

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO RETROSPECTIVO DE *NEOSPORA*
CANINUM DE FETOS DE BOVINOS HOLSTEIN EN LA COMARCA
LAGUNERA**

POR:

HIRAM ELIZALDE GARCÍA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO RETROSPECTIVO DE *NEOSPORA*
CANINUM DE FETOS DE BOVINOS HOLSTEIN EN LA COMARCA
LAGUNERA**

TESIS

POR:

HIRAM ELIZALDE GARCÍA

ASESOR PRINCIPAL

M.V.Z.M.C. RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

TESIS

PRESENTÒ

HIRAM ELIZALDE GARCÍA

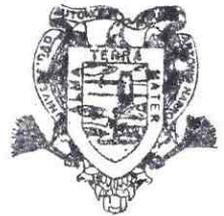
SOMETIDA A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR:

Ramón A. Delgado G.

M.V.Z.M.C. RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ
PRESIDENTE DEL JURADO



M.V.Z. JORGE ITURBIDE RAMÍREZ Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL - UL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

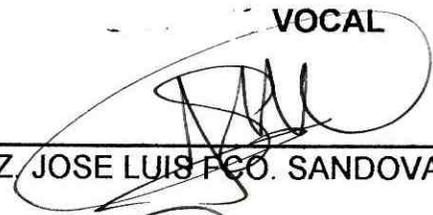
PRESIDENTE DEL JURADO:


M.V.Z.M.C. RAMÓN A. DELGADO GONZÁLEZ

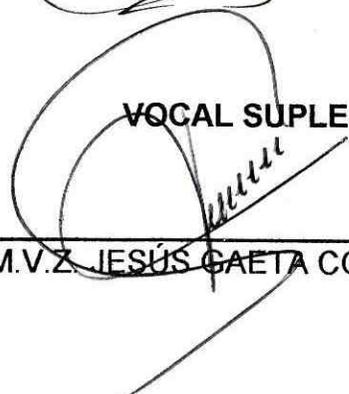
VOCAL


M.V.Z. E.P. Ma. HORTENSIA CEPEDA ELIZALDE

VOCAL


M.V.Z. JOSE LUIS PICO SANDOVAL ELIAS

VOCAL SUPLENTE


M.V.Z. JESÚS GAETA COVARRUBIAS

DEDICATORIAS

A la memoria de mi padre: profesor Jacinto Elizalde Muñoz que ocupa su COL. en ET. OR. por haber sido un excelente padre, un buen amigo y Q. H. ejemplo de virtud y fraternidad.

A mi hija Andrea Elizalde Gutiérrez por traer inmensa alegría y felicidad a mi vida y ser una razón mas para vivir.

A mi familia por todo el amor y apoyo inigualable que me han brindado.

AGRADECIMIENTOS

Al **Gran Arquitecto del Universo** por darme la oportunidad de experimentar la maravillosa experiencia de la vida.

A mi madre: Ma. Elena García de Elizalde por todo su amor y por ser un pilar fundamental en la familia.

A mis hermanos Josué, América, Dulce, y Miriam por sus consejos, confianza, comprensión, cariño y apoyo durante toda mi vida; sus logros y éxitos son motivo de gran orgullo para mi; también **a mis sobrinos** Miguel, Paulina, Grecia y Betzy por ser parte de una extraordinaria familia; del mismo modo **a mis cuñados** Marta Carmen Aguirre y Guillermo Beltrán por fortalecer la unión familiar.

A mi asesor M.V.Z.M.C. Ramón A. Delgado González por guiarme con acierto durante esta investigación y principalmente por su confianza y amistad.

De manera especial a Delsy Guadalupe Pérez Núñez por ser una gran amiga, por tus palabras de aliento y consejos en momentos difíciles de mi vida. De todo corazón mil gracias!! T.Q.M.

A mis amigos Cony Franco, Guillermo Beltrán, George Simons, Humberto Juarez, José Gpe. Rodríguez (el tepa), Juan Carlos López (el anciano), Mario Arias (el rojo), Kennedy Portillo (el tigre), Mario Rodríguez (marrufo), José Luis Sosa (el tortas), Felipe Martínez (el mofles), Fidel Torres (la pequeña), Gaudencio Omaña (boca de sapo), Maximino Coyote, Oscar Ramírez (el grillo), Alfredo Solana (el culito), Polo, Erasto; Fredy, Angel y a

todos los demás que si bien no dejan de ser importantes, escapan a mi mente en este momento. Gracias por su confianza y apoyo.

INDICE

Dedicatorias.....	i
Agradecimientos.....	ii
I. Introducción.....	1
II. Revisión de Literatura.....	4
2.1. Antecedentes.....	4
2.2. Etiología.....	7
2.3. Ciclo Biológico.....	8
2.4. Respuesta Inmune.....	11
2.5. Especies Afectadas.....	12
2.6. Distribución Geográfica.....	13
2.7. Transmisión.....	13
2.8. Impacto Económico.....	15
2.9. Epizootiología.....	16
2.10. Signos Clínicos	20
2.11. Lesiones.....	26
2.12. Diagnóstico.....	32
2.12.1. Histopatología e Inmunohistoquímica.....	32
2.12.2. Serología.....	35
2.12.3. Biología Molecular.....	37
2.13. Control Prevención y Tratamiento.....	38
III. Justificación.....	40
IV. Objetivos.....	41

V.	Material y Métodos.....	42
VI.	Resultados.....	43
VII.	Discusión.....	47
VIII.	Literatura Citada.....	52

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i>	9
Figura 2	Ocurrencia de abortos del estudio retrospectivo en los meses del año.....	45
Figura 3	Edad gestacional de los abortos en el estudio retrospectivo.....	46

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Principales lesiones encontradas en el estudio retrospectivo.....	44
Tabla 2.	ocurrencia de abortos del estudio retrospectivo en los meses del año.....	45
Tabla 3.	Edad gestacional de los abortos en el estudio retrospectivo.....	46

I. INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un parásito protozoario que primeramente fue descubierto en perros con encefalomiелitis. Ahora es mejor conocido como Neosporosis y es causa común de aborto en bovinos de los E.E.U.U, Canadá y alrededor del mundo. Además del aborto la Neosporosis puede causar la resorción fetal o encefalomiелitis en neonatos. Una vez que la infección se establece en un hato los abortos resultan de la transmisión transplacental del organismo de la vaca al becerro, que puede ocurrir en generaciones sucesivas. Este modelo de transmisión de la enfermedad se refiere a la propagación vertical sobre el promedio de abortos en el hato por año (Neosporosis endémica). Los becerros al nacer presentan infección subclínica y resultan positivos en pruebas serológicas. Si estas becerras se conservan para la cría tienen una incidencia de abortos tres veces mayor comparada con las novillas seronegativas.

Un diagnóstico presuntivo para *N. Caninum* se puede basar sobre el examen microscópico de tejidos fetales en cortes finos; tales como: corazón, cerebro y otros órganos. El diagnóstico se puede comprobar con una prueba adicional. La demostración de los títulos de anticuerpos contra *Neospora* en las vacas puede confirmar la presencia de Neosporosis en el hato.

Recientemente fue demostrado que los perros son portadores principales y definitivos de *N.caninum*, los gatos y otras especies de felinos no se consideran portadores. Los estudios en el campo han

demostrado la importancia de los perros en la transmisión de *Neospora* para el ganado. Dos estudios en Canadá y países bajos, revelan una fuerte asociación estadística entre el número de perros en los establos y el predominio de los títulos de anticuerpos contra *Neospora* en las vacas.

A menudo ocurre contaminación del alimento o agua con *N.caninum*, esto puede deberse a que los perros defecan oocistos sobre los alimentos que serán mezclados con la ración.

Los perros se contagian comiendo tejidos infectados de otros animales. Es también probable que los perros puedan contraer Neosporosis consumiendo fetos abortados o restos placentarios de los bovinos. De tal modo que esto conduce a la excreción fecal de oocistos por el perro, diseminando así la enfermedad dentro de la explotación. Los perros consumen con frecuencia las placentas de bovinos que tienen un potencial desconocido para llevar la etapa infecciosa de *Neospora*. Es también posible que los perros puedan infectarse como resultado de la caza de animales silvestres. La ocurrencia de Neosporosis no se ha investigado en mamíferos o pájaros pequeños que pudieran ser alcanzados por perros, coyotes u otros animales silvestres. En el humano no hay evidencia de infección, hasta la fecha.

La Neosporosis en México está poco documentada, los escasos casos reportados son de Tizayuca, Hgo. y de la Comarca Lagunera; tomando en cuenta estos antecedentes, se considera importante analizar la prevalencia de *Neospora caninum* en fetos abortados de bovinos

Holstein de la Comarca Lagunera mediante un estudio histopatológico retrospectivo desde 1994 al 2000.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

Gran cantidad de casos esporádicos de aborto bovino por protozoarios o enfermedad congénita han sido reportados en la literatura. Sin embargo los reportes de abortos múltiples e infección fetal debidas a protozoarios no son frecuentes. *Sarcocystis spp.* se ha identificado o se presume como el agente causal en gran número de estas infecciones. Toxoplasmosis también se ha documentado como causa de aborto en cabras y ovejas. En ganado bovino, también, son frecuentes los reportes que confirman abortos por *Toxoplasma gondii* y su significancia como causa de aborto bovino ha sido cuestionada. Recientemente hay evidencia que sugiere la existencia de un nuevo protozoario, *Neospora caninum*, que también es capaz de producir aborto e infección fetal en ganado bovino (Barr *et al.*, 1990).

N. caninum es un parásito perteneciente a un género recientemente reconocido, que primero se identificó como un toxoplasma similar a los protozoarios de los perros, el cual es causante de encefalomiелitis y miositis. Posteriormente se demostró que era otro parásito denominado *N. Caninum* aislado de una camada de cachorros en los Estados Unidos (Conrad *et al.*, 1995) que hasta 1988 fue incorrectamente diagnosticado como *T. Gondii* debido a la similitud de los signos clínicos y a la morfología del agente etiológico (Dubey and Lindsay, 1993; Quiroz, 1995).

Se cree que muchos casos de Neosporosis en caninos fueron diagnosticados como Toxoplasmosis, pero la causa de este mal

diagnóstico se debe a la semejanza morfológica entre los dos organismos pero pueden ser diferenciados antigénicamente mediante inmunohistoquímica (Ruehlmann *et al.*, 1995).

Al microscopio *Neospora* solo puede ser diferenciado de *Toxoplasma* en los tejidos en estado de quiste donde *Neospora* frecuentemente tiene una pared quística mas engrosada; además hay diferencias ultra estructurales entre *Toxoplasma* y *Neospora* (Conrad *et al.*, 1995). *N. caninum* está también filogenéticamente relacionado con *T. Gondii* como lo prueban análisis de genoma del RNA ribosomal (Yamaga *et al.*, 1996; Ho *et al.*, 1997a).

Desde 1985 patólogos del Sistema de Laboratorios de Diagnóstico Veterinario de California (California Veterinary Diagnostic Laboratory System-CVDLS) han observado patrones distintos de lesiones inflamatorias, consistentes en encefalitis no supurativa con focos de gliosis, miocarditis y miositis no supurativa, en muchos fetos de bovinos abortados remitidos para diagnóstico. El patrón de las lesiones, particularmente en el cerebro, fueron similares a las observadas en ovejas infectadas con *Toxoplasma gondii*. De cualquier modo el ganado bovino ha sido reportado como resistente a infecciones por *T. Gondii* (Conrad *et al.*, 1994). También desde 1985 *Neospora* ha sido identificado en mas de 600 fetos abortados remitidos de mas de 250 explotaciones lecheras de California. Aunque los abortos atribuidos a *Neospora* parecerían ser substanciales, no hubo estimaciones disponibles sobre el número adicional de abortos en donde las causas se atribuyeron al

protozoario, ni tampoco hubo evidencia previa de infección en el hato (Anderson *et al.*, 1995b).

