

PRIMER REPORTE SEROLÓGICO DE LA NEOSPOROSIS BOVINA (*Neospora caninum*) EN PANAMÁ. 2002 - 2004.

**FIRST SEROLOGICAL REPORT OF THE BOVINE NEOSPOROSIS
(*Neospora caninum*) IN PANAMA. 2002-2004.**

Marcelino Jaén T.¹; Ginnette Rodríguez ²; Víctor E. Vega B.³

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un protozoario de la familia Sarcocystidae con estructura similar al *Toxoplasma gondii*, pero son diferentes antigénica y ultraestructuralmente. Produce una infección natural en perros y bovinos; se ha reportado en caballos, ovejas, cabras y venados.

El perro es el huésped intermediario o transmisor y definitivo de *N. caninum* (McAllister y col., 1998); la infección es fatal, afecta todas las edades y se caracteriza por parálisis severa y progresiva (Morales, 1996; Moore y col., 2001). A partir de este descubrimiento el ciclo de vida de este parásito se conoce mejor en el medio ambiente. En los bovinos, la principal vía de transmisión es de madre a hijo a través de la placenta (transmisión vertical) (Sager, 2001) y es importante en la subsistencia de la infección dentro de un hato (Cottrino, 2004; Morales, 1996).

Por otro lado, la transmisión horizontal, aunque menos documentada, ha sido descrita por Anderson (2000), quien confirmó la presencia de abortos por la ingestión de alimento contaminado con ooquistes en heces provenientes de perros; además, existe un estudio, realizado en Costa Rica, donde se evidencia la posibilidad de que la transmisión horizontal ocurra (Romero, 2003).

N. caninum es una de las principales causas de aborto del ganado bovino alrededor del mundo, el cual puede ocurrir a partir de los tres meses hasta los

¹ M. V., M.Sc. Enfermedades Veterinarias Tropicales. IDIAP. Centro de Investigación Agropecuaria Central. e-mail: mjaen@yahoo.es

² M.V. IDIAP. Centro de Investigación Agropecuaria Central (CIA - Central).

³ M.V. MIDA. Laboratorio Regional de Salud Animal, División.

nueve meses de gestación, pero se presenta con mayor frecuencia entre el cuarto y sexto mes. Además, se asocia con parálisis neonatal y encefalomielitosis. La reabsorción embrionaria, momificación y autólisis de fetos es un hallazgo clínico importante; sin embargo, algunos nacen muertos y aquellos que nacen vivos pueden presentar parálisis o ser clínicamente sanos y persistentemente infectados (Dubey, 1999). Además, se ha comprobado que una vaca que aborta por *N. caninum* puede volver a abortar en gestaciones subsecuentes (Morales, 1996; Calzada y col., 2002; Cotrino y col., 2004; Quirós, 1997).

En bovinos, para reconocer casos de abortos asociados a *N. caninum*, se han utilizado métodos convencionales de diagnóstico directo como el cultivo celular, histopatología y la inmunohistoquímica; sin embargo, la técnica de ampliación en cadena de la polímera (PCR) es más sensible y específica. Por otro lado, la inmunofluorescencia indirecta y las técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) son métodos indirectos de diagnóstico en ganado adulto y en fetos abortados (Sager, 2001). Además, estas últimas se han utilizado para estudios de seroprevalencia (Morales, 1996). Por su parte, Moore (2001) indica que la prueba de ELISA ha sido ampliamente utilizada en serodiagnóstico de *N. caninum*.

La facilidad para procesar un gran número de muestras, la obtención de una sensibilidad y especificidad superior a las obtenidas con inmunofluorescencia indirecta (IFI), hacen confiable esta prueba.

