formando parte del entramado, y de la membrana de la vacuola parasitofara. La secreción de estas proteínas tiene lugar durante el periodo de multiplicación del parásito. Las proteínas de gránulos densos son NcGRA6 y NcGRA7, otras de 29 y 67 kDa , denominadas NcNTpasa-I y NcGRA2. (*Bjerkas et al., 1994*).

4.2.2 Roptrias.

Las roptrias son organelas que están relacionadas con la invasión de la célula hospedadora y el establecimiento temprano de la infección. Una proteína de las roptrias de 17kda de *Neospora*, esta considerada como inmunodominante. (*Bjerkas et al., 1994*).

4.2.3 Micronemas.

Estas tienen funciones relacionadas con la invasión y adhesión celular, el contenido de los micronemas es secretado por la zona apical de los zoitos, posiblemente en el momento del contacto inicial con la célula hospedadora, distribuyéndose sobre la superficie del parásito. Una vez en la superficie del parásito, las proteínas de los micronemas intervienen en la interacción con las

moléculas de las células hospedadoras estableciéndose una fuerte unión entre el parásito y la célula para iniciar el proceso de invasión activa. NcMIC3 ha sido identificada como uno de los antígenos inmunodominantes de *N. caninum* y se localiza exclusivamente en los micronemas de los taquizoitos intracelulares. (Naguleswaran et al., 2001).

4.2.4 Superficie.

Las proteínas que forman parte de la superficie celular son imprescindibles en la supervivencia del parásito, ya que están implicadas en los procesos previos de adhesión e invasión celular, siendo responsables de iniciar las interacciones entre el patógeno y las moléculas de la superficie de la célula y estimular la respuesta inmune desarrollada por el hospedador. (Hemphil et al., 1996). Björkman et al., 1994. Las primeras proteínas de 17, 18 y 30, 45 kDa de la superficie de *Neospora caninum* por Western blot. Estos antígenos fueron estudiados más específicamente con seis anticuerpos monoclonales, caracterizando con seis antígenos inmunodominantes de 18, 30,32 y 44 kDa.

La primera proteína clonada de la superficie de *Neospora caninum* fue NcSRS2 de 43 kDa cuyos epitopos son mayoritariamente de naturaleza proteica, esta considerada como uno de los antígenos inmunodominantes de *Neospora* y coincide con la proteína p-35 descrita por Howe et al., 1998. presenta homología con proteínas de *Toxoplasma gondii*, que podría ser un candidato para el inmunodiagnóstico. (Hemphil et al., 1996).

4.3 Antígenos que caracterizan a *N. caninum*.

La identificación, localización y caracterización de moléculas de *Neospora caninum* involucradas en su interacción con los hospedadores, son necesarias para descifrar su biología, desarrollar nuevos métodos para el inmunodiagnóstico y producir inmunógenos para controlar la neosporosis. Actualmente se han descrito varias proteínas mediante el uso de diferentes técnicas. Debido a la cercanía filogenética entre *N. caninum* y *Toxoplasma gondii* y la similitud observada entre algunas de sus moléculas, se ha iniciado el uso de una denominación común para ambos parásitos.

Los antígenos denominados SAG (antígenos superficiales) y SRS (secuencias relacionadas a SAG1). El SAG1 de *N. caninum*, NcSAG1 es una proteína de 29/36 kDa, localizada solo en la superficie de los taquizoitos y esta involucrada en la adherencia pre-invasión. Otra proteína NcSRS2 de 35/43 kDa se ubica en la superficie de bradizoitos, taquizoitos y tiene una función similar. Las proteínas de estos parásitos muestran secuencias muy conservadas, localización y función similar, estas son antigenicamente diferentes (no hay reactividad cruzada entre epitopes).

El segundo grupo de proteínas localizadas en los gránulos densos se les denomina en forma genérica GRA y su función es establecer la adecuada función de la vacuola parasitófara. Esta se forma durante la invasión y es derivada del parásito y de la célula hospedadora. Para *N. caninum* se han identificado NcGRA7 (33kDa) y NcGRA6 (37kDa) ambas asociadas a la membrana de la vacuola parasitófara y a la pared vacuolar. En gránulos densos de *N. caninum* también se aisló una potente hidrolasa (NTPasa) que posee su homólogo en los gránulos densos de *T. gondii*.

Una molécula relevante identificada en la superficie de los taquizoitos de *N. caninum*, es una glicoproteína de 65kDa. Se aisló mediante un anticuerpo monoclonal (mAb) que se une a un epítopo hidrocarbonato ausente en *T. gondii* y *Sarcocystis spp.* La especificidad de este mAb permitió desarrollar un ELISA de competición eficiente para el diagnóstico. (Echaide y Rafaela 2000).

5.- NEOSPOROSIS BOVINA.

La neosporosis conocida también como neosporosis fetal bovina y neosporosis abortiva bovina, es una protozoonosis que afecta principalmente a terneras recién nacidas y a hembras gestantes, inicia con un cuadro neuromuscular de ataxia y contractura articular de las extremidades y en las hembras con muerte fetal acompañada de retención o aborto. (*Baszler et al., 1999; Rodríguez et al., 2001*).

5.1 Ciclo de vida.

Los hospedadores definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos de los hospedadores intermediarios conteniendo quistes. La pared del quiste es degradada por los jugos gástricos liberando las formas parasitarias, que iniciarán los estados entero-epiteliales. Después de la fase de reproducción asexual y sexual en el intestino. Los ooquistes son eliminados en las heces del HD. Los perros que consumen tejidos infectados pueden eliminar ooquistes manteniendo su condición de seronegativos y transmiten la infección verticalmente a sus cachorros o presentar miositis, parálisis y dermatitis. Siendo infectivos a las 24 horas después de su eliminación en las heces, los ooquistes ingresan a los hospedadores intermediarios por vía oral.

Los esporozoitos liberados en el aparato gastrointestinal del hospedador intermediario son capaces de alcanzar las vías sanguíneas y linfáticas accediendo a todos los tejidos, del SNC. Cerebro, médula espinal, nervios periféricos y retina (fase crónica) y tejido muscular. En una hembra bovina, luego de una infección oral (infección exógena) o por reactivación de quistes tisulares en estado de latencia adquiridos congénitamente (infección endógena), el parásito alcanza la vía sanguínea y es capaz de atravesar la placenta accediendo al feto.

Después de invadir, puede ocasionarse el aborto o la transmisión vertical con el nacimiento de un ternero clínicamente normal pero congénitamente infectado. El protozoario puede ser eliminado a través del semen en toros y su

ácido desoxirribonucleico (ADN) ha sido ocasionalmente detectado en muestras de semen congelado, aunque aún no hay suficiente investigación sobre esta posibilidad. (*Moore et al., 2005*).

5.2 Lesiones.

Estas se localizan principalmente en el feto abortado y en la placenta. Los adultos no manifiestan alteraciones evidentes. Los fetos pueden aparecer totalmente autolíticos o momificados, siendo esta última común en abortos causados por este parásito. En ocasiones, se observan únicamente restos del esqueleto óseo del feto ya que el resto de los tejidos pueden ser reabsorbidos en el útero. La placenta suele ser eliminada con el feto abortado, sin que exista retención. (*Barr et al., 1991*).

Las alteraciones macroscópicas localizan en el SNC. Microscópicamente pueden observarse áreas de malacia, con o sin hemorragia, estas lesiones se localizan principalmente en la médula espinal, que puede presentar malformaciones. Son raras y suelen presentarse en el músculo, tanto esquelético como cardíaco, en forma de pequeñas áreas blanquecinas que profundizan a la sección.

Microscópicamente en el feto son altamente específicas, son de naturaleza inflamatoria y degenerativa (focos de necrosis). Principalmente el en SNC, el corazón, músculo esquelético e hígado. Aunque se han encontrado lesiones asociadas en otros órganos como riñón, pulmón, páncreas y glándulas adrenales. (*Barr et al., 1991*).

En el SNC, este parásito invade de forma activa neuronas y astrocitos provocando trastornos neuromusculares graves por destrucción de las células nerviosas, incluyendo nervios craneales y espinales, afectando a la transmisión del impulso nervioso. La lesión más característica es una encéfalo mielitis no purulenta y la destrucción multifocal, que ocasionalmente muestran hemorragias o áreas de mineralización.

Alrededor de ellas se localiza un infiltrado inflamatorio formado por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas y áreas de gliosis, con proliferación de microglía y de los astrositos. (Dubey y Lahunta., 1993).