En 1987 un organismo similar a *Neospora* fue encontrado en cortes histológicos de medula espinal de cuatro becerras con parálisis. El organismo encontrado fue estructuralmente distinto de *T. Gondii* y *Sarcocystis spp.* y reaccionó positivo con suero anti *N. Caninum* en una prueba de inmunoperoxidasa (Dubey *et al.*, 1989b).

En Reino Unido, en 1987 fue encontrado un protozoario no identificado en tejidos de un becerro Holstein de cinco días de edad que mostró signos nerviosos desde el día de nacido. El organismo no reaccionó con suero anti *T. Gondii*, pero tubo una reacción débil con suero anti *Sarcocystis*; aunque se considera improbable que éste perteneciera a *Sarcocystis spp.* o *T. Gondii*, posteriormente los tejidos de este becerro fueron reexaminados y el organismo se identificó como *N. Caninum* (Dubey, 1989a).

Desde su primera asociación con una tormenta de abortos en 1987 en un establo de Nuevo México ha habido reportes de abortos por *Neospora* en California y medio oeste de los Estados Unidos los cuales han confirmado esta infección como una causa significativa de aborto, particularmente en ganado lechero (Conrad *et al.*, 1995).

Estudios retrospectivos han demostrado evidencia de enfermedad severa causada por *N. Caninum* en un grupo de perros de los Estados Unidos en 1957. posteriormente en 1988 taquizoitos de *N. Caninum* fueron aislados en cultivos celulares y quistes tisulares se encontraron en

ratones inoculados con tejidos de perros que contrajeron la infección de forma natural (Dubey and Lindsay, 1993).

Neospora se halló por primera vez en perros de Noruega en 1984 (Morales *et al.*, 1997) y en 1988 un parásito similar se encontró en perros de los Estados Unidos. En 1991 la estructura y antigenicidad del parásito en los tejidos fijados de los perros de Noruega y los Estados Unidos fueron comparados y se concluyó que el parásito originalmente reportado fue *N. Caninum* (Dubey and Lindsay, 1993).

El primer aislamiento *in vitro* de *N. Caninum* se realizó en perros de los Estados Unidos, en biopsia de músculo; a este aislamiento se le designó como NC-1; dos aislamientos más fueron reportados: NC-2 y NC-3 (Barber *et al.*, 1995). Con respecto a los primeros aislamientos de *Neospora* en bovinos, estos se obtuvieron de fetos abortados en 1991, pero no se sabía si el aislamiento de *N. Caninum* y el aislamiento bovino representan especies idénticas o diferentes (Conrad *et al.*, 1995).

Si bien, la primera identificación de *Neospora* fue en un caso de encefalitis canina; desde entonces ha llegado a ser reconocido como una causa potencialmente importante de aborto para el ganado bovino (McIntosh *et al.*, 1994).

2.2. Etiología

La Neosporosis es una enfermedad parasitaria del ganado y animales de compañía causada por un protozoario denominado *Neospora caninum* (Dubey, 1999) que ahora se reconoce dentro de la familia *Sarcocystidae*, en el Phylum *Apicomplexa* (Guarino *et al.*, 2000).

Recientemente, otra especie de *Neospora* llamada *Neospora hughesi* ha sido aislada de cerebro y médula espinal de un equino adulto en California y otro de Alabama, USA (Dubey, 1999; Kim *et al.*, 2000; Walsh *et al.*, 2000).

Esta especie se determinó como única, principalmente con base en las diferencias moleculares con *N. caninum* (Dubey, 1999).

Neospora hughesi es morfológicamente similar, pero ultraestructuralmete, antigenicamente y genéticamente diferente del otro miembro del género: *N. caninum*. *Neospora hughesi* es causante de la enfermedad denominada mieloencefalitis equina por protozoarios que ha sido reportada en diversas ocasiones y que es causante de aborto, parálisis de miembros anteriores, ataxia, entre otros signos (Walsh *et al.*, 2000).

2.3. Ciclo Biológico

Paré *et al* (1998) señalan que para principios de este año aún no se definían completamente las rutas de transmisión y el ciclo biológico de *N. Caninum*.

El ciclo biológico es indirecto e involucra a dos hospederos. Los perros han sido recientemente identificados como los hospederos definitivos y muchas especies pueden actuar como hospedadores intermedios (Guarino *et al.*, 2000).

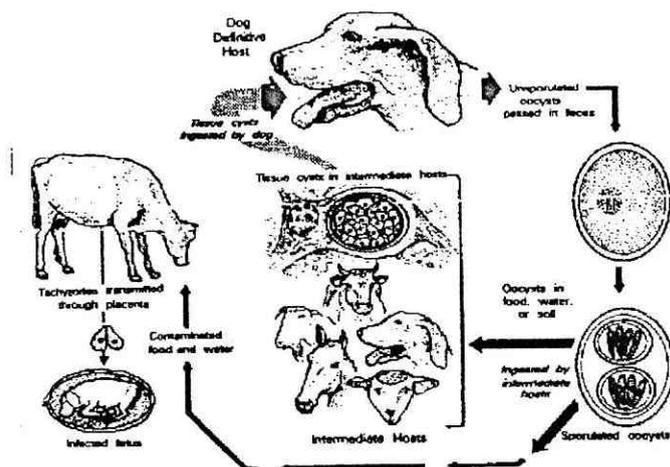


Figura 1. Ciclo biológico de *Neospora caninum* (Dubey, J.P., 1999).

En un estudio realizado por McAllister *et al* (1998) se comprobó que los perros son los hospederos definitivos de *N. Caninum*. Para esto, cuatro perros fueron alimentados con cadáveres de ratones que contenían quistes tisulares; tres de los perros excretaron oocistos parecidos a los de *T. Gondii* y *Hammondia spp.*. Taquizoitos fueron observados en órganos de ratones usados en un bioensayo en el que se inocularon con las heces de cada uno de los perros. Los ratones fueron inoculados con extracto fecal de dos de los perros que desarrollaron anticuerpos contra *N. Caninum* y un ratón fue inoculado con extracto fecal del tercer perro; se demostró que desarrollaron Neosporosis por medio de inmunohistoquímica, examen ultraestructural y Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Perros alimentados con quistes tisulares de cerebros de ratones infectados, excretaron oocistos no esporulados y no infectivos resistentes

al medio ambiente. Los oocistos esporulan y llegan a ser infectivos dentro de tres días fuera del hospedero. Los oocistos esporulados contienen dos esporocistos y cada uno contiene cuatro esporozoitos y son morfológicamente similares a los oocistos de *Hammondia heydorni* en heces de perro y *T. Gondii* y *Hammondia hammondi* en heces de gato. Presumiblemente los oocistos de *N. Caninum* son tan resistentes como los de otras coccidias con las que están emparentadas (Dubey, 1999).

Los taquizoitos y quiste tisulares se encuentran intracelularmente en el hospedero intermediario. Los taquizoitos son lunares, aproximadamente de $6 \times 2 \mu\text{m}$ y se pueden multiplicar virtualmente en todas las células del cuerpo, incluyendo la piel, músculo y tejido nervioso. Los quistes tisulares son de redondos a ovals, de mas de $107 \mu\text{m}$ de longitud y se encuentran en SNC, nervios periféricos y retina. La pared quística mide mas de $4 \mu\text{m}$ de espesor y encierra bradizoitos de aproximadamente $7 \times 1.5 \mu\text{m}$ de longitud (Quiroz, 1995; Dubey, 1999).

Los taquizoitos y bradizoitos se dividen en dos por endodiogénesis (Dubey, 1999) y cientos pueden ser encontrados en el citoplasma de las células del hospedero antes del que el parásito induzca lisis. Los bradizoitos en tejido pueden sobrevivir en el jugo gástrico, sugiriendo así el modo de transmisión oral en carnívoros (Quiroz, 1995).

Se desconoce si otros cánidos tales como coyotes, zorras y lobos pueden excretar oocistos de *N. Caninum*. El hospedero se llega a

infectar por la ingestión de tejidos de animales contaminados o por ingestión de agua o alimentos contaminados con oocistos.

Experimentalmente se ha observado infección lactogénica (Dubey, 1999).

Sawada *et al* (2000) realizaron el primer reporte de *N. Caninum* en una vaca infectada de forma natural y sus resultados sugieren que el cerebro es un sitio posible para un estado latente del parásito y desde ahí los taquizoitos son reactivados para poder entrar en el torrente sanguíneo y tener la capacidad de infectar al feto. Uno de los factores que provocan la activación del parásito puede ser la gestación; pero el mecanismo preciso se sigue investigando.

2.4. Respuesta Inmune

Tanaka *et al* (2000) desarrollaron un estudio con ratones para explicar la respuesta inmune del hospedero contra *Neospora caninum*. De sus resultados; dos mecanismos de protección inmunitaria pueden ser considerados. Primero; INF- γ producido por las células T activadas por macrófagos, matan directamente a los parásitos intracelulares como primera línea de defensa. Segundo; las células T CD4+ activadas por INF- γ diferenciadas como Th 1 o de tipo citotóxico en los estadios tempranos de la infección; eliminan directamente a las células infectadas con el parásito. En estadios avanzados de la infección la células T CD4+ ayudan a la producción de anticuerpos contra *Neospora caninum* para provocar otros mecanismos de protección (anticuerpos dependientes de células citotóxicas, opsonización).

En un estudio efectuado por Barr *et al* (1990) se encontró al protozooario en los fetos mas jóvenes, con grado de inflamación leve en el cerebro, gliosis focal como el cambio inflamatorio mas notable y los focos de necrosis no fueron frecuentes; esta asociación entre la presencia del protozooario y la disminución de la severidad del tejido inflamado en los fetos mas jóvenes; refleja una pobre respuesta inflamatoria y del sistema inmune de estos fetos.

Barr *et al* (1991a) encontraron una marcada reducción en el porcentaje de los fetos con quistes tisulares del protozooario en aquellos con mas de cuatro meses de gestación. Lo que puede deberse a la maduración de los mecanismos de defensa fetal conforme avanza la gestación. La notable reducción de la severidad de los tejidos inflamados en los fetos jóvenes en donde los quistes tisulares predominaron; sugieren que la respuesta inflamatoria se asocia con la formación de quistes tisulares. De igual modo el predominio de formas no quísticas con mayor tejido necrótico y mayor desarrollo fetal puede ser resultado de una mayor respuesta inflamatoria e inmune contra el parásito. La reducción del porcentaje de fetos positivos para el protozooario más allá de los seis meses de gestación, también corresponde a la edad de la gestación cuando el sistema inmune fetal es funcional.

2.5. Especies Afectadas

La infección por *N. Caninum* ha sido reportada en varias especies de ganado en forma natural y experimental y se incluyen bovinos, ovinos, caprinos, equinos, caninos, venados (Conrad *et al.*, 1995), gatos (Dubey

and Lindsay,1989c), zorras, coyotes, mapaches, ratas, ratones (Dubey and Lindsay,1996b), *Macacus rhesus* (Ho *et al.*,1997b) y búfalo de agua (Guarino *et al.*,2000).

