



**Facultad de Ciencias Veterinarias**

**-UNCPBA-**

**Seroepidemiología de *Neospora caninum* en una  
cabaña de toros para carne**

**Scioli Agustín; Moore Dadín Prando; de Yaniz Guadalupe**

**Diciembre, 2015**

**Tandil**

# **Seroepidemiología de *Neospora caninum* en una cabaña de toros para carne**

Tesina de la Orientación Producción Bovina para Carne, presentada como parte de los requisitos para optar al grado de Veterinario del estudiante: Scioli Agustín

Tutor: **M.V., MSc., DMV. Moore, Dadín Prando**

Directora: **Vet., MSc. de Yaniz, Guadalupe**

Evaluator: **Vet., Passucci, Juan Antonio**

## **Dedicatoria**

*A todos los que me acompañan*

## **Agradecimientos**

Agradezco intensamente a mi familia por su compañía y apoyo constante tanto en mi formación profesional como personal.

Agradezco inmensamente a mi madre, Marcela C. Boullon, y padre, Néstor H. Scioli, ya que sin ellos no hubiese podido realizar el presente trabajo.

A mis amigos y allegados.

Agradezco inmensamente a Dadín P. Moore y Dora Cano por brindarme su tiempo, predisposición y respeto constante que han tenido conmigo.

A mis compañeros de residencia por su compañía.

A Ernesto Odriozola por los momentos compartidos, sus consejos tanto en lo personal como profesional.

A todos, muchas gracias.

## RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la prevalencia y describir la seroepidemiología de *N. caninum* en bovinos de cría para carne, de las razas Aberdeen Angus, Hereford y Polled Hereford. El trabajo se efectuó en cinco establecimientos, en los cuales hay una cabaña de toros para carne realizando además ciclo completo (cría y recría). Los establecimientos se encuentran en los partidos de Ayacucho y Balcarce, provincia de Buenos Aires, Argentina. Se obtuvo suero de 2212 animales, los cuales pertenecían a 2181 hembras en servicio y 31 toros. Las muestras fueron analizadas por inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la detección de anticuerpos anti-*N. caninum*. Además se realizó una estimación económica acerca de las pérdidas reproductivas ocasionadas por este parásito. La seroprevalencia obtenida considerando un título serológico de  $\geq 1:25$  y  $1:200$  fue del 8,2 y 2,9% respectivamente. Para ambas diluciones séricas existieron asociaciones estadísticas significativas entre seropositividad y ocurrencia de abortos, sero estatus entre madres e hijas, resultados serológicos en medios hermanos, y edad y seropositividad. En contraposición, no existió asociación estadística en la susceptibilidad entre razas y sexos. Los resultados obtenidos sugieren la ocurrencia de abortos por *N. caninum*; mayor frecuencias de transmisión vertical estando presente la transmisión horizontal.

**Palabras claves:** *Neospora caninum*, IFI, seroprevalencia, epidemiología

# INDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
2.1	Definición de la enfermedad.....	3
2.2	Antecedentes de la enfermedad .....	3
2.3	Agente etiológico, taxonomía y ciclo de vida.....	3
2.4	Transmisión de <i>N. caninum</i> en ganado bovino .....	5
2.4.1	Transmisión transplacentaria (vertical) o congénita.....	5
2.4.2	Transmisión horizontal (post-natal).....	6
2.5	Distribución geográfica y situación en la Argentina .....	7
2.6	Factores de Riesgos .....	9
2.6.1	Aborto epidémico y endémico asociado a <i>N. caninum</i> .....	10
2.6.2	Estudios de factores de riesgo .....	11
2.6.3	Riesgos de infección.....	11
2.6.4	Riesgo de aborto .....	14
2.7	Patogenia .....	15
2.8	Manifestaciones clínicas .....	16
2.9	Hallazgos de necropsia – Macroscópicos .....	17
2.10	Hallazgos histopatológicos.....	17
2.11	Diagnóstico .....	18
2.11.1	Pruebas serológicas e interpretación.....	18
2.11.2	Relación entre <i>N. caninum</i> y aborto.....	19
2.12	Medidas de control y prevención .....	22
2.12.1	Pérdidas económicas y análisis del costo-beneficio .....	22
2.12.2	Medidas para el control de las infecciones por <i>N. caninum</i> .....	23
<b>3</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
3.1	Antecedentes sanitarios y reproductivos.....	27
3.2	Obtención de Muestras .....	27
3.3	Análisis serológico.....	28
3.4	Recolección de la información .....	28
3.5	Análisis estadístico.....	30

3.6	Análisis económico.....	31
4	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
4.1	Seroprevalencia .....	33
4.2	Estimar la asociación entre seropositividad y ocurrencia de abortos (1:25 y 1:200).....	34
4.3	Estimar la asociación entre las hijas y sus madres con serología positiva a <i>N. caninum</i> (1:25 y 1:200).....	34
4.4	Estimar la asociación de que un vientre que tenga al menos un hermano positivo y provenga de una madre positiva (1:25 y 1:200).....	35
4.5	Probabilidad de que a mayor edad posea mayor seropositividad a nivel rodeo (1:25 y 1:200). .....	36
4.6	Susceptibilidad entre razas, Hereford y Aberdeen Angus (1:25 y 1:200). 36	
4.7	Susceptibilidad entre sexos (1:25). .....	37
4.8	Posibles pérdidas económicas ocasionadas por el aborto.....	38
5	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>39</b>
6	<b>CONCLUSIÓN</b> .....	<b>44</b>
7	<b>BIBIOLOGRAFÍA</b> .....	<b>45</b>

# 1 INTRODUCCIÓN

La neosporosis fue descrita por primera vez en caninos como un síndrome neuromuscular causado por un protozoo intracelular denominado *Neospora caninum* (*N. caninum*) (Dubey *et al.*, 1988). Posteriormente se lo asoció con pérdidas reproductivas, siendo en el presente considerada como una de las principales causas de aborto, demostrándose grandes pérdidas económicas en nuestro país (Moore *et al.*, 2013). La enfermedad ha sido diagnosticada en razas de bovinos para leche y para carne en Europa, África, Australia, Nueva Zelanda y América (Dubey, 1999a).

De acuerdo a distintos autores, se han podido encontrar diferencias significativas entre distintos factores de riesgos como es el caso de la edad del ganado (Dubey *et al.*, 2007), presencia o no de huésped definitivo en el establecimiento (Paré *et al.*, 1998), la alimentación y agua de bebida (Dubey *et al.*, 2007) y la carga animal (Barling, *et al.*, 2000a). Sin embargo, se ha podido identificar como factor protector al gato y al perro sugiriéndose que estas especies domésticas alejarían roedores y/o animales silvestres probablemente involucrados en el ciclo de vida de *N. caninum*.

La importancia de la enfermedad y falta de información en los sistemas productivos para carne justifican la realización del presente trabajo.

## **Objetivo general:**

Realizar un estudio seroepidemiológico transversal en una cabaña de toros para carne.

## **Objetivos específicos:**

1. Evaluar la seroprevalencia de *N. caninum*.
2. Estimar asociaciones entre seropositividad y ocurrencia de abortos; serología de la madre y su progenie, y serología de medio hermanos.
3. Estimar asociación de la edad de los animales y su seropositividad.



4. Estimar la presencia o no de ambos tipos de transmisión (horizontal y vertical).
5. Susceptibilidad entre razas Aberdeen Angus y Hereford y Polled Hereford.
6. Caracterizar la seroprevalencia en machos y hembras.
7. Estimación de las pérdidas económicas por cada aborto y la conveniencia del saneamiento de la enfermedad.

## 2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Definición de la enfermedad

*Neospora caninum* (*N. caninum*), protozoo intracelular obligado del phylum Apicomplexa y la clase Coccidia, es el agente causal de la neosporosis. La enfermedad está ampliamente distribuida en todo el mundo afectando a caninos, bovinos, ovinos, caprinos, equinos y ciervos. En bovinos, se caracteriza por producir abortos, momificación fetal, partos prematuros y ocasionalmente nacimientos de terneros débiles, con ataxia, parálisis e incoordinación (Dubey *et al.*, 2007).

### 2.2 Antecedentes de la enfermedad

La neosporosis fue descrita por primera vez en caninos como un síndrome neuromuscular causado por un protozoo intracelular denominado *N. caninum*. Aunque el perro fue descrito como hospedador definitivo de la enfermedad en forma experimental y natural; también el coyote americano (*Canis latrans*), lobo gris (*Canis lupus lupus*) y dingo Australiano (*Canis lupus dingo*) pueden comportarse como hospedadores definitivos (Buxton *et al.*, 2002). Equinos, bovinos, caprinos, ovinos, ciervos, búfalos e inclusive el perro pueden comportarse como hospedadores intermediarios.

Aunque la enfermedad es causante de pérdidas reproductivas, productivas y económicas en áreas ganaderas de todo el mundo, hasta el presente no existe tratamiento o inmunógeno capaz de prevenir la infección en los bovinos (Revisado por Dubey *et al.*, 2007).

### 2.3 Agente etiológico, taxonomía y ciclo de vida

*N. caninum* pertenece al phylum Apicomplexa, clase Sporozoea, subclase Coccidia, orden Eucoccidia, suborden Eimeriina, familia Sarcocystidae y género *Neospora* (Dubey y Lindsay, 1996; Dubey *et al.*, 2002)

*N. caninum* es morfológicamente similar a *Toxoplasma gondii*, y está relacionado taxonómicamente a otros protozoos formadores de quistes como

*Hammondia heydorni* e *Isospora bigemina* (Dubey y Lindsay, 1996; Dubey *et al.*, 2002)

Los estadios parasitarios reconocidos en su ciclo son: taquizoíto, bradizoíto y esporozoíto. Los taquizoítos (replicación rápida) y bradizoítos (replicación lenta) se encuentran en hospedadores intermediarios, mientras que los esporozoítos se eliminan en las heces del perro (hospedador definitivo) (Dubey y Lindsay, 1996; Mcallister *et al.*, 1998a).

Los taquizoítos tienen forma de media luna o globular, miden 3 a 7  $\mu\text{m}$  de largo por 1 a 5  $\mu\text{m}$  de ancho y han sido detectados en neuronas, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, miositos, células renales y hepatocitos (Dubey y Lindsay, 1996). Los bradizoítos tienen una replicación más lenta que los taquizoítos y están contenidos en quistes tisulares de forma redonda u oval. Asimismo, los bradizoítos miden hasta 107  $\mu\text{m}$  y tienen una pared de 4  $\mu\text{m}$ , habiéndose observado en el tejido nervioso y muscular (Dubey *et al.*, 2002). Por último, los ooquistes eliminados en las heces del hospedador definitivo son esféricos o subesféricos, miden 10 a 11  $\mu\text{m}$ , no tienen color y contienen dos esporocistos con cuatro esporozoítos cada uno (Mcallister *et al.*, 1998a).

Los hospedadores definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos de hospedadores intermediarios conteniendo quistes. La pared del quiste es degradada por los jugos gástricos liberando las formas parasitarias que iniciarán los estados entero-epiteliales (Dubey y Lindsay, 1996). Luego de realizar una fase de reproducción asexual y sexual en el intestino, los ooquistes son eliminados en las heces del hospedador definitivo (Dubey *et al.*, 2002) sin esporular. Al cabo de unas horas en el ambiente, esporulan y se hacen resistentes e infectivos. Poco se sabe sobre la supervivencia de los ooquistes en el medio ambiente y si otros cánidos también actúan como huéspedes definitivos (Obando y Maldonado, 2011). Los perros que consumen tejidos infectados pueden eliminar ooquistes manteniendo su condición de seronegativos (Dubey *et al.*, 2002). Por otro lado, un canino que se comporte como hospedador intermediario puede ser seropositivo y

transmitir la infección verticalmente a sus cachorros o presentar miositis, parálisis y dermatitis (Dubey, 1999b).

Los esporozoítos liberados en el aparato gastrointestinal del hospedador intermediario son capaces de alcanzar las vías sanguínea y linfática accediendo a todos los tejidos, no obstante solo se ha informado la presencia de quistes en el sistema nervioso central (SNC) y el tejido muscular (Dubey, 1999b). Aunque el bovino puede infectarse por la vía oral siendo el ciclo de vida heteroxeno (McAllister *et al.*, 1996; Thurmond *et al.*, 1997), la principal vía de transmisión es la congénita (Paré *et al.*, 1996; Hietala y Thurmond, 1999). El hecho de haberse determinado que los bovinos pueden tener seroconversión por una exposición postnatal (Thurmond *et al.*, 1997; Mcallister *et al.*, 1998a) avala la importancia de la transmisión horizontal (Thurmond, 1997). Además, la transmisión vertical no será un mecanismo suficiente para mantener la infección en una población bovina debido a que su eficiencia es inferior al 100% (French *et al.*, 1999).

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. Luego de invadir el feto, puede ocasionarse el aborto o la transmisión vertical con nacimiento de un ternero clínicamente normal pero congénitamente infectado (Dubey y Lindsay, 1996).

## **2.4 Transmisión de *N. caninum* en ganado bovino**

### **2.4.1 Transmisión transplacentaria (vertical) o congénita**

*N. caninum* es uno de los parásitos que con mayor eficiencia realiza la transmisión transplacentaria entre todos los microorganismos conocidos en el ganado. En determinados rodeos, la totalidad de los terneros son nacidos infectados pero asintomáticos. Algunas evidencias de esta eficiencia proviene de varios estudios realizados: familia, comparación del estado de anticuerpos en vacas y sus progenitores, estado de infección de la progenie, y experimental (Dubey *et al.*, 2007).

Las vacas quedan infectadas de por vida y transmiten la infección de *N. caninum* a sus descendientes en varias preñeces consecutivas (Fioretti *et al.*, 2003) o intermitentemente (Boulton *et al.*, 1995; Wouda *et al.*, 1998). La tasa de transmisión transplacentaria endógena decrece en preñeces subsecuentes, estando relacionado al estado inmunitario del animal (Romero *et al.*, 2003).

Se han reportado rangos de transmisión vertical desde 41% (Pan *et al.*, 2004) al 95% (Davison *et al.*, 1999).

En trabajos realizados se han podido observar grandes fluctuaciones de los niveles de anticuerpos, detectados por pruebas serológicas, en distintas etapas de gestación o estaciones del año (Waldner *et al.*, 2001a; Rodriguez, 2015), siendo los títulos mayores durante el segundo y tercer tercio de gestación en relación al momento del servicio y el primer tercio de gestación (Rodriguez, 2015).

#### **2.4.2 Transmisión horizontal (post-natal)**

La ingestión de ooquistes esporulados de *N. caninum* del ambiente se ha demostrado de forma experimental en ganado bovino (Trees *et al.*, 2002; Gondim *et al.*, 2004b). No se ha observado hasta el momento la transmisión de *N. caninum* entre vacas y no hay evidencia de que la *N. caninum* viva en las excreciones y secreciones de vacas adultas asintomáticas (Dubey *et al.*, 2007).