En corazón, la alteración típica es una miocarditis que puede variar desde focal a difusa y está constituida por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas en menor número que se localizan entre las fibras musculares que pueden mostrar signos de degeneración e incluso necrosis con posterior calcificación.

El hígado presenta una hepatitis no purulenta caracterizada por una necrosis de los hepatocitos asociado a un infiltrado de macrófagos y linfocitos distribuidos de forma difusa, aunque más intensamente en los espacios porta, hay infiltrados inflamatorios semejantes como pulmón (focales o difusos), en el riñón localizados preferentemente en la cortical, el páncreas o la glándula adrenal. En ganglios linfáticos únicamente se observa una hiperplasia reactiva, con presencia de folículos linfoides prominentes. (Dubey et al., 1990).

5.3 Epidemiología.

Es de distribución mundial, en la mayoría de los países es el diagnóstico más frecuente de abortos bovinos. Se presenta durante periodos de 1-2 meses en grandes explotaciones de vacas lecheras; también en casos esporádicos con evolución crónica. Hasta ahora ha sido diagnosticada en América del Norte, Canadá, Argentina, Chile, México, Australia, Nueva Zelanda, Japón, África del Sur, Europa, Noruega, Suecia, Dinamarca, Holanda, Suiza, Francia, Irlanda y Reino Unido. La distribución se debe al comercio internacional de bovinos seropositivos a otros países. (Echaide y Rafaela., 2000; Blood, 1995; Dubey et al., 2007).

Los estudios epidemiológicos de aborto bovino en regiones de varias partes del mundo indican que *N. caninum* ocupa el 3 a 4 % de abortos en los rebaños lecheros cuyas causas se ha diagnosticado la presencia de esta protozoario. (Mark et al., 1997).

5.4 Transmisión.

Aunque el parásito se ha logrado transmitir de forma experimental por diferentes vías (intramuscular, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, calostrado y oral), todas las evidencias sugieren que la transmisión vertical principalmente vía transplacentaria y posiblemente también vía calostro, es el principal modo de contagio de la enfermedad natural siendo la infección postnatal poco importante. (*Staska et al., 2003*).

5.5 Patogenia.

La acción patógena del parásito está ligada a la capacidad de multiplicación que tienen los taquizoitos en los distintos tipos de células, que provocan su destrucción. Es importante en el tejido muscular y nervioso, aunque en el ganado vacuno adulto solo se desarrolla en el SNC, como resultado de una encefalitis, que se produce hacia el mes de la infección.

La transmisión transplacentaria se desarrolla en los fetos una afectación tisular más generalizada, con lesiones en cerebro, médula espinal y corazón. Esporádicamente en pulmones, riñones y membranas fetales. Las lesiones se caracterizan por la presencia de focos de necrosis rodeados por células de glía y de abundante infiltrado peri vascular de mononucleares. El cuadro histopatológico está definido por una meningoencefalitis multifocal no purulenta. En la placenta y miocardio son frecuentes las grandes áreas de infiltración y de necrosis difusa. (*Innes et al., 2000; Innes et al., 2002*).

La acción difusa de meningoencefalitis, miocarditis y placentitis determina en la mayoría de los casos, la muerte del feto. Son dos las consecuencias de la muerte fetal, el aborto, que por regla generalmente se produce entre los 3 ½ meses y los 9 meses de gestación, con una media de 5 ½ retención. Los fetos retenidos pueden ser reabsorbidos; de manera parcial, da lugar a la formación de fetos momificados que pueden abortarse o retenerse hasta el final de la gestación. (*Innes et al., 2000; Innes et al., 2002*).

5.6 Diagnóstico.

La muerte fetal se produce al inicio de la gestación. Las vacas de vientre que mantienen la infección en fase de parasitemia persistente o intermitente, son capaces de transmitir la infección a los fetos en sucesivas gestaciones. La forma quística no ocasiona, una acción patógena destacada, ni mínima reacción inflamatoria, por parte del hospedador. Cuando se produce la ruptura del quiste, puede que los bradizoitos liberados emigren hacia las zonas próximas y se formen áreas dispersas de reacción inflamatoria locales, o se produce la degeneración del quiste y su sustitución por un granuloma.

La cantidad y la duración de la parasitemia, la capacidad del feto para desarrollar una respuesta inmune, las características del aislado de *N. caninum* y la eficacia de la respuesta inmune maternal. (*Innes et al., 2000; Innes et al., 2002*).

5.7 Prevalencia en México.

Debido que la neosporosis bovina se reconoció recientemente en México, los estudios seroepidemiológicos hasta la fecha han sido escasos. La detección de anticuerpos de *Neospora caninum* específicos en el suero de bovinos ha sido muy útil y satisfactoria para el diagnóstico de la infección y ha mostrado ser adecuada para investigaciones seroepidemiológicas.

Debido a que en el noroeste de México no existía demasiada información acerca de la neosporosis bovina, se realizó un estudio en el cual el objetivo fue determinar la frecuencia de anticuerpos contra *N. caninum* en ganado lechero y productor de carne. Se llevó a cabo con 44 hatos bovinos pertenecientes a diferentes localidades de Coahuila; Nuevo León y Tamaulipas. En Coahuila se observó una frecuencia de 45%; en Nuevo León, <5%; y en Tamaulipas, 16%. La frecuencia en la región noroeste de México fue de 36%. (*Salinas et al., 2005*).

En el presente estudio se presentó la mayor frecuencia en Torreón, que posee la mayor producción lechera de dicho estado, lo que pudiere ratificar la correlación entre la mayor producción lechera y mayor prevalencia de la

enfermedad. Los resultados obtenidos del presente estudio permiten demostrar que existe evidencia inmunológica para neosporosis, tanto en los hatos de bovinos productores de leche como en hatos productores de carne en el noroeste de México.

La frecuencia en la región noroeste de México de 36%. Los resultados permitieron establecer la existencia de animales seropositivos al protozooario *N. caninum*, en el noroeste de México. La evidencia serológica fue advertida tanto en la producción de leche como de carne. Esto indica que se deben aumentar los refuerzos en el área zoonosanitaria relacionada con las campañas de control y erradicación de las enfermedades para tener adecuadas condiciones y alcanzar mejores niveles de producción en la zona de estudio. (Salinas et al., 2005).

5.8 Transmisión vertical.

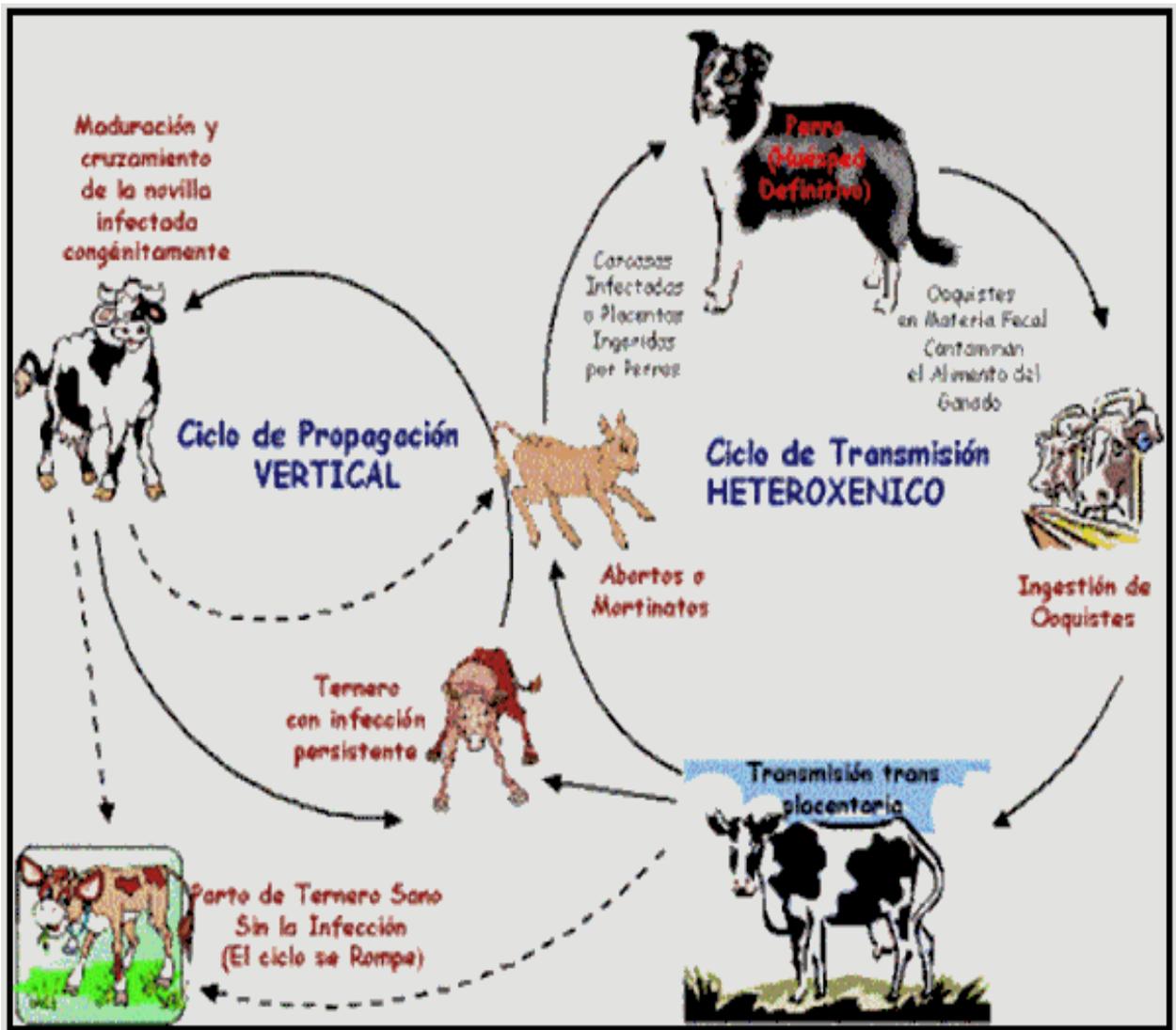
Esta es la forma más frecuente de la infección en el ganado bovino de neosporosis producida por *N. caninum*, la madre gestante transmite la infección al ternero el cual puede ser abortado entre los cuatro y seis meses, o bien producir el nacimiento de un ternero infectado que puede ser clínicamente normal o padecer de anomalías nerviosas. (Aycachi et al., 2005; Salinas et al., 2005).

