

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

**Evaluación del Efecto del Uso de la Vacuna (Bovilis®Neoguard)
en la Reducción de la Tasa de Abortos en Cuatro Haciendas de la
Sierra Ecuatoriana**

Sonia Carolina Sáenz Aguirre

Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de: Médico
Veterinario

Quito, mayo de 2008

Universidad San Francisco de Quito

**Colegio de Ciencias de la Salud Programa de Medicina
Veterinaria**

HOJA DE APROBACION DE TESIS

**Título de la Tesis: Evaluación del Uso de la Vacuna®Bovilis
Neoguard en la Reducción de la Tasa de Abortos en Cuatro
Haciendas de la Sierra Ecuatoriana**

Sonia Carolina Sáenz Aguirre

Dr. Fernando Salas D.
Director de la Tesis

.....

Dr. Luis Vasco C.
Miembro del Comité

.....

Dr. Lenin Vinuesa S.
Miembro del Comité

.....

Dra. Luz María Granados V.
Miembro del Comité

.....

Dr. Luis Donoso P.
Decano del Programa de
Medicina Veterinaria

.....

Quito, mayo de 2008

© **Derechos del autor**
Sonia Carolina Sáenz Aguirre
2008

Dedicatoria

Este trabajo, se lo dedico a mis tres hijos, que son mi razón de vivir: Analía, Teo y la bebe, por toda la paciencia y comprensión que tuvieron conmigo. Son ellos quienes me impulsaron e inspiraron a la culminación de esta etapa tan esperada en mi vida.

Agradecimiento

Mas allá del esfuerzo propio y de largas horas de investigación, quiero agradecer: a los propietarios de las Haciendas: Zuleta, San José, Ishigto y La Fontana, por su entera colaboración al facilitar la información necesaria para la realización de esta tesis, a los administradores y trabajadores de cada una de estas haciendas por brindarme todo el soporte requerido. A mi director de Tesis el Dr. Fernando Salas por el apoyo incondicional que me ofreció en todo momento y finalmente al Dr. Lenin Vinueza y demás miembros del comité, quienes fueron fuente de valiosa información y guía a lo largo de la elaboración del presente proyecto.

Resumen

La Neosporosis ha sido descrita hace poco más de una década y, en la actualidad es considerada como una de las principales causas de aborto y mortalidad neonatal en el ganado vacuno lechero en diversos países (Dubey, 2003b). El agente etiológico es el parásito *Neospora caninum* (Thurmond *et al*, 1999b) La Neosporosis es una enfermedad relativamente nueva en el Ecuador, no existe mucha información acerca de esta parasitosis. Un estudio realizado en el año 2004, comprobó la presencia del *Neospora caninum* en varias haciendas de la Sierra ecuatoriana (Lozada, 2004). Los problemas infecciosos que interrumpen la gestación ocasionan cuantiosas pérdidas a los hatos lecheros (Rivera, 2001).

El objetivo de este estudio fue evaluar estadísticamente si los cambios registrados en la tasa de abortos después de la utilización de la vacuna Bovilis®NeoGuard, son significativos con respecto a datos anteriores provenientes de las mismas haciendas.

Para esto se eligió a cuatro haciendas de la Sierra ecuatoriana en las que se ha realizado pruebas de inmunofluorescencia y ELISA (Vetelab), para la comprobación de la presencia del parásito y la enfermedad. El número de animales que entró en el estudio fue de 913 sin vacuna y 2518 con vacuna.

Los datos fueron tabulados por medio del test ji 2, el resultado total que se obtuvo fue de $\chi^2 = 10,96$ con $p < 0.001$, lo que quiere decir que el efecto de la vacuna fue significativo en la reducción de los abortos. Sin embargo no se elimina por completo el problema y sigue existiendo abortos; resultado que se puede atribuir a que existen otros factores no asociados a la Neosporosis. En el análisis individual por hacienda los resultados muestran una versatilidad; en tres de las cuatro haciendas que entraron en el estudio no hubo cambios significativos en la reducción de los abortos, a excepción de la Hda Zuleta en la que, el efecto de la vacuna influyó significativamente reduciendo el número de abortos. En lo referente a los resultados de la tasa de protección de la vacuna a los abortos: se obtuvo un 44.78 % de protección contra los abortos. En el análisis de correlación que se realizó de los abortos después de la vacunación a la hacienda Zuleta, se encontró que no existe asociación entre las variables edad de la vaca y etapa de gestación.

Como conclusión de este estudio podemos señalar, que la vacuna puede dar un cambio significativo en la disminución de la tasa de abortos, dependiendo de las haciendas y de los factores particulares que influyen sobre ellas. El éxito consiste en conocer el modo de acción de la vacuna y que es una medida de inmunoprolifaxis y no medida curativa. También es importante tener controladas otras variables que pueden influir en la tasa de abortos y así obtener mejores resultados.

Palabras clave: *Neospora caninum*; Neosporosis; ganado lechero; abortos, vacuna.

Abstract

Neosporosis has been described a little over one decade and, actually is considered us one of the principal causes of abortion and neonatal mortality of dairy cattle in many countries (Dubey, 2003b). The etiological agent is the *Neospora caninum* parasite (Thurmond *et al*, 1999b). Neosporosis is a relatively new sickness in Ecuador, there is not much information about this parasitism. A studio accomplished in 2004 verified the presence of the *Neospora caninum* in various farms of the Ecuadorian highlands (Lozada, 2004). The infectious problems that interrupt gestation cause large losses among the dairy cattle (Rivera, 2001).

The objective of this studio was to evaluate statistically if the changes registered in the rate of abortions after the use of the Bovilis®NeoGuard vaccine were significant with respect to previous information obtained from the same cattle farms.

For this studio there were elected four farms in the Ecuadorian highlands in which were accomplish tests of immunochemistry and ELISA (Vetelab), to check the presence of the parasite and the disease. The number of animals studied was 913 without vaccine and 2518 vaccinated.

The data was tabulated by the ji 2 test; the total result obtain was = 10.96 with $p < 0.001$ which means that the effect of the vaccine was significant. Nevertheless the problem is not completely eliminated and abortions still subsist; result that can be attributed to the existence of other factors not associated to the Neosporosis. In the individual analysis of the farms, the results show versatility; in three of the four farms that were considered in the studio there were no significant changes, except in the Zuleta farm in which the effect of the vaccine influenced significantly reducing the number of abortions. With reference to the results of the protection rate of the vaccine it was obtained a 44.78% of abortions. In the analysis of the correlation realized of abortions after vaccination at Zuleta farm, it was determined that there is not an association between the variables age of the cow and gestation stage.

As a conclusion of this studio we can point out that the vaccine may give a significant change in the decrease of the abortion rate depending on the farms and the particular factors influencing over them. The success of the vaccine consists in the knowledge of its manner of action and that it is a way of inmunoprofilaxis and not a healing measure. It is also important to have controlled other variables that may influence the abortion rate in order to obtain better results.

Keywords: *Neospora caninum*; Neosporosis; Dairy cattle; Abortion; Vaccine.