Aún, no hay evidencias concluyentes que haya transmisión lactogénica de *N. caninum* en la naturaleza (Dijkstra *et al.*, 2001b). No obstante, se confirmó la infección, de solo una cría en un total de 51 ratones evaluados, mediante la vía transmamaria por lo que no se pudo descartar este tipo de transmisión en ratones (Cole *et al.*, 1995). A su vez, se demostró de forma experimental la transmisión, en dos terneros alimentados con una mezcla de calostro y organismos de *N. caninum*, presentando seroconversión en los títulos serológicos y PCR positivo a partir de SNC. Aunque no se observaron lesiones compatibles ni la presencia del agente por IHQ (Uggla *et al.*, 1998).

La transmisión venérea aunque experimentalmente probable (Serrano *et al.*, 2006) no se ha demostrado en la naturaleza habiéndose desestimado su

importancia epidemiológica (Serrano-Martínez *et al.*, 2007). Aunque el ADN de *N. caninum* ha sido encontrado en el semen de toros expuestos naturalmente (Caetano-da-Silva *et al.*, 2004; Ferre *et al.*, 2005), los resultados sugieren que es inviable dicha transmisión por sus bajas concentraciones presentes, y si ocurriese, son pocos e infrecuentes. Además, vacas inseminadas con semen contaminado con taquizoítos de *N. caninum* no han observado su transmisión a la hembra (Canada *et al.*, 2006).

En un estudio realizado por Bartels *et al.*, (2007), se ha observado una transmisión vertical de 44,9% y una transmisión horizontal de 4,5% aunque la transmisión horizontal fue del 5,5 y 2,3% cuando los establecimientos se estratificaron según la presencia de perros.

## **2.5 Distribución geográfica y situación en la Argentina**

La enfermedad ha sido diagnosticada en razas de bovinos para leche y para carne en Europa, África, Oceanía y América (Dubey, 1999a).

La distribución de la enfermedad ha sido parcialmente caracterizada, estableciéndose que 52,9% de 17 rodeos para carne y 92,3% de 52 rodeos para leche tuvieron al menos 1 animal seropositivo (Moore *et al.*, 2002). Se postuló que la diferente situación epidemiológica podía tener su explicación en los sistemas de producción existentes. Aunque puede existir asociación entre la prevalencia de *N. caninum* y el tipo de explotación considerado; el potencial de dicho agente como etiología de importantes pérdidas reproductivas ha sido estimado en rodeos bovinos para carne como así también para leche, siendo más significativas en esta última producción (Moore *et al.*, 2003). Investigando las causas de aborto en Argentina se involucró a *N. caninum* en 7,3% de 354 casos (Campero *et al.*, 2003a).

Los zorros (*Vulpes vulpes*) puede que resulten hospedadores definitivos y si bien no está comprobado (Wapenaar *et al.*, 2006), se los ha identificado como un factor de riesgo para *N. caninum* asociándolos a la infección/abortos en el bovino (Schaes *et al.*, 2002a). En Argentina, particularmente en la pampa húmeda

tampoco se ha podido confirmar que nuestro zorro (*Lycalopex gymnocercus*) se comporte como un huésped definitivo.

La población total de bovinos para carne en riesgo de abortar, en la zona de la Pampa Húmeda, son de 9.726.684 cabezas. En ganado para carne, los riesgos de abortos han sido estimados en un 4,5% de todas las preñeces, donde un 6,7% son específicamente debido a *N. caninum*, con una pérdida económica de US\$ 440 (rango 150-730) por aborto. La cantidad de las pérdidas en la industria de carne fueron de US\$ 12.903.440,00 (rango 1.130.700 – 42.070.630) en la misma área (Moore *et al.*, 2003a).

En dos eventos producidos en la provincia de Buenos Aires, Argentina, se registraron 11 abortos en 57 vaquillonas durante 45 días. En el mismo, una vaquillona que abortó tuvo 5 veces más probabilidad de ser seropositiva a *N. caninum* que una vaquillona seronegativa preñada. En el otro evento, se registraron 14 abortos en 140 vacas, y no se observó asociación significativa entre las abortadas y la seropositividad frente a *N. caninum* (Calandra *et al.*, 2014).

En un trabajo realizado en Villarino, región sur, se pudo observar una seroprevalencia de 5.6% mediante la técnica de IFI en diluciones 1:200, con el 63% de los rodeos con al menos un bovino positivo a la prueba (Späth *et al.*, 2013). A diferencia de otro relevamiento realizado por el Laboratorio Azul en el año 2014 donde se analizaron 1045 muestras de suero de 56 establecimientos, en el cual el 77 % de los rodeos se detectó por lo menos un bovino positivo, a la prueba de ELISA indirecto sobre muestras de suero individual diluidas 1:100, y la seroprevalencia general fue del 7,5 % (datos no publicados).

En la provincia de Buenos Aires, las pérdidas reproductivas esperadas durante la preñez en rodeos de carne con sanidad y nutrición animal controlada fueron estimadas entre 3,1 y 5,4%. Sin embargo, estos parámetros reproductivos pueden verse alterados por diferentes enfermedades infecciosas incluyendo la neosporosis (Moore *et al.*, 2003a). Con una prevalencia general del 20,3% en 857 de las vaquillonas, 69 sufrieron abortos teniendo más probabilidad de ser seropositivas que aquellas que parieron terneros normales (Moore *et al.*, 2003a).

Aunque en ese trabajo se sugirió que la alta carga animal manejada pudo estar asociada a la presentación de los abortos, en un estudio realizado recientemente por Rodríguez (2015), no hubo diferencias significativas en sistemas con cargas de 2, 1,1 y 0,75 EV/ha. Por otro lado, los sistemas productivos para carne y leche presentan diferencias en la proporción de animales seropositivos, como se pudo observar en un trabajo realizado por Moore *et al.*, (2009) obteniendo una menor proporción de animales seropositivos a *N. caninum* en vaquillonas de reposición para carne en relación a la producción para leche. , siendo la reposición para leche un 76% más probable en ser seropositivas con respecto a la reposición para carne (OR: 1.76, P<0.01).

**Tabla 1:** Seroprevalencias de *N. caninum*

Seroprevalencia	Zona	Prueba de Laboratorio	Autores
20%	INTA Balcarce, Argentina	IFI ( $\geq 200$ )	(Moore <i>et al.</i> , 2003a)
7,8%, 6%, 12,7%	INTA Cuenca del Salado, Argentina	IFI ( $\geq 200$ )	(Rodríguez, 2015)
5,6%	Villarino Sur, Argentina	IFI ( $\geq 200$ )	(Späth <i>et al.</i> , 2013)
4,9%	Provincia de Corrientes, Argentina	IFI ( $\geq 200$ )	(Moore <i>et al.</i> , 2003b)
4,7%	La Pampa Húmeda, Argentina	IFI ( $\geq 200$ )	(Moore <i>et al.</i> , 2002)
9%, 13,5%	Norte de Alberta, Canadá	ELISA	(Waldner <i>et al.</i> , 2001b).
5,2%	Norte de Alberta, Canadá	ELISA	(Waldner, 2005)

## 2.6 Factores de Riesgos

El conocimiento de los factores de riesgos del ganado bovino para adquirir la infección de *N. caninum* y su asociación con los abortos es de importancia para el desarrollo y la implementación de medidas de control para la neosporosis bovina (Dubey *et al.*, 2007).

Hay diferencias considerables en las prevalencias serológicas de *N. caninum* entre los distintos países, dentro de los países, entre regiones, y entre



distintos sistemas de manejos(Quintanilla-Gozaló *et al.*, 1999; De Meerschman *et al.*, 2000; Moore *et al.*, 2002).

### 2.6.1 Aborto epidémico y endémico asociado a *N. caninum*

Los brotes de abortos han estado definidos como epidémicos, si el brote de aborto es temporario y se presenta en un 15% de los vientres en un lapso de ocho semanas, 12,5% de los vientres abortados dentro de seis semanas, y 10% de los vientres abortados dentro de las cuatro semanas (Moen *et al.*, 1998; Wouda *et al.*, 1999; Schares *et al.*, 2002b). En contraste a esto, un problema de aborto es considerado como endémico si esto persiste en el rebaño por varios meses o años. Es probable que esos dos patrones de abortos son relacionados a dos rutas por el cual la infección de *N. caninum* pueden causar aborto (Trees y Williams, 2005).

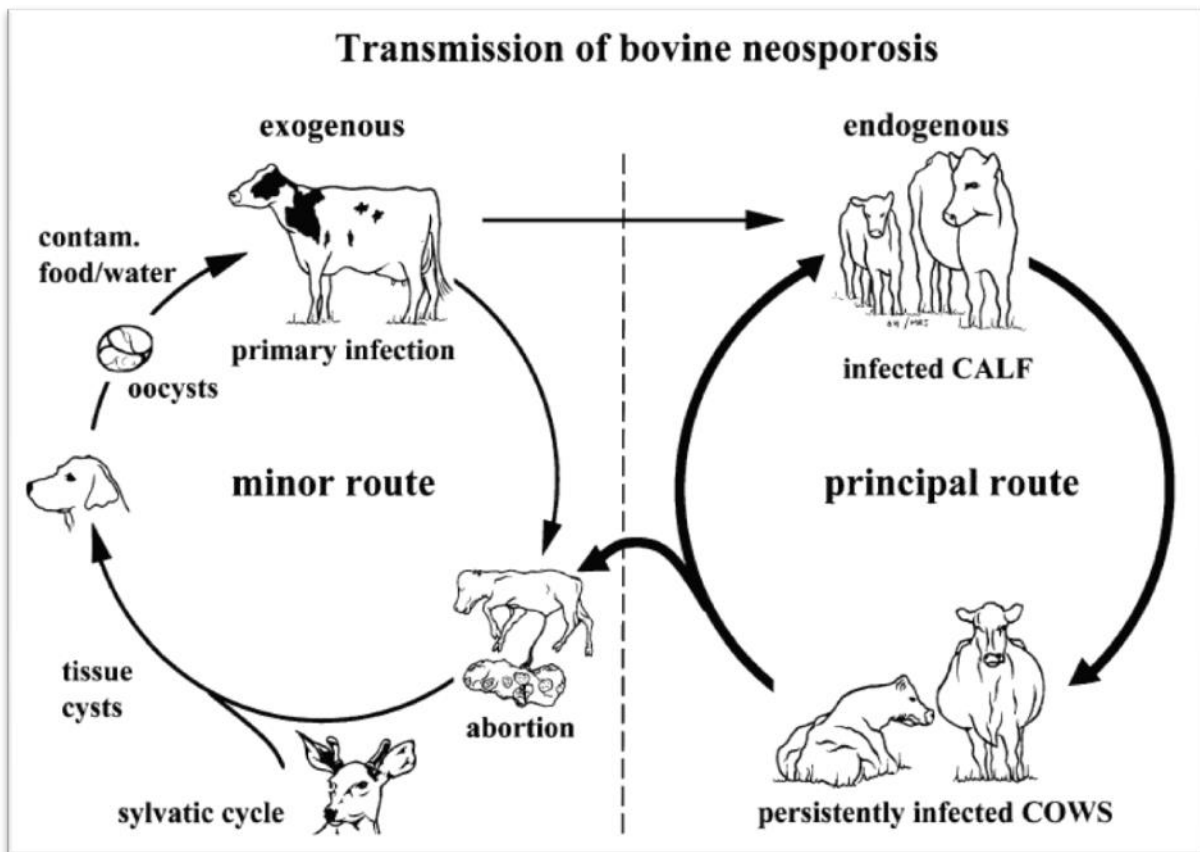


Figura 1: Reproducido por Dubey *et al.*, (2006).

Los abortos epidémicos son debido a una infección primaria de una madre con *N. caninum*, probablemente debido a ingestión de alimento o agua contaminada con ooquistes (McAllister *et al.*, 2000; McAllister *et al.*, 2005). Debido a que las madres pueden ser expuestas a la contaminación con ooquistes, se genera una infección fetal transplacentaria exógena resultando con un aborto en un corto periodo de tiempo. Encontrándose una respuesta de inmunoglobulina G (IgG) con baja avidéz, sugiriendo una infección reciente (Björkman *et al.*, 2003; Björkman *et al.*, 2006) en el rodeo. Finalizando de esta forma con el aborto epidémico (Jenkins *et al.*, 2000; McAllister *et al.*, 2000; Sager *et al.*, 2005). La recrudescencia de una infección latente en una madre durante su gestación (resultando en una infección fetal transplacentaria endógena) podría causar el aborto (Paré *et al.*, 1997; Stenlund *et al.*, 1999; Weston *et al.*, 2005).

### **2.6.2 Estudios de factores de riesgo**

Varios estudios han examinado los riesgos de infección de *N. caninum* a nivel rodeo o a nivel animal con el estado serológico del rodeo o el ganado individual (madres, terneros) como variable dependiente. Los resultados de estos estudios han estado influenciados por la sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas utilizadas. Las fluctuaciones de los niveles de anticuerpo en los animales durante la gestación, la etapa de gestación, o el número de gestaciones podría ser una causa de la variación (Dannatt 1997; Fioretti *et al.*, 2003).

### **2.6.3 Riesgos de infección**

Edad del ganado: El riesgo de estar seropositivo puede incrementar con la edad o número de gestaciones en ganado para carne y leche (Jensen *et al.*, 1999; Rinaldi *et al.*, 2005), sugiriendo que la transmisión horizontal de *N. caninum* es de particular importancia en algunos rodeos. No obstante, se ha reportado un efecto edad negativo en un rodeo de ganado para leche en Canadá. En el mismo estudio fue observado que el riesgo de eliminar vacas seropositivas con respecto a las seronegativas era mayor (Waldner *et al.*, 1998).

**Huésped definitivo (perros y coyotes):** En la mayoría de los estudios epidemiológicos de ganado de leche, la presencia de perros en los campos,

actualmente en los últimos 10 años (Paré *et al.*, 1998; von Blumröder *et al.*, 2006), o el número de perros en dichos campos (Paré *et al.*, 1998; Schares *et al.*, 2004; von Blumröder *et al.*, 2006) fue un factor de riesgo de seropositividad en el ganado.

A su vez, las defecaciones de los perros sobre el alimento fue reportado con mayor frecuencia por ganaderos con evidencia de infección bovina postnatal en relación de aquellos rodeos que no presentaban tal evidencia (Dijkstra *et al.*, 2002c).