Adquirida la infección in útero o desde el medio, los animales permanecen infectados probablemente de por vida y pueden transmitir la infección a su descendencia en distintas gestaciones, consecutivas. En general los animales infectados permanecen seropositivos aunque el nivel de anticuerpos fluctúa en relación con la presentación del aborto y durante la gestación. (Staska et al., 2003).

La existencia de la infección en determinadas líneas familiares y la ausencia aparente de transmisión horizontal observadas en la explotación, indican que el parásito puede transmitirse desde las madres infectadas a la descendencia durante varias generaciones y que la infección puede

mantenerse en las explotaciones donde la reposición con ganado propio es la norma en ausencia de un hospedador definitivo. (Staska et al., 2003).

Fig. Nº 4. Ciclo de propagación vertical. Y ciclo de transmisión heteroxenico.



5.9 Forma epizoótica.

La neosporosis puede generar 10% y 15 % de abortos en un período de pocas semanas, la causa de los abortos, podrían originarse en una fuente de la infección común ejemplo en el consumo de alimentos contaminados por oocistos. También debe considerarse, que en grupos de vacas infectadas, una causa predisponible común puede producir la reactivación de los quistes

tisulares. Las vaquillonas con infección congénita tienen un riesgo de aborto de 3-7 mayor que las vacas seronegativas. Las curvas de sobrevivencia de fetos de las primerizas muestran que los abortos relacionados a *N. caninum* ocurrieron predominantemente entre los 90 a 180 días de gestación. (Echaide et al., 2000).

5.10 Infección natural.

Durante la infección natural, los bradizoitos invaden las células epiteliales del intestino del perro para inducir el ciclo sexual. Las células epiteliales intestinales se cubren con las glicoproteínas de mucina, las cadenas de carbohidratos generalmente terminal son modificadas por el ácido siliático la presencia o la ausencia de ácidos siliáticos de la superficie de la célula huésped podría influenciar la invasión de la célula huésped, lo más notablemente posible por los bradizoitos de *N. caninum*. (Vonlaufen et al., 2004).

5.11 Relación parásito-ambiente.

Situaciones que favorecen el parasitismo. El uso de vacunas permite disminuir la ocurrencia de abortos, aunque difícilmente logren eliminar las infecciones persistentes debido a los quistes mencionados sin embargo esto no impide que se esté investigando la utilidad de nuevos productos químicos.

Situaciones que desfavorecen el parasitismo. La eliminación del parásito en el bovino infectado a través de la quimioterapia o de la + respuesta inmune post-infección se ve dificultada por la habilidad que tiene *N. caninum* para formar quistes en el tejido nervioso lo que le da protección y le permite persistir por tiempos indefinidos.

Los quimioterápicos, que son efectivos in Vitro o parcialmente efectivos para el tratamiento en la especie canina no serían útiles para bovinos con quistes y agregarían el riesgo de contaminar la leche con residuos químicos. (Echaide y Rafaela 2000.)

6.- SINTOMATOLOGÍA.

Adultos: Las vacas afectadas no muestran ningún síntoma clínico de enfermedad a excepción del aborto. No hay retención de placenta y la fertilidad después del aborto no parece alterada. Los fetos no presentan alteraciones macroscópicas aparentes, aunque suele haber un grado elevado de autólisis, siendo también muy frecuente la presencia de fetos momificados (*Trees et al., 1993*).

Los abortos se producen en vacas y novillas a partir de los tres meses de gestación, siendo más frecuentes (78%) entre los 4 y 6 meses, con una media de 5,6 a 5,7. *Neospora* puede provocar abortos repetidos en gestaciones consecutivas o intercalar abortos con gestaciones normales y nacimiento de terneros infectados. Los abortos pueden presentarse de forma endémica, epidémica o esporádica.

Fetos: la infección del fetal puede producirse en cualquier momento de la gestación, pero las consecuencias para el feto son más graves al comienzo de esta. 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 tercer y noveno mes de gestación, siendo más frecuente en torno a los 4- 7 meses. (*Bryan et al., 1994*).

Terneros: la infección del feto no siempre provoca la muerte del mismo y, en ocasiones, se produce el nacimiento de terneros infectados congénitamente y con sintomatología nerviosa a los cuales probablemente morirán a las 4 semanas de vida. (*Dubey and Lindsay., 1996*).

Los nacidos vivos aparecen los signos clínicos a los 5 días después del parto o se retrasan hasta transcurridas dos semanas, los signos son neuromusculares, incoordinación ligera hasta parálisis completa, debilidad y dificultad para pararse. Los miembros anteriores o posteriores están flexionados o hiperextendidos. El examen neurológico revela ataxia, disminución del reflejo patelar, pérdida de coordinación.

En ocasiones hay exoftalmia, posición asimétrica de los ojos y otras deformaciones asociadas con la lesión de las células nerviosas embrionarias. (*Barr et al., 1991; Barr et al., 1993; Bryan et al., 1994*).

6.1 Anatomía patológica del feto.

Se encuentra una encefalomiелitis no supurativa, con focos de gliosis y necrosis y en ocasiones quistes parasitarios, así como miocarditis y miosistis no supurativa e inflamación y necrosis en diversos órganos. (*Morales et al., 1997*).

6.2 Cambios patológicos.

Los cambios patológicos en la placenta consisten en la necrosis de Villa placentaria fetal, la necrosis y la inflamación en áreas adyacentes del tabique, maternal y la inflamación en la base de la carúncula y la presencia y distribución de las células NK en la placenta de los bovinos. Donde se encuentra distribución del tejido fino por el parásito dando una inmunorespuesta del ayudante I (Th-1) de T a la infección de *N. caninum*, dando como resultado infiltraciones de las células T, CD4+. (*Maley et al., 2006*).

Th-1 temprano en la gestación protege el producto eliminando el parásito; sin embargo, puede conducir a la destrucción de los tejidos finos placentarios estos mismos y así ser incompatible con la supervivencia fetal. (*Maley et al., 2006*).

7.- MECANISMOS DE DEFENSA.

1.- los mecanismos de defensa no específicos o nativos.

2.- mecanismos de defensa adquiridos; incluyen a los glóbulos blancos , fagocíticos, el interferón, el complemento y otros tipos de leucocitos como los linfocitos T, en especial los que se denominan células asesinas NK. Los microorganismos de defensa adquiridos pueden dividirse en inmunidad activa e inmunidad pasiva. (Aycachi., 2005).

7.1 Vacunación inmunización y protección.

La vacunación es simplemente la administración de una vacuna a un animal. No implica que el animal quedó protegido e incluso inmunizado. La inmunización ocurre cuando el animal responde a la vacunación en tal forma que la respuesta puede ser medida. Esta respuesta inmune no asegura la protección la enfermedad clínica. La enfermedad solo puede ser controlada por una respuesta mediada por células pero si no fue estimulada la respuesta humoral entonces no hay protección. La protección ocurre cuando un animal desarrolla una respuesta inmune que es capaz de prevenir la enfermedad clínica después de la exposición o de una cepa de campo bacteriana o viral incluyendo una vacuna. (Aycachi., 2005).