TABLA DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	3
1. <i>Neospora caninum</i>, características generales	3
1.1. Estructura y Ciclo Biológico	4
1.2. Hospedadores	
1.3. Inmunidad contra <i>Neospora caninum</i>	6
1.4. Interacción Hospedador- Parasito	8
2. Neosporosis Bovina.....	9
2.1. Prevalencia	9
2.2. Transmisión	11
2.3. Patogénesis del Aborto.....	12
2.4. Epidemiología	14
2.5. Signos Clínicos	14
2.6. Lesiones	16
2.7. Diagnóstico	16
2.8. Impacto Económico	19
2.9. Control y Prevención.....	20
2.10. Tratamiento.....	22
3. Neosporosis en el Ecuador	23
III. METODOLOGIA	24
1. Materiales y Métodos	24
IV. RESULTADOS	26

V. DISCUSIÓN.....	29
VI. CONCLUSIONES.....	35
VII. RECOMENDACIONES.....	37

LISTA TABLAS

Tabla 1: Seroprevalencia en varios países.....	10
Tabla 2: Descripción del numero de vacas entre abortos y no abortos antes de la vacunación con Bovilis®NeoGuard.....	25
Tabla3: Descripción del numero de vacas entre abortos y no abortos después de la vacunación con Bovilis®NeoGuard.....	25
Tabla 4: Resultados del test Ji 2.....	26
Tabla 5: Resultados del porcentaje de protección de la vacuna al aborto en el total de las muestras.....	27
Tabla 6: Rangos de la edad gestacional, en la que se producen los abortos en diferentes enfermedades abortigénicas.....	33

LISTA GRAFICOS

Grafico 1: Correlación entre edad de la vaca y etapa de gestación de la Hacienda Zuleta.....	28
Grafico 2: Porcentajes de abortos con y sin vacuna.....	32

I. Introducción

La Neosporosis bovina es una enfermedad parasitaria abortigénica causada por *Neospora caninum* (Hemphill *et al*, 1999). Esta enfermedad se encuentra distribuida en todos los países del mundo (Moore *et al*, 2000) incluyendo el nuestro (Lozada, 2004).

La Neosporosis ha sido descrita hace poco más de una década y, en la actualidad es considerada como una de las principales causas de aborto y mortalidad neonatal en el ganado vacuno lechero en diversos países (Dubey, 2003b).

Este parásito, además de estar relacionado con abortos, produce reabsorciones fetales, productos a término con deformaciones (Dubey, 2003b). Los problemas infecciosos que interrumpen la gestación ocasionan cuantiosas pérdidas en los hatos lecheros, pérdidas económicas por reducción en la producción de leche y el incremento de la tasa de mortalidad y descarte (Trees *et al*, 1999).

La importancia de esta enfermedad llevó a especialistas al desarrollo de una vacuna contra el *Neospora caninum*. Las primeras pruebas de campo fueron en Costa Rica y Nueva Zelanda. (Purtle *et al*, 2001). En estas pruebas se pretendían comprobar la reducción de la tasa de aborto en granjas en las que se había comprobado la presencia del parásito. Muñoz *et al*, (2004) encontraron resultados muy alentadores; en Costa Rica se comprobó una disminución marcada del 46.2 % de los abortos, en comparación con el grupo control. Y en Nueva Zelanda se evidencio un efecto protector de la vacunación con un nivel de eficacia de 54 %.

Los primeros trabajos en nuestro país referidos a esta enfermedad abortigénica, permitieron determinar la preocupante tasa de seroactividad, en vacas con antecedentes de abortos y /o reabsorciones fetales de un 72,44%. (Lozada, 2004).

Este trabajo tiene por objeto evaluar si la utilización de la vacuna Bovilis®NeoGuard contra *Neospora caninum* redujo el porcentaje de abortos en el ganado bovino en cuatro haciendas de la Sierra ecuatoriana.

II. Revisión de la Literatura

1. *Neospora caninum*, características generales

El *Neospora caninum* es un parásito protozoo, del phylum Apicomplexa, clase Sporozoea, subclase Coccidia, orden Eucoccidia, suborden Eimeriina, familia Sarcocystidae, a la que también pertenecen los géneros: *Toxoplasma*, *Sarcocystis* y *Hammondia* (Radostis *et al*, 2002; Dubey, 2003b). La infección producida por el *Neospora caninum* se denomina Neosporosis bovina, también se le conoce como Neosporosis abortiva bovina y Neosporosis fetal bovina. Este parásito vive en el interior de las células del hospedador obligatoriamente. Es capaz de producir parálisis ascendente, con una contracción rígida de los músculos de una o ambas extremidades pélvicas. Puede afectar también otros órganos como: hígado, pulmones, cerebro, medula espinal, corazón, membranas fetales, placenta músculo y diferentes tipos de células incluyendo los macrófagos (Dubey *et al*, 2007e).

El *Neospora caninum* tiene poca o ninguna especificidad por la célula huésped y es capaz de invadir un amplio rango de células nucleadas en diferentes especies de animales de sangre caliente como: caninos, bovinos, ciervos, caprinos, ovinos, equinos y otros. (Dubey, 2003b).

Se reconoció por primera vez en 1984, en el continente europeo; en Noruega (Bjerkas *et al*, 1984), en cerebro y músculo de perros afectados por encefalopatía.

En Estados Unidos, en el año de 1988, se aisló un parásito diferente al *Toxoplasma Gondii*, en 10 perros que sufrían de alteraciones neuromusculares. La Neosporosis bovina, fue asociada con el aborto bovino, por primera vez en Nuevo México en el año de 1987 (Anderson *et al*, 2000). En 1993 se consiguió el

primer aislamiento procedente de un feto abortado (Conrad et al, 1993). Posteriormente se logró la reproducción de la muerte fetal en vacas gestantes inoculadas experimentalmente (Barr et al, 1994).

El *Neospora Caninum* es de distribución mundial, se ha diagnosticado en muchos países de los 6 continentes y es mas prevalente en Norte América (Anderson et al, 2000).

1.1. Estructura y Ciclo Biológico

El ciclo de vida del parasito comprende: una fase sexual, en el intestino de los hospedadores definitivos como: el perro (Dubey, 2003b) y el coyote (Gondim et al, 2004), y una fase asexual en los hospedadores intermediarios como: bovinos, equinos, ovinos, ciervos, bufados, perros (Dubey, 1999 a).

El *Neospora Caninum* es un parásito obligatoriamente intracelular, ha sido detectado en una gran variedad de hospedadores. Tiene poca o ninguna especificidad celular del hospedador puede encontrarse en varias células nucleadas (Hemphill et al, 1999).

Comprende tres estadios principalmente: taquizoitos, quistes tisulares y oocystos (Dubey, 2003b).

Los taquizoitos se localizan en el hospedador intermediario. Se caracterizan por tener una forma ovoide semilunar o globular dependiendo de la etapa de división en la que se encuentren. Miden aproximadamente 6 x 2µm (Dubey, 2003b) y se los puede encontrar en células nerviosas, fibroblastos, hepatocitos, endotelio vascular, células de los túbulos renales, en donde normalmente se dividen (<http://www.vet-uy.com>).

Los quistes tisulares tienen forma ovalada. Miden aproximadamente 107 μm y se encuentran en el hospedador intermediario, en el sistema nervioso central y la retina, en el interior de los quistes tisulares se encuentran unas estructuras denominadas, bradizoitos, que miden 7-8 x 2 μm , los quistes en su interior pueden contener hasta 200 bradizoitos y pueden reactivarse cuando se deteriora la inmunidad celular (Dubey, 2003b). Los quistes tisulares pueden permanecer dentro del hospedador infectado por varios años sin presentar ninguna manifestación clínica (Hemphill *et al*, 1999).

Los oocystos tienen forma subesférica con un diámetro aproximadamente de 10-11 μm . Se encuentran en el intestino del hospedador definitivo y son excretados por las heces. Son morfológicamente similares a oocystos de *T. Gondii* y *Hammondi*, por lo que existen varios diagnósticos equívocos (Hemphill *et al*, 1999).