2.6. Distribución Geográfica

La Neosporosis bovina tiene una distribución mundial, ha sido diagnosticada en Estados Unidos, Inglaterra, Dinamarca, Australia, Sur de África (Anderson *et al.*,1995a; Conrad *et al.*,1995; Dubey,1999), Canadá (Paré *et al.*,1998), Holanda (Wouda,1997b), Nueva Zelanda (McAllister *et al.*,1998), Italia (Guarino *et al.*, 2000), Japón (Sawada *et al.*, 2000), Korea (Kim *et al.*, 2000), Taiwán, Vietnam, Israel (Ooi *et al.*, 2000), Tailandia (Suteeraparp *et al.*,1999), Escandinava (Dubey,1999), Bélgica, Tanzania, Uruguay (Cheadle *et al.*,1999), Argentina, Brasil (Gondim *et al.*,1999) y en México hay muy poca información al respecto pero se han reportado casos en Tizayuca; Hidalgo (Morales *et al.*,1997) y en la Comarca Lagunera (Delgado *et al.*,1995).

2.7. Transmisión

En la infección por *Neospora* se ha establecido la ruta vertical a través de la infección transplacentar de las madres infectadas a los fetos (Sanderson *et al.*, 2000). Las vacas son capaces de infectar a su progenie en múltiples gestaciones (Ho *et al.*,1997b); al igual que las hembras caninas infectan a sus fetos y camadas sucesivas pueden nacer infectadas (Dubey and Lindsay,1993).

N. caninum se ha inoculado experimentalmente y resultado infectiva por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal y oral (Ruehlmann *et al.*, 1995).

La infección transplacentaria fue inducida en diferentes especies domésticas y ocurre naturalmente en bovinos, ovejas, cabras, perros y equinos. Esta puede ocurrir repetidamente en el mismo animal; se cree que es la mayor ruta de transmisión, además de que se ha señalado una reactivación y transmisión durante la preñez (Quiroz, 1995; Ruehlmann *et al.*, 1995).

En un estudio con becerras de reemplazo de un establo lechero con Neosporosis, se compararon 25 becerras con evidencia serológica de exposición congénita, con 25 becerras compañeras serologicamente negativas. Todas las becerras que nacieron de vaquillas con exposición congénita a *Neospora*, tuvieron títulos elevados y todas las vaquillas seronegativas tuvieron crías serologicamente negativas, lo que sugiere dos cosas: que puede existir infección crónica latente, o la existencia de transmisión vertical a través de generaciones de ganado con signos clínicos ligeramente obvios (Conrad *et al.*, 1995).

Estudios epidemiológicos de Neosporosis han examinado los factores de riesgo para la transmisión de *N. Caninum*. Algunos factores tomados en cuenta para la posible transmisión horizontal son vía contaminación del alimento y la presencia de perros o animales silvestres dentro de las instalaciones. Los factores con la transmisión vertical se relacionan con

el mejoramiento genético, producción y porcentaje de desecho (Paré *et al.*, 1998).

Las prácticas de alimentación como el almacenaje y mezclado de los ingredientes de la ración, ofrecen muchas oportunidades para la contaminación fecal de la ración alimenticia exponiendo así, eficientemente gran parte del hato, además de favorecer la transmisión horizontal (Anderson *et al.*, 1995a).

Paré *et al.* (1998) en estudios seroepidemiológicos, se encontró una fuerte relación entre los establos que resultaron positivos a *Neospora* con la presencia y número de perros sugiriendo que el perro está involucrado en la transmisión de Neosporosis.

2.8. Impacto económico

El impacto económico de la Neosporosis y los abortos que induce se refleja en los costos directos por las pérdidas monetarias en los fetos. Los costos indirectos incluyen los relacionados con el establecimiento del diagnóstico, preñar nuevamente a las vacas que abortan, incremento del tiempo para entrar en lactancia, posibles pérdidas en el rendimiento de la leche, y los costos de los reemplazos, si las que abortaron son desechadas. En un estudio, llevado a cabo en California, vaquillas seropositivas a *N. caninum* produjeron aproximadamente un kg/leche/d menos que las del grupo seronegativo; además las vacas seropositivas fueron desechadas seis meses más temprano que las seronegativas. Estos no son datos contundentes que permitan considerar las pérdidas económicas que la Neosporosis causa a la industria lechera en cualquier

lugar del mundo, pero se han hecho estimaciones en California, de que cada aborto por Neosporosis, cuesta a los ganaderos californianos entre 600 y 1000 dólares y basándose en la cifra de que en California existen 1.2 millones de vacas lecheras en edad reproductiva y que 40,000 abortos son producidos por *Neospora*, las pérdidas económicas ascienden a 35 millones de dólares anuales (Dubey, 1999).

2.9. Epizootiología

Si bien después de su reciente reconocimiento, la Neosporosis bovina ha emergido como una importante enfermedad reproductiva desde su primera asociación con abortos en 1987 (Anderson *et al.*, 1995a; Conrad *et al.*, 1995).

Desde entonces numerosos abortos esporádicos o endémicos asociados a *N. caninum* se han reportado alrededor del mundo, así como también reportes de aislamientos en perros o fetos bovinos abortados en diversos países (Kim *et al.*, 2000).

En 1993 en Québec, Canadá, fue diagnosticado el primer caso de aborto atribuido a *N. Caninum*. En 1996 el 11.4% de los fetos abortados remitidos al Sistema de Laboratorios de Diagnóstico de Quebec fueron infectados por *N. Caninum* (Paré *et al.*, 1998).

Wouda *et al.*(1997b) reportan que en Holanda la Neosporosis bovina fue diagnosticada por primera vez en 1990 y desde entonces ha sido reconocida como la principal causa de aborto bovino.

En California, 18 a 19% de todos los fetos remitidos al CVDLS fueron diagnosticados con esta infección. En casos de ganado lechero

procedente de California, la proporción de abortos por Neosporosis es aún mayor al 24.4%. En un estudio realizado en el medio oeste, la infección por *N. Caninum* fue identificada en un 2.7% de todos los abortos de bovino y fue la mayor causa de aborto en los casos remitidos de ganado lechero (Conrad *et al.*, 1995).

Anderson *et al* (1995b) remitieron para diagnóstico todos los fetos abortados en el periodo de un año, siendo *Neospora* la mayor causa de aborto identificada (113/266) 42.5%, la mayoría (232/266) 87.2% de los fetos fueron enviados de establos con historia de abortos atribuibles a Neosporosis y se identificó el agente causal en (101/232) 43.5% de los fetos de estos establos.

En un estudio seroepidemiológico llevado a cabo por Paré *et al* (1998) en Québec, se utilizaron 3059 vacas de dos grupos de establos; establos problema (24) y control (22). Se encontró que del total (3059), 507, 16.6% de las muestras resultaron positivas. La seroprevalencia varió de 2 a 55% en el grupo problema y de 0 a 27% en el grupo control. La tasa de abortos durante los pasados dos años vario del 3.1 al 20.4% en los establos problema y de 0 a 18.3% en el grupo de establos control.

Anderson *et al* (1997) realizaron un estudio en California con dos grupos de vaquillas: seropositivas (25) con títulos de anticuerpos de $\geq 1:5120$ y seronegativas (25) con títulos de $\leq 1:80$. Todas fueron sincronizadas e inseminadas; al término de la gestación se encontraron títulos de $\geq 1:1280$ en los becerros de las positivas y en la descendencia

de las seronegativas se encontraron títulos de $\leq 1:80$ con lo que se concluye que la infección por *N. Caninum* puede ser verticalmente transmitida.

En Maryland, USA, un estudio serológico de 1029 bovinos de leche con Neosporosis endémica se encontró una prevalencia de 17.9% en 107 neonatos, 26.2% en 233 en becerras menores de un año, y en novillos, 39.07% en 218 vaquillas mayores de un año y 26.9% en 465 vacas en producción (Dyer *et al.*, 2000).

Anderson *et al* (1995a) reportaron rangos anuales de 30% de abortos por *N. Caninum*. En un lapso de un año todos los fetos abortados disponibles de 26 establos fueron enviados al CVDLS para diagnóstico. Un total de 226 abortos fueron enviados, de los cuales 113, 42.5% fueron confirmados como abortos por *Neospora* de 19 establos 73%.

Paré *et al* (1996) reportaron que en un estudio realizado en el valle de San Joaquín, California; con dos establos lecheros (A y B) se encontró una prevalencia del 30.6% (85/278) para el establo A y 53.5% para el B en las becerras precalostradas. En las vacas adultas se encontró una prevalencia de 36% (82/288) para A y 57.9% (33/57) para el establo B.

Dubey and Lindsay (1993) reportan una prevalencia de 24.4% de 698 fetos abortados, esto también se realizó en el valle de San Joaquín.

En un estudio retrospectivo realizado en el CVDLS, de 1987 a 1989 por Barr *et al* (1990) con 45 fetos abortados; se encontró que en 18%

(82) de los fetos resultaron positivos a *Neospora* y solo en 21% (17) de los fetos se encontró al protozoario.

En otro estudio retrospectivo de Barr *et al* (1991a) se reportan 80 fetos abortados presumiblemente por infección debida a protozoarios; 83% (66) de los cuales reaccionaron positivos con suero anti *N. Caninum*.

Sanderson *et al* (2000) desarrollan un estudio al Noroeste de los Estados Unidos en ganado de engorda y reporta una seroprevalencia del 24% y dentro del hato fue del 3 al 67% con una media del 19% de un total de 2585 muestras procesadas.

Un estudio serológico realizado en Taiwan con bovinos, cabras y perros de establos; se analizaron 612 muestras de 25 establos lecheros; 24 muestras de granjas de cabras y 13 sueros de perro de seis establos. De los 612 sueros bovinos el 44.9% (275/613) tuvieron anticuerpos contra *N. Caninum*, de los cuales 77 también poseían anticuerpos contra *T. Gondii*. De los 24 sueros de cabra analizados no se encontraron positivos a *Neospora* pero el 50% (12/25) fue positivo a *T. Gondii* y de los 13 perros muestreados, tres poseían anticuerpos contra *Neospora* (Ooi *et al.*, 2000).

En Korea, el 19.5% de todos los fetos abortados remitidos para estudios patológicos se les asoció a infecciones por *N. Caninum*. Además de que en estudios seroepidemiológicos indicaron una seropositividad de alrededor del 20 % (Kim *et al.*, 2000).

En un estudio desarrollado en Brasil por Gondim *et al* (1999) la seroprevalencia de *Neospora caninum* fue del 14.09% (63 vacas) de un total de 447 muestras procesadas de 14 explotaciones lecheras.

En Thailandia, de un total de 904 muestras; solo 54 (6%) resultaron positivas a *Neospora caninum* (Suteeraparp *et al.*, 1999).

Cheadle *et al* (1999) reportan una seroprevalencia de Neosporosis en perros del 7% en 35 estados de USA y tres provincias de Canadá y comparan la similitud de la seroprevalencia en Japón del 7%; Reino Unido, 6%; Bélgica, 11%; Dinamarca, 15 %; Italia, 29%; Uruguay, 20% y 22% en Tanzania; demostrando con esto la importancia de la transmisión vía oocistos por el hospedero definitivo.

También se han encontrado anticuerpos contra *Neospora* en la leche, secreciones vaginales y saliva de las vacas infectadas (Ooi *et al.*, 2000).

2.10. Signos Clínicos

Aunque se han diagnosticado infecciones congénitas de *Neospora* en la mayoría de las especies, en el ganado bovino es donde existe suficiente información disponible concerniente a la infección natural para describir sus características clínicas (Conrad *et al.*, 1995). No existen signos clínicos de la enfermedad en las vacas que abortan por Neosporosis. Los fetos pueden morir en útero, ser reabsorbidos, momificados, autolizados, nacidos muertos o vivos pero enfermos, o nacer clínicamente normales, pero crónicamente infectados (Conrad *et al.*, 1995; Quiros 1995; Dubey and Lindsay 1993; 1996b; Ho *et al.*, 1997b; Dubey, 1999).