7.2 Sensibilización e Inmunización y refuerzo.

La sensibilización se lleva a cabo después de la aplicación de la primera dosis de vacuna muerta en un animal que es capaz de responder a esa vacuna. La inmunización se presenta después de la segunda dosis de vacuna muerta cuando se administra dentro de un plazo de tiempo razonable según el inmunógeno inyectado. La inmunización del virus vivo modificado ocurre después de una sola dosis de vacuna ya que la replica viral puede estar en contacto con el sistema inmune por un período amplio. El refuerzo ocurre en un animal previamente inmunizado después de cualquier dosis subsecuente de vacuna. (Aycachi., 2005).

8.- INMUNIDAD.

En condiciones naturales, sucede que los animales están sometidos a contagios retirados y frecuentes aunque por lo general con dosis bajas; esto hace que el hospedador se va relacionando con el parásito, en el cual se desarrolla una inmunidad protectora que la previene ante las sucesivas infecciones, limitando su número, las posibilidades de multiplicación del parásito y por lo consiguiente producir daño.

La inmunidad protectora, según se ha probado experimentalmente, oscila entre 3 y 9 meses, según la especie y es independiente de la existencia de quistes musculares. La inmunidad es mediada por células, es un mecanismo importante en la resistencia del huésped hacia *Neospora caninum*. (Aycachi., 2005).

8.1 Inmunidad adquirida.

La inmunidad adquirida pasivamente es cuando un animal recibe los anticuerpos de una fuente externa. La inmunidad adquirida activamente resulta de la recuperación exitosa de una enfermedad o después de una respuesta a la administración de una vacuna. La inmunidad activa adquirida se presenta cuando al animal reacciona contra un antígeno (bacterias, virus, vacuna etc.) (Aycachi et al., 2005).

La inmunidad activa requiere tiempo para desarrollarse, es antígeno específico y una vez establecida es de por vida. La inmunidad activa adquirida puede estar dividida en inmunidad humoral, inmunidad mediada por células o inmunidad de las mucosas. (Aycachi et al., 2005).

9.- RESPUESTA INMUNE PARA *N. caninum*.

La inmunidad contra los protozoarios intracelulares es en general mediada por células y denominada por respuesta linfocitaria tipo 1. Tanto las respuestas tipo I y II son mediadas por distintas citoquinas de cuyo balance depende del predominio de uno u otro tipo de respuesta celular y humoral. Durante la infección intracelular inicial el desarrollo de los linfocitos T-ayudantes 1(Th1), específicos para ciertos antígenos, es mediado por interleucina 12 (IL-12 e interferon gamma (INF γ)). Las Th secretan IL-2, INF γ y factor necrótico para tumores P (TNFB). La activación de los linfocitos Th1, promueven la respuesta citolítica y la inmunidad celular mediada por anticuerpos. (Echaide y Rafaela., 2000).

En investigaciones realizadas en ratones inoculadas con *N. caninum* mostraron. 1.-Un aumento de la morbilidad y mortalidad cuando se neutralizaba INF y In vivo. 2.- La inoculación de IL-12 recombinante disminuyó la severidad de los signos clínicos tempranos. 3.- que el efecto de la IL-12 era mediada por INF γ . Estos resultados mostraron que INF γ es un mediador importante para la sobrevivencia y la resistencia a la infección aguda por *N. caninum*. Otro trabajo mostró que células mononucleadas de sangre periférica de terneros inoculados con *N. caninum*, fueron fuertemente estimuladas in Vitro con antígeno crudo de taquizoito, e indujeron la producción de INF γ en abundancia. (Echaide y Rafaela., 2000).

9.1 Inmunidad mediada por células.

Los mecanismos dependientes de la IMC (inmunidad mediada por células) son relevantes para controlar un parásito intracelular obligado como *Neospora caninum* especialmente por su habilidad para evadir la respuesta inmune. La IMC que involucra a los linfocitos T cooperadora con la producción de IFN-g, IL-12 e IL-2 está asociada a la resistencia al protozoario. Experiencias In Vitro demostraron que el tratamiento de células con IFN-g recombinante inhibió la multiplicación intracelular de *N. caninum*. (Moore et al., 2005).

Ante la estimulación con antígeno de *N. caninum* lisado, las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) de bovinos infectados proliferaron y produjeron INF-g entre los 4 y 8 días postinoculación. Aunque el cultivo primario de células de cerebro bovino es altamente susceptible a la infección por *Neospora caninum*, la infección puede ser inhibida por adición de INF-g y FNT (factor de necrosis tumoral). (Moore et al., 2005).

Los antígenos de bajo peso molecular de taquizoitos de *N. caninum* (30kDa) estimularon la proliferación in Vitro de linfocitos T CD4+ obtenidos a partir de terneros experimentalmente infectados, la proliferación celular fue acompañada por un incremento en la concentración de IFN-g. Tratando células con el sobrenadante de células CD4+ que respondieron a antígenos de *N. caninum* se logró inhibir la multiplicación del parásito. Cuando se infectaron terneros por la vía oral, las CMSP cultivadas in Vitro respondieron al antígeno de *N. caninum* a los 7 días después del desafío. En este tipo de respuesta resultó evidente en CMSP, células de bazo y células de los ganglios mesentéricos, inguinales y bronquiales hasta 2 a 3 meses después de la infección. Los mecanismos dependientes de linfocitos citotóxicos serían posibles candidatos para impedir la transmisión vertical en bovinos. Los linfocitos T CD4+ predominaron sobre los linfocitos T CD8+ (células citotóxicas) en linfonódulos maternos y fetales de bovinos inoculados experimentalmente a los 140 días de gestación.

9.2 Inmunidad mediada por anticuerpos.

Las infecciones naturales y experimentalmente de animales logradas a partir de taquizoitos u ooquistes de *N. caninum* han permitido la caracterización de la IMA-. En animales experimentalmente y naturalmente infectados, la aidez de la IgG tiende a incrementarse con el curso de la infección, permitiendo la identificación de animales crónica o recientemente infectados. (Moore et al., 2005).

El desarrollo de anticuerpos específicos probablemente limita la parasitemia o facilita la lisis de los taquizoitos extracelulares. Ratones

deficientes de células B y de anticuerpos, murieron presentando lesiones de encefalitis necrotizante multifocal cuando fueron inoculados con *N. caninum*. Otro estudio investigó el rol de las células T utilizando ratones BALB/C, se concluyó que células CD4+ promovieron la producción de anticuerpos específicos, los cuales resultaron de importancia en la protección durante estadios avanzados de la enfermedad. (Moore et al., 2005).

Diferentes estudios realizados en ratones han descrito que luego de la infección por *N. caninum*, los anticuerpos predominantes son del isotipo IgG2 siendo bajos o nulos los niveles de IgG. En bovinos experimentalmente infectados los cuales existió una respuesta dependiente de células cooperadoras Th1 asociada a la producción de IgG2. Sin embargo, similares niveles de IgG1 e IgG2 fueron encontrados luego del desafío experimental con taquizoitos vivos.

9.3 Aspectos inmunes en las infecciones por *N. caninum*.

La respuesta inmune generada en las infecciones parasitarias varía según el tipo de parásito. Mientras que los parásitos multicelulares que viven en el espacio extracelular inducen una respuesta Th2 con producción de IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IgG1 e IgE, los protozoos intracelulares como *Neospora caninum*, estimulan una respuesta inmune Th1 dominada por la producción de IL-12, IFN-g, FNT e IgG2. Estas últimas citocinas activan vías que generan radicales libres y ON, los cuales son letales para dichos parásitos. (Moore et al., 2005).

9.4 Aspectos inmunes durante la gestación.

La madre gestante adapta su metabolismo y su sistema inmune proporcionando un medio homeostático y nutrientes (placenta, feto y fluidos) así la gestación esta condicionada por mecanismos de tolerancia o rechazo. Factores ambientales externos (infecciones y estrés) pueden desequilibrar el balance madre-feto ocasionando el aborto. Favorecida por los altos niveles de progesterona, la respuesta inmune Th2 (mediada por linfocitos helper tipo 2)

mantiene la preñez mediante la producción de IL4 (interleucina4), IL5, IL6, IL9 e IL10 y reducción de la producción de moléculas pro-inflamatorias como IL12 e (interferón gamma) INFg, las cuales son perjudiciales para la vía fetal. (Moore et al., 2005).