Los hospedadores definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos de hospedadores intermediarios, conteniendo quistes tisulares. La pared del quiste es degradada por los jugos gástricos liberando formas parasitarias que inician los estados entero-epiteliales dando paso a los oocystos. Luego de realizar una fase de reproducción sexual en el intestino, los oocystos son eliminados por las heces del perro (Dubey, 2003b), a los 8 a 27 días post infestación, en el medio ambiente los oocystos esporulan; siendo efectivos a las 24hs después de su eliminación, estos ingresan al hospedador intermediario, por vía oral (Campero, 2002).

Dando paso a la siguiente fase, una fase asexual, con la formación de quistes tisulares y taquizoitos. Los taquizoitos se proliferan por endogénesis produciendo varios cientos de nuevos parásitos en unos pocos días post

infección, penetran activamente en las células del huésped. (Hemphill et al, 1999). Estos son capaces de alcanzar las vías sanguíneas y linfáticas hasta llegar a todos los tejidos; con preferencia el sistema nervioso central, placenta y tejidos musculares (Dubey, 1999a). Los taquizoitos forman un pseudo quiste que luego libera taquizoitos infectantes para las células vecinas. Los taquizoitos se encuentran en muchos tejidos de terneros infestados congénitamente y se relacionan con las lesiones microscópicas (Gottstein, 2001).

Los tejidos infestados por el parasito son ingeridos por caninos, con lo cual van a cerrar el ciclo biológico del parasito, con la formación de nuevos oocistos.

1.2. Hospedadores

Los perros son los hospedadores definitivos del parásito (Wounda et al, 2000b). Además de los perros, otros caninos han sido considerados potenciales hospedadores definitivos. Se han encontrado anticuerpos de *N. caninum* en coyotes norteamericanos (*Canis latrans*), zorros rojos británicos (*Vulpes vulpes*), dingos australianos (*Canis familiares dingo*) (Gondim et al, 2004).

En Texas (Barling et al, 2000) se realizo un estudio en el que se encontró, una asociación muy estrecha entre la densidad del ganado seropositivo, con la abundancia de coyotes y zorros grises (*Urocyon cinereargenteus*) (Gondim et al, 2004).

1.3. Inmunidad contra *Neospora caninum*

Existe inmunidad deficiente en la transmisión vertical. Como el *Neospora caninum* es obligatoriamente intracelular, la inmunidad está mediada por linfocitos T (CMI), por el tipo 1 citoquina interferón gamma (IFN- γ) (Guy et al, 2001).

La función de la inmunidad mediada por células se puso en evidencia en estudios *in Vitro* que demostraron que el (IFN- γ) inhibe la multiplicación de los taquizoitos en las células bovinas. Y en estudios *in vivo* en ratones sin (IFN- γ), se vuelven muy susceptibles a la infección (Lunden *et al*, 1998).

Lo que se ha sabido hasta ahora, es que con frecuencia, la infección experimental en el bovino no gestante da lugar a una presentación asintomática. El ganado no preñado tiene respuestas humorales y una fuerte respuesta inmune mediada por células; dando lugar a la proliferación linfocitaria y la producción de (IFN- γ) también intervienen en la producción de éste, las células CD4⁺ T lo que inhibe la proliferación intracelular de taquizoitos, los que se enquistan en forma de bradizoitos, en los quistes tisulares (Innes *et al*, 2002b).

Infecciones experimentales en ganado gestante muestran que el momento de la parasitemia afecta de diferente forma en el resultado fetal. Cuando más temprano ocurre la parasitemia terminará en aborto y mientras mas tarde ocurre ésta nacerá un ternero congénitamente infectado. Además un estudio demostró que existe una baja regulación de inmunidad mediada por células a la mitad de la gestación (Innes *et al*, 2002b).

Una infección al inicio de la gestación sea por recrudescimiento de una infección latente o por una infección nueva en la mayoría de los casos termina en aborto, por un sistema inmunológico del feto muy inmaduro y la fuerte respuesta inmunológica mediada por células de la madre; se sabe que (IFN- γ) son incompatibles con la gestación (Innes *et al*, 2002b).

En cambio en una gestación media, la infección puede terminar en aborto o en el nacimiento de un ternero infectado congénitamente ya que existe una disminución en la producción de interferón- γ , que podría ser detonante para la

reactivación de una infección latente e invasión de la placenta que podría verse favorecida por una citoquina de los linfocitos T, en una interfase materno fetal. También el sistema inmunológico del feto sigue siendo inmaduro (Innes *et al*, 2002b).

Durante una gestación tardía, existe una respuesta individual muy variada; algunos son capaces de montar una respuesta inmunológica mediada por células y por anticuerpos y soportar la infección y nacer congénitamente infectados y seropositivos (Innes *et al*, 2002b).

1.4. Interacción Hospedador- Parasito

Es de suma importancia la caracterización de las proteínas y glicoproteínas de los parásitos, que forman parte de la compleja relación entre el parásito y el hospedador, la que depende de la reacción inmune del hospedador. Este proceso determina en gran medida, el éxito de la infección y contribuye, ya sea, a la eliminación o supervivencia del parásito (Hemphill *et al*, 1999).

La interacción hospedador-parásito se produce a nivel celular. El parásito y la célula blanco, establecen contacto físico directo, lo mas parecido al contacto receptor-mediador. Esta interacción es muy importante para el reconocimiento de receptores adecuados en la superficie de la célula hospedadora, ya que, de esto dependerá, el desarrollo futuro de los mecanismos de invasión celular al hospedador (Hemphill *et al*, 1999).

Un antígeno adecuado para inmunodiagnóstico debe tener propiedades inmunogénicas, para producir una fuerte respuesta inmune-humoral. Lo que permite la discriminación entre especies relacionadas. El antígeno debe ser abundante, accesible al sistema inmune. Y si se considera la vacunación, la

respuesta inmune (humoral y/o celular), debe inducir protección contra situaciones altamente virulentas (Innes et al, 2005c).

A tomado mucho tiempo identificar las proteínas de taquizoitos de *Neospora caninum*, que forman parte de las complejas interacciones, entre el parasito-hospedador, pero ha sido de gran ayuda para la formulación de la vacuna (Hemphill et al, 1999).

2. Neosporosis Bovina

La Neosporosis bovina es una parasitosis, producida por el *Neospora caninum*. Generalmente causa aborto, mortalidad en el embrión, disminución en la producción de leche, incrementa la tasa de desecho (Tress et al, 1999), nacimiento de terneros con anormalidades congénitas y disminución en la tasa de crecimiento de terneros (Barling et al, 2000).

Estudios retrospectivos en California han confirmado que este parásito, ha sido endémico desde 1984. En esta década, se ha diagnosticado la enfermedad en un 20% de fetos abortados en: Australia, California, Nueva Zelanda y Holanda. (Anderson et al, 2000).

Se ha realizado estudios, en los que se infectó experimentalmente a ganado preñado. El resultado obtenido, fue fetos muertos y terneros congénitamente infectados (Anderson et al, 2000).

2.1. Prevalencia

La prevalencia serológica, varia dependiendo del país, región, tipo de prueba utilizada, y el corte, que determina los niveles de exposición al parásito. El parásito se encuentra en todo el mundo. El índice de prevalencia de aborto es

similar tanto en vacas estabuladas (California), como en condiciones de pastoreo (Holanda) (Dubey, 2003b).