En lugares donde los ganaderos presentaban mayor evidencia de infección posnatal se pudo observar que los perros con mayor frecuencia se alimentaban a partir de placentas bovinas, restos uterinos, y calostro o leche con respecto a ganaderos con rebaños controlados (Dijkstra *et al.*, 2002b). Esto sugiere que dichos materiales pueden suponer un riesgo de infección para los perros. En un estudio experimental, la placenta, pero no el calostro, se ha confirmado como una fuente de infección para los perros (Dijkstra *et al.*, 2001a). De esta forma, se ha observado ooquistes en perros que han ingerido una variedad de tejidos (neuronal, muscular, visceral, y membranas fetales) (Conrad *et al.*, 1993).

Hay algunas evidencias en el cual, los perros recientemente introducidos supone un riesgo de transmisión de *N. caninum* más alto en relación a perros residentes ya en el lugar (Dijkstra *et al.*, 2002b). Esto se podría explicar que en perros que no poseen ooquistes, o en poca cantidad, presentarían una infección con una replicación más rápida (Dijkstra *et al.*, 2001a; Schares *et al.*, 2001). Adicionalmente, se ha observado mayor número de ooquistes en perros jóvenes, con 10 a 14 semanas de edad, que en perros más viejos, con 2 a 3 años de edad (Gondim *et al.*, 2005), suponiendo que el sistema inmunitario del animal podría estar influenciado en ambos casos.

En el ganado para carne, no presentan evidencias, todavía, en el que el perro de campo sea considerado como un riesgo de infección (von Blumröder *et al.*, 2006). Una posible explicación a esto es sobre la menor intensidad del manejo

en los campos para carne, en general no hay un contacto cercano entre las excreciones de perros de campo y el ganado para carne (Barling *et al.*, 2000; Barling *et al.*, 2001). Por el contrario, han observado que la presencia de perros en los campos de cría se podría considerar un factor protectorio (Barling *et al.*, 2001). Este último estudio fue realizado en Texas, en la misma región donde fue demostrado que la abundancia de perros salvajes podría explicar la seroprevalencia de terneros para carne. Posiblemente la presencia de perros fue inversamente relacionado a la presencia de caninos salvajes en dichos establecimientos (Hobson *et al.*, 2005). Siendo una razón más para considerar que el ciclo salvaje (ciervo – canino) puede ser importante para mantener el ciclo doméstico (ganado – perro) del parásito (Gondim *et al.*, 2004a).

**Otros carnívoros:** En estudios experimentales, los gatos han fallado como huésped definitivo para *N. caninum* (McAllister *et al.*, 1998b). No obstante, hay un estudio epidemiológico en ganado lechero que observó el efecto protectorio del factor “presencia de gatos”, siendo los gatos depredadores de huéspedes intermediarios (lauchas) de *N. caninum* el cual podría reducir la frecuencia por el cual el huésped definitivo de *N. caninum* tiene acceso a los tejidos de huésped intermediario infectado (Dubey *et al.*, 2007).

**Otros huéspedes intermediarios, excluyendo al ganado:** La presencia de ADN de *N. caninum* en ratones y lauchas naturalmente infectados sugiere que estos animales pueden ser una importante fuente de infección para los hospedadores carnívoros de *N. caninum* (Dubey *et al.*, 2007).

**Pastoreo, Forraje y agua de bebida:** Las pasturas, forraje y agua de bebida contaminadas con ooquistes son considerados como fuentes potenciales para infección postnatal del ganado. Además, es importante conocer los alimentos en los cuales plantee un incrementado riesgo de infección (Dubey *et al.*, 2007).

**Carga animal (densidad) y tamaño del establecimiento:** En dos estudios de terneros para carne en Texas, una elevada densidad fue identificada como un potencial factor de riesgo de positividad (Barling *et al.*, 2000; Barling *et al.*, 2001). Un efecto similar fue observado por la densidad de vacas para carne

durante el invierno en el noroeste de Estados Unidos (Idaho, Montana, Oregon, Washington, y Wyoming) (Sanderson *et al.*, 2000). Este efecto fue explicado por la observación de establecimientos con una alta densidad de ganado, siendo más probable la utilización de prácticas de suplementación (Barling *et al.*, 2000; Barling *et al.*, 2001). Estos establecimientos, los cuales utilizan suplementación pueden atraer roedores que son potenciales presas de hospedadores definitivos de *N. caninum*. Podrían generarse posibles lugares con un elevado riesgo de estar contaminados con las heces de huéspedes definitivos, así incrementando el riesgo de infección postnatal (Barling *et al.*, 2000).

**Raza:** Hay indicios de varios países que la seroprevalencia de *N. caninum* difiere según la raza del ganado (Bartels *et al.*, 2006b). Sin embargo, esos resultados deben ser interpretados con precaución, ya que las diferencias observadas podrían estar relacionadas con los diferentes sistemas de producción utilizados para las diferentes razas y no por las susceptibilidades diferentes entre las razas a la enfermedad (Dubey *et al.*, 2007).

#### **2.6.4 Riesgo de aborto**

Seropositividad a nivel individual: La probabilidad de las vacas seropositivas es mayor en relación a las seronegativas, como se demostró en un gran número de estudios (Paré *et al.*, 1997; Schares *et al.*, 1998; Waldner *et al.*, 2001a; Moore *et al.*, 2003a; Waldner, 2005).

Los riesgos de aborto aumentan en la medida que los niveles de anticuerpos a *N. caninum* aumentan (McAllister *et al.*, 1996; Schares *et al.*, 1999; Wouda *et al.*, 1999; Schares *et al.*, 2000)

Con respecto a la infección postnatal, un elevado nivel de anticuerpos en el animal podría ser indicativo de una dosis elevada de infección y/o una multiplicación eficiente del parásito en el hospedador infectado. En el caso de la infección latente, un elevado nivel de anticuerpo o título también podría reflejar la intensidad de la recrudescencia de una infección (Dubey *et al.*, 2007). siendo posible usar información sobre los niveles de anticuerpos específicos a *N. caninum* o títulos de anticuerpos (y no solo seropositividad) como una herramienta

predictiva para la identificación de animales con un riesgo elevado de aborto en rebaños con una elevada seroprevalencia a *N. caninum* (Quintanilla-Gozalo *et al.*, 2000).

## 2.7 Patogenia

Los bradizoítos alojados en los quistes tisulares del SNC en una hembra bovina gestante pueden reactivarse bajo ciertas influencias hormonales e inmunológicas originando parasitemia (Buxton *et al.*, 2002; Innes *et al.*, 2002; Quinn *et al.*, 2002).

En las células infectadas del feto, se inician procesos de multiplicación mediante endodiogenia que ocasionan daño celular con necrosis e inflamación, o se forman quistes tisulares capaces de persistir durante toda la vida del animal (Dubey y Lindsay, 1996). Mecanismos hormonales e inmunes maternos ocurridos durante la gestación, sumado al desarrollo del sistema inmune fetal actuarían determinando si la infección desencadena la muerte del feto, el nacimiento de un ternero congénitamente infectado, o el nacimiento de un ternero libre de infección (Williams *et al.*, 2000). Aunque se ha estimado que transcurren 3-4 semanas entre la infección fetal y el aborto (Barr *et al.*, 1991; Dubey *et al.*, 1992), la gestación puede concluir con el nacimiento de un ternero infectado, que en caso de ser hembra, transmitirá la enfermedad a su descendencia, teniendo también alto riesgo de abortar (Thurmond *et al.*, 1997; Wouda *et al.*, 1998).

La reactivación de una infección latente estaría asociada a un eficiente mecanismo de transmisión vertical más que a un proceso que desencadene el aborto, al menos en rodeos endémicamente infectados. Por el contrario, la manifestación epizootica de la enfermedad está asociada a la presentación de tormentas de abortos en animales infectados horizontalmente. En animales experimental y naturalmente infectados, la avidéz de la IgG tiende a incrementarse con el curso de la infección, permitiendo la identificación de animales crónica o recientemente infectados (Baszler *et al.*, 1999).

Los mecanismos dependientes de la IMC (inmunidad mediada por células) son relevantes para controlar un parásito intracelular obligado como *N.*

*caninum*, especialmente por su habilidad para evadir la respuesta inmune humoral (Hemphill, 1999). La IMC que involucra a los linfocitos T cooperador con la producción de IFN-gamma, IL-12 e IL-2 está asociada a resistencia al protozoo (Innes *et al.*, 1995).

Existen dos posturas controversiales que explican la fisiopatología de aborto causado por protozoos intracelulares. Primero, la preñez favorecida por una respuesta Th2 compromete la resistencia al parásito ocasionándose parasitemia e infección transplacentaria. Segundo, una eficiente respuesta Th1 hacia el parásito podría comprometer la preñez (Quinn *et al.*, 2002).

Durante un brote de abortos ocasionado por *N. caninum*, las vacas crónicamente infectadas resultaron menos propensas a sufrir pérdidas reproductivas que vacas infectadas recientemente, siendo baja la avidéz de la IgG en este último grupo (McAllister *et al.*, 2000). En contraste, 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 (Sager *et al.*, 2003).

Investigando la dinámica de anticuerpos en vacas infectadas con *N. caninum* a lo largo de la gestación, describieron que aquellos animales con altos títulos séricos hacia el final del periodo de gravidez parían terneros clínicamente normales pero congénitamente infectados. Sin embargo, cuando los títulos séricos se incrementaban durante la mitad de la gestación existían altas probabilidades que se produzca el aborto (Paré *et al.*, 1997; Guy *et al.*, 2001).

Luego que una hembra bovina ingiere ooquistes o sufre una reactivación, los factores que influyen la infección fetal serían el modo de infección de la madre, el momento de la gestación, la respuesta inmune materna y la respuesta inmune del feto (Innes *et al.*, 2002).

## **2.8 Manifestaciones clínicas**

Los abortos son observados entre el 3° y 9° mes de la gestación aunque con mayor frecuencia en el tercio medio, 5°-6° mes de gestación (Anderson *et al.*, 1991). El feto muerto en el útero puede ser reabsorbido, momificado, o expulsado

con avanzado grado de autólisis. Más comúnmente ocurre el nacimiento de terneros clínicamente normales pero crónicamente infectados. Aunque no es patognomónico, la momificación es un hallazgo frecuente, habiéndose descrito en casos naturales (Wouda *et al.*, 1998), experimentales (Barr *et al.*, 1994).

Los terneros infectados en el útero pueden tener signos neurológicos y bajo peso al nacimiento (Barr *et al.*, 1993; Dubey y Lindsay, 1996). El examen clínico puede revelar ataxia, disminución del reflejo patelar o falta de sensibilidad propioceptiva (Dubey, 1999a) sin embargo, son escasos los trabajos que describen esta forma de la enfermedad en neonatos ya que en baja proporción los terneros infectados congénitamente presentan signos clínicos, como así tampoco encontrar lesiones histopatológicas aun en terneros con esos signos (Dubey y Schares, 2006).

Eventualmente pueden presentarse anormalidades congénitas como exoftalmia o asimetría ocular (Campero *et al.*, 1998; Björkman *et al.*, 2003).

## **2.9 Hallazgos de necropsia – Macroscópicos**

En los fetos infectados pueden observarse hallazgos macroscópicos como autólisis, deshidratación y otros cambios, menos frecuentes, como hipertrofia cardíaca, focos blancos y pálidos en músculo cardíaco y esquelético, hidrocefalia, hipoplasia del cerebelo y médula espinal, y focos de necrosis pálidos u oscuros de 1mm de diámetro en el cerebro. También están descritas áreas focales descoloridas en cotiledones placentarios (Dubey *et al.*, 2006).

## **2.10 Hallazgos histopatológicos**

Cuando *N. caninum* invade las células en el útero del bovino, donde se multiplica y causa destrucción en la interface materno-fetal, así como iniciando la respuesta inflamatoria. Desde aquí, el daño se extiende hacia el alantocorion (membranas de la placenta del feto), entre los cotiledones. Observándose, las lesiones, tanto en enfermedades inducidas experimentalmente (Otter, 1995) como naturalmente (Barr *et al.*, 1994). De esta forma podríamos considerar que, las lesiones en placenta típicamente están confinadas en los cotiledones y consisten en áreas focales de necrosis e inflamación no supurativa.



El parásito entra posteriormente vía sanguínea e invade los tejidos fetales, con predilección al SNC. En los fetos de menor tiempo de gestación, presenta una multiplicación descontrolada la cual puede ser letal, con destrucción del tejido afectado y con poca inflamación (Ogino, 1992). Por el contrario, en fetos de mayor tiempo de gestación, en el cual la respuesta al parásito es mejor, la multiplicación del agente está más restringida, y la necrosis es confinada a pequeños focos teniendo en su alrededor respuesta inflamatoria relativamente intensa envolviendo a la microglia, astrocitos, de células de monocitos y linfoides (Barr *et al.*, 1994; Otter 1995). La meningitis podría también estar presente. La destrucción de células fetales y la inflamación puede presentarse también en el corazón, musculo esquelético, pulmón e hígado (Dubey *et al.*, 2006).

Se puede observar la presencia de lesiones como meningoencefalitis necrotizante multifocal (MENM), miocarditis, miositis, nefritis, hepatitis, neumonía y adrenalitis focal no supurativas caracterizadas por la presencia de células mononucleares (Anderson *et al.*, 2000).

En cuanto al ganado adulto, no se ha identificado al protozooario en cortes histopatológicos de tejidos pertenecientes a bovinos mayores de dos meses de edad (Dubey y Schares, 2006).

## **2.11 Diagnóstico**

### **2.11.1 Pruebas serológicas e interpretación**

La infección por *N. caninum* puede demostrarse mediante la utilización de pruebas serológicas, por técnicas histopatológicas (anteriormente descriptas), moleculares y de aislamiento (Dubey, 1999b; Dubey, 2003).

Las pruebas serológicas disponibles son la inmunofluorescencia indirecta (IFI), ELISA, aglutinación directa, inmunohistoquímica (IHQ) y electroforesis combinada con inmunodetección (*Western Immunoblot*) (Dubey, 1999a; Dubey, 1999b).

Otra prueba serológica presente es APIA o inmunoensayo en línea. Fue un desarrollo nacional, en el cual se realiza la detección de anticuerpos contra antígenos de *N. caninum*. Un estudio donde se analizaron 212 muestras con 16

muestras de vaquillonas infectadas experimentalmente, reveló una sensibilidad del 85% (95% IC: 73-92) y una especificidad del 96% (95% IC: 91-98), teniendo a su vez un valor kappa de 0,83 (95% IC: 0,74-0,91) indicado entre las prueba APIA y ELISA (Wilkowsky *et al.*, 2011).