Los abortos han sido diagnosticados en vaquillas como en vacas adultas de los tres a los nueve meses de gestación y no se sabe si la infección cause problemas reproductivos en el primer tercio de la gestación (Conrad *et al.*, 1995). La mayoría de los abortos por *Neospora* ocurre entre los cuatro y seis meses de gestación (Barr *et al.*, 1990; 1991a; Lindsay *et al.*, 1993; Conrad 1995; Dubey and Lindsay, 1996b; Dubey, 1999) y este patrón de aborto a media gestación es distintivo de otras causas de aborto infeccioso en ganado lechero las cuales tienden a presentarse más tardíamente en la gestación (Conrad *et al.*, 1995), a pesar de que las infecciones causadas por *Neospora* ocurren durante todo el año, se incrementa el riesgo de aborto durante los meses de Noviembre a Febrero (Barr *et al.*, 1990; Lindsay *et al.*, 1993; Dubey and Lindsay 1993; Conrad *et al.*, 1994; Anderson *et al.*, 1995a).

Los abortos por neosporosis han sido reportados en animales arriba de ocho años de edad. Si esta edad esta realmente relacionada con cierta susceptibilidad a neosporosis se desconoce. Durante una epizootia en Nueva Zelanda el 33% de un hato abortó en otoño de 1993; los abortos fueron más comunes en vacas de más de cuatro años de edad (Dubey and Lindsay, 1996b).

En el ganado bovino además de los abortos hay también neonatos débiles, becerros con poco peso, decaimiento, parálisis y llegan a paralizarse dentro de las cuatro semanas del nacimiento (Dubey and Lindsay, 1993; Quiroz, 1995) aunque hay reportes en donde las becerras infectadas no sobreviven mas allá de los siete días (Dubey *et al.*, 1992a).

En becerras con aparente enfermedad clínica, la infección y daño al SNC da como resultado variables signos clínicos que frecuentemente se expresan en disfunciones de los miembros, que van de pequeños defectos propioceptivos, hasta parálisis completa (Conrad *et al.*,1995; Anderson *et al.*,1997), los miembros anteriores o posteriores pueden encontrarse en flexión o hiperextensión (Dubey and Lindsay,1993).

La examinación neurológica frecuentemente revela ataxia, disminución de reflejo patelar y pérdida de la conciencia propioceptiva. Los becerros pueden tener también exoftalmia o una apariencia asimétrica de los ojos (Dubey,1999).

La hiperextensión de los miembros posteriores se debe probablemente a la combinación de la parálisis de una neurona superior motora y miositis, resultando rápidamente en una contractura fibrosa progresiva de los músculos y fijación de las articulaciones. Los daños neuromusculares son a causa de la destrucción de las células nerviosas incluyendo las de los nervios craneales y espinales, afectando también la conductividad de las células (Dubey and Lindsay,1993;1996).

La enfermedad puede ser localizada o generalizada y virtualmente todos los órganos pueden estar involucrados, incluso la piel (Dubey and Lindsay,1996b).

Un becerro que al parecer nació clínicamente normal reportado por Dubey *et al* (1992a) presentó debilidad a las dos semanas de edad, incapacidad para alimentarse y existencia demostrada de pica; comiendo lodo y masticando paja enlodada. El propietario lo alimento con leche en

cubeta, pero la condición del becerro empeoro progresivamente hasta que fue sacrificado a causa de la parálisis.

Otro reporte por Bryan *et al* (1994) encontraron que un becerro de la raza Salers de tres meses de edad, que nació muy pequeño, con un peso de 19.5 kilogramos, siendo la media de esta raza 40 kilogramos, además de presentar reducida masa muscular también se observó extensión de los miembros anteriores y posteriores, desviación ventromedial de los ojos. En ambos reportes se diagnosticó Neosporosis.

La muerte fetal probablemente ocurra durante toda la gestación; aunque los abortos de fetos jóvenes de tres meses de edad no han sido reportados. Lo más probable es que los fetos de uno a dos meses mueran *in útero*, sean reabsorbidos y la vaca vuelva a entrar en calor (Dubey and Lindsay, 1996b).

Suelen ocurrir brotes de abortos por *Neospora*; un ejemplo bien documentado comprendió a un grupo de 147 vaquillas secas, de las cuales 27 (18%) abortaron en un periodo de seis semanas y todos los fetos examinados (17) fueron diagnosticados como infectados por *Neospora*. En algunos casos, arriba del 5% de las vacas gestantes han abortado dentro de uno a tres meses de gestación a causa de Neosporosis (Conrad *et al.*, 1995; Anderson *et al.*, 1995a).

La vacas que abortan por Neosporosis pueden tener adicionalmente fetos infectados en gestaciones subsecuentes; también pueden ocurrir abortos repetidos. En un estudio de abortos en corrales de vacas secas en California, se identificaron abortos por *Neospora* confirmados en

cuatro de 41 vacas en las cuales había información disponible concerniente a otras gestaciones. No se sabe si estas infecciones transplacentarias repetidas son el resultado de una liberación de parásitos que estaban enquistados en tejido de la madre o de una infección de la madre por medio del ambiente. De cualquier forma, hay evidencia que sugiere que puede ocurrir infección persistente (Anderson *et al.*, 1995a; Conrad *et al.*, 1995).

El potencial patógeno de *Neospora spp.* ha sido confirmado mediante la infección experimental de ganado gestante. *Neospora caninum* de perros también ha sido inoculada experimentalmente en ganado gestante y en ovejas, resultando en infección fetal transplacentar en vacas y aborto en ovejas (Anderson *et al.*, 1995a; Conrad *et al.*, 1995).

En un estudio realizado por Buxton *et al* (1998) tres grupos de ovejas preñadas fueron inoculadas con taquizoitos de NC-1; aislamiento de *N. Caninum*; a 45 (grupo uno), 65 (grupo dos) y 90 (grupo tres) días de gestación (dg), seis animales más (grupo cuatro) sirvieron como control. En el grupo uno, seis fetos murieron *in útero* y fueron reabsorbidos, mientras que dos ovejas que tenían gemelos abortaron a los 89 y 107 dg. En el grupo dos solo un feto murió *in útero* y fue reabsorbido; tres fetos y tres gemelos fueron abortados entre 100 y 107 dg y solo un cordero nació vivo (3.7 kg) después de 145 dg. 6 ovejas del grupo tres abortaron 5 fetos y uno gemelar entre 125 y 134 dg y 2 ovejas; cada una tuvo un cordero vivo y uno muerto a los 141 dg (cordero vivo de 2.6 kg) y 146 dg (cordero vivo de 3.5 kg). Las 6 ovejas del grupo control produjeron 8

corderos vivos (un gemelo murió justo después de nacer como resultado de distocia) con un peso promedio de 4.1 kg después de un promedio de gestación de 147 días.

Otro estudio realizado por Dubey *et al* (1996c) reportan un caso de aborto por Neosporosis en cabras lecheras de Costa Rica, dicho aborto se registro a los tres punto cinco meses de gestación. En la granja se tiene historia de abortos en años pasados y también de nacimientos con crías que mostraron parálisis de los miembros anteriores.

La Neosporosis en caninos causa enfermedad fetal. Los cachorros y perros jóvenes son afectados con mas severidad que los perros adultos. Clínicamente en los cachorros se observa parálisis ascendente progresiva que es mas severa en miembros posteriores y frecuentemente con hiperextension rígida; otros signos clínicos reportados son muerte neonatal, nistagmo, depresión mental, inclinación de la cabeza, anisocoria, fiebre y vómito asociado a pancreatitis, ataques epilépticos, dificultad para tragar, parálisis de la mandíbula, flacidez y atrofia muscular y ataques al corazón (Dubey and Lindsay, 1993; 1996b; Dubey 1994; Ruehlmann *et al.*, 1995).

En un reporte realizado por Ruehlmann *et al* (1995) de una perra de la raza Vizla de tres años de edad que fue remitida al hospital veterinario de la universidad estatal de Ohio en Octubre de 1990 con una historia clínica de seis semana de lateralización izquierda, ataxia progresiva de miembros posteriores, paresis, incontinencia fecal progresiva y comienzo de incontinencia urinaria después de dos semanas del inicio de la paresis

y ataxia. Estudios posteriores demostraron la presencia de *Neospora caninum*.

Otro caso reportado en la literatura por Barber *et al* (1995) de una cachorrita bóxer de cuatro semanas de edad que se remitió para su diagnóstico con paresis severa de los miembros posteriores la cual fue progresando hasta afectar los miembros anteriores; la condición del cachorro fue deteriorándose terminando en disfagia y disnea; al diagnóstico se demostró la presencia de *Neospora caninum*.

2.11. Lesiones

Lesiones degenerativas e inflamatorias pueden encontrarse en todo el feto pero son más comunes en el SNC, corazón, músculo esquelético e hígado. Las lesiones graves son raras aunque pueden estar presentes en corazón, músculo esquelético y cerebro. Focos pálidos o blanquecinos suelen encontrarse en músculo esquelético y corazón; en el cerebro pueden encontrarse focos oscuros de necrosis y las lesiones consisten en encefalitis no supurativa caracterizada por infiltración multifocal no supurativa con o sin necrosis multifocal e infiltrados leucocitarios no supurativos multifocales o difusos en meninges; tempranamente las lesiones consisten en necrosis del neuropilo; tales lesiones pueden encontrarse tanto en la materia gris como en la blanca (Dubey and Lindsay 1993; Lindsay *et al.*, 1993; Conrad *et al.*, 1995; Anderson *et al.*, 1995a;1997).

En un estudio comparativo realizado por Wouda *et al* (1997b) de aborto epizoótico y esporádico; encontraron encefalitis multifocal en el

97% (78/80) cerebros; mientras la gliosis focal se encontró en todos los cerebros. Estas lesiones fueron clasificadas como leves en el 56% de los casos; miocarditis focal o difusa se encontró de igual modo 97% (78/80) de los casos y aquí el 62 % de las lesiones se consideraron leves. Hepatitis periportal fue observada en el 96% (77/80) de los fetos; degeneración y necrosis asociada con trombos de fibrina intrasinoidal se observo ocasionalmente. La hepatitis periportal se clasificó como severa en el 62% de abortos epizoóticos contra el 30% de abortos esporádicos y la necrosis hepatocelular ocurrió en el 47% del epizoótico contra el 15% del esporádico.

Por su parte Barr *et al* (1990) en un estudio realizado con 455 fetos abortados en California encontraron que el 18% (82) de los fetos mostraron un patrón de lesiones necróticas no supurativas en encéfalo y miocardio sugestivas a Neosporosis. En el cerebro se observaron focos pequeños y esparcidos de necrosis y microglia; la gliosis focal se encontró frecuentemente adyacente a capilares con endotelio hiperplásico, con acumulación perivascular de células mononucleares frecuentemente en la materia blanca o en el tallo cerebral; esto varía desde inflamación focal, axones eosinofílicos a focos de necrosis rodeados por bordes de células de la glía. Grupos de protozoarios pueden observarse en ocasiones asociados con estos focos de inflamación aunque estos usualmente son encontrados al azar. En corazón se encontró grado severo de autolisis; este frecuentemente excedía el grado de autolisis de otros órganos; se encontraron infiltrados

mixtos de células mononucleares en epicardio, miocardio y endocardio; de igual forma se observaron infiltrados similares en músculo esquelético. En hígado se encontraron dos patrones de inflamación; infiltrados mononucleares inflamatorios en áreas periportales en 43/77 fetos (56 %) y focos dispersos de necrosis hepatocelular o sinusoides llenos con trombos de fibrina presentes en 27/77 fetos (35 %). En pocos casos se encontraron ambos tipos de lesiones. Se observaron también pequeños focos de necrosis en los intersticios del pulmón y a lo largo de la superficie de las vellosidades de los cotiledones en la placenta. El protozooario se encontró en 17 de los 82 fetos con encefalitis y miocarditis no supurativa.