Mundialmente, las seroprevalencias reportadas en vacas de lechería están entre 12 y 42% (Dubey, 2003b). Se dispone de datos de seroprevalencia individual, de *Neospora caninum*, en ganado lechero de varios países de Latinoamérica (Valenzuela, 2005):

País	Tipo de animal	positivos/N ^o muestras	Positivos (%)	Técnica	Referencia
Argentina	feto lechería	20/82	24,4	IFAT	Venturini et al., 1999
	feto carne	1/22	4,5		
	vacas abortadas	122/189	64,5	IHQ	Campero, 2002
	feto lechería	26/354	7,3		
	vacas lechería	---	16,1	IFAT	
	Lechería s/probl.	174/1048	16,6	IFAT	Moore et al., 2002
	lechería c/probl.	323/750	43,1		
	fetos	29/43	67,4	IHQ	
carne	15/305	4,9	IFAT	Moore et al., 2003 b	
fluidos fetales (carne y leche)	26/66	27,4	IFAT	Moore et al., 2003 a	
Brasil	lechería	63/447	14,1	IFAT	Gondim et al., 1999
	feto	25/223	11,2	IFAT	Corbellini et al., 2002
	lechería	89/663	14,3	IFAT	Guimarães et al., 2004
	fetos	37/161	23,0	Histopatol.	Corbellini et al., 2005
	fetos	34/161	21,1	IHQ	
Chile	lechería	-----	50,0	ELISA	Meléndez et al., 1999
		-----	20,0	IFAT	
	lechería	20/55	36,4	IFAT	Pattitucci et al., 1999
	lechería	83/371	22,4	IFAT	Pattitucci et al., 2000
Colombia	lechería	193/357	54,1	ELISA	Zambrano et al., 2001
Ecuador	lechería	166/395	42	ELISA	Lozada, 2004
México	feto lechería	73/211	34,6	Histopatol.	Morales et al., 2001
	feto lechería	41/73	56,2	IHQ	
	lechería	110/187	58,8	ELISA	García-Vázquez et al., 2002
Paraguay	lechería	107/297	36,0	ELISA	Osawa et al., 2002
	carne	155/582	26,6		
Perú	fetos lechería	16/29	55,2	IHQ	Rivera et al., 2000
	lechería	18/29	62,1	IFAT	
Uruguay	lechería	135/844	16	ELISA	Piaggio et al., 2004
	lechería	130/217	60	IFAT	Kashiwazaki et al., 2004

Tabla 1: Prevalencia de anticuerpos en vacas y detección de *Neospora caninum* en fetos en varios países de Latinoamérica (Valenzuela, 2005)

2.2. Transmisión

Existen varias rutas en las que el ganado puede adquirir la Neosporosis:

La ruta vertical, en la que, la transmisión es transplacentaria, durante la preñez. Es el principal modo de transmisión. En el ganado bovino, tiene una efectividad del 95% de éxito (Tres et al, 1999). Varios estudios demostraron que este tipo de transmisión es muy eficiente y el índice de esto fue comprobado en varios lugares del mundo como: el 81% en una manada en California, el 93 % en un estudio realizado en Alemania y el 95 % en estudio en Reino unido (Hall et al, 2005).

La transmisión horizontal, se realiza, por una ruta oral - fecal, en la que los bovinos se alimentan con material fecal infectado, de caninos que se encuentran excretando oocystos. Los caninos contraen la infestación más comúnmente, cuando ingieren placentas de vacas positivas, que parieron terneros vivos o por el consumo de material de aborto contaminado. También pueden infestarse por alimentarse con roedores o pájaros, que pueden tener quistes tisulares (Dubey, 2003b).

En la Transmisión horizontal experimental en terneros, con oocystos de perros infectados experimentalmente, tienen evidencia serológica y PCR de infección.

Otra forma de transmisión es la venérea, semen de toros infectados pueden ser un potencial vector (Gay, 2006).

También, es posible, la transmisión lactogénica, post natal, por medio del calostro. Este modo de transmisión solo se la ha realizado de forma experimental (Anderson et al, 2000).

2.3. Patogénesis del Aborto

El aborto se produce, generalmente en vacas seropositivas. Las vacas seropositivas, tienen mayor probabilidad de abortar que las seronegativas. Existe un aumento de los títulos de anticuerpos, en el 4-5 mes de gestación y antes del parto, por un mecanismo de reactivación de una infección latente. (Dubey, 2003b).

La infección de una vaca preñada, puede reactivarse, por influencias hormonales e inmunológicas, originando una parasitemia. El medio ambiente hormonal de la hembra gestante, favorece la reactivación y transmisión vertical del parásito, al feto. Motivado probablemente, por un descenso de la progesterona y un aumento relativo de los estrógenos, durante la gestación (Innes *et al*, 2002b).

Las pérdidas ocurren después de una infección primaria durante preñez, pero más comúnmente se da como resultado de una recrudescencia de una infección persistente durante esta. La parasitemia es seguida por la invasión a la placenta y al feto. Se indica que ocurre el aborto, cuando los daños placentarios inducidos por el parásito compromete la supervivencia fetal directamente o el lanzamiento de prostaglandinas maternas que van a producir luteólisis y el aborto (Innes *et al*, 2001a).

El daño fetal pueden también ocurrir debido al daño primario del tejido fino causado por la multiplicación del *Neospora caninum* en el feto, debido a que existe una competencia por oxígeno y nutrientes. Además, los procesos inmuno-maternos pueden estar asociados a la inflamación placentaria y la secreción de citoquinas que es favorable en los procesos inflamatorios de la placenta afectando así al feto (Jenkins *et al*, 2002).

Así el *Neospora caninum*, es un patógeno primario capaz de causar el aborto por: inflamación placentaria, necrosis placentaria y daños fetales, o una combinación de los tres. Es importante definir estos mecanismos inmunológicos, para desarrollar métodos potenciales de control de la Neosporosis bovina (Dubey *et al*, 2006c).

En un estudio, el ganado fue infectado experimentalmente con taquizoitos de *Neospora caninum* antes de la preñez y re infectado a media gestación. El ganado parió terneros seronegativo vivos y no se encontró en la placenta y en otras muestras de tejido, la presencia de DNA específico del parásito, con excepción de la medula espinal en uno de seis terneros. Este estudio demostró que se puede inducir inmunidad contra la transmisión vertical mediante la infección experimental antes y durante la preñez (Innes *et al*, 2002b).

Otro estudio se realizó en ganado naturalmente infectado, a las 10 semanas de gestación se le inoculó con una dosis de parásito. Como resultado se obtuvo fetopatías, y no se produjo abortos. Observaron un elevado, incremento de títulos de anticuerpos, hacia el final de la gestación. Esto era indicativo de la recrudescencia de la infección (Innes *et al*, 2002b).

Estos estudios demuestran que, ganado adulto infectado experimentalmente puede desarrollar adecuada inmunidad, para prevenir la transmisión vertical del parásito. Y que el ganado infectado naturalmente, estuvo protegido, contra el aborto, luego de la exposición endógena. Pero no puede prevenir la infección vertical (Innes *et al*, 2002b).

2.4. Epidemiología

Diferentes estudios evidencian que los abortos pueden ser endémicos o epidémicos (Dubey *et al*, 2006c).

En el patrón endémico, las manadas presentan una proporción de aborto elevada, mayor de 5% por año, y esta puede persistir por años (Anderson *et al*, 2000). El patrón epidémico de aborto, es menos común y está caracterizado por abortos, en una alta proporción de ganado gestante, en un período de tiempo relativamente breve; los abortos son epidémicos cuando más del 10% de las vacas abortan dentro de 6 a 8 semanas (Dubey, 2003b). En algunos casos sobre el 30% de ganado gestante ha abortado, debido a Neosporosis, en un período de pocos meses (Anderson *et al*, 2000).

