

TRABAJOS ORIGINALES

EVIDENCIA SERÓLOGICA DE *NEOSPORA CANINUM* EN UN REBAÑO LECHERO DE LA ZONA CENTRAL DE CHILE

Pedro Meléndez MV* ,
Carlos Concha MV, MS* * ,
Arthur Donovan DVM, MSc* ** ,
Camilla Björkman BSc, PhD* ****

SEROLOGICAL EVIDENCE OF *NEOSPORA CANINUM* IN A DAIRY HERD FROM THE CENTRAL AREA IN CHILE

SUMMARY

Sera from ten aborted dairy cows with recent history of abortion from a Central Chile dairy farm were collected and were analysed for the presence of antibodies to Neospora caninum by an enzyme linked immunoassay (ELISA) and indirect fluorescent antibody test (IFAT). Five of the 10 sera (50%) were positive by ELISA and 2 of these positives (20%) were also positive in IFAT. The serological data in this herd showed that N. caninum infection in cattle is present in Chile.

Palabras claves: *Neospora. caninum*, serología, bovinos, Sud-América

Keywords: *Neospora caninum*, serology, cattle, South America

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un parásito protozoo que fue descrito en caninos y más tarde en otros mamíferos homeotermos tales como equinos, bovinos, caprinos y ovinos (Dubey y Lindsay, 1996). Este parásito ha sido reportado en muchos países, teniendo una amplia distribución mundial (Anderson y col., 1991; Thornton y col., 1991; Jardine y Last, 1993; Holmdahl y col., 1995). Hasta hace poco tiempo, el ciclo de vida del *N. caninum* no había sido enteramente dilucidado, habiéndose sugerido algunas especies carnívoras como huésped definitivo (Dubey y Lindsay, 1996). Solo se había establecido la ruta de transmisión vertical (transplacentaria) en bovinos, donde el protozoo tiene la habilidad de ser transmitido desde la madre a las crías por varias generaciones (Björkman y col., 1996). Sin embargo, Mc Allister y col. (1998), en Estados

* Ginecología y Obstetricia, Departamento de Fomento de la Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Casilla 2, Correo 15, Santiago, Chile
Dirección actual: P.O. Box 100136 University of Florida Gainesville, FL 32610-0136
Telephone: (352)392-4700 ext 4120
Fax: (352)392-7551
e-mail: pedro@rams.vetmed.ufl.edu

** Servicio de Medicina Animal Rural, Departamento de Ciencias Clínicas de Animales Mayores, Colegio de Medicina Veterinaria, Universidad de Florida, Gainesville, FL 32610-0136, Estados Unidos.

*** Servicio de Medicina Animal Rural, Departamento de Ciencias Clínicas de Animales Mayores, Colegio de Medicina Veterinaria, Universidad de Florida, Gainesville, FL 32610-0136, Estados Unidos.

**** Departamento de Medicina de Rumiantes y Epidemiología Veterinaria, Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas, Casilla 7019, SE-750 07 Uppsala, Suecia

Unidos, descubrieron que el perro es el huésped definitivo del *N. caninum*, el cual disemina oocistos al medio ambiente, a través de las fecas. Este es un hallazgo crucial para el control de la neosporidiosis. *Neospora caninum*, en bovinos, puede causar aborto, nacimiento de terneros muertos y anomalías neurológicas congénitas (Dubey y Lindsay, 1996). El manejo de muchas lecherías de la zona central de Chile es muy similar al que se usa en California, Estados Unidos, donde el *N. caninum* es el agente infeccioso más frecuentemente diagnosticado en los casos de aborto bovino (Anderson y col., 1991). Algunos reportes latinoamericanos han establecido infecciones por *N. caninum* en perros en Uruguay y las Islas Falkland (Barber y col., 1997). En Argentina, en la provincia de Buenos Aires, la neosporidiosis fue diagnosticada en dos fetos bovinos abortados, a través de inmunohistoquímica e histopatología (Campero y col., 1998) y en la región de la pampa, en un feto bovino abortado, a través de la técnica de inmunohistoquímica (Bartolomé y col., datos no publicados). Otros reportes de infección en Sudamérica no son conocidos.

La hipótesis de este estudio fue que las vacas abortadas de este rebaño y libres de otros agentes infecciosos que inducen aborto serían positivas serológicamente al *N. caninum*. El objetivo fue determinar evidencia serológica del *N. caninum* en vacas abortadas y libres de otros agentes infecciosos que producen aborto, en una lechería de la zona central de Chile.