Una prueba muy utilizada en nuestra región es la IFI, la cual preserva la morfología del parásito y detecta antígenos de membrana no existiendo reacción cruzada con *Sarcocystis spp.* (Dubey *et al.*, 1996). Para diluciones séricas de 1:25 a 1:640, la sensibilidad y especificidad de la prueba varía de 82,4 a 97% y 85,7 a 90% respectivamente (Atkinson *et al.*, 2000). Sin embargo, se ha sugerido utilizar una dilución de 1:200 para maximizar la sensibilidad (Riechel y Drake, 1996). Debe considerarse que, IFI como otras técnicas serológicas pueden generar resultados falsos positivos si el suero fetal bovino contiene anticuerpos contra *N. caninum* (calostro) (Dubey y Schares, 2006). Por lo cual, se debe realizar pre-calostro o 6 meses posteriores al calostrado. De esta forma, desaparecerían los anticuerpos calostrales disminuyendo los resultados falsos positivos en la prueba serológica.

### **2.11.2 Relación entre *N. caninum* y aborto**

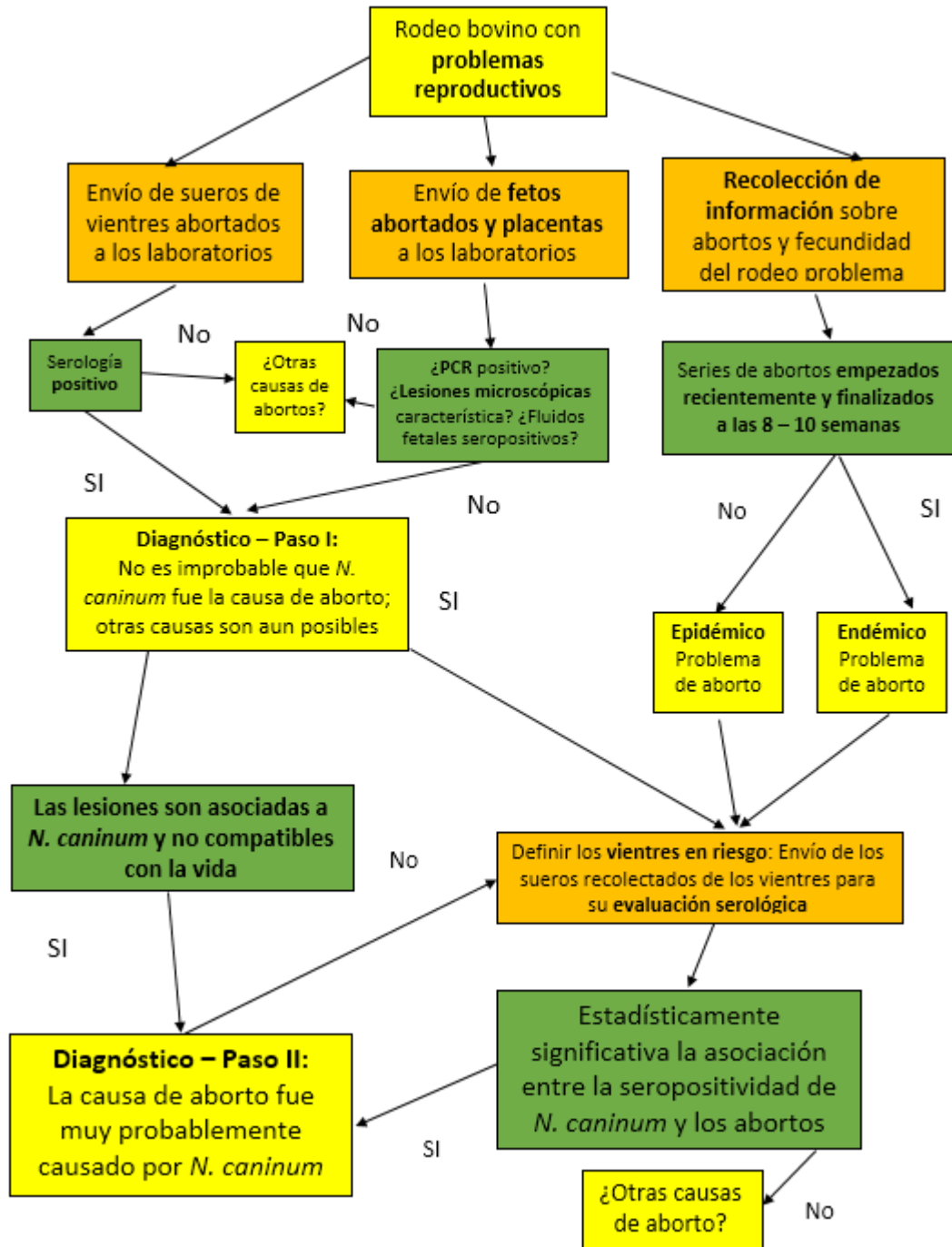
Las lesiones asociadas con *N. caninum* en cerebro y corazón de fetos abortados pueden ser muy severos, pudiendo matar al feto. No obstante, la seroprevalencia en los rodeos podría encontrarse muy alta, cercanos al 100% en determinados rodeos lecheros con una transmisión vertical muy elevada. Por esta razón, se hace difícil establecer a *N. caninum* como la causa abortigénica, ya que una infección con el parásito podría ser demostrado tanto en un feto abortado por *N. caninum*, como en el que no lo ha sido (Dubey y Schares, 2006).

Para establecer la relación causa-efecto es importante realizar un diagnóstico utilizando serología, inmunohistoquímica, y otros métodos para demostrar la infección en las madres y los fetos abortados. Siendo de esta forma, de mucha importancia demostrar la presencia de taquizoítos de *N. caninum* en las lesiones y excluir las otras causas de aborto (Barr *et al.*, 1991).

**Según la revisión realizada por (Dubey y Schares, 2006) podríamos clasificar al diagnóstico en distintas etapas o situaciones:**

Si las lesiones en SNC y corazón son muy severas y los taquizoítos de *N. caninum* son demostrados en lesiones, podría ser considerado a *N. caninum* como muy probablemente el causante abortigénico. Aunque, se debe recordar que no siempre un feto abortado por este agente tendrá las lesiones características.

En los casos donde los fetos no han sido sometidos a la examinación o la examinación fetal no reveló o solo se observaron lesiones histopatológicas leves pero hay evidencia de infección por serología materna o fetal, o por PCR positivo, es de suma importancia buscar el problema de aborto en el grupo de animales con riesgo de aborto. Por lo cual, es muy importante determinar si entre esas madres con riesgo de aborto la seroprevalencia a *N. caninum* en vacas que abortan es mayor que en las que no presentaron abortos. Si hay una asociación estadísticamente significativa entre una respuesta de anticuerpos positiva a *N. caninum* y los abortos se justificaría en concluir que es muy probable que *N. caninum* fue la causa de aborto. Por el contrario, cuando diversas muestras biológicas tales como suero materno, fluidos corporales del feto o tejidos del feto, resultan positivos a *N. caninum*, puede considerarse que ese aborto en particular fue causado por *N. caninum*, siempre y cuando se hayan excluido a los otras enfermedades abortigénicas. A demás, es posible distinguir si los abortos son epidémicos o endémicos (Moen *et al.*, 1998; Schares *et al.*, 2002b) como hemos explicado anteriormente.



**Figura 2:** Diagnóstico de *N. caninum*. Adaptado de Dubey y Schares (2006).

## **2.12 Medidas de control y prevención**

No existiría una estrategia general para controlar la neosporosis a nivel mundial, ya que hay diferencias regionales e inclusive aplicables a cada predio considerando la epidemiología de la enfermedad. Por lo cual, es prudente realizar un estudio de “situación” antes de comenzar un programa de control (Dubey *et al.*, 2007).

Los programas de control a nivel nacional, regional y zonal han sido desarrollados en diferentes países para controlar la neosporosis (Haddad *et al.*, 2005; Hall *et al.*, 2005; Ortega-Mora *et al.*, 2006). Estos controles deberían incorporar los cálculos de costo-beneficio comparando los gastos de las pruebas diagnósticas y medidas de control con respecto al beneficio de las pérdidas económicas disminuidas debido a la infección o aborto por *N. caninum* (Bartels *et al.*, 2006a; Reichel y Ellis, 2006; Häslar *et al.*, 2006).

### **2.12.1 Pérdidas económicas y análisis del costo-beneficio**

El mayor impacto económico es por las fallas reproductivas en el ganado. En tal sentido se involucrarían las pérdidas fetales en los costos directos, y en los costos indirectos incluyendo la ayuda profesional, pruebas diagnósticas, posibles pérdidas en la producción láctea, y el costo de la reposición si las vacas que sufrieron abortos son eliminadas. El diagnóstico del aborto asociado a la neosporosis es difícil y caro (Dubey y Schares, 2006; Ortega-Mora *et al.*, 2006).

En general, son menos conocidas las causas de abortos en el ganado para carne en relación al ganado para leche porque es dificultoso el monitoreo cuando los fetos pequeños son expulsados en el primer trimestre (Barling *et al.*, 2000). En el ganado para carne, los efectos en la eliminación (Kasari *et al.*, 1999; Larson *et al.*, 2004), peso al destete (Kasari *et al.*, 1999), ganancia diaria promedio durante el engorde en feedlot (Barling, McNeill, *et al.*, 2000), y el estado reproductivo (Waldner *et al.*, 1998) también ha sido estimado donde se observó menor ganancia diaria al destete y en feedlot, y riesgo en presentar fallas reproductivas (Odds Ratio (OR): 2,5).

En los Estados Unidos, se realizó un modelo de simulación durante 5 años evaluando diferentes estrategias de control concluyendo que en los rodeos infectados endémicamente por *N. caninum*, la eliminación de las hijas de vacas seropositivas fue la mejor práctica desde el punto de vista económico (Larson *et al.*, 2004).

## **2.12.2 Medidas para el control de las infecciones por *N. caninum***

### **1) Infección relacionada al aborto**

Establecer una causa-efecto entre aborto y *N. caninum* es complejo ya que la infección asintomática congénita por *N. caninum* es común y encontrar anticuerpos específicos y/o ADN del parásito no significa que *N. caninum* sea la causa de aborto (Dubey y Schares, 2006; Ortega-Mora *et al.*, 2006).

### **2) Investigación de las rutas de trasmisión**

La prevalencia provee información sobre el estado de infección en el rodeo. Sin embargo, es esencial establecer la relación entre la infección de *N. caninum* y los abortos (Thurmond y Hietala, 1995). Este porcentaje debería ser significativamente mayor en las vacas que abortan comparado con vacas que no abortan.

Además, para investigar el patrón de aborto producido por *N. caninum* en el rodeo, es necesario estimar el OR, el cual es un parámetro indicativo del riesgo de aborto por aborto endémico y epidémico (Dubey *et al.*, 2007). Un patrón de aborto endémico es a menudo pero no siempre relacionado con un OR menor a 10, mientras que un OR mayor debería ser indicativo de un patrón epidémico (Thurmond y Hietala, 1995; Schares *et al.*, 2002b).

En los análisis de muestras pareadas de madres y sus hijas, muestras precalostrales en terneros y la distribución de la edad de los animales seropositivos contribuyen para determinar si la vía de transmisión horizontal o vertical es la predominante en el rodeo. Si la transmisión es predominantemente vertical, las madres y sus hijas son seropositivas, habiendo una distribución uniforme de los animales seropositivos a lo largo los grupos de edades. Por el contrario, en la trasmisión horizontal, los animales seropositivos están agrupados

por la edad y hay falta en la asociación entre el estado serológico de las madres y su descendencia (Dijkstra *et al.*, 2001b). Además, los patrones de aborto y valores de avidéz en animales abortados son esenciales como información (Jenkins *et al.*, 2000; McAllister *et al.*, 2000). Para determinar los valores de avidéz de anticuerpos, las muestras obtenidas inmediatamente después del aborto de un número representativo (8-10 animales) de vacas seropositivas abortadas deberían ser usadas. En los rodeos con un patrón endémico de aborto y anticuerpos con elevada avidéz en hembras abortadas, la transmisión vertical debería ser considerada la principal ruta de transmisión. En contraparte, la presencia de anticuerpos con baja avidéz con un patrón de aborto epidémico debe ser indicativo de exposiciones recientes a *N. caninum* por la vía de transmisión horizontal (Dijkstra *et al.*, 2002c; Schares *et al.*, 2002b; Aguado-Martínez *et al.*, 2005).

### **3) Diagnóstico en la reposición**

La examinación de la descendencia de los vientres con muestras pareadas podría ayudar a definir falsos positivos y negativos en rodeos en el cual la transmisión vertical es la predominante. La detección de anticuerpos podría también ser usado para determinar si un ternero recién nacido es congénitamente infectado (Wouda *et al.*, 1998). En terneros pre-calostrales, un resultado positivo podría confirmar la transmisión transplacentaria (Dubey *et al.*, 2007).

### **4) Cuarentena y diagnóstico en la reposición en los animales de compra**

Debido a la importancia de la transmisión vertical en mantener la infección dentro del rodeo y la potencial infección del huésped definitivo por el consumo de tejidos bovinos infectados, una de las herramientas más relevantes es comprar la recría proveniente de rodeos libres de la enfermedad o rodeos con registro de excelente estado reproductivo y diagnóstico de todas las recrias potenciales. Las últimas medidas son particularmente importante en rodeos cerrados libres de *N. caninum* (Dubey *et al.*, 2007) .

### **5) Prevención de supuestos factores para la recrudescencia de la enfermedad en infecciones congénitamente infectados en el ganado.**

Tanto la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) como el virus de la diarrea viral bovina (DVB) pueden ejercer su efecto inmunosupresor en animales infectados con *N. caninum* favoreciendo la presentación de abortos por facilitar los mecanismos de reagudización (recrudescencia) de la enfermedad aumentando la transmisión vertical. La ausencia de DVB tendría un efecto favorable para la no presentación de casos de neosporosis (VanLeeuwen *et al.*, 2010), similar observación se ha encontrado en Suiza (Presi *et al.*, 2011).

## **6) Transferencia embrionaria**

La transferencia embrionaria (TE) es una técnica adecuada para evitar la transmisión vertical de la enfermedad (Baillargeon *et al.*, 2001; Campero *et al.*, 2003b).

Se conoce que estadios de pre-implantación del embrión bovino son protegidos por la zona pelúcida contra la invasión de *N. caninum* (Bielanski *et al.*, 2002). Por ende, sólo las hembras sin infección deberían ser utilizadas como receptoras (Dubey *et al.*, 2007).

## **7) Diagnóstico y eliminación**

La eliminación de vacas infectadas es una medida de control que es efectiva pero no siempre es económicamente rentable (Dubey *et al.*, 2007).

El diagnóstico a la entrada del establecimiento y la eliminación de hijas de madres seropositivas como potencial reposición prueba el mejor redito económico (Larson *et al.*, 2004). Esto debería ser considerado sólo en rodeos donde la transmisión endógena es predominantemente transplacentaria (Dubey *et al.*, 2007).