Varios estudios epidemiológicos han encontrado asociación entre seroprevalencia de *Neospora* y la presencia de perros en el predio, lo cual sugiere su rol de transmisión de la enfermedad (Anderson *et al*, 2000). Sin embargo, aun falta determinar cuál es el papel que desempeña el perro en la epidemiología de la Neosporosis bovina, cuál es el período de eliminación de ooquistes y por cuanto tiempo estos permanecen infectantes en el medio (Dijkstra *et al*, 2001).

2.5. Signos Clínicos

No existe signos de enfermedad clínica, en vacas que abortan por Neosporosis (Anderson *et al*, 2000). Las vacas preñadas de cualquier edad, pueden abortar. El aborto se puede dar, desde los primeros meses de gestación, hasta el final de esta. La mayoría de los abortos, ocurren aproximadamente, entre 5-6 mes de gestación. Los fetos pueden morir en el útero, ser reabsorbidos, momificados, autolisados (Anderson *et al*, 2000), nacer muertos, nacer vivos con

signos clínicos o nacer clínicamente normales, pero crónicamente infectados (Dubey, 2003b). Hasta un 95%, de terneros nacidos congénitamente infectados, de madres seropositivas permanecen clínicamente normales (Anderson et al, 2000).

La edad de la madre, número de lactaciones y la historia de abortos, generalmente no afecta, la proporción de la infección congénita. Pero hay reportes, en los que indican que en ganado constantemente infectado, la transmisión vertical, es más eficiente, en vacas jóvenes que en viejas (Anderson et al, 2000).

Se han reportado únicamente signos clínicos, en ganado menor a dos meses de edad. Terneros infectados con *Neospora caninum*, pueden presentar: signos neurológicos, bajo peso, incapacidad para levantarse o nacer sin signos clínicos de la enfermedad. Las extremidades posteriores, anteriores o ambas, pueden estar flexionadas o hiperextendidas. Al examen neurológico, se puede observar: ataxia, reflejo patelar disminuido, pérdida de propiocepción conciente, exoftalmia, asimetría oftálmica, debido a que el parásito puede localizarse en la materia gris de la medula espinal (Anderson et al, 2000).

Además del aborto y la infección congénita, la Neosporosis puede causar grandes efectos en la producción de leche, produciendo una reducción en la producción diaria, en la producción total, y aumento en los descartes. Basado en un estudio de seropositividad, de vacas que produjeron menos leche y fueron descartadas, mas tempranamente que sus compañeras seronegativas (Trees et al, 1999). Un estudio en USA llegó a concluir que vacas seropositivas a *Neospora caninum* produjeron 1.3 Kg/día/vaca menos de leche que vacas seronegativas (Thurmond, 1997a; Hernández et al, 2001).

2.6. Lesiones

El *Neospora caninum*, muy raramente produce defectos al nacimiento. Pero en el análisis post mortem se puede encontrar, hidrocefalia y estrechamiento de la medula espinal (Dubey et al, 2003b), necrosis multifocal en cerebro fetal, corazón, pulmón, hígado, placenta y nódulos linfáticos. El examen histopatológico demuestra lesiones mínimas como gliosis focal en el sistema nervioso central y lesiones neurales severas como: encefalitis no supurativa con o sin necrosis multifocal e infiltración leucocitaria de las meninges y ocasionalmente calcificaciones. En miocardio miocarditis multifocal no supurativa y en músculo esquelético, miosis multifocal no supurativa (Gottstein, 2001).

2.7. Diagnóstico

El diagnóstico de *Neospora caninum*, como causa definitiva de aborto es complicado. El hecho que esté presente, no implica necesariamente que cause aborto. Pero el que no, se lo haya encontrado, tampoco lo excluye, como causa del aborto.

Un diagnóstico definitivo asociado al aborto por *Neospora caninum* es muy difícil de establecer, no solamente comprende en examinar serológicamente el suero materno y los fluidos corporales fetales, sino también un análisis por la reacción de cadena de polimerasa (PCR) que puede proporcionar la evidencia y concluir que el aborto es causado por dicho parasito (Dubey et al, 2006c).

Los análisis histológicos, inmunohistoquímicos y moleculares en la detección, son de particular importancia para examinar los tejidos de fetos abortados. Mientras que la histología e inmunohistoquímica permiten la observación directa de los cambios patomorfológicos causados por la infección.

Los análisis moleculares tales como PCR, son superiores debido a la sensibilidad y la especificidad que poseen en identificar al *N. caninum* en tejidos fetales. Las pruebas serológicas, tales como ELISA, son útiles en la determinación de si un animal se ha infectado con *Neospora caninum* (Jenkins et al, 2002).

Para realizar exámenes completos, es indispensable incluir, muestras de uno o más fetos abortados, incluyendo la placenta y el suero de la madre. El examen del suero, de una vaca que aborta, solo indica la exposición al *Neospora caninum*. Por lo que es necesario, hacer un examen histológico del feto, para un diagnóstico definitivo de Neosporosis (Anderson et al, 2000).

Los mejores especímenes para el diagnóstico son: cerebro, corazón, hígado, placenta, fluidos del cuerpo o suero sanguíneo, músculo esquelético pulmones y riñones (Anderson et al, 2000).

La eficiencia del diagnóstico, de Neosporosis, por PCR, depende del laboratorio, estado de autólisis del feto y procedimientos de muestreo. El ADN de *Neospora caninum*, puede ser detectado mediante PCR, en tejido cerebral de bovinos abortados, fijado en formalina e incrustado en parafina (Dubey, 2003b). Pero no funciona bien en fetos autolisados (Anderson et al, 2000). El examen inmunohistoquímico, es indispensable en los tejidos autolisados y fetos momificados, ya que hay poca presencia de *Neospora caninum* en estos tejidos (Dubey, 2003b).

Las pruebas serológicas, pueden usarse para detectar anticuerpos de *Neospora caninum*. Para el examen serológico, se utiliza los fluidos corporales. Pero, el de mejor elección, es el fluido peritoneal. Para la comprobación de una transmisión congénita, también se puede usar el suero del ternero, antes de la

iniciación de la lactancia (Dubey, 2006d). Las pruebas más utilizadas son: ELISA, prueba de anticuerpos fluorescentes indirecta y la prueba de aglutinación (Dubey, 2003b).

Existen varios procedimientos para realizar las pruebas serológicas, la mayoría, se basan en el cultivo de taquizoitos de *Neospora caninum* aislados de, bovinos o caninos. Existen algunas modificaciones, para la especificidad. Las pruebas de ELISA, incluyen el uso de complejos inmunoestimulantes, anticuerpos monoclonales, para inmunoglobulinas específicas o antígenos superficiales, antígenos específicos de *Neospora caninum*, molecularmente clonados (Anderson et al, 2000). El examen de ELISA, se utiliza para distinguir, infecciones recientes y crónicas en ganado bovino (Dubey, 2006d).

El examen de anticuerpos fluorescentes indirectos, se utiliza para obtener el diagnóstico en fetos abortados, si tienen una edad gestacional de seis meses o más. Resultados negativos, no siempre descartan la posibilidad de infección, esto se ve en fetos más jóvenes, en los cuales, pueden no estar inmunologicamente desarrollados y tener la capacidad de producir niveles detectables de anticuerpos para el parásito. Resultados positivos indica infección pero es necesario realizar exámenes complementarios para comprobar que el aborto fue por *Neospora caninum* (Anderson et al, 2000).

Epidemiológicamente, es importante la identificación de oocystos en heces de perros. El examen microscópico por si solo, no es suficiente para identificar su presencia (Dubey, 2006d).

La implicación del *Neospora caninum* en el aborto de los bovinos, se puede también confirmar por la observación de una asociación estadístico significativa

entre la seropositividad y el aborto dentro del grupo de hembras con un riesgo de aborto (Dubey et al, 2006c).