Uno de los mecanismos más importantes de rechazo del feto involucra un desvalance entre la respuesta Th1/Th2 a favor de la respuesta Th1 y producción de INF-g y otras citocinas asociadas a este tipo de respuesta. Las interleucinas IL-2, IL-3 y IL-12 promueven actividades citolíticas en macrófagos y NK, actúan la protombina facilitando la coagulación y la trombosis estimulando la producción de inmunoglobulinas que activan la cascada del complemento. Las infecciones que promueven una respuesta Th1 alteran el sincitiotrofoblasto. Más aún, el INF-g es capaz de actuar directamente sobre este tejido induciendo abortos espontáneos. (Moore et al., 2005).

Resulta de interés el rol del óxido nítrico (ON); este metabolito, originado a partir de nitrógeno y producido por macrófagos activados, tiene diversas funciones entre las cuales se mencionan la inmunosupresión y la destrucción de parásitos intracelulares. Durante un brote de abortos ocasionados por *N. caninum*, las vacas crónicamente infectadas resultan menos propensas a sufrir pérdidas reproductivas que vacas infectadas recientemente, siendo baja la avidéz de la IgG en este último grupo. Se ha mencionado que la baja avidéz de anticuerpos no necesariamente está asociada con una reciente infección por *N. caninum* aunque puede ser un indicador de riesgo de aborto. (Moore et al., 2005).

Parè y col, descubrieron que aquellos animales con altos títulos séricos hacia el final del período de la gravidez parían terneros clínicamente normales pero congénitamente infectados. Sin embargo, cuando los títulos séricos se incrementan durante la mitad de la gestación existían altas probabilidades que se produzca el aborto. En otros estudios se postuló que la respuesta inmune de vacas gestantes infectadas naturalmente estaba asociada a la parasitemia, existiendo una elevación en la concentración de anticuerpos 4-5 meses antes del parto. (Moore et al., 2005).

Los estrógenos placentarios incrementados durante la mitad de la gestación bovina tendrían efectos negativos sobre la IMC favoreciendo tanto la reactivación de bradizoitos como así también la parasitemia. La transmisión congénita de *N. caninum* o la ocurrencia del aborto en bovinos está relacionada con el momento de la gestación en que la madre es infectada. (Moore et al., 2005).

La repuesta inmune de vacas preñadas infectadas naturalmente está asociada a la parasitemia, existiendo una elevación en la concentración de anticuerpos, 4-5 meses antes del parto. Se ha sugerido que los estrógenos placentarios incrementados durante la mitad de la gestación bovina tendrían efectos negativos sobre la IMC favoreciendo tanto la reactivación de bradizoitos como así- también la parasitemia.

La infección por *N. caninum*, acompañada por incrementos en los niveles de IFN-g ha sido postulada como mecanismos fisiopatológico del aborto otros autores sostienen que la limitada producción de IFN-g es respuesta a la presencia de IL-10 secretada por las células del trofoblasto, impediría el control de la multiplicación de *N. caninum* durante la preñez. Así mismo la reactivación de los bradizoitos desde los lugares de latencia podría deberse al descenso de los niveles de IFN-g. (Moore et al., 2005).

9.5 Inmunorespuestas maternas y fetales.

Las Inmunorespuestas humorales y transmitidas por células de bovinos gestantes y de sus fetos que fueron infectados con taquizoitos de *N. caninum* en el día 140.en la pos-inoculación del día 14 (pi) las respuestas específicas de la proliferación de la célula fueron detectadas en el nodo de linfa, que drenan el sitio de inoculación y en el nodo de linfa uterino.

La respuesta máxima fue registrada en la mayoría de los nodos de linfa maternas por el día 28 pi. Y los nodos del SNC no demostraron actividad específica *N. caninum* hasta el día 42 pi. Este carácter cambiante de la sensibilidad inmune puede reflejar la invasión y el desarrollo del parásito dentro de diversos tejidos finos del anfitrión. Las células fetales del nodo linfático,

mostraron sensibilidad a partir del día 14 pi. (día 154 de la gestación) y también demostraron a *N. caninum* respuestas específicas de la proliferación y del IF- γ de la célula el día 28 pi. (día 108 de la gestación) el día 42 pi, las inmunorrespuestas transmitidas por las células específicas no eran evidentes; sin embargo, los anticuerpos de *N. caninum* IgG y IgM fue detectado. (Bartley et al., 2007).

9.6 Inmunidad gestación e infección por *N. caninum*.

Las infecciones con parásitos Apicomplexa tienen efectos nocivos para la gestación. La gestación favorecida por una respuesta Th2 compromete la resistencia al parásito ocasionalmente parasitemia e infección transplacentaria. Una eficiente respuesta Th1 hacia el parásito podría comprometer la gestación.

Un reciente trabajo se caracterizó por la expresión génica de citoquinas en fetos y vaquillonas inoculadas a las 110 días de la gestación describe que existió balance entre las respuestas Th1/Th2. en dicho estudio se sugiere que la infección del huésped podría ser favorecida por la expresión de IL-4 e IL-10 (respuesta Th2). (Moore et al., 2005).

Robert y col., proponen que la madre puede controlar la infección durante el 1 trimestre debido a que tiene una respuesta Th1 bien establecida, siendo bajos los niveles de progesterona y la respuesta Th2. la transmisión vertical ocurre durante el 3 trimestre cuando los altos niveles de progesterona asociada a la respuesta Th2 son incapaces de controlar el protozoo. (Moore et al., 2005).

En ganado infectado crónicamente con *N. caninum*, aumento la parasitemia y por lo consiguiente el número de parásitos, a mediados de la gestación. 1.- IFN la secreción y la capacidad proliferativa del linfocito T se disminuyen a mediados de la gestación sin importar la infección de *N. caninum*. 2.- los títulos del anticuerpo de *N. caninum* se eleva a mediados de la gestación independientemente de la época del año. 3.- la infección fetal se asocia a un aumento marcado del anticuerpo de *N. caninum*.

La resistencia inmune en ganado infectado dan lugar a un número mayor de parásitos que cruzan la placenta y la severidad aumenta las lesiones fetales, culminando con el aborto. (*Staska et al., 2003*).

9.7 Detección del microorganismo.

N. caninum puede encontrarse en LCR o aspirados y biopsias de tejido de algunos perros y detectarse con cualquier material utilizado para teñir frotis sanguíneos. Cuando se detectan los microorganismos, la biopsia del músculo afectado proporciona un diagnóstico definitivo.

En la microscopia de la luz, los taquizoitos de *N. caninum* resultan similares a los de *T. gondii* los quistes titulares de *N. caninum* tienen paredes más gruesas que los de *T. gondii*. *N. caninum* puede crecer en cultivo celular y en ratones; debe diferenciarse de *T. gondii* en los cortes mediante tinciones inmunológicas. También es posible detectar diferencias estructurales con la ME de transmisión. El quiste de *T. gondii* tiene una pared más delgada y menos micronemas y roptrias. Para diferenciar *N. caninum* de otros parásitos relacionados se ha visto el uso de la genética molecular y de PCR. (*Staska et al., 2003*).

10.- DIAGNOSTICO.

Para detectar la presencia del parasito *N. caninum* en un animal, dichos métodos presentan gran variabilidad respecto de su costo-beneficio. Los métodos serodiagnósticos constituyen una buena alternativa, ya que resultan sencillos, económicos, sensibles y específicos respecto de otras alternativas diagnósticas, como las moleculares, que aunque aparentemente los métodos moleculares son más costosos, éstos son más sensibles que los métodos serológicos, ya que determinan la presencia del parásito no anticuerpos como en el caso de los serológicos. (Mark et al., 1997).

Aunque la infección por *N. caninum* en los fetos abortados solo pueden diagnosticarse en cada caso individualmente mediante la detección de anticuerpos específicos y/o identificación del parásito en los tejidos, por inmunohistoquímica, o PCR. Los análisis sexológicos en los animales adultos proporcionan una información inicial acerca de la magnitud del problema.

El diagnóstico etiológico del aborto en el ganado bovino es complejo y laborioso y solamente se consigue determinar su origen de 50% de los casos remitidos a los laboratorios especializados. En el que hay un diagnóstico etiológico del 90% corresponden a agentes infecciosos y parasitarios en los que *N. caninum* ocupa el primer lugar.

La valoración de los datos de la anamnesia y la investigación epidemiológica, así como los datos obtenidos en el examen clínico y lesiones de hembras abortadas y sus fetos, se debe realizar el diagnóstico laboratorial para confirmar la etiología del aborto teniendo en cuenta otras posibles causas infecciosas y no transmisibles.