Por otro lado, Morales (1996) cita a varios autores, los cuales indican que existe una alta antigenicidad cruzada entre *N. caninum* y otras especies de *Neospora* provenientes del ganado y, por el contrario, no hay antigenicidad cruzada con respecto a otros protozoarios como *T. gondi* y *H. hammondi*. Por lo tanto, las pruebas serológicas son de gran utilidad para el diagnóstico, utilizando anticuerpos anti-*N. caninum*. No obstante, existen otros reportes que indican la presencia de reacción cruzada de *T. gondi* con *N. caninum* (Uggla y col., 1987, citado por Moore, 2001; Di Lorenzo y col., 2000).

La neosporosis bovina ha sido reportada en muchos países, aunque existen diferencias del impacto que causa en la salud y productividad de las explotaciones bovinas, posee un importante efecto económico como consecuencia de los abortos, de la muerte fetal temprana, repetición de celo, por incremento del intervalo parto-concepción, muerte neonatal, incremento en el descarte de vacas y por la baja pro-

ducción de leche que puede representar una reducción del 4% en la primera lactancia (Cotrino y col., 2004; Morales, 1996; Moore y col., 2001). Por otro lado, Moore y col. (2001) indican que en Inglaterra las pérdidas económicas por aborto causadas por *N. caninum* son de 4.8 millones de dólares anuales. En Australia, se reportan 85 y 25 millones de dólares anuales en la industria de leche y carne, respectivamente. Además, en California y en Argentina, se calculan pérdidas 35 y 80 millones de dólares por año.

Por su parte, Sager (2001) menciona que muchos países reportan abortos con un rango de prevalencia menor al 2% en África y mayor al 40% en Estados Unidos. Por otro lado, Moore (2001) indica que en América, la prevalencia fluctúa con un rango de 15 a 72% en bovinos, con 100% en fincas con reportes de abortos.

En Panamá, no hay reportes serológicos de *N. caninum* en bovinos, así como la confirmación de esta enfermedad. En este sentido, se justificó realizar un estudio preliminar en bovinos del sistema de cría y leche especializada de zonas bajas, localizadas en diferentes zonas de vida con el objetivo de determinar la respuesta serológica (IgG) en bovinos de estos sistemas y establecer bases técnicas para realizar otros estudios.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló en tres regiones de Panamá: Oriental (Chepo), Central (Veraguas, Herrera, Los Santos y Coclé) y Occidental (Chiriquí). Las fincas se localizaron en las zonas de vida de Bosque Húmedo Tropical, Bosque muy Húmedo Tropical, Bosque Seco Tropical, Bosque Seco Premontano, Bosque Húmedo Premontano y Bosque muy Húmedo Premontano (Atlas Geográfico Nacional de Panamá, 1975).

De acuerdo a la disposición de los ganaderos a colaborar en el estudio, se escogieron, entre septiembre de 2002 y junio de 2004, 10 fincas con el sistema de cría y 12 fincas con el sistema de lechería especializada de zonas bajas, éstas últimas localizadas principalmente en el Arco Seco del país.

En cada finca se realizó un muestreo aleatorio simple a novillas mayores de 24 meses y vacas en diferentes estados fisiológicos y de producción. Se reportaron razas *Bos taurus* así como Holstein y Pardo Suizo; además, mestizos *Bos indicus*.

A cada bovino se le extrajo una muestra sanguínea mediante punción con agujas en la vena yugular, vertiendo la sangre en tubos

“vacutainer” de 10 ml sin anticoagulante; éstas se trasladaron al Laboratorio Regional de Salud Animal del MIDA en Divisa, donde se extrajo el suero mediante centrifugación. Posteriormente, se almacenaron en condiciones de congelación en un banco de sueros hasta su procesamiento; recolectando un total de 150 y 286 sueros sanguíneos de bovinos de cría y leche, respectivamente.