2.8. Impacto Económico

Los efectos más significativos de la Neosporosis en el ganado bovino:

- a) Lo más representativo, son los abortos. El aborto es el nacimiento, de un feto muerto antes del término de la gestación. Esto resulta en la pérdida total del valor del ternero (Trees *et al*, 1999).
- b) Nacimientos muertos y mortalidad neonatal. Estos efectos son importantes ya que pueden ocurrir, de infecciones crónicas o nuevas durante la preñez.

Muerte fetal temprana y la reabsorción, pueden provocar retorno al servicio, tiempo incrementado de la gestación o infertilidad (Trees *et al*, 1999).
- c) Descarte incrementado. La productividad de una vaca lechera aumenta con la edad y el descarte antes de la cuarta lactación, puede resultar una pérdida neta. La reducida fertilidad es la razón más común de descarte (Trees *et al*, 1999).
- d) El aborto puede o no afectar negativamente la producción de leche. Mientras que, un aumento en el intervalo de partos, reducirá el número de lactaciones, dentro de un período de tiempo, un aborto puede incrementar o prolongar la lactación (Trees *et al*, 1999).

Vacas primerizas seropositivas, se ha demostrado que tienen una reducción de la producción de leche muy marcada (Anderson *et al*, 2000).

e) Reducción del valor de las crías. Las vacas, pueden permanecer infectadas por varios años. Infectando a la mayoría de su progenie. Por lo que no, se las puede considerar, como reemplazos progenitores. De ahí su impacto económico.

En granjas que trabajan con alta genética, produciendo vacas reproductoras, el impacto de una infestación por Neosporosis, es sumamente grave (Trees *et al*, 1999).

f) Costos indirectos incluyen la ayuda profesional, establecer diagnósticos y tratamientos (Thurmond *et al*, 1997a).

2.9. Control y Prevención

Como el mayor método de infección es por transmisión vertical de vacas seropositivas (Hall *et al*, 2005). Un control estratégico se basaría en, reducir el número de vacas infectadas en la manada, eliminando las vacas abortadas seropositivas e impidiendo la introducción de ganado infectado al hato (Anderson *et al*, 2000).

Para impedir una transmisión horizontal existen varias posibilidades para modificar, las condiciones higiénicas sanitarias de los establecimientos. Una de estas es: basados en evidencias experimentales, en que los perros son los hospedadores definitivos del *Neospora caninum*, es importante considerar, eliminar la fuente de transmisión o evitar la convivencia con el ganado, se debe prevenir el acceso de los perros al pasto, alimento y agua de los animales. Al disminuir la población canina se disminuye el riesgo de transmisión horizontal por contaminación de alimentos y agua por heces. (Anderson *et al*, 2000).

Eliminar lo más pronto posible el material abortado como: fetos, membranas fetales, placentas o terneros muertos). A fin de disminuir el riesgo de infección del hospedador definitivo (Innes *et al*, 2002b).

La transmisión de Neosporosis por inseminación artificial con semen congelado sería un buen manejo de control ya que este tipo de transmisión es poco probable (Canada N *et al*, 2006)

El calostro es una posible vía de transmisión por lo que el calostro de vacas infectadas no debería administrarse en la recría. Esta vía de infección se ha demostrado solo experimentalmente (Anderson *et al*, 2000).

Control de roedores ya que son un posible reservorio del parásito (Dubey *et al*, 2007e).

Otra medida preventiva es hacer transplante de embriones a vacas seronegativas (Dubey *et al*, 2007e).

Varios trabajos experimentales se han realizado con lo referente a la inmunoprofilaxis. En base a esto se ha experimentado con vacunas vivas que inducen una mayor respuesta mediada por células (CMI), obteniendo resultados positivos. Este tipo de vacuna tiene varias desventajas como: el costo elevado de producción, poseen corta vida, necesita de una estricta cadena de frío y tiene posibilidad de volverse virulenta (Guy *et al*, 2001).

Los primeros ensayos con vacunas inactivadas fueron realizados en Estados Unidos; quienes obtuvieron buena respuesta inmune utilizando taquizoitos de *Neospora caninum* con adyuvantes sintéticos (Polygen). Pero fallaron en prevenir la infección fetal en ganado preñado (Andrianarivo *et al*, 2000a).

Actualmente existe una vacuna inactivada a base de taquizoitos de *N Caninum* en adyuvante sintético (Havlogen) llamada “Bovilis®NeoGuard” Intervet. (Muñoz *et al*, 2004). Que fue desarrollada debido a la necesidad de disminuir el porcentaje de abortos producidos por la Neosporosis, y que no se lograba tan solo con el control, de los hospedadores definitivos.

El desarrollo de una vacuna, que redujera los efectos negativos de la infección producida por *Neospora caninum*, debido al incremento de infecciones latentes o infecciones posteriores al nacimiento, era muy necesaria, para mantener la rentabilidad de las empresas dedicadas, a la industria lechera (<http://www.intervet.com>) y lograr inmunización en los animales que ya habían sido sensibilizados por el parásito se convirtió en un reto mayor. La protección efectiva contra los parásitos no solamente requería la inducción de anticuerpos específicos para el *Neospora Caninum*. Sino también la estimulación de una respuesta de las células blanco y una respuesta celular adecuada. Esta vacuna se debe usar durante el primer trimestre de gestación (<http://www.intervet.com>).

Fue creada para ser usada, en la inmunización activa de ganado saludable gestante, protege a la cría y como una ayuda en la reducción de abortos (Muñoz *et al*, 2004).

2.10. Tratamiento

Se han probado varios agentes antimicrobiales in vivo e in vitro en ratones, pero no se ha encontrado la droga que pueda ser usada para eliminar por completo la infección por *Neospora caninum* en ganado (Innes *et al*, 2001a).

En trabajo experimental realizado a bovinos con coccidiostáticos, durante 6 días, se obtuvo resultados prometedores con una eficacia del 90%. Pero su

posible utilidad en vacas presenta un problema ya que administrarles por seis días seguidos con un costo de \$ 300 por cabeza y además un costo adicional, de la eliminación de la leche durante 15 días no es muy práctico para el ganadero, por lo que no se ha implementado como una alternativa de tratamiento. (Reichel et al, 2006).

3. Neosporosis en el Ecuador

Poco se ha estudiado sobre la epidemiología de esta enfermedad en el país. Un estudio de la Universidad Central, muestra una preocupante tasa de seroactividad, en vacas con antecedentes de abortos y/o reabsorciones fetales, de 72,44%. Tomando en cuenta que se realizó únicamente en hatos que llevan control periódico sobre Brucelosis, Leptospirosis, IBR y DVB. En el mismo estudio, se comenta que el 63 % de las vacas seropositivas, han tenido antecedentes de aborto y/o reabsorción que podría ser un indicativo de cuán agresiva es esta parasitosis (Lozada, 2004).

III. METODOLOGIA

1. Materiales y Métodos

El diseño consistió en un estudio comparativo de la tasa de abortos entre dos grupos; antes y después de la utilización de la vacuna Bovilis®NeoGuard, para observar si existe un cambio significativo en la reducción de la tasa de abortos, después de la vacunación. Para esto se eligió cuatro haciendas de la Sierra ecuatoriana. En estas haciendas se ha realizado pruebas de inmunoflorescencia y ELISA competitiva, obteniendo resultados positivos; confirmando la presencia del parásito y la enfermedad (Vetelab, 2007).