## **8) Quimioterapia**

Existe información acerca de la sensibilidad in vitro de *N. caninum* a ciertos antimicrobianos (Lindsay *et al.*, 1994). Dentro de las drogas más efectivas están la clindamicina, diclazuril, robenidina y pyrimethamina. Aunque la eficiencia de dichas drogas ha sido parcialmente estudiada en bovinos en la actualidad no hay tratamiento que los libere de la enfermedad (Dubey, 2003).



## **9) Vacunación**

Por el momento no existen vacunas comerciales disponibles para prevenir la infección o el aborto por *N. caninum*. La aplicación de una vacuna comercial inactivada a base de taquizoítos lisados, Bovilis® Neoguard, fue sacada del mercado por su baja eficacia (25%) (Weston *et al.*, 2012). A su vez, la vacuna genera aumentos de la inmunoglobulina anti-*N.caninum*, los cuales no pueden ser diferenciados de aquellos producidos en infecciones naturales (Thurmond y Hietala, 1995) siendo un problema para aquellos establecimientos que han implementado la eliminación de animales seropositivos como medida de control.

## **10) medidas higiénicas para interrumpir el ciclo de la enfermedad. Prevención de la trasmisión por los perros y de otros potenciales huéspedes definitivos**

La falta de asociación entre edad y seropositividad es indicativo de una infección con transmisión de tipo transplacentaria (Dubey *et al.*, 2007). No obstante, es necesario controlar o prevenir la transmisión horizontal. Por ello la mejor forma es educar a los dueños de las mascotas para evitar dicha transmisión y no su eliminación de los establecimientos.

## **11) Control de los roedores**

Ya que se lo considera como posible reservorio del protozoario (Cole *et al.*, 1995).

### 3 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Antecedentes sanitarios y reproductivos

Cumpliendo con la legislación sanitaria vigente la cabaña está certificada como libre de Brucelosis y Tuberculosis. Por lo cual, las medidas de manejo sanitario para estas y otras enfermedades serán descriptas a continuación.

En los **vientres** se realiza la extracción de sangre anualmente, al momento del tacto, para verificar el estado libre de brucelosis mediante la técnica de BPA ("*buffered plate antigen*"), y eventualmente a las muestras sospechosas se les realiza la prueba de FPA ("*Polarización de Fluorescencia*"). Además, en las terneras de 4 a 6 meses de edad, se les aplica una dosis vacunal de la cepa *B. abortus* C19.

A su vez, se realiza la doble vacunación de enfermedades reproductivas (IBR, DVB, Leptospirosis, Campylobacteriosis y Haemophylosis) con doble dosis previo servicio, 3 dosis de enfermedades clostridiales (Mancha, Gangrena, Enterotoximia) siendo a los 3-4 meses la primer dosis, al destete y al año la segunda y tercer dosis, respectivamente.

Con respecto a los **toros**, se realiza los raspajes de forma anual, para detectar las enfermedades venéreas (Tricomonosis y Campylobacteriosis) 20-30 días posteriores al servicio y 30 – 45 días pre-servicio. También se realiza el sangrado de los toros para la realización de las pruebas serológicas anteriormente mencionadas para la detección de anticuerpos contra *B. abortus*.

Con ese manejo sanitario, el promedio histórico aproximado del porcentaje de preñez es alrededor del 90%. En el año en el cual se realizaron las extracciones de sangre, el porcentaje de preñez ha sido del 92,59%.

#### 3.2 Obtención de Muestras

Se evaluaron animales, de razas Aberdeen Angus y Polled Hereford, ubicados en el Sudeste de la provincia de Buenos Aires, en el partido de Ayacucho, denominando a esta zona como "Cuenca del Salado".

Los establecimientos presentan aptitud Agrícola-Ganadera, siendo de un 30% a 70% sus proporciones, respectivamente. De la misma forma podríamos expresar que, la receptividad de los campos donde se encuentran los animales es de un promedio de 1,3 EV/año, utilizando una carga animal de 1,1 EV/año. Siendo muy variable la carga instantánea, a causa de las distintas ofertas forrajeras obtenidas en las distintas estaciones del año. La extracción de sangre, desde la Vena Yugular, se realizó con agujas descartables de 18G X 1 ½ (40 x 12) directa a tubo, siendo tubo de hemolisis con medidas de 12 x 100.

Una vez recolectadas las muestras, al día siguiente, se realizó la extracción del suero mediante la previa centrifugación de las mismas. El suero se introdujo en eppendorf de 1,5 ml con la precaución de realizar la correcta rotulación, congelándose a -20°C hasta su posterior análisis serológico.

Se realizó, en marzo de 2015, el muestreo de 2181 vientres y 31 toros, siendo un total de 2212 muestras.

### **3.3 Análisis serológico**

La presencia de títulos de anticuerpos para *N. caninum* fue evaluado por la prueba de IFI. Las muestras fueron examinadas por un microscopio de epifluorescencia (OLYMPUS BX51). Las variables respuesta, o dependiente utilizadas fueron los sueros positivos a diluciones en 1:25 y en 1:200. Los sueros positivos se sometieron a diluciones sucesivas hasta título final (Dubey *et al.*, 1988).

### **3.4 Recolección de la información**

#### **Información para la identificación de las madres y sus medios hermanos**

La información obtenida fue mediante la utilización del programa “GyB Consulting” Sistema Cabaña Versión 1.2.7 Copyright desde el año 1990. Toda la información, de hace más de 25 años y más de 12mil vientres en su historial, recopilada por la cabaña, en la cual nos permitió conocer el parentesco de los animales de varias generación pasadas de la mayoría de los vientres sangrados.

De esta forma, todos estos datos fueron cargados a un archivo excel (Microsoft office, Excel 2013) permitiéndonos filtrar la información requerida para la realización del trabajo.

### **Información para la identificación de los abortos**

#### **IATF:**

##### Categoría, **vaquillonas**;

- Día 0: Dispositivo de Progesterona (P4) + 2ml de Benzoato de Estradiol.
- Día 8: Retirar el dispositivo +2ml de Prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ).
- Detección de celo en el intervalo de 36-100 horas.

##### Categoría, **vacas**;

- Día 0: Dispositivo de Progesterona (P4) + 2ml de Benzoato de Estradiol.
- Día 8: Retirar el dispositivo + 2ml (PGF2 $\alpha$ ) + 1ml de Cipionato de estradiol.
- Día 10: 52-56 horas de retirado dispositivo – Realización de la inseminación (IATF).

(Datos obtenidos del productor)

En las **vaquillonas** de 20 meses de edad, la inseminación artificial (IA) se realiza mediante IATF a fines de mayo – principios de junio con la detección de celo de las vacías y la inseminación a los 23 días posteriores de la IATF, posteriormente las vacías de primo inseminación e inseminación al retorno se preñan mediante monta natural durante 45-60 días. La ecografía de los animales se realiza 30-35 días posteriores a la inseminación del retorno. Posteriormente se realiza un tacto los primeros días de enero, 60 días post-servicio, para eliminar los vientres no gestantes del rodeo.

De esta forma podemos observar los animales preñados con aproximadamente 35 a 55 días de preñez (primo inseminación e inseminación del retorno) hasta preñeces de 7 a 8 meses de gestación. Tratando, de esta forma, de respetar el período fetal, entre los días 42 al 260, de la gestación.

En las **vacas** (segundo servicio inclusive), se realiza el mismo protocolo de inseminación IA, pero en este caso variará en el momento del año en el cual se efectúa, siendo la misma los primeros días de octubre y noviembre con el posterior servicio natural, finalizando en enero. Posteriormente se realiza la ecografía (30-35 días posteriores de la re-sincronización), y luego el tacto entre los meses de marzo-abril. Por lo cual se evidencian preñeces entre los 35-55 días a los 5-6 meses de gestación.

### **3.5 Análisis estadístico**

Se realizó la prueba de ji-cuadrado ( $\chi^2$ ) con un nivel de confianza del 95% y un nivel de significación del 5%, por lo cual se aceptará que existe asociación entre las variables estudiadas cuando el valor de p es menor que 0.05 (Thurmond *et al.*, 1997).

A su vez, se realizó análisis retrospectivo con un modelo bivariado de variables dicotómicas de los estudios trasversales, donde se presentará la variable independiente, en las filas, y la variable dependiente, en las columnas. Obteniendo así, el valor OR (odds ratio) como resultado para conocer el factor de riesgo o de protección de la relación de dichas variables como medidas de asociación.

Para establecer asociación entre las variables se utilizaron sólo datos completos; de esta manera el número de individuos varía en cada análisis (Tabla 2).

**Tabla 2:** Número de animales analizados en cada situación.

<b>Asociaciones</b>	<b>Número de animales analizados</b>
<b>Entre seropositividad y ocurrencia de abortos</b>	803
<b>Entre las hijas y sus madres con serología positiva a <i>N. caninum</i></b>	1186 (688 hijos de 498 madres)
<b>Entre un vientre que tenga al menos un hermano positivo y provenga de una madre positiva</b>	756 (416 hijos de 340 madres)
<b>Entre la seropositividad a nivel rodeo según los animales nacidas antes y después del año 2012</b>	1913
<b>Entre razas</b>	2212
<b>Entre sexos</b>	2212

### **3.6 Análisis económico**

Se realizó un análisis económico para estimar las pérdidas productivas generadas por un aborto bovino permitiéndonos saber si es económicamente rentable realizar el saneamiento correspondiente a la enfermedad. En el análisis, se incluyeron dentro de las ganancias la venta del vientre que presentó un aborto y en los gastos, el costo de la reposición y pérdida de la ganancia de producir un ternero.

Se utilizó como moneda de referencia al dólar tarjeta o turista (US\$1= AR\$12,6) representado como el dólar oficial (US\$1= AR\$9,34) sumado un 35% en impuestos.

Los valores utilizados son estimativos al momento de la realización del trabajo.

### **Costo de la reposición del vientre que aborta**

Se consideró el promedio de las vaquillonas con preñeces de 3-4 meses de gestación obtenido en el último remate realizado por la cabaña (26 agosto de 2015), siendo un valor de \$12.200.

### **Producción de Terneros**

Según los resultados estimados en planteos de cría con destetes del 90%, con un número aproximado de 500 vientres, el costo actual en producir un 1 kg de ternero es de \$23/kg de peso vivo (PV). Para este estudio se contemplaron los siguientes costos: valor de la hacienda, costo de arrendamiento de 60 kg PV/ha (costo de oportunidad), confección de rollos, producción de verdeos, personal y sanidad.

El precio actual de venta en el mercado es de \$27/kg PV de ternero. A su vez, según datos obtenidos de la cabaña el peso promedio al destete es de 181,5kg PV por ternero.

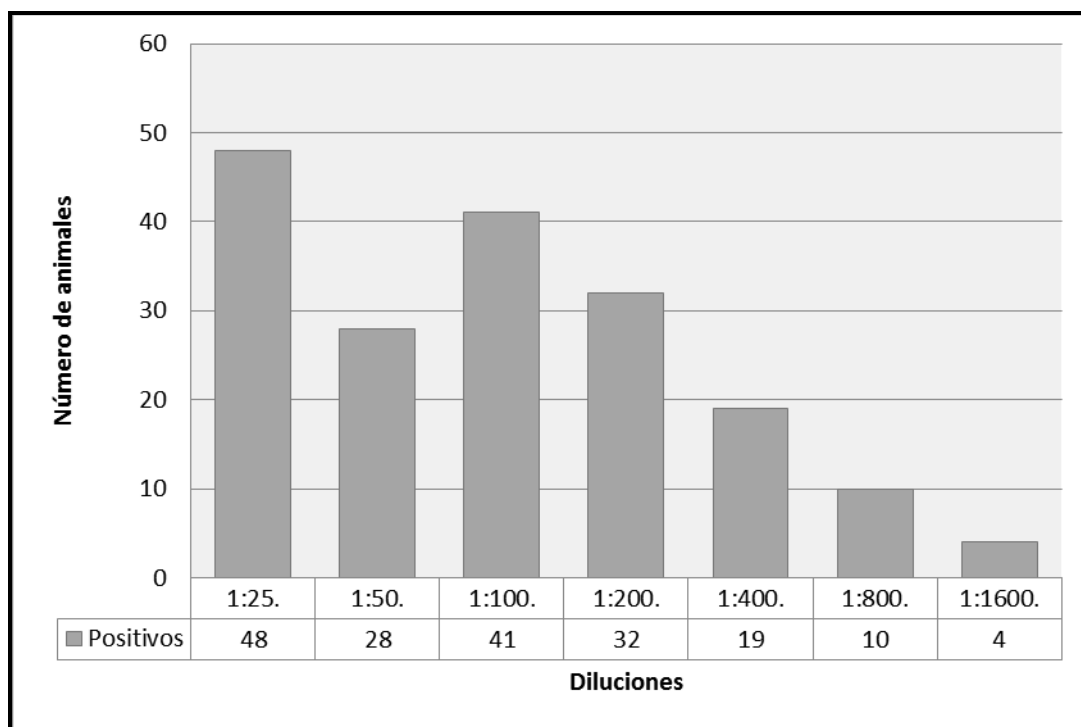
### **Venta del vientre que abortó**

Este factor se obtuvo mediante la venta de un animal, de 500 kg PV promedio, un precio promedio actual de \$14,8/kg PV. A este precio se le descontaron gastos de transporte, posible descartes por el frigorífico, impuestos y alimentación durante 60 días en feedlot permitiendo mejorar la calidad del producto del animal situándose en la categoría de "vaca buena". Por lo cual, se calculó con un valor estimado de \$6.000/vientre que abortó.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Seroprevalencia

Las proporciones de muestras de suero conteniendo anticuerpos específicos utilizando diferentes diluciones séricas se muestran en la gráfico 1. A modo de ejemplo se resalta la proporción de muestras positivas utilizando una dilución sérica de 1: 200 obteniendo una prevalencia de 2,9% de 2212 muestras analizadas.



**Grafico 1:** Seropositividad según diluciones utilizadas



#### 4.2 Estimar la asociación entre seropositividad y ocurrencia de abortos (1:25 y 1:200).

En la tabla 3 se muestra la relación entre seropositividad y la ocurrencia de abortos.

**Tabla 3:** Relación entre seropositividad y abortos durante el período en estudio, Ayacucho y Balcarce, 2015.

Dilución Sérica	IFI	Aborto		Total n	OR	IC	P valor
		n	(%)				
1:25	+	4	7,3	55	5,25	1,6 – 17,1	0,0058
	-	11	1,5	748			
1:200	+	3	16,7	18	12,9	3,3 – 50,5	0,0002
	-	12	1,5	785			
Total		15	1,87	803			

(+): positivos; (-): negativos

Los valores OR entre seropositividad y madres que abortaron utilizando una dilución sérica de 1:25 o 1:200 fueron de 5,25 (IC: 1,6 – 17,1) y 12,9 (IC; 3,3 – 50,5), respectivamente. El valor de p obtenido indicaría que existe asociación entre las variables analizadas.