Se utilizó la prueba inmunoenzimática (ELISA indirecta), según protocolo metodológico y sueros controles, antígeno, conjugado y reactivos del HerdChek Anti-Neospora de IDEXX Laboratories, Inc. “Kit” No. 44000-2435 y 09566-607JY. La lectura de la prueba se realizó con un Espectrofotómetro Stat-fax-2200 de Awareness Technology, Inc. Se utilizó una densidad óptica de 620 nm. La dilución utilizada en los sueros controles y problemas fue de 1/100. La sensibilidad de esta prueba de ELISA indirecta contra anticuerpos (IgG) de *N. caninum* es de 100%, con una especificidad de 98.5% (Sayd, 2004). Según el protocolo, se considera una muestra sanguínea positiva si el valor de la densidad óptica (DO) corregida es mayor o igual a 0.50 y con valores corregidos menores de 0.50 se consideran negativos.

La tasa de prevalencia punto se calculó con el número de bovinos y finca, mediante la fórmula De Graff T. (1998):

$$P = a/(a+b)$$

P = Tasa de prevalencia punto.

a = Número de bovinos seropositivos en un tiempo dado.

b = Número de bovinos seropositivos y seronegativos en ese mismo periodo de tiempo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La seroprevalencia en bovinos de ambos sistemas de producción fue de 9.40% y, por finca, de 68.18%. El 70% de las fincas de cría y el 66.66% de las fincas de leche fueron seropositivas a *N. caninum*. Se reporta en bovinos de cría un 8.66%, con un rango de seropositivos de 6.7 a 27.3% y, en el sistema de leche un 9.79% con un rango de 8.0 a 29.41% (Cuadros 1 y 2). La diferencia en ambos sistemas fue de 1.13%. La seroprevalencia encontrada en bovinos no supera el 9.40% y el 70% por finca en ambos sistemas de producción; no obstante, estos resultados sugieren que este protozoario puede estar circulando en las fincas y concuerda con reportes que indican que *N. caninum* afecta tanto razas de leche como de carne en todos los sistemas de producción (Moore y col., 2001; Quirós, 1997).

Por otro lado, reportes de los países fronterizos a Panamá, indican diferencias en la prevalencia con este estudio. En ese sentido,

CUADRO 1. PREVALENCIA DE ANTICUERPOS (IgG) CONTRA *Neospora caninum* POR FINCAS DEL SISTEMA CRÍA Y DE LECHE ESPECIALIZADA DE ZONAS BAJAS EN PANAMÁ.

Sistema de Producción	Número Fincas	Fincas Positivas	Porcentaje Prevalencia
Cría	10	7	70.00
Leche	12	8	66.66
Total	22	15	68.18

CUADRO 2. SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS (IgG) CONTRA *Neospora caninum* EN MUESTRAS DE SUERO SANGUÍNEO DE BOVINOS DEL SISTEMA CRÍA Y DE LECHE ESPECIALIZADA DE ZONAS BAJAS EN PANAMÁ.

Sistema de Producción	Número muestras de Suero	Sueros Positivos	Porcentaje Prevalencia	% Rango prevalencia
Cría	150	13	8.66	6.7 a 27.30
Leche	286	28	9.79	8.0 a 29.41
Total	436	41	9.40	6.7 a 29.41

Zambrano (2003) en Colombia, mediante un ELISA indirecto analizaron 357 sueros sanguíneos de 74 hatos con problemas reproductivos y reportaron un 54% de seroprevalencia.

También difiere en dos estudios en Costa Rica, uno en 570 vacas lecheras, donde la prevalencia a *N. caninum* fue de 34.7%, siendo el único agente asociado a los abortos (González, 1998), y otro realizado por Romero (2000) en la zona del Volcán Poas, el cual reportó 30 fincas de leche positivas y de un 15 a 45% de vacas seropositivas. No obstante, los resultados de este trabajo, se encuentra en el rango de los estudios citados por Moore (2001) en varios países de América. En este sentido, se indica el estudio realizado en ocho fincas de Argentina que encontró de un

15 a 27.5% de prevalencia en 320 bovinos de leche; y uno en Canadá, que reporta un rango de prevalencia de 16 a 27% en ocho fincas de cría y otro realizado en cinco estados del Noroeste de los Estados Unidos en 55 fincas de cría, donde hubo un 100% de positivas con una seroprevalencia de 24% en 2,586 bovinos. En este último estudio se utilizó un ELISA de inhibición competitiva.