Las haciendas se encuentran ubicadas: dos en el cantón Mejía (La Fontana y San José), una entre Cayambe e Ibarra (Zuleta) y otra en Ibarra (Ishigto). A una altura entre 2700 – 2900 msnm, con precipitaciones que fluctúan entre 1500 a 2000 mm. El número de animales que entró en el estudio fue de 3431 vacas preñadas: 913 sin vacuna y 2518 vacunadas, la toma de datos se realizó a partir del historial reproductivo de cada una de las haciendas, empezando un año antes de la utilización de la vacuna Bovilis®NeoGuard, y después de la utilización de ésta, hasta diciembre del 2007. En estas haciendas se empezó la utilización de la vacuna como un medio preventivo contra los abortos, ya que pese a haber tomado varias medidas de control no disminuían el número de estos.

Los datos que se incluyeron en el estudio fueron: año, mes, número de vacas preñadas, número de abortos (Tabla 2 y 3) y datos secundarios como edad del animal, etapa de gestación y mes del año en que se produjo el aborto.

Distribución del número de vacas y abortos por haciendas:

HACIENDA	AÑO	# VACAS PRENADAS	NO ABORTOS	%	ABORTOS	%
Ishigto	2005-2006	48	46	95,8	2	4,7
La Fontana	2004-2005	84	79	94,1	5	5,9
San Jose	2004-2005	108	93	86,1	15	13,9
Zuleta	2004	673	656	97,5	17	2,5
TOTAL VACAS		913	874	95,7	39	4,3

Tabla 2: Descripción del número de vacas entre abortos y no abortos antes de la vacunación con Bovilis®NeoGuard.

HACIENDA	AÑO	# VACAS PRENADAS	NO ABORTOS	%	ABORTOS	%
Ishigto	2006-2007	58	57	98,3	1	1,7
La Fontana	2006-2007	286	276	96,5	10	3,5
San Jose	2006-2007	137	119	86,9	18	13,1
Zuleta	2005,2006, 2007	2037	2011	98,6	26	1,9
TOTAL VACAS		2518	2463	97,8	55	2,2

Tabla 3: Descripción del número de vacas entre abortos y no abortos después de la vacunación con Bovilis®NeoGuard.

Concluida la toma de los datos estos fueron tabulados por medio del test ji cuadrado, para ver si se registra una diferencia significativa en la disminución de abortos, por efecto de la vacunación. También se obtuvo la tasa de protección que brinda la vacuna contra los abortos, y se hizo un estudio de correlación en la hacienda Zuleta, de los abortos después de la vacunación con las variables, edad de la vaca versus etapa de gestación, para observar si estas variables están asociadas y comprobar si los abortos producidos fueron epidémicos o endémicos.

También se obtuvo el porcentaje de abortos antes y después de la vacunación.

IV. RESULTADOS

El número de vacas en el estudio, difirió considerablemente por hacienda. El número total de abortos sin vacuna fue 39 (n= 913) (Tabla2) y con vacuna 55 (n=2518) (Tabla3).

En el test Ji cuadrado (Tabla 4) muestra una variabilidad en los resultados, se puede observar que en los resultados totales, existe gran influencia de la hacienda Zuleta por lo que es necesario un análisis por caso.

Los resultados obtenidos de Ji² fueron los siguientes:

Hacienda	Ji 2	Pr
Hda. Ishigto	0.57	0.450
Hda. San José	0.03	0.864
Hda. La Fontana	1.01	0.316
Hda. Zuleta	5.06	0.025
TOTAL	10.96	0.001

Tabla 4: Resultados del test Ji 2.

El análisis del conjunto de datos indica un efecto de la vacuna en la reducción de la tasa de abortos a nivel general (Ji²= 10, 96 con $p < 0.001$) (Tabla4). Sin embargo de estos resultados, el uso de la vacuna no logró evitar completamente los abortos; este resultado puede ser explicado por la existencia de otras variables que podrían estar influyendo en la presentación de los abortos en las haciendas como: otras enfermedades que causan abortos, problemas nutricionales, metabólicos, etc.

En el análisis de forma individual, por hacienda, se obtuvo los siguientes resultados (Tabla 4).

En la Hda. La Fontana los resultados obtenidos son $Ji^2 = 1,01$ con $p > 0.316$, esto indica que la utilización de la vacuna no ha influido significativamente a la reducción de la tasa de aborto.

En la Hda. Ishigto los resultados de la prueba $Ji^2 = 0,57$ y con $p = 0.450$, resultado que no es significativo. Lo que quiere decir que en este caso la vacuna tampoco influyó en la reducción del número de abortos.

En la Hacienda San José, los resultados de $Ji^2 = 0.03$ con $p = 0.864$. En esta hacienda se demostró que el efecto la vacunación fue muy escasa, casi no tuvo efecto en la disminución en la tasa de abortos. Se concluye que en esta hacienda existen otros factores que predominan sobre la Neosporosis que están causando abortos.

Como caso especial tenemos la Hda. Zuleta que cambia drásticamente los resultados finales, obteniendo del $Ji^2 = 5,06$ con $p < 0.025$, lo que quiere decir que en esta hacienda la vacuna influyó significativamente en la reducción de abortos.

En los casos de las Hdas: San José, Ishigto y La Fontana, existen muchos factores que pudieron influenciar en una escasa respuesta de la vacuna en la reducción de los abortos.

En el análisis del porcentaje de protección de la vacuna a los abortos se alcanzó los siguientes resultados:

HACIENDA	PORCENTAJE DE PROTECCION
Fontana	27,60%
Ishigto	57%
San José	6,61%
Zuleta	77,35%
TOTAL	44.78%

Tabla 5: Resultados en el porcentaje de protección de la vacuna al aborto.

El análisis total para la tasa de protección de la vacuna contra los abortos en general, fue de 44,78%, esto quiere decir que tenemos un 55, 22% de probabilidad de error al atribuir a la vacuna la disminución de los abortos. Pero en el análisis individual por hacienda se encuentra que la tasa de protección es muy variada: San José 6.6 %, La Fontana 27,6%, Ishigto 57 % y Zuleta 77,4% (Tabla 5), las diferencias entre haciendas probablemente se de por el medio ambiente que rodea a cada hacienda, el manejo de la vacuna y la bioseguridad.

En el estudio de correlación que se realizó a la hacienda Zuleta de los abortos después de la vacunación, se encontró que no existe asociación entre las variables edad de la vaca y etapa de gestación. Y que los abortos probablemente fueron provocados por recrudescencia de la enfermedad latente.

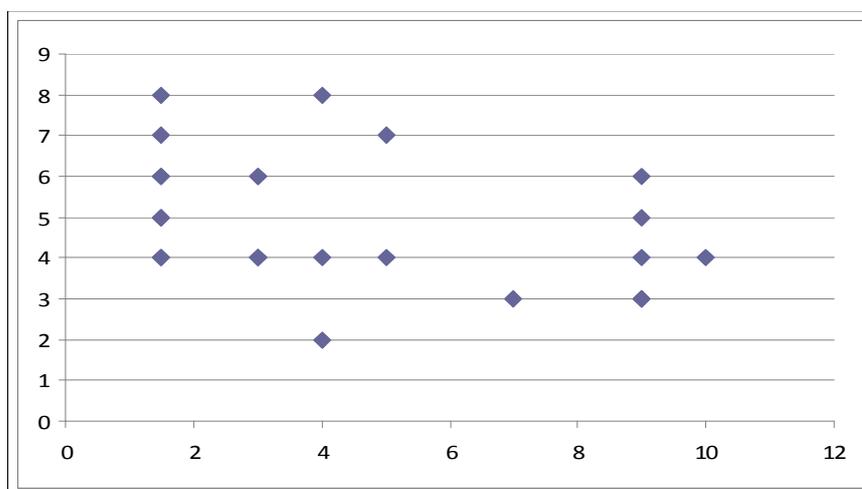


Gráfico 1: Correlación entre edad de la vaca y etapa de gestación de la Hacienda Zuleta.