MATERIALES Y MÉTODOS

En Mayo de 1996, muestras de sangre fueron recolectadas desde 10 vacas pertenecientes a un rebaño lechero estabulado y ubicado a 45 kilómetros de Santiago, Region Metropolitana. El rebaño estaba compuesto de 150 vacas en ordeña, siendo un predio libre de brucelosis. Todos los animales eran vacunados 1 a 2 veces al año contra Diarrea Viral Bovina (DVB), rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) y 5 serovares de *Leptospira*. Las vacas estaban estabuladas en un sistema de cubículos y agrupadas de acuerdo a su producción de leche, condición corporal y estado de lactancia. Ellas

eran alimentadas con una ración total completa (TMR) basada en ensilaje de maíz, alfalfa heno y concentrado. El promedio de producción de leche estandarizado era de 9.000 kg/vaca/lactancia (305 días de lactancia, madurez equivalente y 2 ordeñas). Previo al muestreo, se desencadenó un brote de abortos (tasa normal anual 2%) que durante los primeros 5 meses de 1996 alcanzó a una incidencia de 8% de las preñeces confirmadas por palpación rectal. Las vacas muestreadas, habían abortado dentro de los 4 meses previos al muestreo. Las muestras de sangre fueron obtenidas desde el plexo venoso caudal de la cola usando un sistema al vacío (vacutainer). Las muestras fueron centrifugadas a 1000 x g por 15 minutos y el suero recolectado y congelado a -20°C hasta su posterior análisis. Los sueros fueron analizados para detectar la presencia de anticuerpos contra *N. caninum* a través de un sistema ELISA (enzyme linked immunoassay) utilizando proteínas de *N. caninum* incorporadas en un complejo inmunoestimulante (iscoms) como antígeno y un anticuerpo monoclonal a IgG1 bovina como conjugado (Björkman y col., 1997). Aquellos sueros positivos al test de ELISA, fueron sometidos al test de inmunofluorescencia indirecta (IFAT), descrito por Björkman y col., (1997). Los análisis fueron realizados en la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Sueda de Ciencias Agrícolas.

Previo a este análisis, los sueros se sometieron a la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* (CardTest, Bengatest, antígeno, Rhodia Merieux), *Leptospira hardjo* (Micro Aglutinación Test) en el Laboratorio Central del Servicio Agrícola y Ganadero, Ministerio de Agricultura, Chile; DVB e IBR (seroneutralización) en el Laboratorio de Virología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los sueros dieron negativos o títulos bajos a la determinación de anticuerpos a brucelosis, leptospirosis, DVB e IBR.

Respecto a *Neospora canina*, cinco de los 10 sueros (50%) tuvieron un valor de absorbancia

sobre el nivel cut-off del sistema iscom-ELISA. Dos de estos sueros dieron también positivos cuando se analizaron a través de la prueba inmunofluorescencia indirecta (IFAT) (Tabla 1).

Estos hallazgos serológicos demostraron que algún grado de infección con *N. caninum* ha estado presente en este rebaño. Sin embargo, como se ha observado, animales clínicamente sanos pueden tener altos niveles de anticuerpos contra *N. caninum* (Paré y col., 1995; Dubey y col., 1997). La presencia de anticuerpos por sí solos es insuficiente evidencia para implicar al *N. caninum* como el agente causal del brote de aborto de este rebaño. Para establecer esta conclusión, el parásito debería ser demostrado en muestras de tejidos recolectadas desde fetos abortados y sometidas a pruebas de inmunohistoquímica (Dubey y Lindsay, 1996). Los fetos abortados lamentablemente no pudieron ser recuperados para su posterior estudio histopatológico y por lo tanto la presencia del parásito aun permanece sin prueba. Estudios adicionales se requieren para elucidar como y

cuando el parásito fue introducido al rebaño, pero a la luz del último descubrimiento, de que el perro es el huésped definitivo de este protozoo, se puede derivar que la población canina local podría haber jugado algún rol en la infección de este rebaño. Como la transmisión vertical del *N. caninum* en el ganado bovino es muy eficiente (Björkman y col., 1996; Anderson y col., 1997), el parásito puede haber permanecido y haberse diseminado en el rebaño por varias generaciones, no obstante la presencia de abortos previos y animales con defectos neurológicos congénitos no han sido reportados.

La presencia de anticuerpos al *N. caninum* en este predio lechero, implica que este parásito merece una mayor atención como una posible causa de aborto bovino en Chile y otros países de sud-américa. Además, ya habiéndose determinado el huésped definitivo del protozoo, el control de la población canina debe considerarse como una forma de manejo adicional para cortar el ciclo biológico del *N. caninum*.