#### 4.3 Estimar la asociación entre las hijas y sus madres con serología positiva a *N. caninum* (1:25 y 1:200).

En la tabla 4 se muestra la relación entre hijas seropositivas y sus madres seropositivas con respecto a las seronegativas.

**Tabla 4:** Relación entre hijas seropositivas y sus madres seropositivas con respecto a los negativos durante el período de estudio, Ayacucho y Balcarce, 2015.

Dilución Sérica	IFI	Hijas (+)		Total N	OR	IC	P valor
		n	(%)				
1:25	+	27	45	60	38,7	18,3 – 81,8	<0,0001
	-	13	2,07	628			
1:200	+	5	20	25	33,5	9 – 124,8	<0,0001
	-	5	0,75	663			

(+): positivos; (-): negativos

Los valores OR entre seropositividad de madres e hijas utilizando una dilución sérica de 1:25 o 1:200 fueron de 38,7 (IC: 18,3 – 81,8) y 33,45 (IC: 9 - 124,8), respectivamente. El valor de p obtenido indicaría que existe asociación entre las variables analizadas.

#### 4.4 Estimar la asociación de que un vientre que tenga al menos un hermano positivo y provenga de una madre positiva (1:25 y 1:200).

En la tabla 5 se muestra la relación entre los vientres que tienen al menos un hermano positivo y provenga de una madre positiva con respecto a las negativas.

**Tabla 5:** Relación entre vientres con al menos un hermano positivo y madre positiva con respecto a los negativos durante el período en estudio, Ayacucho y Balcarce, 2015.

IFI	Dilución Sérica	Vientres (+)		Total n	OR	IC	P valor
		N	(%)				
1:25	Al menos un hno. (+)	14	66,7	21	51,2	17,5 – 149,9	<0,0001
	todos los hermanos (-)	12	3,8	319			
1:200	Al menos un hno. (+)	5	55,5	9	50,5	11,4 - 224	<0,0001
	todos los hermanos (-)	8	2,4	331			

hno.: hermano. (+): positivos (-): negativos

Los valores OR entre seropositividad de hijos con al menos un hermano positivo y sus madres positivas utilizando una dilución sérica de 1:25 o 1:200

fueron de 51,2 (IC: 17,5 – 149,9) y 50,5 (IC; 11,4 - 224), respectivamente. El valor de p obtenido indicaría que existe asociación entre las variables analizadas.

#### 4.5 Probabilidad de que a mayor edad posea mayor seropositividad a nivel rodeo (1:25 y 1:200).

En la tabla 6 se muestra la relación entre los vientres nacidos antes y después del año 2012.

**Tabla 6:** Relación entre los vientres nacidos antes y después del año 2012 durante el período en estudio, Ayacucho y Balcarce, 2015.

Dilución Sérica	IFI	Nacidos antes del 2012		Total n	OR	IC	P valor
		n	(%)				
1:25	+	139	92	151	2,9	1,6 – 5,3	0,0005
	-	1406	79,8	1762			
1:200	+	54	93,1	58	3,3	1,2 – 9,2	0,0222
	-	1491	80,4	1855			

(+): positivos; (-): negativos

Los valores OR entre seropositividad y aborto utilizando una dilución sérica de 1:25 o 1:200 fueron de 2,9 (IC; 1,6 – 5,3), y 3,3 (IC: 1,2 – 9,2) respectivamente. El valor de p obtenido indicaría que existe asociación entre las variables analizadas.

#### 4.6 Susceptibilidad entre razas, Hereford y Aberdeen Angus (1:25 y 1:200).

En la tabla 7 se muestra la relación entre las razas Hereford y Aberdeen Angus.

**Tabla 7:** Relación entre las razas Hereford y Aberdeen Angus durante el período en estudio, Ayacucho y Balcarce, 2015.

Dilución Sérica	IFI	Hereford y Polled Hereford		Total n	OR	IC	P valor
		N	(%)				
1:25	+	22	12,1	182	1,2	0,74 – 1,9	0,46
	-	211	10,4	2030			
1:200	+	7	10,8	65	1,02	0,46 – 2,3	0,95
	-	226	10,5	2147			
Total		233	10,5	2212			

(+): positivos; (-): negativos

El valor de p obtenido indicaría que **no** existe asociación, ya que son mayores a 0,05 no encontrándose diferencias significativas entre las variables analizadas.

#### 4.7 Susceptibilidad entre sexos (1:25).

En la tabla 8 se muestra la relación entre machos y hembras.

**Tabla 8:** Relación entre sexos durante el período en estudio, Ayacucho y Balcarce, 2015.

Dilución Sérica	IFI	Machos		Total n	OR	IC	P valor
		N	(%)				
1:25	+	2	1,1	182	0,7713	0,18 – 3,3	P=0,72
	-	29	1,45	2030			

(+): positivos; (-): negativos

El valor de p obtenido indicaría que **no** existe asociación, ya que son mayores a 0,05 no encontrándose diferencias significativas entre las variables analizadas.

Debido a la ausencia de resultados positivos en el sexo macho en la titulación de corte, no se realizó el OR ya que no permite que se ajuste el modelo de la tabla de contingencia.

#### 4.8 Posibles pérdidas económicas ocasionadas por el aborto

En la tabla 9 se muestra los precios de cada factor utilizado para la estimación del costo de cada aborto producido en la cabaña.

**Tabla 9:** Precios de cada factor utilizado durante el período en estudio, Ayacucho y Balcarce, 2015.

<b>Factores utilizados</b>	<b>Precios</b>	<b>Diferencias</b>
<b>Compra de vaquillona con 3-4 meses de gestación</b>	\$12.200	\$6.200
<b>Venta de vaca “gorda” que abortó</b>	\$6.000	para reposición
<b>Dejo de ganar 27/kg PV</b>	\$4900	\$750
<b>Dejo de perder \$23/kg PV</b>	\$4.150	por ternero al destete
<b>Pérdidas económicas por aborto</b>	<b><u>AR\$6950</u></b>	<b><u>US\$552</u></b>

Por cada aborto producido en la cabaña, hay una pérdida de 6950 pesos o 552 dólares estadounidenses. No teniendo en cuenta los costos para el diagnóstico utilizando el feto como muestra, ya que es de baja relevancia en relación al total de abortos que se encuentran en los rodeos de cría con sistemas extensivos.

## 5 DISCUSIÓN

Este trabajo aporta información acerca de la neosporosis bovina en ganado para carne donde dicha enfermedad ha sido caracterizada parcialmente (Dubey *et al.*, 2007). El impacto negativo de la enfermedad fue ya mencionada por otros autores (Waldner *et al.*, 2001a; Calandra 2013; Moore *et al.*, 2013; Moore *et al.*, 2003a, Reichel *et al.*, 2015); sin embargo, la existencia de datos recopilados por más de 20 años mediante este análisis, amplía la información disponible. La seroprevalencia total, aun considerando los resultados serológicos obtenidos practicando diferentes diluciones séricas, son similares con aquellos obtenidos por otros autores en la misma zona del país (Moore *et al.*, 2002b; Moore *et al.*, 2003a; Moore *et al.*, 2003b; Späth *et al.*, 2013; Rodríguez, 2015) y de otras regiones ganaderas del mundo ( Sanderson *et al.*, 2000; Waldner *et al.*, 2001b; Waldner, 2005), en contraposición de otros trabajos (Quintanilla-Gozalo *et al.*, 1999).

Como es razonable pensar, la seroprevalencia disminuye al practicar diluciones séricas mayores (Reichel *et al.*, 2015); sin embargo, cuando se utiliza una dilución sérica de 1:200 no se puede inferir una mayor asociación con la ocurrencia de aborto que utilizando una dilución de 1:25. No obstante, utilizando una dilución u otra, este estudio nos permitió comprobar que los vientres seropositivos han tenido más chances de abortar que los seronegativos. Los animales que sufrieron abortos tuvieron 13 veces más probabilidades de ser seropositivos coincidiendo con trabajos previos (Moore *et.*, 2003; Moore *et al.*, 2009). Según Thurmond y Hietala (1995) y Schares *et al.*, (2002b) expresan que un patrón de aborto endémico es a menudo, pero no siempre relacionado con un OR menor a 10, mientras que un OR mayor debería ser indicativo de un patrón epidémico. De esta forma, podríamos considerar que el OR observado en el trabajo es elevado pero no por esa razón posee un patrón epidémico, por lo que se debería estar alerta. Una posible razón de la baja seroprevalencia sumado a un elevado OR podría deberse a la gran confiabilidad de los datos brindados por la

cabaña y a un gran tamaño muestral de la población en estudio para la realización de la prueba serológica. De igual forma, el elevado número de animales seronegativos de vacas que no presentaron aborto (preñadas), debido al correcto control de las principales enfermedades abortigénicas conocidas hasta el momento (brucelosis, campylobacteriosis y tricomonosis), ha sido de gran importancia para generar el resultado obtenido en el presente trabajo.

Aunque el parásito tiene una alta eficiencia para transmitirse congénitamente desde la madre a su prole (Dubey *et al.*, 2007), ambas vías de transmisión parecen ocurrir en la población bovina en estudio. La primera de ellas se puede apreciar debido a la asociación obtenida entre los individuos con serología positiva provenientes de madres seropositivas como así también de la asociación presente entre los individuos que al menos poseen un hermano seropositivo que a su vez provienen de madres seropositivas. Por otra parte, la transmisión horizontal es apreciable en la asociación obtenida entre los animales de mayor edad, presentando un mayor riesgo de ser seropositivos con respecto a los animales más jóvenes. Pudiendo considerarse que los animales más viejos han tenido más chances de estar en contacto, y adquirir la enfermedad (Moore *et al.*, 2009).

Aún son escasas las evidencias de la infección postnatal (McAllister *et al.*, 2000). La ocurrencia de la infección horizontal es necesaria para explicar el mantenimiento de enfermedad (French *et al.*, 1999). Aunque en este trabajo se observaron asociaciones que sugieren la transmisión vertical, los animales de mayor edad tuvieron 3 veces más probabilidad de ser seropositivos respecto de los animales más jóvenes.

La seroprevalencia a *N. caninum* se distribuyó similarmente entre las razas para carne aquí evaluadas. En contraste, existe cierta susceptibilidad genética en razas para leche comparada con razas para carne (Bartels *et al.*, 2006b) sugiriéndose además que la utilización de semen de toros de razas para carne en ganado para leche disminuyó la ocurrencia de abortos (López-Gatius *et al.*, 2005).

En coincidencia con otros trabajos (Moore et al., 2002) la enfermedad afectaría por igual animales de diferente sexo. En este estudio no hubo diferencias en la proporción de animales con anticuerpos específicos según el sexo.

Considerando la asociación presente entre seropositividad y abortos sería de conveniencia realizar algunas medidas de manejo acordes a la situación que se encuentra la cabaña. Entre ellas se debería evitar la reposición de vientres de madres seropositivas para disminuir la principal vía de transmisión aunque también deben implementarse las medidas tendientes a interrumpir las infecciones postnatales.

La intensidad en la cual se debería realizar la eliminación, o el rechazo, de los vientres seropositivos estaría influenciado por varios factores. El principal es la cantidad de vaquillonas de reposición de alto valor genético disponibles en el establecimiento con relación a los requeridos para un año particular, ya que la cabaña posee un rodeo cerrado, por lo cual, utiliza solo sus propios vientres como reposición. En tal sentido, se debería iniciar la eliminación de los vientres hijas de madres positivas. No obstante, si aún posee un excedente de vientres de reposición de alto valor para la cabaña, se podría comenzar a descartar los hijos de vientres positivos a menor titulación ya que, la eficiencia en transmisión vertical en vientres con títulos  $\geq 1:200$  es alrededor del 95% comparado con un 15% en vientres con títulos  $\leq 1:200$  (Moré *et al.*, 2009), como así también disminuir, inicialmente, la cantidad de falsos positivos a una mayor titulación debido a que a un mayor título serológico se obtiene una mayor especificidad de la prueba (Atkinson *et al.*, 2000). No obstante, se disminuiría la sensibilidad aumentando el número de falsos positivos y consecuente el mantenimiento de animales infectados negativos en el rodeo. Sería de interés, realizar el saneamiento hasta perder la significancia estadística entre las variables seropositividad y aborto (Atkinson *et al.*, 2000).

Por otro lado, la ocurrencia de infecciones postnatales, sugerirían una baja pero constante exposición a la enfermedad. Cualquier descuido en las medidas higiénicas tendientes a limitar la contaminación de las fuentes de agua y comida



por ooquistes eliminados por los hospedadores definitivos, generaría un aumento de la infección y de los problemas reproductivos (Dubey *et al.*, 2007).

Posteriormente, para obtener un control a lo largo del tiempo, se deberían realizar pruebas diagnósticas con un tamaño de muestra reducido (20-40 animales aproximadamente) de los animales de reposición y de vacas de mayor edad, para mantener la rentabilidad económica. Esto nos permitiría observar a grandes rasgos la situación del rodeo año a año. A su vez, poder conocer la diferencia entre las seroprevalencia de la reposición y los vientres de mayor edad dándonos un panorama de la transmisión horizontal, forma en la cual permite la entrada de la enfermedad generando nuevas infecciones en el rodeo.

Otra forma podría ser la de eliminar todo vientre seropositivo aunque es un procedimiento poco recomendable desde el punto de vista económico. A su vez las probabilidades de abortar son menores en vacas adultas de más de dos partos, ya que las pérdidas reproductivas se presentan principalmente en la primer y segunda gestación del animal. Pero hay que tener en cuenta a sus hijas, ya tienen elevadas posibilidad de nacer positivas y aún más de abortar en sus primeros partos. No obstante, si dichas hembras de madres seropositivas (vaquillonas de primer y segundo servicio) son de alto valor genético se podría evitar su eliminación y realizar transferencia embrionaria utilizando como receptoras a vientres seronegativos.

Otra medida de control que podría llevarse a cabo es educar a los dueños de los perros de los establecimientos, para evitar la ingestión de tejidos bovinos. Esto dificultaría completar el ciclo biológico del parásito y consecuentemente una menor transmisión horizontal teórica. Sin embargo, se debe reconocer que dicha medida de manejo es de alta complejidad llevarla a cabo por los trabajadores rurales y a su vez, como se demuestran en los resultados, la importancia en la transmisión por esta vía es mucho más baja que por la vía transplacentaria.

Para llevar a cabo las medidas de manejo mencionadas anteriormente sería de necesidad realizar, a parte de la metodología diagnóstica sugerida por Dubey y

Schares (2006), un análisis económico para considerar si es rentable su aplicación.