Dubey *et al* (1990) reportaron un feto de ocho meses con lesiones de corazón, hígado y cerebro. Las lesiones del miocardio consistieron en áreas multifocales de edema, hemorragia y necrosis de miocitos e infiltrados de neutrofilos y células mononucleares alrededor de los miocitos y fibras de Purkinje; ahí también se observó miocarditis no supurativa difusa. Numerosos taquizoitos se encontraron intracelularmente en los miocitos y ocasionalmente en las fibras de Purkinje. En el cerebro las lesiones se caracterizaron por áreas multifocales de necrosis en materia gris y blanca; necrosis capilar, agregados vasculares e infiltración de macrófagos; los taquizoitos se encontraron en células nerviosas. Las lesiones hepáticas consistieron en necrosis del parénquima hepático alrededor de las venas centrales.

En otro estudio realizado por Barr *et al* (1991b) en una becerria Holstein de tres días de edad que al examen histológico se encontró en todo el cerebro y distribuidos al azar focos de agregados perivasculares de linfocitos y células plasmáticas con microgliosis focal, se encontraron cuatro grupos de taquizoitos dentro de dos focos amplios de infiltrados celulares. En la materia gris de la medula espinal se encontraron focos de gliosis con infiltrados perivasculares de células plasmáticas y linfocitos; además de que se encontraron numerosos quistes tisulares ubicados en el citoplasma de las neuronas.

En el examen histopatológico de una becerria Hereford de cuatro semanas de edad reportada por Dubey *et al* (1992a) se encontró necrosis en cerebro y gliosis en la materia blanca y gris de la corteza cerebral; se observaron también infiltrados perivasculares consistentes de linfocitos, células plasmáticas y neutrófilos. Leptomeningitis no supurativa se encontró como lesión superficial. El músculo esquelético presentó degeneración y necrosis de miocitos acompañado de infiltrados de macrófagos.

En otro estudio realizado por Dubey *et al* (1992b) induciendo la transmisión congénita de la Neosporosis bovina, encontraron encefaliomielitis no supurativa caracterizada por múltiples áreas de necrosis y acumulación de células mononucleares alrededor de áreas necróticas.

Ogino *et al* (1992) encontraron necrosis multifocal y taquizoitos en tres fetos de cinco meses de gestación; no se observó reacción

inflamatoria sugiriendo que las células del SNC fueron destruida por multiplicación activa de los taquizoitos.

En otro estudio realizado por Conrad *et al* (1993) en un feto de aproximadamente de seis meses de gestación se encontraron focos de gliosis en cerebro adyacentes a capilares con hipertrofia endotelial prominente; infiltrados menígeos leves difusos de células mononucleares consistentes predominantemente por linfocitos y células plasmáticas ocasionalmente; así mismo se hallaron infiltrados mixtos de células mononucleares en músculo esquelético y corteza renal.

McIntosh and Haines (1994) reportaron un feto de la raza Santa Gertrudis de ocho meses de edad con lesiones principalmente en cerebro consistentes en focos de necrosis asociados a gliosis.

En otro estudio realizado por Bryan *et al* (1994) encontraron lesiones en medula oblongada y malformación de la sección torácica de la medula espinal en la cual se localizaron diversos linfocitos, macrófagos y células plasmáticas dentro de espacios perivasculares frecuentemente extendiéndose dentro del neuropilo adyacente; estos hallazgos se encontraron en un becerro Salers que murió de tres días de nacido.

En un estudio efectuado por Anderson *et al* (1995b) localizaron lesiones sugestivas a infección por protozoarios en 130 de 266 (48.9%) abortos. Estas lesiones incluyeron áreas multifocales de encefalomiелitis no supurativa, frecuentemente con áreas de necrosis; epicarditis y miocarditis no supurativas y miositis focal no supurativa.

Delgado *et al* (1995) realizaron un estudio patológico de aborto en bovinos Holstein de la Comarca Lagunera, México; encontrando que 22 de 30 (73.3%) fetos mostraron miocarditis no supurativa como la lesión mas evidente y asociada en seis ocasiones a encefalitis no supurativa.

Por su parte Morales *et al* (1997) describe un caso de aborto bovino en México; encontrando en cerebro medio, cerebelo y médula oblongada; focos discretos de gliosis y necrosis distribuidos al azar, algunas áreas con infiltrado linfocitario perivascular, desmielinización discreta y junto a un vaso sanguíneo se encontró un quiste parasitario de forma oval y abundantes bradizoitos en su interior. En miocardio se encontró miocarditis no supurativa multifocal discreta y en el parénquima hepático, inflamación periportal no supurativa discreta.

Anderson *et al* (1997) reportan gliosis focal de moderada a severa, e infiltrados perivascuales mixtos de células mononucleares en cerebro y medula espinal de siete becerras seropositivas a *Neospora caninum*.

En un estudio realizado Buxton *et al* (1998) encontraron lesiones en placenta de ganado ovino infectado experimentalmente; estas se observaron en corionalantoides, que presentó edema e inflamación con degeneración focal del epitelio corionico; vasculítis necrotizante e infiltrados perivascuales de células mononucleares también se observaron. En cotiledones la lesión principal fue necrosis coagulativa.

Shivaprasad *et al* (1989) reportan necrosis de las vellosidades cotiledonareas y edema en la placenta de un feto de cinco meses. Dubey *et al* (1992b) encontraron necrosis de las vellosidades corionicas de los

placentomas; así como necrosis de los trofoblastos y exudado neutrofílico agudo.

En un estudio efectuado por Kim *et al* (2000) en un recién nacido con tetraparecia y títulos precalostrales de anticuerpos contra *Neospora caninum* de 1:3200; se encontró meningoencefalitis no supurativa; y en un feto de ocho meses se encontró meningoencefalitis no supurativa de leve a moderada, miositis y miocarditis fueron notorias.

Sawada *et al* (2000) reportaron una vaca Holstein de dos años de edad con historia de aborto el las dos últimas gestaciones; que al examen histológico se observaron leves agregados perivasculares y nodulación glial en el SNC; los agregados fueron difusos en cerebro, mesencéfalo y medula espinal, compuestos por linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. Los nódulos gliales se localizaron también en cerebro y mesencéfalo. Miositis focal se encontró en corazón y músculo esquelético; pequeños agregados de linfocitos y macrófagos se encontraron en hígado y riñón.

Guarino *et al* (2000) identificaron encefalitis no supurativa y miocarditis no supurativa en cuatro abortos de búfalo de agua al sur de Italia.

2.12. Diagnóstico

2.12.1. Histopatología e Inmunohistoquímica

El diagnóstico presuntivo de Neosporosis puede hacerse generalmente basado en lesiones histológicas; siendo las más significativas para el diagnóstico las de cerebro; consistentes en focos

diseminados de infiltración celular no supurativa con focos ocasionales de necrosis. El diagnóstico por medio de histopatología puede ser difícil debido a la variabilidad de las lesiones histológicas. La confirmación de la sospecha de aborto por Neosporosis requiere de un diagnóstico integral donde se utilicen diferentes técnicas; ya sea en el feto abortado o el neonato y la madre, las muestras que se prefieren en caso de aborto incluyen uno o más fetos abortados enviados con la placenta y suero de la madre. A la fecha no hay información sobre sitios preferenciales para la localización de *N. caninum* en el cerebro y cualquier parte de este puede ser útil para el examen histológico (Anderson *et al.*, 1995a; Conrad *et al.*, 1995; Dubey and Lindsay, 1996b).

Las técnicas diagnósticas que se han utilizado en los tejidos fetales y que son más confiables son la histopatología y la inmunohistoquímica; así como la inmunofluorescencia de líquidos fetales, mientras que en la madre se han utilizado técnicas serológicas para la detección de anticuerpos como el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y la fluorescencia indirecta de anticuerpos (IFA) (Dubey and Lindsay, 1996b).

La inmunohistoquímica, utilizando las técnicas de inmunoperoxidasa con anticuerpos primarios contra *Neospora caninum*, y la técnica del complejo avidina-biotina; es un método muy confiable y específico efectuado en los tejidos fetales incluidos en parafina para identificar antígenos específicos del parásito; además de que también se identifican taquizoitos y quistes tisulares; permitiendo diferenciarlo de otros

protozoarios con estructura y lesiones semejantes (Dubey *et al.*,1989c; Barr *et al.*,1991; Dubey *et al.*,1992a,b; Ogino *et al.*,1992; Dubey and Lindsay,1993; Conrad *et al.*1993;1994;1995; McIntosh and Hines,1994; Bryan *et al.*,1994; Anderson *et al.*,1995a,b; Ruehlmann *et al.*,1995; Dubey and Lindsay,1996b; Wouda *et al.*,1997; Buxton *et al.*,1998; McAllister *et al.*,1998; Anderson,1999).

La inmunohistoquímica para *Neospora* tiene mas éxito en secciones de cerebro fetal, aunque los parásitos también están presentes en pulmón, riñón y músculo esquelético. La inmunohistoquímica ha sido empleada exitosamente para el diagnóstico de Neosporosis en fetos momificados aunque el estado autolítico de estos fetos disminuye la seguridad del diagnóstico. Recientemente se han desarrollado anticuerpos monoclonales contra *Neospora caninum*; los cuales también pueden ser usados para la detección de la infección en fetos abortados (Anderson *et al.*,1995a; Conrad *et al.*,1995; Dubey and Lindsay,1996b; Anderson,1999).

La efectividad de la inmunohistoquímica la demostró Wouda *et al.* (1997b) al identificar en 80 fetos con Neosporosis; taquizoitos de *Neospora caninum* en el 85% de los cerebros, 14% de los corazones y 26% de los hígados; además de encontrar quistes tisulares en 12% de los cerebros.

Otra muestra de la efectividad de la inmunohistoquímica la reportan Barr *et al.* (1991a) quienes confirmaron la infección por protozoarios en

71 de 80 fetos bovinos (89%); identificándose quistes tisulares y taquizoitos en cerebro y en vasos sanguíneos.

2.12.2. Serología

La serología para *Neospora*, utilizando IFA, ha mostrado efectividad para detectar anticuerpos elevados de *Neospora* en el suero de becerros infectados congénitamente o expuestos *in útero*. Además, IFA, del mismo modo puede utilizarse para establecer un diagnóstico en fetos abortados; ya que la mayoría de los fetos infectados mayores de cinco meses de gestación tienen títulos elevados de anticuerpos contra *N. caninum*; y aunque la titulación resulte negativa por IFA; no descarta la posibilidad de infección (Anderson *et al.*, 1995a; Conrad *et al.*, 1995).

La detección de anticuerpos específicos contra *N. caninum* en el suero de vacas, ha sido de gran ayuda para realizar estudios seroepidemiológicos y para ello se ha utilizado IFA y ELISA (Ruehlmann *et al.*, 1995; Morales *et al.*, 1997; Buxton *et al.*, 1998; Cheadle *et al.*, 1999; Dubey *et al.*, 1999; Gondim *et al.*, 1999; Suteeraparp *et al.*, 1999; Dyer *et al.*, 2000; Guarino *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2000; Ooi *et al.*, 2000; Sawada *et al.*, 2000).