CUADRO N° 1 RESULTADOS DEL ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNOASSAY) E INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA (IFAT) PARA DETECCION DE ANTICUERPOS ANTINEOSPORA CANINA EN 10 VACAS ABORTADAS DE UN REBAÑO LECHERO DE LA ZONA CENTRAL DE CHILE.					
NUMERO DE LA VACA	ELISA Valor de absorvancia	IFAT Título	Resultado en serie	Resultado en paralelo	
Vaca 1	0,589	320	Negativo	Positivo	
Vaca 2	0,287	≥1280	Positivo	Positivo	
Vaca 3	0,052	< 320	Negativo	Negativo	
Vaca 4	0,408	< 320	Negativo	Positivo	
Vaca 5	0,355	640	Positivo	Positivo	
Vaca 6	0,209	< 320	Negativo	Negativo	
Vaca 7	0,153	< 320	Negativo	Negativo	
Vaca 8	0,146	< 320	Negativo	Negativo	
Vaca 9	0,260	< 320	Negativo	Positivo	
Vaca 10	0,109	≥1280	Negativo	Positivo	
Total positivos	5	3	2	6	
Valor Cut-Off	0.250	640			

RESUMEN

En un rebaño lechero de 150 vacas de la zona central de Chile, con un aumento en la incidencia de abortos durante 1996, se realizó un estudio serológico con el fin de determinar serología positiva que podría haber estado asociada a la causa. Muestras de suero de 10 vacas con reciente historia de aborto y analizados previamente para Diarrea Viral Bovina (DVB), Leptospirosis y Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR), fueron recolectados y analizados para la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* a través de una prueba de ELISA (enzyme linked immunoassay) e inmunofluorescencia indirecta (IFAT). Cinco de los 10 sueros (50%) dieron positivos a la prueba de ELISA y 2 de éstos, también dieron positivos (20%) a la prueba de IFAT. El hallazgo serológico en este rebaño demuestra que la infección por *N. caninum* está presente en Chile.

REFERENCIAS

- Anderson, M. L., Blanchard, P. C., Barr, B. C., Dubey, J. P., Hoffman, R. L. Conrad, P. A., 1991. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 198, 241-244.
- Anderson, M. L., Reynolds, J. P., Rowe, J. D., Sverlow, K. W., Packham, A. E., Barr, B. C. Conrad, P. A., 1997. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 210, 1169-1172.
- Barber, J. S., Gasser, R. B., Ellis, J., Reichel, M. P., McMillan, D., Trees, A. J., 1997. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. J. Parasitol. 83, 1056-1058.
- Björkman, C., Holmdahl, O. J. M., Uggla, A., 1997. An indirect enzyme-linked immunoassay (ELISA) for demonstration of antibodies to *Neospora caninum* in serum and milk of cattle. Vet. Parasitol. 68, 251-26.
- Björkman, C., Johansson, O., Stenlund, S., Holmdahl, J., Uggla, A., 1996. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 208, 1441-1444.
- Campero C.M., Anderson M.L., Conosciuto G., Odriozola H., Bretschneider G., Poso M.A. 1998. *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in Argentina. Vet Rec 143, 228-229.
- Dubey, J. P., Jenkins, M. C., Adams, D. S., McAllister, M. M., Anderson-Sprecher, R., Baszler, T. V., Kwok, O. C. H., Lally, N. C., Björkman, C., Uggla, A., 1997. Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme linked immunosorbent assays. J. Parasitol. 83, 1063-1069.
- Dubey, J. P., Lindsay, D. S., 1996. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet. Parasitol. 67, 1-59.
- Holmdahl, O. J. M., Björkman, C., Uggla, A., 1995. A case of *Neospora* associated bovine abortion in Sweden. Acta Vet. Scand. 36, 279-281.
- Jardine, J. E., Last, R. D., 1993. *Neospora caninum* in aborted twin calves. J. S. Afr. vet. Ass. 64, 101-102.
- McAllister, M., Dubey J.P., Lindsay D.S., Jolley W.R., Wills R.A., McGuire A.M. 1998. Dogs as the definitive host of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol 28:1473-1479.
- Paré, J., Hietala, S. K., Thurmond, M. C., 1995. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 7, 273-275.
- Thornton, R. N., Thompson, E. J., Dubey, J. P., 1991. *Neospora* abortion in New Zealand cattle. N. Z. Vet. J. 39, 129-133.

Agradecimientos

Este estudio fue financiado por el Swedish Council for Forestry and Agricultural Research