Se estimó en el trabajo que un aborto puede generar pérdidas económica de US\$ 552 coincidiendo con las estimaciones realizadas por Moore *et al.*, (2003b), siendo de US\$ 440 (rango 150-730) por cada aborto. A su vez, la realización de IFI, según laboratorios privados, genera un costo de \$ 71,40 US\$ 5,6.

Por ende, los 803 vientres estudiados con una reposición del 20% (160 vaquillonas de reposición) en los cuales hay altas probabilidades de producirse abortos de tipo endémico causados por *N. caninum*, según los resultados obtenidos. La seroprevalencia obtenida fue del 2,9% para el título de corte, por lo cual se necesitaran realizar 165 IFI de vaquillonas de reposición de las cuales se eliminaran las positivas de ese grupo de animales (2,9% = estimando 5 animales seropositivos de un grupo de 160 vientres). Esto generaría un costo aproximado de US\$ 930. Por lo cual, si el establecimiento presentara más de 2 abortos entre los 803 animales, o un aborto cada 400 vientres, sería conveniente realizar el saneamiento de la enfermedad hasta los límites anteriormente mencionados. Obteniendo como resultado una disminución de la seroprevalencia y consecuentemente de la presencia de abortos. En los años sucesivos, se podrían realizar muestreos aleatorios en los animales de reposición con un tamaño de muestra adecuado permitiendo llevar un control lo más correcto posible y lo económicamente más rentable.

## 6 CONCLUSIÓN

Se caracterizó la situación seroepidemiológica de la neosporosis en una población de bovinos para carne destinada a la comercialización de reproductores. Aunque la seroprevalencia observada es similar a la mencionada en bovinos de esta zona y de otras regiones del mundo, la detallada información disponible permitió establecer la ocurrencia de pérdidas reproductivas y económicas por *N. caninum*. También se pudo observar la ocurrencia de ambos tipo de transmisión (vertical y horizontal) siendo necesario mantener las apropiadas medidas de control para impedir el mantenimiento o aumento de animales enfermos.

## 7 BIBIOLOGRAFIA

Aguado-Martínez, A.; Álvarez-García, G.; Arnaiz-Seco, I.; Innes, E.; y Ortega-Mora, L.M. (2005). Use of avidity enzyme-linked immunosorbent assay and avidity Western blot to discriminate between acute and chronic *Neospora caninum* infection in cattle. *J Vet Diagn Invest* 17: 442–450.

Anderson, M.L.; Blanchard, P.C.; Barr, B.C.; Dubey, J.P.; Hoffman, R.L.; y Conrad, P.A. (1991). Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *Am Vet Assoc* 198: 241–244.

Anderson, M.L.; Andrianarivo, A.G.; y Conrad, P.A. (2000). Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci* 60-61: 417–431.

Atkinson, R.; Harper, P.A.W.; Riechel, M.P.; y Ellis, J.T. (2000). Progress in the Serodiagnosis of *Neospora caninum* Infections of Cattle. *Parastol Today* 16: 110–114.

Baillargeon, P.; Fecteau, G.; Paré, J.; Lamothe, P.; y Sauvé, R. (2001). Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J Am Vet Med Assoc* 218: 1803–1806.

Barling, K.S.; McNeill, J.W.; Thompson, J.A.; Paschal, J.C.; McCollum, F.T.; Craig, T.M.; y Adams, L.G. (2000a). Association of serologic status for *Neospora caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves. *J Am Vet Med Assoc* 217: 1356–1360.

Barling, K.S.; Sherman, M.; Peterson, M.J.; Thompson, J.A.; McNeill, J.W.; Craig, T.M.; y Adams, L.G. (2000b). Spatial associations among density of cattle, abundance of wild conids, and seroprevalence to *Neospora caninum* in a population of beef calves. *J Am Vet Med Assoc* 217: 1361–1365.

Barling, K.S.; McNeill, J.W.; Paschal, J.C.; McCollum, F.T.; Craig, T.M.; Adams, L.G.; y Thompson, J.A. (2001). Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas. *Prev vet med Veterinary Medicine* 52: 53–61.

Barr, B.C.; Anderson, M.L.; Dubey, J.P.; y Conrad, P.A. (1991). Neospora-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet Pathol* 28: 110–116.

Barr, B.C.; Conrad, P.A.; Breitmeyer, R.; Sverlow, K.; Anderson, L.M.; y Reynolds, J. (1993). Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses: four cases 1990-1992. *Vet Med Assoc* 202: 113–117.

Barr, B.C.; Rowe, J.D.; Sverlow, K.W.; BonDurant, R.H.; Ardans, A.A.; Oliver, M.N.; y Conrad, P.C. (1994). Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. *J Vet Diagn Invest* 6: 207–215.

Bartels, C.J.M.; van Schaik, G.; Veldhuisen, J.P.; van den Borne, B.H.P.; Wouda, W.; y Dijkstra, T. (2006a). Effect of *Neospora caninum*-serostatus on culling, reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum* associated abortion epidemics. *Prev vet Med* 77: 186–198.

Bartels, C.J.M.; Arnaiz-seco, J.I.; Ruiz-Santa-Quitera, A.; Björkman, C.; Frössling, J.; von Blumröder, D.; Conraths, F.J.; Schares, G.; van Maanen, C.; Wouda, W.; y Ortega-Mora, L.M. (2006b). Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, the Netherlands, Spain and Sweden. *Vet Parasitol* 137: 17–27.

Bartels, C.J.M.; Huinink, I.; Beiboer, M.L.; van Schaik, G.; Wouda, W.; Dijkstra, T.; y Stegeman, A. (2007). Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds. *Veterinary Parasitology* 148: 83–92.

Baszler, T. V; Long, M.T.; McElwain, T.F.; y Mathison, B.A. (1999). Interferon- $\gamma$  and interleukin-12 mediate protection to acute *Neospora caninum* infection in BALB/c mice. *Int J Parasitol* 29: 1635–1646.

Bielanski, A.; Robinson, J.; y Phipps-Todd, B. (2002). Effect of *Neospora caninum* on in vitro development of preimplantation stage bovine embryos and adherence to the zona pellucida. *Vet Rec* 150: 316–318.

Björkman, C.; McAllister, M.M.; Frössling, J.; Näslund, K.; Leung, F.; y Ugglå, A. (2003). Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. *J Vet Diagn Invest* 15: 3–7.

Björkman, C.; Álvarez-García, G.; Conraths, F.J.; Mattsson, J.G.; Ortega-Mora, L.M.; Sager, H.; y Schares, G. (2006). *Neospora caninum* IgG avidity tests: an interlaboratory comparison. *Vet Parasitol* 140: 273–280.

Boulton, J.G.; Gill, P.A.; Cook, R.W.; Fraser, G.C.; y Harper, P.A. (1995). Bovine *Neospora* abortion in north-eastern New South Wales. *Aust Vet J* 72: 119–120.

Buxton, D.; McAllister, M.M.; y Dubey, J.P. (2002). The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol* 18: 546–552.

Caetano-da-Silva, A.; Ferre, E.; Collantes-Fernández, E.; Navarro, V.; Aduriz, G.; Ugarte-Garagalza, C.; y Ortega-Mora, L.M. (2004). Occasional detection of *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls. *Theriogenology* 62: 1329–1336.

Calandra, P.M. (2013). Resultados serológicos para *Neospora caninum* en episodios de abortos en rodeos bovinos para cría .

Calandra, P.M.; Di Matía, J.M.; Cano, D.B.; y Odriozola, E.R. (2014). Neosporosis epidémica y endémica : descripción de dos eventos en bovinos para cría. *Rev Arg Microbio* 46: 315–319.

Campero, C.M.; Anderson, M.L.; Conosciuto, G.; Odriozola, H.; Bretschneider, G.; y Poso, M.A. (1998). *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in Argentina. *Vet Rec* 143: 228–229.

Campero, C.M.; Moore, D.P.; Odeón, A.C.; y Cipolla, A.L. (2003a). Aetiology of bovine abortion in Argentina. *Vet Res Com* 27: 359–369.

Campero, C.M.; Moore, D.P.; Lagomarsino, H.; Odeón, A.C.; Castro, M.; y Visca, H. (2003b). Serological Status and Abortion Rate in Progeny Obtained by Natural Service or Embryo Transfer from *Neospora caninum*-Seropositive Cows. *J Vet Med* 50: 458–460.

Canada, N.; Meireles, C.S.; Ferreira, P.; da Costa, J.M.C.; y Rocha, A. (2006). Artificial insemination of cows with semen in vitro contaminated with *Neospora caninum* tachyzoites failed to induce neosporosis. *Vet Parasitol* 139: 109–114.

Cole, R. A.; Lindsay, D.S.; Blagburn, B. L.; Dubey, J. P. (1995). Vertical transmission of *Neospora caninum* in mice. *J Parasitol* 81: 730 - 732.

Conrad, P.A.; Barr, B.C.; Sverlow, K.W.; Anderson, M.; Daft, B.; Kinde, H.; Dubey, J.P.; Munson, L.; y Ardans, A. (1993). In vitro isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. *Parasitol* 106: 239–249.

Dannatt, D. (1997). *Neospora caninum* antibody levels in an endemically-infected dairy herd. *Cattle Practice* 5: 335–337.

Davison, H.C.; Otter, A.; y Trees, A.J. (1999). Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int J Parasitol* 29: 1683–1689.

de Meerschman, F.; Focant, C.; Boreux, R.; Leclipteux, T.; y Losson, B. (2000). Cattle neosporosis in Belgium: a case-control study in dairy and beef cattle. *Int J Parasitol* 30: 887–890.

Dijkstra, T.; Eysker, M.; Schares, G.; Conraths, F.J.; Wouda, W.; y Barkema, H.W. (2001a). Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int J Parasitol* 31: 747–752.

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

Dijkstra, T.; Barkema, H.W.; Björkman, C.; y Wouda, W. (2002a). A high rate of seroconversion for *Neospora caninum* in a dairy herd without an obvious increased incidence of abortions. *Vet Parasitol* 109: 203–211.

Dijkstra, T.H.; Barkema, H.W.; Eysker, M.; Hesselink, J.W.; y Wouda, W. (2002b). Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. *Vet Parasitol* 105: 99–104.

Dijkstra, T.H.; Barkema, H.W.; Hesselink, J.W.; y Wouda, W. (2002c). Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. *Vet Parasitol* 105: 89–98.

Dubey, P.; Hattel, A.L.; Lindsay, D.S.; y Topper, M.J. (1988). Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *Am Vet Med Ass* 193: 1259 – 1263.

Dubey, J.P.; Lindsay, D.S.; Anderson, M.L.; Davis, S.W.; y Shen, S.K. (1992). Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. *J Am Vet Med Assoc* 201: 709–713.

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

Dubey, J.P.; Lindsay, D.S.; Adams, D.S.; Gay, J.M.; Baszler, T. V; Blagburn, B.L.; y Thulliez, P. (1996b). Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. *Am J Vet Res* 57: 329–336.

Dubey, J.P. (1999a). Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *J. Am. Vet. Med. Assoc* 1160–1163.

Dubey, J.P. (1999b). Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol* 84: 349–367.

Dubey, J.P.; Barr, B.C.; Barta, J.R.; Bjerkas, I.; y Björkman, C. (2002). Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *J Parasitol* 32: 929–946.

Dubey, J.P. (2003). Neosporosis in cattle. *J Parasitol* 42–56.

Dubey, J.P.; Buxton, D.; y Wouda, W. (2006a). Pathogenesis of bovine neosporosis. *J Comp Path* 134: 267–289.

Dubey, J.P. y Schares, G. (2006b). Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet Parasitol* 14: 11–34.

Dubey, J.P.; Schares, G.; y Ortega-Mora, L.M. (2007). Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews* 20: 323–367.

Ferre, I.; Aduriz, G.; Del-Pozo, I.; Regidor-Cerrillo, J.; Atxaerandio, R.; Collantes-fernández, E.; Hurtado, A.; Ugarte-garagalza, C.; y Ortega-Mora, L.M. (2005). Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. *Theriogenology* 63: 1504–1518.

Fioretti, D.P.; Pasquai, P.; Diaferia, M.; Mangili, V.; y Rosignoli, L. (2003). *Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. *J Vet Med B* 50: 399–404.

French, N.P.; Clancy, D.; Davison, H.C.; y Trees, A.J. (1999). Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. *Int J Parasitol* 29: 1691 – 1704.

Gondim, L.F.; McAllister, M.M.; Mateus-Pinilla, N.E.; Pitt, W.C.; Mech, L.D.; y Nelson, M.E. (2004a). Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *J Parasitol* 90: 1361–1365.

Gondim, L.F.P.; McAllister, M.M.; Anderson-Sprecher, R.C.; y Björkman, C. (2004b). Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. *J Parasitol* 90: 1394–1400.

Gondim, L.F.; McAllister, M.M.; y Gao, L. (2005). Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. *Vet Parasitol* 134: 33–39.

Guy, C.S.; Williams, D.J.L.; Kelly, D.F.; McGarry, J.W.; Guy, F.; y Björkman, C. (2001). *Neospora caninum* in persistently infected pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *Vet Rec* 149: 443–449.



Haddad, J.P.A.; Dohoo, R.I.; y VanLeewen, J.A. (2005). A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle—a Canadian perspective. *Can Vet* 46: 230–243.

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

Häsler, B.; Regula, G.; Stärk, K.D.C.; Sager, H.; Gottstein, B.; y Reist, M. (2006). Financial analysis of various strategies for the control of *Neospora caninum* in dairy cattle in Switzerland. *Prev Vet Med* 77: 230–253.

Hemphill, A. (1999). The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv Parasitol* 43: 47–104.

Hietala, S.K. y Thurmond, M.C. (1999). Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. *In J Parasitol* 29: 1669–1676.

Hobson, J.C.; Duffield, T.F.; Kelton, D.; Lissemore, K.; Hietala, S.K.; Leslie, K.E.; McEwen, B.; y Peregrine, A.S. (2005). Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds. *Vet Parasitol* 127: 177–188.

Innes, E.A.; Panton, W.R.; Marks, J.; Trees, A.J.; Holmdahl, J.; y Buxton, D. (1995). Interferon gamma inhibits the intracellular multiplication of *Neospora caninum*, as shown by incorporation of 3H Uracil. *J Comp Path* 113: 95–100.

Innes, E.A.; Andrianarivo, A.G.; Björkman, C.; Williams, D.J.L.; y Conrad, P.A. (2002). Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol* 18: 497–504.

Jenkins, M.C.; Caver, J.A.; Björkman, C.; Anderson, T.C.; Romand, S.; Vinyard, B.; Ugglá, A.; Thulliez, P.; y Dubey, J.P. (2000). Serological investigation of an outbreak of *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in southeastern United States. *Vet Parasitol* 94: 17–26.