El diagnóstico de Neosporosis bovina a través de ELISA ha demostrado ser rápido, económico y consistente con excelente sensibilidad (88.6%) y especificidad (96.5%). La técnica de ELISA se puede utilizar para determinar la seroprevalencia del hato a través de muestreo de sueros al azar de un mínimo de 30 vacas adultas, con por lo menos dos meses pos parto. La prevalencia se puede calcular en el total

del número de vacas en producción. El CVLDS sugiere que se realice el muestreo dos veces, tanto en vacas que han abortado; como en las que no tiene historia de aborto y que la colección de suero provenga de un grupo de vacas que estén en el mismo periodo de gestación o posparto y que tengan una edad similar (Anderson *et al.*, 1995a; Dubey and Lindsay, 1996b; Anderson, 1999).

El uso de IFA para el diagnóstico serológico de Neosporosis en la vaca adulta requiere de precaución en la interpretación, debido a que algunas vacas que abortaron fetos infectados con *Neospora* pueden tener títulos significativamente elevados. En un estudio, una porción significativa (22%) de vacas que abortaron un feto infectado por *Neospora* tuvieron títulos de IFA que estuvieron dentro de dos diluciones de títulos en ganado supuestamente no infectado. En adición dentro de los dos a cinco meses siguientes al aborto, los títulos que previamente estaban elevados; de vacas que abortaron un feto infectado por *Neospora* pueden caer a niveles similares a los del ganado no infectado (Anderson *et al.*, 1995a; Conrad *et al.*, 1995).

Dubey *et al* (1996a) demostraron que la reacción cruzada entre *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* y *Sarcocystis spp.* es nula o mínima para la prueba de IFA. Hubo también alguna reacción a *N. caninum* por ELISA en ganado inoculado con *Sarcocystis spp.*

Se han descrito en la literatura diferentes modificaciones a la técnica de ELISA; tal es el caso de Jenkins *et al* (1997) y Wouda *et al* (1997a) quienes desarrollaron un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas

(ELISA) que utiliza antígenos recombinantes de taquizoitos para el reconocimiento de anticuerpos séricos en el ganado infectado por *Neospora*.

Del mismo modo Baszler *et al* (1996) y Sanderson *et al* (2000) describen una modificación con un anticuerpo monoclonal (Mab 4A4-2) basado en la inhibición competitiva para ELISA (CI-ELESA) usada en la detección de anticuerpos específicos y disponible comercialmente para el serodiagnóstico de Neosporosis.

Stenlund *et al* (1999) describen el complejo de estimulación inmune para el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (iscom ELISA) para la detección de anticuerpos específicos de *Neospora caninum*.

2.12.3. Biología Molecular

Se ha utilizado experimentalmente la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de DNA de *Neospora caninum* en tejidos de *Macacus rhesus*. Para estos infectó una hembra gestante con cultivo del parásito y se aisló DNA a partir de tejidos fetales y de la madre; los cuales se colectaron a la necropsia. Se utilizaron cebadores de oligonucleotido COC-1 (5'-AAGTATAAGCTTTTATTACGGCT-3') y COC-2 (5'-CACTGCCAGCGTAGTCCAATAC-3'). La sonda específica para *Neospora spp.* fue (5'-AGTCAAACGCG-3') (Ho *et al.*, 1997b).

En ratón desnudo infectado experimentalmente también se ha detectado DNA de quistes cerebrales con cebadores de oligonucleotido específicos; Np21 (5'-GTGCGTCCAATCCTGTAAC-3') y Np6 (5'-CAGTAACCTACGTCTTCT-3') (Yamaga *et al.*, 1996).

Asimismo se ha detectado DNA de *Neospora* en tejidos de animales con infección experimental e infectados de manera natural; así como de neonatos y abortos. El DNA se encontró con mayor frecuencia en muestras de tejido del SNC; aunque también se detectó de muestras de músculo estriado (Ho *et al.*,1997a; Buxton *et al.*,1998; McAllister *et al.*,1998; Dubey,1999; Kim *et al.*, 2000; Sawada *et al.*, 2000; Tanaka *et al.*, 2000).

2.13. Control, Prevención y Tratamiento

Un mejor método de transmisión de *Neospora* en un hato es a través de la infección del ganado que esta crónicamente infectado. Estas vacas infectadas pueden detectarse basándose en sus títulos serológicos o en historia previa de aborto por *Neospora* o infección congénita. Con estos conocimientos, el control de la infección podría ser enfocado a reducir el número de vacas infectadas en el hato y limitar la introducción de ganado de reemplazo infectado en el hato. Pueden tomarse decisiones concernientes a eliminar vacas que han tenido aborto confirmado por *Neospora* con el conocimiento de que hay un gran riesgo de repetir aborto en estos animales. Vacas seropositivas también tienen un gran riesgo de aborto y hay una muy alta probabilidad de infección congénita en los becerros nacidos de estas vacas. En suma vaquillas seropositivas han demostrado tener una producción láctea reducida (Anderson *et al.*,1995a; Anderson,1999).

No hay métodos demostrados disponibles para prevenir la infección posnatal. Si embargo, basados en la evidencia experimental de que el

perro es el hospedador definitivo de *Neospora caninum* y la asociación entre perros en los establos lecheros y seroprevalencia en el hato, sería prudente tomar medidas para reducir el potencial por este tipo de transmisión. Sería aconsejable la remoción de todo tejido potencialmente infectado, tales como fetos y placentas del ambiente que puedan servir como fuente de infección para hospedadores susceptibles. En suma, debería ser minimizada la contaminación fecal del alimento y de las fuentes de agua por otros animales (Conrad *et al.*,1995; Anderson *et al.*,1995a; Anderson,1999).

Los fármacos que se han utilizado para inhibir el desarrollo de *Toxoplasma gondii* en cultivos celulares también son efectivos para inhibir el desarrollo de *Neospora caninum* cuando se usan en concentraciones similares. Específicamente, lasalocid sódico a 0.05 mg/ml, monensina sódica a 0.05 mg/ml, piritrexina a 0.01 mg/ml, pirimetamina a 0.05mg/ml, y trimetopin a 5 mg/ml son efectivos para prevenir el desarrollo de taquizoitos intracelulares de *Neospora caninum* en cultivos de monocitos de bovino, mientras que el amprolium hidrociorado a 10 mg/ml, sulfadiazina a 200 mg/ml y sulfametoxalina a 200 mg/ml no han sido efectivos. Experimentalmente se ha visto que la sulfadiazina en agua de bebida previene la Neosporosis clínica en ratones experimentalmente infectados, no obstante no es efectivo cuando ya existen manifestaciones clínicas (Dubey and Lindsay,1993;1996b; Ruehlmann *et al.*,1995).

III. JUSTIFICACIÓN

En la Comarca Lagunera, Delgado diagnosticó el aborto por *Neospora caninum* desde 1994 en fetos abortados de bovinos Holstein. Se conoce la transmisión transplacentaria en bovinos como causa de permanencia de la enfermedad en un hato, así como la participación del perro en el ciclo biológico; aunado a esto las pérdidas económicas estimadas son considerables. Tomando en cuenta estos antecedentes y considerando que en la región no hay estudios sobre el aborto bovino a causa de este protozooario, la finalidad de la presente investigación, es por lo tanto, estudiar retrospectivamente los fetos que se remitieron al Centro de Análisis e Investigaciones Pecuarias de la Laguna (CAIPEL) utilizando métodos histopatológicos.

IV. OBJETIVOS

- 1) Analizar los registros de aborto bovino remitidos al CAIPEL de 1994 al 2000.
- 2) Identificar las lesiones histológicas de infección por *Neospora caninum* en fetos abortados de bovinos Holstein de la Comarca Lagunera utilizando la tinción de Hematoxilina y Eosina.
- 3) Conocer la prevalencia de *Neospora caninum* en la Comarca Lagunera.

V. MATERIAL Y METODOS

Para la realización de esta investigación; primeramente se recurrió a los libros de registro de diagnóstico histopatológico del CAIPEL, de donde se tomaron los datos de todos los abortos ocurridos desde Octubre de 1994 a Diciembre del 2000 y se revisaron las laminillas con cortes histológicos. De estos se observaron muestras de tejidos de encéfalo, corazón, músculo esquelético, hígado, riñón, pulmón, placenta, adrenal y bazo. Los tejidos previamente se fijaron en formalina al 10% y se procesaron por la técnica de rutina de inclusión en parafina, se realizaron cortes de 5 μm de grosor para su tinción con Hematoxilina y Eosina. La observación de lesiones se llevo a cabo con un microscopio fotónico con los objetivos seco débil (10X) y seco fuerte (40X) realizando las descripciones microscópicas correspondientes, corroborándolas con las asentadas en los registros.

Se describieron las lesiones histológicamente clasificándolas en 1). Miositis y/o Miocarditis no supurativas; 2). Encefalitis no supurativa con necrosis y gliosis multifocal; 3). Miositis y Miocarditis / Encefalitis no supurativa; 4). otras como Hepatitis periportal no supurativa con focos de necrosis o adrenalitis no supurativa.

Dentro de los resultados también se incluyen los promedios de edad fetal y del mes de mayor ocurrencia para compararlos con lo reportado en la literatura.

VI. RESULTADOS

La revisión de los libros de registro de histopatología del CAIPEL arrojó una cifra de 581 abortos diagnosticados durante el periodo de Octubre de 1994 a Diciembre del 2000; de los cuales se seleccionaron los que contaban con las lesiones características de la Neosporosis bovina, encontrándose 182 (31.32%) fetos abortados por esta causa.

Los resultados de las principales lesiones observadas en las laminillas se resumen en el cuadro 1 en donde se indica el número de casos y porcentaje correspondiente.

Las lesiones mas significativas y constantes asociadas a Neosporosis bovina se apreciaron en miocardio, encéfalo, hígado, y músculo esquelético. La encefalitis necrótica no supurativa se encontró en 137 casos (75.27%), asociada en 9 ocasiones a gliosis multifocal leve y en 2 ocasiones con infiltrados perivasculares linfocitarios, en 117 fetos (64.28%), miocarditis no supurativa estuvo presente, en 68 fetos (37.36%) se identificó hepatitis no supurativa y en 17 (9.34%) hepatitis necrótica, 61 fetos (33.51%) se encontraron con miositis no supurativa. El resto de las lesiones observadas fue en menor proporción, asociadas a las ya descritas; tal es el caso de bronconeumonía que se encontró en 7 ocasiones, de igual forma 7 casos de nefritis no supurativa, 4 casos de necrosis pulmonar, 2 con neumonía no supurativa, 2 casos de nefritis intersticial, en 2 ocasiones se encontró placentitis necrótica y de manera unitaria se encontraron necrosis en riñón, neumonía necrótica, adrenalitis, tubulonefrosis, y meningitis no supurativa.

Con respecto a la edad gestacional de los abortos ésta fue de 5.75 meses promedio, teniéndose registrada la edad mínima de 3 meses y la máxima de 8.5 meses. La ocurrencia de los abortos fue mayor para el mes de Abril.