10.1 Diagnóstico epidemiológico y clínico.

Además de los datos relativos a la explotación, entorno y manejo del rebaño (sistema de explotación, dieta, historial reproductor, introducción de nuevos animales, tratamientos y vacunas presencia d perros), la historia clínica de la enfermedad puede facilitar la emisión de un buen diagnóstico. En rebaños infectados las vacas y novillas pueden presentar un a forma de aborto esporádica, endémica ó epidémica, en cualquier época del año. La existencia de antecedentes de aborto y la repetición de este en algunos animales, la edad del feto y la observación de los fetos momificados es muy importante. *(Mark et al., 1997).*

Si la infección intrauterina tiene lugar al inicio de la gestación, la muerte y reabsorción embrionaria o fetal suelen pasar desapercibidas pero, si la infección in útero ocurre más tarde, puede producirse el aborto (único signo clínico de la infección en rebaños de bovinos) con o sin presencia de momificación fetal. También puede producirse el nacimiento de terneros clínicamente afectados o de animales aparentemente sanos pero con infección subclínica.

10.2 Diagnóstico laboratorial.

En el feto, el diagnóstico laboratorial se realiza en los tejidos y en los líquidos fetales mediante técnicas que permiten la detección de lesiones, el aislamiento del parásito, su identificación y la puesta evidencia de anticuerpos anti-neospora en fluídos fetales. Por lo que siempre debe remitirse al laboratorio el feto completo con la placenta y una muestra de suero materno, si no es posible debe enviarse al menos la cabaza del feto, ya que el taquizoito y/o quistes y las lesiones más características producidas en los fetos abortados se localizan preferentemente en el cerebro. *(Ooi et al., 2000).*

En adultos el diagnóstico se realiza mediante la detección de anticuerpos específicos en el suero con la detección de anticuerpos específicos en calostro y leche de vacas infectadas, así como en fluidos vaginales y saliva, siendo el orden de frecuencia de detección de anticuerpos suero, leche, fluidos vaginales y saliva. (Ooi *et al.*, 2000).

10.2.1 Técnicas histológicas.

El diagnóstico de la enfermedad se ha basado en la detección del parásito o de las lesiones causadas por éste, en los tejidos fetales mediante técnicas histológicas convencionales (tinción de cortes histológicos con hematoxilina y eosina) e inmunohistoquímicas utilizando anticuerpos específicos frente a *Neospora caninum*. También es frecuente la detección de taquizoitos del parásito en tejido de los fetos abortados al principio de la gestación, apareciendo los quistes titulares en mayor número en los terneros mortinatos o en animales neonatos con morfología y sacrificados antes de los siete días de vida. (Dubey and Lindsay., 1996)

10.2.1.1 Histología convencional.

La identificación del parásito en este tipo de estudio es muy difícil debido a su similitud morfológica con *Toxoplasma gondii* y *Sarcocystis* spp. Y generalmente el número de parásitos (taquizoitos y quistes) presentes en las muestras es escaso y son difíciles de encontrar en los cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina. La observación de lesiones histológicas degenerativas e inflamatorias típicas de las infecciones por protozoarios, localizados en el cerebro y corazón permiten un diagnóstico presuntivo del aborto por *Neosporosis*.

10.2.1.2 Inmunohistoquímica.

Permite identificar los parásitos en los tejidos y debe sumarse a los resultados obtenidos mediante histopatología. Esta es una prueba muy laboriosa y su sensibilidad es relativa. Se deben examinar cortes de 3-5 áreas del cerebro y de otros tejidos. El hallazgo de algún quiste a o acumulo de taquizoitos, define una infección congénita, pero no la causa del aborto. La reacción en cadena para la polimerasa (PCR) es una técnica de alta sensibilidad y especificidad. (*Echaide et al., 2000*).

10.2.2 Técnicas serológicas.

10.2.2.1 inmunofluoresencia indirecta (IFI)

El diagnóstico sexológico en el ganado con IFI, ha sido útil en la determinación de anticuerpos previos a la ingestión de calostro, así como para dar seguimiento al estado sexológico de los hatos. (*Morales et al., 1997*).

10.2.2.2 Técnica ELISA.

Se ha reconocido que la técnica de ELISA es consistente, objetiva, rápida y precisa, siendo más sensible y específica que la IFAT (*Morales et al., 1997; Salinas et al., 2005*) *Paré et al., 1995* notificaron 89% de sensibilidad y 7% de especificidad en el caso de ELISA. Otros laboratorios describieron sensibilidad y especificidad de 92% - 98% y 87% - 100% respectivamente. (*Salinas et al., 2005*).

10.2.2.3 Western blot.

La técnica de Western blot se ha utilizado, fundamentalmente, para estudiar la composición antigénica de *N. caninum*, empleando sueros de diferentes especies infectadas. Entre los antígenos identificados destacan por su intensidad y frecuencia de reconocimiento varios antígenos inmunodominantes de 17, 29, 37 y 46 kDa. (Bjerkas et al., 1994).

En cuanto a la utilidad diagnóstica el Western blot es una técnica que se ha empleado en escasos estudios de rebaños como apoyo a otras pruebas serológicas IFI y ELISA, más que una técnica rutinaria, para establecer valores de concordancia y puntos de corte. (Schaes et al., 1998; Sondeen et al., 2001).

El Western blot podría sustituir a la IFI como técnica de resistencia en el diagnóstico serológico de la neosporosis, debido a que éste presentó una mayor sensibilidad en comparación a la IFI y el ELISA sin que por ello disminuye la especificidad. (Schaes et al., 1998). Posteriormente, se comprobó que el diagnóstico serológico fetal mejoraba considerablemente cuando se empleaba el Western blot. (Sondeen et al., 2001).

10.2.2.4 Aglutinación directa.

Se basa en la capacidad de aglutinación de los taquizoitos formalinizados en presencia de inmunoglobulinas específicas. Esta prueba ha incluido una modificación en la cual únicamente se detectan IgG mientras IgM son destruidas mediante un tratamiento con mercaptoetanol. Esta modificación se basa en las pruebas diseñadas para el diagnóstico de la infección por *Neospora caninum*. La prueba ha demostrado ser bastante específica y en su desarrollo se han empleado los aislados de *N. caninum* donde se ha obtenido una sensibilidad elevada cuando se analizan sueros de 16 especies, por lo que ha reemplazado a las técnicas serológicas IFI y ELISA que se emplean en forma habitual en los estudios epidemiológicos. (Morales et al., 1997).

10.2.3 Serología fetal.

La serología fetal puede ser útil para el diagnóstico de infección congénita y abortos, junto a las demás pruebas. Sin embargo para la gran frecuencia de nacimiento 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 (<5 meses de edad), autólisis de inmunoglobulinas o muerte antes de producir las mismas. Sin embargo también importa en este caso, la abundancia de lesiones y/o parásitos. La sola presencia del parásito en cortes de tejido tampoco significa que haya sido la causa del aborto, porque un elevado porcentaje de terneros con infección congénita desarrollan normalmente. (*Echaide y Rafaela., 2005*).

10.2.4 Serología precalostril.

También se ha señalado la importancia de la serología precalostril en el control de la transmisión vertical, puesto que todos los terneros de vacas infectadas no presentan una serología precalostril positiva. De ese modo, el análisis de la serología precalostril puede resultar de utilidad para diferenciar anticuerpos precalostriles de los anticuerpos recibidos con el calostro procedentes de la madre y así eliminar solamente la descendencia seropositiva congénitamente infectada.

11.- DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE *N. caninum*.

Las infecciones más importantes que pueden causar aborto en el ganado bovino son, Brucelosis, Campilobacteriosis, Leptospirosis, Listeriosis, Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), Diarrea Viral Bovina (DVB), Clamidiasis, Tricomoniasis, hongos y otros agentes bacterianos. Debido a la diversidad de casos de aborto bovino, se deberá hacer un diagnóstico asiendo énfasis en los agentes infecciosos como: *Bacillus aereus*, *Pasteurella multocida*, *Psudomona aeruginosa*, *Actinomices pyogenes*, *Streptococcus Bovis*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Los traumatismos la fatiga, el choque quirúrgico, los venenos y ciertas drogas, plantas tóxicas y agentes químicos han sido incrementadas como causa de abortos, el contacto directo con el feto, la deficiencia de vitamina. A, placenta retenida, algunas formas de desnutrición, deficiencias dietéticas o trastornos crónicos que causan caquexia severa, pueden causar aborto. (Delgado et al., 1995; Blood, 1995).