Jensen, A.M.; Björkman, C.; Kjeldsen, A.M.; Wedderkopp, A.; Willadsen, C.; Ugglá, A.; y Lind, P. (1999). Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* 40: 151–163.

Kasari, T.R.; Barling, K.; y McGrann, J.M. (1999). Estimated production and economic losses from *Neospora caninum* infection in Texas beef herds. *Bovine Pract* 33: 113–120.

Larson, R.L.; Hardin, D.K.; y Pierce, V.L. (2004). Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum*-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. *J Am Vet Med Assoc* 224: 1597–1604.

Lindsay, D.S.; Rippey, N.S.; Cole, R.A.; Parsons, L.C.; Dubey, J.P.; Tidwell, R.R.; y Blagburn, B.L. (1994). Examination of the activities of 43 chemotherapeutic agents against *Neospora caninum* tachyzoites in cultured cells. *Am J Vet Res* 55: 976–981.

López-Gatius, F.; Santolaria, P.; Yániz, J. L.; Garbayo, J. M.; Almería, S. (2005). The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in *Neospora*-seropositive dairy cows. *J Vet Med* B52: 88-92.

McAllister, M.M.; Huffman, E.M.; Hietala, S.K.; Conrad, P.A.; Anderson, M.; y Salman, M.D. (1996). Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. *J Vet Diagn Invest* 8: 355–357.

McAllister, M.M.; Dubey, J.P.; Lindsay, D.S.; Jolley, W.R.; Wills, R.A.; y McGuire, A.M. (1998a). Dogs are the definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology* 28: 1473–1478.

McAllister, M.M.; Jolley, W.R.; Wills, R.A.; Lindsay, D.S.; McGuire, A.M.; y Tranas, J.D. (1998b). Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. *Am J Vet Res* 59: 441–444.

McAllister, M.M.; Björkman, C.; Anderson-Sprecher, R.C.; y Rogers, D.G. (2000). Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and Protective immunity in a herd of beef cows. *J Am Vet Med Assoc* 217: 881–887.

McAllister, M.M.; Wallace, R.L.; Björkman, C.; Gao, L.; y Firkins, L.D. (2005). A probable source of *Neospora caninum* infection in an abortion outbreak in dairy cows. *Bov Pract* 39: 1-69.

Moen, A.R.; Wouda, W.; Mul, M.F.; Graat, E.A.; y van Werven, T. (1998). Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology* 49: 1301–1309.

Moore, D.P.; Campero, C.M.; Odeón, A.C.; Posso, M.A.; Cano, D.; Leunda, M.R.; Basso, W.; Venturini, M.C.; y Späth, E. (2002). Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Veterinary Parasitology* 107: 303–316.

Moore, D.P.; Campero, C.M.; Odeón, A.C.; Chayer, R.; y Bianco, M.A. (2003a). Reproductive Losses due to *Neospora caninum* in a Beef Herd in Argentina. *J Vet Med* 308: 304–308.

Moore, D.P.; Draghi, M.G.; Campero, C.M.; Cetrá, B.; Odeón, A.C.; Alcaraz, E.; y Späth, E.A.J. (2003b). Serological evidence of *Neospora caninum* infections in

beef bulls in six counties of the Corrientes province, Argentina. *Vet Parasitol* 114: 247–252.

Moore, D.P.; Pérez, A.; Agliano, S.; Brace, M.; Cantón, G.; Cano, D.; Leunda, M.R.; Odeón, A.C.; Odriozola, E.; y Campero, C.M. (2009). Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina. *Vet Parasitol* 161: 122–125.

Moore, D.P.; Reichel, M.; Spath, E.; y Campero, C.M. (2013). *Neospora caninum* causes severe economic losses in cattle in the humid pampa region of Argentina. *Trop Anim Health Prod* 45: 1237–1241.

Moré, G.; Bacigalupe, D.; Basso, W.; Rambeaud, M.; Beltrame, F.; Ramirez, B.; Venturini, M. C.; Venturini, L. (2009). Frequency of horizontal and vertical transmission for *Sarcocystis cruzi* and *Neospora caninum* in dairy cattle. *Vet Parasitol* 160: 51 - 54.

Obando, C.A. y Maldonado, J.A. (2011). Importancia de *Neospora caninum* en la ganadería bovina. En: *Innovación y tecnología en la ganadería doble propósito*. 428 – 439.

Ogino, H. (1992). Neosporosis in the aborted fetus and newborn calf. *J Comp Path* 6: 207–215.

Ortega-Mora, L.M.; Fernández-García, A.; y Gómez-Bautista, M. (2006). Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives. *Acta Parasitol* 5: 11–14.

Otter, A. (1995). A survey of the incidence of *Neospora caninum* infection in aborted and stillborn fetuses in England and Wales. *Vet Rec* 136: 602–606.

Pan, Y.G.; Jansen, B.; Duffield, T.F.; Hietala, S.; Kelton, D.; Lin, C.Y.; y Peregrine, A.S. (2004). Genetic susceptibility to *Neospora caninum* infection in Holstein cattle in Ontario. *J Dairy Sci* 87: 3967–3975.

Paré, J.; Thurmond, M.C.; y Hietala, S.K. (1996). Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhooood mortality. *Can J Vet Res* 60: 133–139.

Paré, J.; Thurmond, M.C.; y Hietala, S.K. (1997). *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J Parasitol* 83: 82–87.

Paré, J.; Fecteau, G.; Fortin, M.; y Marsolais, G. (1998). Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J Am Vet Med Assoc* 213: 1595–1598.

Presi, P.; Struchen, R.; Knight-Jones, T.; Scholl, S.; y Heim, D. (2011). Bovine viral diarrhoea (BVD) eradication in Switzerland--experiences of the first two years. *Prev Vet Med* 99: 112–121.

Quinn, H.E.; Ellis, J.T.; y Smith, N.C. (2002). *Neospora caninum*: a cause of immune-mediated failure of pregnancy? *Trends Parasitol* 18: 391–394.

Quintanilla-Gozalo, A.; Pereira-Bueno, J.; Tabarés, E.; Innes, A.; Gonzalez-Paniello, R.; y Ortega-Mora, L.M. (1999). Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *Int J Parasitol* 29: 1201–1208.

Quintanilla-Gozalo, A.; Pereira-Bueno, J.; Seijas-Carballedo, A.; Costas, E.; y Ortega-Mora, L.M. (2000). Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: relationship infection-abortion and gestational antibody fluctuations. *Int J Parasitol* 30: 900–906.

Riechel, M.P. y Drake, J.M. (1996). The diagnosis of *Neospora* abortions in cattle. *N Z Vet J* 44: 151–154.

Reichel, M.P. y Ellis, J.T. (2006). If control of *Neospora caninum* infection is technically feasible does it make economic sense? *Vet Parasitol* 142: 23–34.

Reichel, M. P.; McAllister, M. M.; Nasir, A; Moore, D. P. (2015). A review of *Neospora caninum* in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Vet Parasitol* 212: 75-79

Rinaldi, L.; Fusco, G.; Musella, V.; Veneziano, V.; Guarino, A.; Taddei, R.; y Cringoli, G. (2005). *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remotesensing and geographical information systems. *Vet Parasitol* 128: 219–230.

Rodriguez, A.M. (2015). Transmisión horizontal y vertical de *Neospora caninum* en tres sistemas de cría bovina, Tesis de Maestria. Universidad Nacional de Mar del Plata. 1 - 98.

Romero, J.J.; Perez, E.; Dolz, G.; y Frankena, K. (2003). The effect of the dam-calf relationship on serostatus to *Neospora caninum* on 20 Costa Rican dairy farms. *Vet Parasitol* 114: 159–171.

Sager, H.; Gloor, M.; Mörkman, C.; Kritznier, S.; y Gottstein, B. (2003). Assessment of antibody avidity in aborting cattle by a somatic *Neospora caninum* tachyzoite antigen IgG avidity ELISA. *Vet Parasitol* 112: 1–10.

Sager, H.; Hüsey, D.; Kuffer, A.; Schreve, F.; y Gottstein, B. (2005). Mise en évidence d'un de "abortion storm" (transmission transplacentaire exogène de *Neospora caninum*) dans une exploitation de vaches laitières: une première en Suisse. *Schweiz Arch Tierheilkd* 147: 113–120.

Sanderson, M.W.; Gay, J.M.; y Baszler, T.V. (2000). *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Vet Parasitol* 90: 15–24.

Schares, G.; Peters, M.; Wurm, R.; Bärwald, A.; y Conraths, F.J. (1998). The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analyzed by serological techniques. *Vet Parasitol* 80: 87–98.

Schares, G.; Rauser, M.; Zimmer, K.; Peters, M.; Wurm, R.; Dubey, J.P.; de Graaf, D.C.; Edelhofer, R.; Mertens, C.; Hess, G.; y Conraths, F.J. (1999). Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions. *J Parasitol* 85: 688–694.

Schares, G.; Rauser, M.; Söndgen, P.; Rehberg, P.; Bärwald, A.; Dubey, J.P.; Edelhofer, R.; y Conraths, F.J. (2000). Use of purified tachyzoite surface antigen p38 in an ELISA to diagnose bovine neosporosis. *Int J Parasitol* 30: 1123–1130.

Schares, G.; Heydorn, A.O.; Cüppers, A.; Conraths, F.J.; y Mehlhorn, H. (2001). *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. *Parasitol Res* 87: 808–816.

Schares, G.; Heydorn, A.O.; Cüppers, A.; Mehlhorn, H.; Geue, L.; Peters, M.; y Conraths, F.J. (2002a). In contrast to dogs, red foxes (*Vulpes vulpes*) did not shed *Neospora caninum* upon feeding of intermediate host tissues. *Parasitol Res* 88: 44–52.

Schares, G.; Bärwald, A.; Staubach, C.; Söndgen, P.; Rauser, M.; Schröder, R.; Peters, M.; Wurm, R.; Selhorst, T.; y Conraths, F.J. (2002b). p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Vet Parasitol* 106: 293–305.

Schares, G.; Bärwald, A.; Staubach, C.; Ziller, M.; Klöss, D.; Schroder, R.; Labohm, R.; Dräger, K.; Fasen, W.; Hess, R.; y Conraths, F.J. (2004). Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers. *Parasitol* 129: 301–309.

Serrano, E.; Ferre, I.; Osoro, K.; Aduriz, G.; Mateos-Sanz, A.; Martínez, A.; y Atxaerandio, R. (2006). Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers. *Vet Parasitol* 135: 197–203.

Serrano-Martínez, E.; Ferre, E.; Osoro, K.; Aduriz, G.; Mota, R.A.; y Martínez, A. (2007). Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers and cows using contaminated semen with different numbers of tachyzoites. *Theriogenology* 67: 729–737.

Späth, E.A.J.; Antonelli, D.; Moore, D.P.; Garzón López, C.; Marin, M.; Leunda, M.R.; Cano, D.; y Odeon, A.C. (2013). Factores asociados a la seroprevalencia por herpes virus bovino, virus de la diarrea viral bovina y neosporosis. En: *As Arg Vet Lab Diag*. 1.

Stenlund, S.; Kindahl, H.; Ugglå, A.; y Björkman, C. (1999). Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 85: 227–234.

Thurmond, M.C. y Hietala, S. (1995). Strategies to control *Neospora* infection in cattle. *Bov Pract* 29: 60–63.

Thurmond, M.C.; Hietala, S.K.; y Blanchard, P.C. (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* 49: 44–49.

Trees, A.J.; McAllister, M.M.; Guy, C.S.; McGarry, J.W.; Smith, R.F.; y Williams, J.L. (2002). *Neospora caninum*: oocyst challenge of pregnant cows. *Vet Parasitol* 109: 147–154.

Trees, A.J. y Williams, J.L. (2005). Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol* 21: 558–561.

Ugglå, A.; Stenlund, S.; Holmdahl, O. J. M.; Jakubek, E. B.; Thebo, P.; Kindahl, H.; Björkman, C. (1998). Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. *Int J Parasitol* 28: 1467-1472.

VanLeeuwen, J.A.; Haddad, J.P.; Dohoo, I.R.; Keefe, G.P.; Tiwari, A.; y Scott, H.M. (2010). Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in randomly sampled Canadian dairy cows and herds. *Prev vet med* 93: 129–138.

von Blumröder, D.; Stambusch, R.; Labohm, R.; Klawonn, W.; Dräger, K.; Fasen, W.; Conraths, F.J.; y Schares, G. (2006). Potential risk factors for the serological detection of *Neospora caninum*-infections in cattle in Rhineland-Palatinate (Germany). *Tierärztl Prax* 34: 141–147.

Waldner, C.L.; Janzen, E.D.; y Ribble, C.S. (1998). Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. *J Am Vet Med Assoc* 213: 685–690.

Waldner, C.L.; Henderson, J.; Wu, J.T.Y.; Breker, K.; y Chow, E.Y.W. (2001a). Reproductive performance of a cow-calf herd following a *Neospora caninum*-associated abortion epidemic. *Can Vet J* 42: 355–360.

Waldner, C.; Henderson, J.; Wu, J.; Coupland, R.; y Chow, E. (2001b). Seroprevalence of *Neospora caninum* in beef cattle in northern Alberta. *Can Vet J* 42: 1–2.

Waldner, C.L. (2005). Serological status for *N. caninum*, bovine viral diarrhoea virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. *An Reprod Sci* 90: 219–242.

Wapenaar, W.; Jenkins, M.C.; O'Handley, R.M.; y Barkema, H.W. (2006). *Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*). *J Parasitol* 92: 1270–1274.

Weston, J.F.; Williamson, N.B.; y Pomroy, W.E. (2005). Associations between pregnancy outcome and serological response to *Neospora caninum* among a group of dairy heifers. *N Z Vet J* 53: 142–148.

Weston, J.F.; Heuer, C.; y Williamson, N.B. (2012). Efficacy of a *Neospora caninum* killed tachyzoite vaccine in preventing abortion and vertical transmission in dairy cattle. *Prev vet med* 103: 136–144.

Wilkowsky, S.E.; Bareiro, G.G.; Mon, M.L.; Moore, D.P.; Caspe, G.; Campero, C.M.; Fort, M.; y Romano, M.I. (2011). An applied printing immunoassay with recombinant Nc-SAG1 for detection of antibodies to *Neospora caninum* in cattle. *J Vet Diag Invest* 23: 971–976.

Williams, D.J.L.; Guy, C.S.; McGarry, J.W.; Guy, F.; Tasker, L.; y Smith, R.F. (2000). *Neospora caninum*-associated abortion in cattle: the time of experimentally-induced parasitemia during gestation determines foetal survival. *Parasitol* 121: 347–358.

Wouda, W.; Moen, A.R.; y Schukken, Y.H. (1998). Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology* 49:1311–1316.

Wouda, W.; Bartels, C.J.M.; y Moen, A.R. (1999). Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995-1997). *Theriogenology* 52: 233–245.