Tabla 1. Principales lesiones encontradas en el estudio retrospectivo

Lesiones	Numero de casos	Porcentaje
Encefalitis necrótica no supurativa	137	75.27%
Miocarditis no supurativa	117	64.28%
Hepatitis no supurativa	68	37.36%
Miositis no supurativa	61	33.51%
Hepatitis necrótica	17	9.34%

Tabla 2. ocurrencia de abortos del estudio retrospectivo en los meses del año

Meses	Numero de abortos	Porcentaje
Enero	8	4.39%
Febrero	3	1.64%
Marzo	21	11.53%
Abril	50	27.47%
Mayo	24	13.18%
Junio	12	6.59%
Julio	8	4.39%
Agosto	7	3.84%
Septiembre	7	3.84%
Octubre	14	7.69%
Noviembre	9	4.94%
Diciembre	19	10.43%

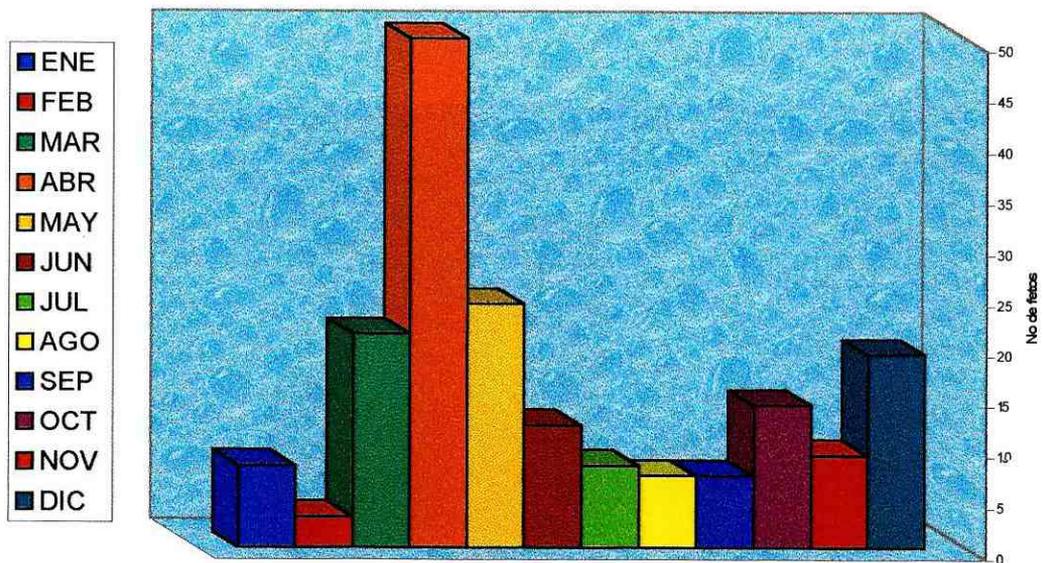


Figura 2 ocurrencia de abortos del estudio retrospectivo en los meses del año.

Tabla 3. Edad gestacional de los abortos en el estudio retrospectivo

Edad gestacional en meses	Número de abortos	Porcentaje
3	3	2.08%
3.5	3	2.08%
4	19	13.19%
4.5	12	8.33%
5	31	21.52%
5.5	16	11.11%
6	29	20.13%
6.6	7	4.86%
7	15	10.41%
7.7	3	2.08%
8	5	3.47%
8.5	1	0.69%

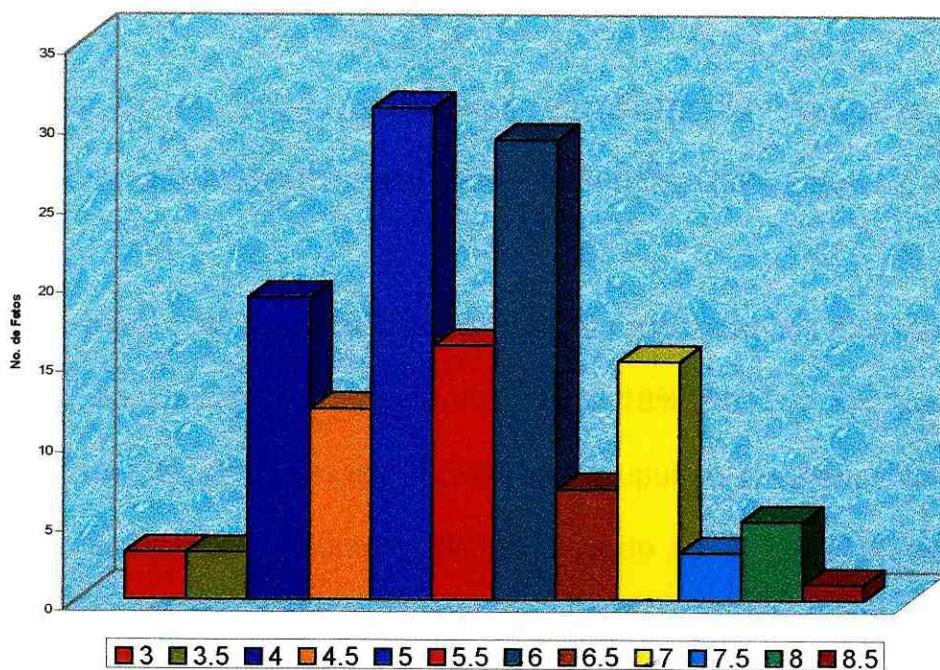


Figura 3.edad gestacional de los abortos en el estudio retrospectivo

VII. DISCUSIÓN

Los resultados de la presente investigación, son muy semejantes a los reportados en la literatura a nivel mundial, en donde se confirma que las lesiones degenerativas e inflamatorias pueden encontrarse en todo el feto pero son más comunes en el SNC, corazón, músculo esquelético e hígado. Las lesiones graves son raras aunque pueden estar presentes en corazón, músculo esquelético y cerebro (Dubey and Lindsay 1993; Lindsay *et al.*, 1993; Conrad *et al.*, 1995; Anderson *et al.*, 1995a;1997).

En este estudio el 75.27% de los fetos (137/182) con lesiones características de Neosporosis bovina presentaron encefalitis necrótica no supurativa como la lesión mas evidente, seguida de miocarditis no supurativa en 64.28% de los casos (117/182), la hepatitis se identificó en 46.7% de los fetos (85/182) la cual se encontró de tipo no supurativo y necrótico; en el 33.51% de los casos (61/182) se encontró miositis no supurativa.

Guarino *et al* (2000) identificaron encefalitis no supurativa y miocarditis no supurativa en cuatro abortos de búfalo de agua al sur de Italia.

Por su parte Barr *et al* (1990) en un estudio realizado con 455 fetos abortados en California encontraron que el 18% (82) de los fetos mostraron un patrón de lesiones necróticas no supurativas en encéfalo y miocardio sugestivas a Neosporosis. En hígado se encontraron dos patrones de inflamación; infiltrados mononucleares en áreas periportales y focos dispersos de necrosis hepatocelular, se observaron también

pequeños focos de necrosis en los intersticios del pulmón y a lo largo de la superficie de las vellosidades de los cotiledones en la placenta; del mismo modo en este estudio se encontraron casos de neumonía necrótica (1) y placentitis necrótica (2).

Dubey *et al* (1990) reportan miocarditis no supurativa difusa; en el cerebro las lesiones se caracterizaron por áreas multifocales de necrosis, las lesiones hepáticas consistieron en necrosis del parénquima hepático alrededor de las venas centrales.

En otro estudio realizado por Barr *et al* (1991b) encontraron en todo el cerebro y distribuidos al azar focos de agregados perivasculares de linfocitos y células plasmáticas con microgliosis focal; esta distribución al azar de los agregados perivasculares tal vez sea la razón por la que en nuestro estudio solo se encontraron dos casos.

Dubey *et al* (1992a) identificaron necrosis en cerebro y gliosis, se observaron también infiltrados perivasculares consistentes de linfocitos, células plasmáticas y neutrófilos. El músculo esquelético presentó degeneración y necrosis de miocitos.

En otro estudio realizado por Dubey *et al* (1992b) encontraron encefaliomielitis no supurativa caracterizada por múltiples áreas de necrosis y acumulación de células mononucleares alrededor de áreas necróticas.

McIntosh and Haines (1994) reportaron lesiones principalmente en cerebro consistentes en focos de necrosis asociados a gliosis.

Anderson *et al* (1995b) localizaron lesiones sugestivas a infección por protozoarios en 130 de 266 (48.9%) abortos. Estas lesiones incluyen áreas multifocales de encefalomiелitis no supurativa, frecuentemente con áreas de necrosis; epicarditis y miocarditis no supurativas y miositis focal no supurativa. Delgado *et al* (1995) reportan fetos con miocarditis no supurativa como la lesión mas evidente y asociada en seis ocasiones a encefalitis no supurativa. Kim *et al* (2000) encontraron meningoencefalitis no supurativa; en este estudio solo se encontró un caso de meningitis no supurativa.

Si bien los abortos inducidos por *Neospora caninum* ocurren durante todo el año existe cierta tendencia de incremento durante los meses de Noviembre a Febrero; el rango de edades de los fetos fluctúa de los 3 meses hasta los 9, aunque la mayoría de los abortos ocurren entre los 4 y 6 meses de gestación(Barr *et al.*,1990; Dubey and Lindsay,1993; Conrad *et al.*,1994; Anderson *et al.*,1995a).

A diferencia de lo reportado en la literatura en la presente investigación si se encontró cierta tendencia en el incremento de los abortos a durante Octubre y Diciembre, pero declinó durante Enero y Febrero, para elevarse en forma explosiva durante Marzo, Abril y Mayo; meses en que tienen registrados el 52.74% de los abortos por Neosporosis. Quizá esto se deba a que los reportes están dados a partir de los casos que llegan al laboratorio y no de la realidad de los abortos en el campo, ya que no se realizó un estudio guiado. En lo que respecta

a la edad gestacional de los abortos, ésta, efectivamente se encontró en su mayoría entre 4 y 6 meses.

En un estudio realizado con 113 abortos confirmados a causa de Neosporosis; tres fetos fueron de 3 meses de edad; 27 fueron de 4 meses; 33 de 5 meses; 22 de 6 meses; 16 fueron de 7 meses; ocho fueron de 8 meses, y 4 fueron de 9 meses de gestación (Dubey and Lindsay, 1996b).

De manera sorprendente datos muy similares se encontraron en esta investigación: tres fetos de 3 meses; 19 fetos de 4 meses; 31 fetos de 5 meses; 29 fetos de 6 meses; 15 fetos de 7 meses; y 5 fetos de 8 meses, no hubo reportes de fetos de 9 meses.

Tomando como base los 182 fetos con lesiones características de Neosporosis bovina y siendo que, el estudio retrospectivo comprendió inicialmente 581 fetos; la prevalencia de *Neospora caninum* para la Comarca Lagunera es de 31.32%.

Anderson *et al* (1995a) reportan rangos anuales de 30% de abortos por *N. Caninum*. En un lapso de un año todos los fetos abortados disponibles de 26 establos fueron enviados al CVDLS para diagnóstico, un total de 226 abortos fueron enviados, de los cuales 113, 42.5% fueron confirmados como abortos por *Neospora* en el 73% de los establos.

Sanderson *et al* (2000) desarrollaron un estudio al Noroeste de los Estados Unidos en ganado de engorda y reportan una seroprevalencia del 24%.

Paré *et al* (1996) reportan que en un estudio realizado en el valle de San Joaquín, California; con dos establos lecheros (A y B) se encontró una prevalencia del 30.6% (85/278) para el establo A y 53.5% para el B en las becerras precalostradas. En las vacas adultas se encontró una prevalencia de 36% (82/288) para A y 57.9% (33/57) para el establo B.

Anderson *et al* (1995b) remitieron para diagnóstico todos los fetos abortados en el periodo de un año; siendo *Neospora* la mayor causa de aborto identificada (113/266) 42.5%, la mayoría (232/266) 87.2% de los fetos fueron enviados de establos con historia de abortos atribuibles a Neosporosis y se identificó al agente causal en (101/232) 43.5% de los fetos de estos establos.