12.- CONTROL DE LA TRANSMISIÓN VERTICAL.

Hasta donde se conoce, la infección congénita es el principal modo de transmisión y las medidas encaminadas a evitarla deben constituir la base del control de esa enfermedad. La infección congénita puede manifestarse con el aborto, el nacimiento de terneros débiles con signos neurológicos graves que fallecerán a los pocos días y por último el nacimiento de terneros aparentemente sanos pero infectados, que si son hembras tendrán a su vez la posibilidad de transferir la infección a la progenie. Estas hembras no deberán ser utilizadas para la reposición de la granja ni vendidas para tal fin, es importante si se quiere frenar la propagación de esta enfermedad. El seguimiento del estado inmunológico de las reproductoras, evitando la presencia de hembras seropositivas en la granja es la medida más eficaz. (Thurmond y Hietala 1995; French et al., 1999; Jensen et al., 1999).

12.1 Manejo del rebaño.

A la hora de establecer las medidas de control adecuadas encaminadas a evitar la propagación de la infección en el rebaño se deben de tener en cuenta algunos aspectos epidemiológicos de la enfermedad.

- * La seroprevalencia de la infección por *N. caninum* es elevada.
- * La infección se mantiene probablemente de por vida con fluctuaciones en los niveles séricos de anticuerpos que pueden llevar a períodos de aparente seronegatividad alternando con períodos de seropositividad.
- * El riesgo de aborto, la única manifestación clínica de la neosporosis en reproductoras gestantes, de las hembras, infectadas es 2 a 3 veces superior de las hembras no infectadas.
- * La infección puede ser transmitida por la novilla o a la vaca infectada a la descendencia en gestaciones sucesivas.
- * La ternera con infección congénita subclínica que nace viva y supera la enfermedad es una posible transmisora, por lo que no es opta para reposición. (Thurmond y Hietala, 1995; French et al., 1999; Jensen et al., 1999).

12.2 Control de perros.

- 1.- restringir la entrada de perros al máximo manteniéndolos alojados en forma aislada en lugares con cerco para impedir la difusión de sus heces en el medio ambiente.
- 2.- impedir el acceso de perros a lugares destinados al depósito de alimento para el ganado (de granos, galpones, silos etc.) y pasturas.
- 3.- impedir el contacto de los perros con el ganado.
- 4.- realizar el examen serológico de los perros dos veces por año para fines de asegurarse su negatividad.
- 5.- evitar que los perros tengan contacto con el material abortado (fetos, placenta etc.) (*Aycachi., 2005; Echaide y Rafaela, 2000*).

12.3 Medidas para reducir el número de hembras seropositivas.

Eliminando todas las vacas seropositivas, o gradualmente. Tomar una u otras medidas dependerá de las tasas de abortos que se presenten en las explotaciones entre otros factores. Si existen problemas reproductivos importantes y está comprobada la participación de este parásito eliminando las vacas seropositivas. Si la seroprevalencia es baja puede ser factible el sacrificio de las positivas, pero si es muy elevada, deberán tomarse otras alternativas.

- 1.- Eliminación de seropositivas con antecedentes de abortos o que tienen crías también seropositivas, evitando la reposición con terneras con terneras seropositivas.
- 2.- Una medida para reproductoras seropositivas muy valiosa, debido a su costo económico, es la transferencia de embriones evitando receptoras seropositivas.
- 3.- Los terneros infectados congénitamente suelen adquirir la infección al final de la gestación por lo que se puede proteger a los terneros de una infección congénita mediante la transferencia de embriones a seronegativas, obteniéndose de esta forma una descendencia seronegativa procedente de madres seropositivas. (*Aycachi., 2005*).

13.- IMPORTANCIA ECONÒMICA.

Los abortos bovinos causan importantes pérdidas económicas a la ganadería mundial. Una parte importante de ellos pertenecen aún con etiología desconocida, y de los diagnosticados, la mayoría corresponden a causas infecciosas. Dentro de ellos los abortos ocasionados por protozoos han tomado relevancia mundial. En Chile ahora se evidencia que vacas con antecedentes de abortos presentan anticuerpos contra *N. caninum* detectados mediante la técnica IFA y se discute la posibilidad de que han ocurrido como consecuencia de la infección por este protozoario. (*Patitucci et al., 1999*).

La importancia económica no ha sido evaluada, entre otras razones, por que es una enfermedad de reciente conocimiento y de difícil diagnóstico. Las pérdidas económicas están relacionadas con descenso de la producción láctea, disminución de la fertilidad, pérdida total de la capacidad reproductora debida a la repetición de los abortos, y también con incremento de la mortalidad perinatal. (*Hernández et al., 1995*).

14.- REFERENCIAS

Acachi I. R.,/2005/*Neospora caninum* – parasitologia monografias.com›biologia.
<http://www.monografía.com/trabajos30/neospora-caninum.shtml>.

Barr B. C., Conrad P.A., Dubey J.P., Anderson M.L. (1991). *Neospora* –like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultraestructure and inmunoreactivity. J. Vet.Diagn. Invest. 3:39-46

Baszler T. V., Adams S., Vander-Schalie J., Mathison B. A. and Kostovic M. (2001).Validacion of a commercially Available Monoclonal Antibody-Based Competitive-Inhibition Enzyme-Linked Inmunosorbent Assay for Detection of Serum Antibodies to *Neospora caninum* in cattle. J. Clin. Microbiol. 39(11): 3851-3857.

Baszler T. V., Knowles D. P., Dubey J. P. Gay J. M, Mathison B. A. and McElwain T. F. (1996). Serological Diagnosis of Bovine Neosporosis by *Neospora caninum* Monoclonal Antibody-Based Competitive Inhibition Enzyme-Linked Inmunosorber Assay. J. Clin. Microbiol. 34(6):1423-1428.

Baszler T. V., Lawrence J. C., Gay J. M, Maureen T. L., Bruce A. and Mathison B. A. Detection by Pcr of *Neospora caninum* in Fetal Tissues from Spontaneous Bovine Abortions. (1999) J. Clin. Microb. 37(12):4059-4064.

Baszler T. V., McElwain T. F. and Mathison B. A. (2000) Inmunization of BALB/C Mice with Killed *Neospora caninum* Tachyzoite Antigen Induces a Type 2 Immune Response and Exacerbates Encephalitis and Neurological. Disease. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 7(6):893-898.

Bartley P. M., Kirvar E., Wright S., Schares G. Redondo I. E., Buxton D., Maley S. W., Schock A., Rae A. G., Hamilton C. and Innes E. A. (2007). Maternal and fetal immune responses of cattle inoculated with *Neospora caninum* at mid-gestation. Clin. Microb. Reviews. 20(2):323-367.

Bjerkas I., Jenkins M.C., Dubey J. P. (1994) Identificaciòn and characterization of *Neospora caninum* tachyzoite antigens useful for diagnosis of neosporosis. Clin. Diagn. Lab. Inmunol. 1:214-221.

Blood D. C. Neosporosis (abortos bovinos por protozoos). Manual de Medicina Veterinaria 9ª edición. Edit. Mc Graw Hill Interamericana. p. 540.

Blood D.C. diccionario de Veterinaria. (1994) editorial Mc Wraw.Hill Interamericana . Vol. I y Vol. II.

Buxton D, Wright S., Maley S. W., Rae A. G., Lunden A., and Innes E. A. (2001) Immunity to experimental Neosporosis in pregnant sheep. *Parasite Immunol.* 23(2):85-91.

Buxton D., Wright S., Rae A. G., Lunden A., and Innes E. A. (2001). Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. *Parasite Immunol.* 23(2):85-91.

Delgado G. R., Quintero C. J. y Luna A. A. (1995) IXI Congreso Nacional de Buiatria . p. 74-78.

Dubey J.P., Lahunta A. (1993) Neosporosis associated congenital limb deformities in a calf. *Appl. Parasitol* 34:229-233.

Dubey J. P., Lindsay D.S., (1996). A review of *Neospora caninum* and Neosporosis. *Vet. Parasitol.* 67:1-59.

Dubey J. P., Schares G. and Ortega M. L. M. (2007) Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Rev. Cli. Microb.* 20(2):323-367.

Echaide E. y Rafaela. (2000) Jornada sobre enfermedades emergentes de bovinos. FAV UNRC, Río cuarto República Argentina. *Arch. Med. Vet.*

Hernández R. S., Martínez M. A. J., y Gutiérrez P. P. N. neosporosis. *Par. Vet.* p.230-232.

Hemphil A., Gottstein B. (1996) Identificación of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. *Rev. Parasitol.* 82:497-504.