Aunque en Panamá no se ha confirmado la presencia de este protozoario mediante técnicas celulares y moleculares (Sager, 2001), la seroprevalencia baja a moderada (6.7 a 29.41%) supone que puede haber un estado serológico enzoótico en algunas de estas fincas. En

ese sentido, Moore (2001) menciona que el comportamiento enzoótico que tiene la enfermedad podría reflejar la transmisión postnatal en bovinos de una finca libre o la persistencia de *N. caninum*, a través de generaciones sucesivas en forma vertical y que la manifestación epizootica de la enfermedad está asociada a la presencia de abortos.

Se encontró respuesta serológica en bovinos de las fincas que reportaron problemas reproductivos, tales como abortos, infertilidad, mortinatos y terneros nacidos débiles entre otras. No obstante, es importante indicar que esta información se basa en observaciones realizadas por los finqueros y no por un sistema de registros que podrían verificar con más exactitud la presencia o no de los problemas, principalmente los abortos.

En este sentido, en las fincas de cría con y sin estos problemas repro-

ductivos, se encontró una seroprevalencia de 16.07 y 4.25%, respectivamente. En el sistema leche, la prevalencia fue de 10.41 y 8.51% en fincas con y sin problemas reproductivos, respectivamente (Cuadro 3). Estos resultados sugieren una mayor prevalencia en fincas con problemas reproductivos. Es probable que bajo determinadas condiciones de las fincas y de manejo de los bovinos, así como factores de riesgo, tales como presencia de perros que contaminan alimentos y agua de bebida, el consumo de micotoxinas en el alimento y la infección simultánea con el virus de la diarrea viral bovina que causa inmunosupresión, podrían actuar como factores desencadenantes del aborto a *N. caninum* en una finca enzoóticamente infectada (Bartels, 1999; Moore, 2001).

Por último, en Panamá no hay reportes del diagnóstico molecular y celular de casos en fetos bovinos de

CUADRO 3. SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA (IgG) CONTRA *Neospora caninum* EN MUESTRAS DE SUERO SANGUÍNEO DE BOVINOS EN FINCAS DEL SISTEMA CRÍA Y DE LECHE REPORTADAS CON Y SIN PROBLEMAS REPRODUCTIVOS.

Sistema de Producción	Número Fincas	Total Muestras	Muestras Positivas	Porcentaje de Prevalencia
CRÍA				
Con problemas reproductivos	6	56	9	16.07
Sin problemas reproductivos	4	94	4	4.25
Total	10	150	13	8.66
LECHERIA				
Con problemas reproductivos	7	192	20	10.41
Sin problemas reproductivos	5	94	8	8.51
Total	12	286	28	9.79

N. caninum que permitiría confirmar la presencia de la enfermedad. Sin embargo, el estudio serológico (IgG) contra ***N. caninum*** realizado en bovinos de fincas del sistema de cría y de leche permiten sugerir que este protozooario puede estar circulando en los hatos y probablemente cause una baja eficiencia reproductiva en estos sistemas.

Se concluye que hubo respuesta serológica (IgG) contra ***N. caninum***, de baja a moderada prevalencia en bovinos y por fincas de los sistemas de producción de cría y leche.