VIII. LITERATURA CITADA

1. Anderson, M.L., Barr, B.C., Rowe, J., Sverlow, K.W., Packham, A.E., Conrad, P., 1995a. Neosporosis and abortion in dairy cattle. California Veterinary Diagnostic Laboratory and Department of Pathology, Microbiology and Immunology, School of Veterinary Medicine, University California Davis, Davis California, USA.
2. Anderson, M.L., Palmer, C.W., Thurmond, M.C., Picanso, J.P., Blanchard, P.C., Breitmeyer, R.E., Layon, A.W., McAllister, M., Daft, B.M., Kinde, H., Read, D.H., Dubey, J.P., Conrad, P.A., Barr, B.C., 1995b., Evaluations of abortions in cattle attributable to Neosporosis in selected dairy herds in California. *JAVMA*. 207:1206-1210.
3. Anderson, M.L., Reinolds, J.P., Rowe, J.D., Sverlow, K.W., Packham, A.E., Barr, B.C., Conrad, P.A., 1997. Evidence of vertical transmission of *Neospora sp* infection in dairy cattle. *JAVMA*. 210:1169-1171.
4. Anderson, M.L., 1999. Características diagnósticas del aborto en ganado bovino. Memorias del 2do. Congreso Internacional de M.V.Z., Octubre 21, 22, y 23. Gómez Palacio, Dgo. 19-34.
5. Barr, B.C., Anderson, M.L., Blanchard, P.C., Daft, B.M., Kinde, H., Conrad, P.A., 1990. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Vet. Pathol.* 27:354-361.

6. Barr, B.C., Anderson, M.L., Dubey, J.P., Conrad, P.A., 1991a. *Neospora* -like protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet. Pathol.* 28:110-116.
7. Barr, B.C., Conrad, P.A., Dubey, J.P., Anderson, M.L., 1991b. *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf: Pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. *J. Vet. Diagn. Invest.* 3:39-46.
8. Barber, J.S., Holmdahl, O.J.M., Owen, M.R., Guy, F., Uggla, A., Trees, A.J., 1995. Characterization of the first European isolated of *Neospora caninum*. *Parasitology.* 111:563-568.
9. Baszler, T.V., Knowles, D.P., Dubey, J.P., Gay, J.M., Mathison, B.A., McElwain, T.F., 1996. Serological diagnosis of bovine Neosporosis by *Neospora caninum* Monoclonal Antibody-Based Competitive Inhibition Enzyme-Linked Immunoborbent Assay. *J. Clin. Microbiol.* 34:1423-1428.
10. Bryan, L.A., Gajahdr, A.A., Dubey, J.P., Haines, D.M., 1994. Bovine neonatal encephalomyelitis associated with *Neospora sp* protozoan. *Can. Vet. J.* 35:111-113.
11. Buxton, D., Maley, S.W., Wright, S., Thomson, K.M., Red, A.D., Innes, E.A., 1998. The pathogenesis of Experimental Neosporosis in pregnant sheep. *Comp. Path.* 118:267-279.
12. Conrad, P.A, Barr, B.C., Sverlow, K.W., Anderson, M.L., Ardans, A., 1993. *In vitro* isolation and characterization of a *Neospora sp.* from aborted bovine foetus. *Parasitology.* 106:239-249.

13. Conrad, P.A., Barr, B.C., Anderson, M.L., Sverlow, K.W., Rowe, J., BonDurant, R., Breitmeyer, R., Picanso, J., Dubey, J.P., Palmer, C., Reynolds, J., Ardans, A., 1994. Neosporosis: a newly recognized cause of bovine abortion. School of Veterinary Medicine, University California, Davis.
14. Conrad, P.A, Anderson, M.L., Barr, B.C., 1995. Neosporosis: a newly recognized cause of abortion in dairy cattle. 2nd western large herd dairy management conference. Las Vegas, NV. April 6-8.
15. Cheadle, M.A, Lindsay, D.S., Blagburn, B.L., 1999. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs. *Veterinary Parasitology*. 85:325-330.
16. Delgado, G.R., Quintero, C.J., De Luna, A.A 1995. Estudio patológico, microbiológico y serológico del aborto en bovinos Holstein de la Comarca Lagunera. Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatria, agosto 26-29, Torreón, Coahuila, México.
17. Dubey, J.P., 1989a: Congenital Neosporosis in a calf . *Veterinary Record*. 125:486.
18. Dubey, J.P., Leathers, C.W., Lindsay, D.S., 1989b. *Neospora caninum*-like Protozoon Associated with Fatal Myelitis in Newborn Calves. *J. Parasitol.*: 75:1146-148.
19. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., 1989c. Fatal *Neospora caninum* infection in kittens. *The Journal of Parasitology*. 75:148-151.

20. Dubey, J.P., Miller, S., Lindsay, D.S., Topper., M.J., 1990. *Neospora caninum*-associated myocarditis and encephalitis in aborted calf. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2:66-69.
21. Dubey, J.P., Janovitz, B.E., Skowronek, A.J., 1992a. Clinical Neosporosis in a 4 week-old Hereford calf. *Veterinary Parasitology.* 43:137-141.
22. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Anderson, M.L, Davis, S.W., Shen, S.K., 1992b. Induced transplacental transmission the *Neospora caninum* in cattle. *JAVMA.* 205:709-713.
23. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., 1993. Neosporosis. *Parasitology Today.* 9:452-458.
24. Dubey, J.P.:Infecciones por *Neospora caninum*. En Kirk, R.W., Bonagura, J.D., 1994. *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*, Edit. Interamericana McGraw-Hill, México. pp. 293-296.
25. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Adams, D.S., Gay, J.M., Baszler, T.V., Blangburn, B.L., Thulliez, P., 1996a. Serologic responses in cattle and other animals infected whith *Neospora caninum*. *AJVR.* 57:329-336.
26. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., 1996b. A review of *Neospora caninum* and Neosporosis. *Veterinary Parasitology.* 67:1-69.
27. Dubey, J.P., Morales, J.A., Villalovos, P., Lindsay, D.S., Blagburn, B.L., Topper, M.J., 1996c. Neosporosis associated abortion in dairy goat. *JAVMA.* 208:263-264.
28. Dubey, J.P., 1999. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *JAVMA.* 214:1160-1163.

29. Dyer, R.M., Jenkins, O.S.H., Douglas, L.W., Dubey, J.P., 2000. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Veterinary Parasitology*. 90:171-181.
30. Gondim, L.F.P., Sartor, I.F., Hasegawa, M., Yamane, I., 1999. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 86:71-75.
31. Guarino, A., Fusco, G., Savini, G., DiFrancesco, G., Cringoli, G., 2000. Neosporosis in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in southern Italy. *Veterinary Parasitology*. 91:15-21.
32. Ho, M.S.Y., Barr, B.C., Rowe, J.D., Anderson, M.L., Sverlow, K.W., Packham, A., Marsh, A.E., Conrad, P.A., 1997a. Detection of *Neospora* sp. from infected bovine tissues by PCR and probe hybridization. *J. Parasitol.* 83:508-514.
33. Ho, M.S.Y., Barr, B.C., Tarantal, A.F., Lai, L.T.Y., Hendrickx, A.G., Marsh, A.E., Sverlow, K.W., Packham, A., Conrad, P.A., 1997b. Detection of *Neospora* from Tissues of Experimentally Infected Rhesus Macaques by PCR and specific DNA probe Hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 35:1740-1745.
34. Jenkins, M.C., Wouda, W., Dubey, J.P., 1997. Serological response over time to Recombinant *Neospora caninum* Antigens in cattle after a *Neospora* induced abortion. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 4:270-274
35. Kim, H.-J., Sohn, H.-J., Hwang, W.-S., Hwang, E.-K., Jean Y.-H., Yamane, I., Kim, D.-Y., 2000. In vitro isolation and characterization of

- bovine *Neospora caninum* in Korea. *Veterinary Parasitology*. 90:174:147.
36. Lindsay, D.S., Dubey, J.P., Coles, R.A., Nuehring, L.P., Blangburn, B.L., 1993. *Neospora*-induced protozoal abortions in cattle. *The compendium*. 15:822:895.
37. McAllister, M.M., Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Joller, R.W., Will, A.R., McGuire, M.A., 1998. Dogs definitive host of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*. 28:1473:1478.
38. McIntosh, W.D., Haines, D.M., 1994. *Neospora* infection in aborted fetus in British Columbia. *Can. Vet. J.* 35:114-115.
39. Morales, S.E., Ramirez L.J., Trigo, T.F., Ibarra, V.F., Puente, C.M., Santa cruz, M., 1997. Descripción de un caso de aborto bovino asociado a infección por *Neospora sp.* en México. *Vet. Mex.* 28:353-355.
40. Ogino, H.E., Watanabe, E., Watanabe, S., Agawa, H., Narita, M., Haritani, M., Kawashima, K., 1992. Neosporosis in the aborted fetus a newborn calf. *J. Comp. Path.* 107: 231-237.
41. Ooi, H.K., Huang, C.C., Yang, C.H., Lee, S.H., 2000. Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of its antibodies in various fluids of cattle. *Veterinary Parasitology*. 90:47-55.
42. Paré, J., Thumond, M.C., Hielta, S.K., 1996. Congenital *Neospora caninum* in dairy cattle and associated calfhooood mortality. *Can. J. Vet. Res.* 60:133-139.

43. Paré, J., Fecteau, G., Forti, M., Marsolais, G., 1998. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *JAVMA*. 213:1595-1598.
44. Quiroz, R.H., 1995. Neosporosis. Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatria, agosto 26-29, Torreón, Coahuila, México.
45. Ruehlmann, D., Podell, M., Ogesbre, M., Dubey, J.P., 1995. Canine Neosporosis: a case report and literature review. *Journal of the American Animal Hospital Asosiation*. 31:174-183.
46. Sanderson, M.W., Gay, J.M., Baszler, T.V., 2000. *Neospora caninum* seroprevalence and association risk factors in beef cattle in the Northwestern United States. *Veterinary parasitology*. 90:15-24.
47. Sawada, M., Kond, H., Tomioka, Y., Park, C.H., Morita, T., Shimada, A., Umemura, T., 2000. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of naturally infected adult dairy cow. *Veterinary Parasitology*. 90:247-252.
48. Shivaprasad, H.L., Ely, R., Dubey, J.P., 1989. A *Neospora*-like protozoon found in aborted bovine placenta. *Veterinary Parasitology*. 34:145-148.
49. Stenlund, S., Kindahl, H., Magnusson, U., Uggla, A., Bjorkman, C., 1999. Serum antibodies profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. 85:227-234.
50. Suteeraparp, P., Pholpark, S., Pholpark, M., Charoenchai, A., Chompoochan, T., Yamane, I., Kashiwasaki, Y., 1999.

- Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and associated abortion in dairy cattle from central Thailand. *Veterinary Parasitology* 86:49-57.
51. Tanaka, T., Hamada, T., Inoue, N., Nagasawa, H., Fujisaki, K., Suzuki, N., Mikami, T. 2000. The role of CD4+ or CD8+ T cells in the protective immune response of BALBE/c mice to *Neospora caninum* infection. *Veterinary Parasitology*. 90:183-191.
52. Walsch, P.C., Dunkan, B.R., Zajac, M.A, Blagburn, L.B., Lindsay, D.S., 2000. *Neospora hughesi* : experimental infections in mice, gerbils and dogs. *Veterinary Parasitology*. 92:119-128.
53. Wouda, W., Dubey, J.P., Jenkins, M.C., 1997a. Serological diagnosis of bovine fetal Neosporosis. *J. Parasitol.* 83: 545-547.
54. Wouda, W., Moen, A.R., Visser, I.J.R., Knapen, F.V., 1997b. Bovine fetal Neosporosis: A comparasion of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes whith regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organism in brain, heart and liver. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9:180-185.
55. Yamage, M., Flechtner, O., Gottstein, B., 1996. *Neospora caninum*: specific oligonucleotide primers for the detection of brain cyst DNA of experimentally infected nude mice by the polimerasa chain reaction (PCR). *J. Parasitol.* 82:272-278.