Innes E. A. , Adrianarivo A. G. Bjorkman C., Williams D. J., Conrad P. A. , Buxton D, Maley S. W., Wright S., Marks J., Esteban I., Rae A. G., Schock A., and Wastling J. (2000). Neosporosis: Aspects of epidemiology and Host Immune Response. *Ann. N. Y. Acad.Sci.* 91(6):93-101.

Innes E. A., Adrianarivo A. G. Bjorkman C., Williams D. J., Conrad P. A. (2002). Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol.* 18:497-504.

Lappin M. R. and Calpin J. P. Diagnóstico de laboratorio de infecciones protozoaricas.70(14):481-489. edit. Mc.Graw Hill interamericana.

Linday S. S., Speer C. A., Tovio-Kinnucan M. A., Dubey J. P. and Blaghurn B. L.(1993) Use of infected cultured cell to compare ultraestructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *Am. J. Vet.* 54:103-106.

Maley S. W., Buxton D., Macaldowie C. N., Anderson I. E., Wright S., Bartley P. M., Redondo I. E., Hamilton C. M., Storset A. K. and Innes E. A. Characterization of the Immune Response in the Placenta of cattle Experimentally Infected with *Neospora caninum* Early Gestation. *J. Comp. Pat.* 135(2-3):130-141.

Mark C. Thurmond, Sharon K. Hietala P. C., Blanchard. (1997) Herd- based diagnosis of *Neospora caninum* induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. *J. Vet Diagn. Invest.* 9:44-49.

Moore D. P., Odeón A. C., Venturini M. C. and Campero C. M./2005/ Neosporosis Bovina: Conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación/Rev.Argent.Microbiol/37(4).

www.aam.org.ar/articulos/artic-bov/050/0019/bov019.htm.

Morales S. E., Ramírez L. J., Trigo T., Ibarra V. F., Puente C. E. y Santa C. M. (1997). Descripción de un caso de aborto bovino asociado a infección por *Neospora sp.* En México. *Vet. Méx.* 28(4):353-357.

Müller N., Vonlaufen N., Gianinazzi Ch., Leib S. L. and Hemphill A. (2002) Application of Real-Time Fluorescent PCR for Quantitative Assessment of *Neospora caninum* Infections in Organotypic Slice Cultures of Rat Central Nervous System Tissue. *J. Clin. Microbiol.* 40(1):252-255.

Naguleswaran A., Cannas A., Keller N., Vonlaufen N., Shares G., Conraths F.J., Björkman C. and Hemphill A. (2001). *Neospora caninum* Microneme Protein NcMIC3: Secretion, Subcellular Localization, and Functional Involvement in Host Cell Interaction. *Infection and Immunity*. p. 6483-6494.

Patitucci A. N., Pérez M. I., Luders C. F., Ratto M. H. and Dumont A. G. (1999). Evidencia serológica de infección por *Neospora caninum* en rebaños lecheros del Sur de Chile. *Arch. Med. Vet.* 31(2).

Rosenstein S. E. (2001). *Prontuario de especialidades veterinarias farmacéuticas, biológicas y Nutricionales*. 2da Edición. p. 28.

Rosenstein S. E. (2005). *Prontuario de especialidades veterinarias farmacéuticas, biológicas y Nutricionales*. 2:1002. y 336.

Salinas M. J. A., mora G. J. J., Zárate R. J. J., Riojas V. V. M., Hernández V. G., Dávalos A. G., Ramírez R. R., Galán A. L. C., Ávalos R. R. (2005). Frequency of *Neospora caninum* antibodies in cattle from northeastern México. *Vet. Méx.* 36(3):303-310.

Shares G., Peters M., Wurm R., Barwald A. and Conraths F. J. (1998) The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. *Vet. Parasitol.* 80:87-98.

Söndgen P., Peters M., Barwald A., Wurm R., Holling F., Conraths F. I., Shares G. (2001). Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. *Vet. Parasitol.* 102:279-290.

Speer C. A., Dubey J. P., Mc Allister M. M .and Blixt J. A. (1999). Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int. J. Parasitol.* 29:1509-1519.

Speer C. A. and Dubey J. P. Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum*. *J. Protozool.* 30:458-463.

Staska M. L., Davies C. J., Brown W. C., McGuire T. C., Suarez C. E., Park J.Y., Mathison B. A., Abbott J. R. and Baszler T. V. (2005). Identification of vaccine Candidate peptides in the NcSRS2 Surface Protein of *Neospora*

caninum by Using CD4+ Cytotoxic T Lymphocytes of Infected Holstein Cattle. *Infect and Immun.* 73(3):1321-1329.

Staska M. L., McGuire T. C., Davies C. J., Lewin H. A. and Baszler V. T.(2003). *Neospora caninum* Infected Cattle Develop Parasite-Specific CD4+ Cytotoxic T Lymphocytes. *Infect. Immun.* 71(6):3272-3279.

Tizard I. (1995). *Inmunología veterinaria*. Cuarta edición Editorial Mc. Graw Hill Interamericana. P. 529-538.

Venturini M. C. Neosporosis: epidemiología y diagnóstico. *Archivo de Lab. Inmunopatología*.

Vonlaufen N., Guetg N., Naguleswaran A., Müller N., Björkan C., Shares G., blumroeder D. V., Ellis J. and Hemphill A. (2004) In Vitro Induction of *Neospora caninum* Bradyzoites in Vero cells Reveals Differential antigen Expression, Localization and Host-cell. Recognition of Tachyzoites and Bradyzoites. *Infection and Immunity* . p. 576-.583.

15.- GLOSARIO

Adyuvante: sustancia que, cuando se administra junto con un antígeno, intensifica la respuesta inmunitaria normal.

Anticuerpos: moléculas de inmunoglobulina sintetizadas a causa de la exposición a un antígeno, las cuales pueden combinarse de manera específica con ese antígeno.

Antígeno: sustancia que puede inducir una respuesta inmunitaria.

Células NK: células asesinas naturales: linfocitos no T, no B encontrados en individuos normales y capaces de matar algunas células tumorales y células infectadas por virus.

Complemento, sistema del: complejo sistema de enzimas ligadas y proteínas aglutinantes, que se activa por diversos factores, en particular por la interacción antígeno-anticuerpo, y que produce una gran variedad de consecuencias biológicas, como lisis de las membranas celulares.

Endodiogenia: multiplicación asexual de los protozoos en las dos células hijas se forman dentro de las células progenitoras.

Endoparásito: parásito que vive dentro del cuerpo del huésped.

ELISA: ensayo inmunoabsorbente de enzima ligada. Prueba inmunológica que utiliza antiglobulinas ligadas a enzimas y un sustrato unido a las paredes de tubos de poliestireno.

Epitopo: área en una molécula de antígeno que estimula una respuesta inmunitaria es específica y contra la cual esa respuesta está dirigida. Sinónimo de determinante antigénico.

Heterógeno: (heterogenous) de otro origen; no originado en el cuerpo.

Homeostático: los mecanismos homeostáticos son necesarios para el organismo, ya sea para mantener el equilibrio en el animal sano o para recuperarle tras un proceso patológico.

Homologo: parte similar en estructura, posición y origen a otro órgano.

Inmunidad: estado de resistencia a una infección.

Inmunidad activa: inmunidad producida como resultado de la administración de un antígeno.

Inmunidad mediada por células: (inmunidad celular) inmunidad mediada por linfocitos y por macrófago; puede ser conferida a un animal mediante transferencia adoptiva.

Inmunidad de rebaño: inmunidad conferida en una población como resultado de la presencia de individuos inmunes dentro de esa población.

Inmunización: es la administración de un antígeno de un animal con la intención de conferirle inmunidad.

Inmunización pasiva: protección de un individuo conferida mediante la administración de anticuerpos producidos en otro individuo.

Inmunogenicidad: capacidad de una molécula para inducir una respuesta inmunitaria.

Inmunógeno: cualquier sustancia capaz de provocar una respuesta inmune.

Interleucinas: proteínas que participan en las señales entre células del sistema inmunitario.

Paresia: parálisis ligera o incompleta. Comprende a los animales que pueden hacer intentos o propósito para pararse sin hacerlo, los que lo hacen, solo con ayuda.

Vacuna: suspensión de microorganismos viables o inactivados, que se utiliza como antígeno a fin de conferir inmunidad.

Vacunación: administración de un antígeno (vacuna) a un animal, con la intención de estimular una respuesta inmunitaria de tipo protector contra un agente infeccioso.

Virulencia: capacidad de un microorganismo para causar una enfermedad.