Se recomienda ampliar los estudios epidemiológicos por sistema de producción, raza, edad, estados fisiológicos, para así implementar las medidas adecuadas de prevención y control. Además, es imprescindible lograr el aislamiento de fetos con ***N. caninum*** y así confirmar su presencia en el país. Se considera la Neosporosis bovina como una enfermedad emergente y es el primer reporte de la presencia serológica en la República de Panamá.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, B.C. 2000. Contamination of feed stuff caused by farm dogs. J.Am. Med.Assoc. 17:1294.
- ATLAS NACIONAL DE PANAMÁ. 1975. Instituto Geográfico Nacional Tommy Guardia. Mapa Ecológico, Lámina número 27. Panamá.
- CALZADA, P.C.; MORALES, E.S.; QUIROZ-ROCHA, G.F.; SALMERON, F.S.; GARCÍA, C.O.; HERNÁNDEZ, J.B. 2002. Valores hematológicos en vacas de raza Holstein-Friesian seropositivas a ***Neospora caninum*** de la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo, México. Veterinaria México 33 (2): 119-124.
- COTRINO, V.B.; GAVIRIA, B.C.s.f. Neosporosis: Enfermedad Emergente. Consultado el 12 de julio de 2004. <http://lmv/tda.com/programas/11.html>.
- DE GRAAF, T. 1998. Curso de Epidemiología: Curso de perfeccionamiento Internacional. Encuestas epidemiológicas como base de planificación para programas de sanidad animal. Centro de Fomento de la Alimentación y la Agricultura (ZEL) de la Fundación Alemana para el Desarrollo Internacional (DSE), Feldafing República Federal de Alemania.
- DILORENZO, C.; UNZAGA, J.M; VENTURINI, M.C.; VENTURINI, L. 2000. Laboratorio de Inmunoparasitología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Memorias XVII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Panamá. p. 255.

- DUBEY, J.P. 1999. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.* 84: 249-367.
- GONZÁLEZ, O. 1998. Estudio epidemiológico de los factores asociados al aborto en explotaciones lecheras del Bosque Tropical Nuboso de Costa Rica. Resúmenes XLI Reunión Anual PCCMCA, Nicaragua. p. 210.
- IDDEXX LABORATORIES INC. Herd-Chek: Anti-*Neospora*. Kit para la detección de anticuerpos contra *Neospora caninum*. pp. 10-12.
- McALLISTER, M.M.; DUBEY J.P.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY W.R.; WILLS, R.A.; McGUIRE, A.M. 1998. Dogs are definitive host of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* 287: 1473-1478.
- MORALES, E.S. 1996. Neosporosis. *En* Control de enfermedades parasitarias en el ganado bovino. División de Educación continua. Departamento de Parasitología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 59-70.
- MOORE, D.P.; ODEÓN, A.C.; CAMPEIRO, C.M. 2001. Neosporosis. *Veterinaria Argentina* 8 (180):752-775.
- QUIROS, M.A. 1997. Abortos por Neosporosis bovina. *Memorias del curso Avances en farmacología aplicada en la clínica bovina.* (eds). H. Sumano L., E. Posada L. y L. Ocampo C. Colegio de Médicos Veterinarios Zootecnistas de México, D.F. y Laboratorios Brovel Veterinaria. México, D.F. pp. 143-146.
- ROMERO, J. J.; DOLZ, G.; PÉREZ, E.G. 2000. Neosporosis (*N. caninum*): Nuevos conceptos y una descripción preliminar de su situación en Costa Rica. *Memorias XVII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias.* Panamá. p. 102.
- ROMERO, J.J. 2003. Neosporosis bovina (*Neospora caninum*): Estrategias para su prevención y control. *Boletín de Parasitología.* Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Julio/Septiembre. Volumen 4. No. 3.
- SAGER, H.; FISHER, I.; FURRER, K.; STRASSER, M.; WALDVOGEL, A.; BOERLIN, P.; AUDIGÉ, L.; GOTTSTEIN, B. 2001. A swiss case-control study to assess *Neospora caninum* - associated bovine abortions by PCR histopathology and serology. *Veterinary Parasitology* 102: 1-15.
- ZAMBRANO, J. L.; COTRINO, V. B.; JIMÉNEZ, C.E.; ROMERO, M.; GUERRERO, B. Evaluación serológica de *Neospora caninum* en bovinos en Colombia. Con sultado el 27 de agosto de 2003. <http://www.encolombia.com/veterinaria/acovez26101evaluacion.htm>