El resultado de correlación fue de $r^2 = 0.126$ por lo que no existe asociación entre variables (Gráfico 1).

V. DISCUSIÓN

Antes de entrar a la discusión de los resultados es importante tener unas consideraciones acerca del propósito y manejo de la vacuna:

1. Proteger al ganado sano contra pérdidas fetales y la transmisión vertical (Dubey *et al*, 2007e) por lo tanto, discrimina a los infectados de los no infectados.
2. No previene la transmisión vertical y tampoco los abortos a vacas congénitamente infectadas (Andrianarivo *et al*, 2005b).
3. La vacunación es una medida de inmunoprofilaxis y no una medida curativa (Dubey *et al*, 2007e).
4. Manejo y aplicación adecuado de la vacuna, esta necesita de dos aplicaciones de 5ml subcutánea; una en el primer trimestre de gestación y la segunda dosis 3 a 4 semanas después de la primera dosis. (Intervet).

Existen algunas consideraciones interesantes en este estudio, no solo en demostrar si existe o no disminución en la reducción de los abortos por la vacunación, sino también en valorar varios factores que contribuyen al riesgo de aborto por *Neospora caninum* y que no pueden ser atribuidos al efecto de la vacuna.

Andrianarivo *et al* (2005b), reportó estudios que se realizaron en Nueva Zelanda y en Costa Rica, donde se valoró la eficacia esta vacuna, la vacuna demostró ser eficaz en la reducción de la tasa global de abortos, logrando 54% (212) en Nueva Zelanda y 46,2% (377) en Costa Rica. Esta reducción en la tasa

de aborto es significativa, cuando se considera que existen varios factores que influyen en los abortos, y que no se asocian al *Neospora caninum*.

En el presente estudio los resultados que se obtuvieron de la tasa de abortos antes y después de la vacunación, por medio del test χ^2 , dio un resultado total que, existe una disminución de los abortos. Aunque esta investigación muestra, que pese a la vacunación sigue existiendo abortos, esto se puede atribuir, a que los abortos pueden ser inducidos por varias causas infecciosas y no infecciosas, diferentes a la Neosporosis.

En el análisis individual por hacienda, el efecto de la vacunación no es significativo, con excepción de la Hacienda Zuleta. Esto puede estar relacionado a que los abortos que se presentaron no estén relacionados a Neosporosis.

Existen diversos agentes que influyen en la tasa de aborto. Podemos enumerar varios de estos como bacterias, virus, stress, traumatismos, clima, nutrición (Nishikawa et al, 2002). Al analizar los resultados positivos que se obtuvo de la hacienda Zuleta, estos se pueden atribuir a que en esta hacienda, existe menor contaminación ambiental tanto en densidad poblacional como en los sistemas de riego; comparados con las Haciendas Ishigto, San José y La Fontana. Al hallarse mayor densidad poblacional, aumenta el número de caninos, por lo tanto; mayor contaminación de aguas y pasturas. En cuanto a los sistemas de riego, la Hacienda Zuleta cuenta con un sistema de riego independiente, lo que no ocurre en las demás Haciendas ya que existe una sola acequia para regar cerca de 60 a 80 haciendas, acarreando todo tipo de agentes contaminantes a través del agua.

También en la Hacienda Zuleta, siempre están tratando de mejorar varios aspectos que podrían influir en los abortos como: manejo sanitario y alimentación, logrando así mejores resultados en la disminución de la tasa de abortos.

Notoriamente, la Neosporosis es una enfermedad factorial en la que una variedad de causas pueden llevar a una infección oral o recrudescencia. De tal manera, que la variedad de respuesta en las diferentes haciendas no es de sorprenderse, ya que está comprobado en las haciendas que entraron en el estudio, la presencia del parásito y de hospedadores definitivos (perros). Existen muchos agentes que aumentan el riesgo de aborto por Neosporosis como podemos mencionar: la edad del ganado, etapa de gestación (Corbellini et al, 2006), clima, estrés, inadecuado desecho del material de aborto (Dubey et al, 2007e).

En cuanto al estudio de correlación que se realizó de la Hacienda Zuleta, de los abortos después de la vacunación, pudimos observar que no existe relación entre las variables edad de la vaca y etapa de gestación. Thurmond *et al* (1999b), demostraron que la incidencia de abortos en vacas infectadas congénitamente es más alto en las primeras gestaciones, pero disminuye en las subsecuentes gestaciones; ya que la inmunidad de la madre va incrementando con la edad. En cambio, Wounda *et al* (1998a), afirman que en manadas con abortos epidémicos, asociados al *Neospora caninum* aumenta con las subsecuentes gestaciones, lo que quiere decir que va aumentando con la edad de la vaca, y que la etapa de gestación a la que se produce el aborto se da hacia el segundo trimestre de gestación. En este estudio la mayoría de los abortos se produjeron en vacas de segundo parto y con una edad gestacional entre finales del primer trimestre de gestación e inicio del segundo trimestre, lo que sugiere,

que los abortos posiblemente fueron de tipo endémicos. Atribuyendo a que los abortos se produjeron en vacas congénitamente infectadas.

En el Grafico 2 podemos observar la reducción de los porcentajes de abortos en el total de las muestras.

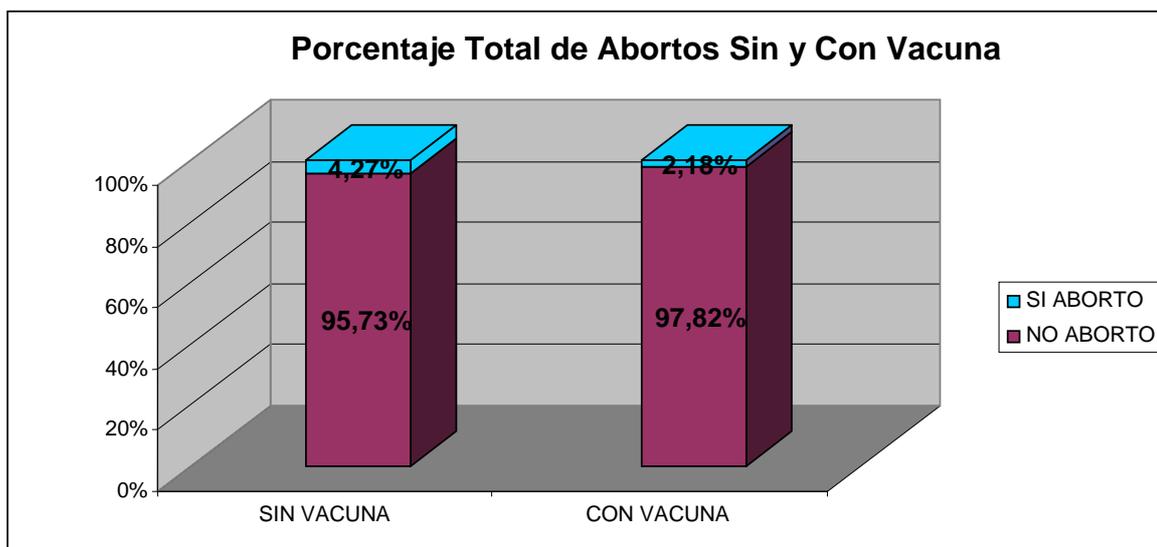


Grafico 2: Porcentajes de abortos con y sin vacunas en el total de las muestras.

Pese a que los abortos no se eliminaron por completo, hubo evidencia de una reducción en éstos. Es importante también valorar otros factores que pudieron influir en los resultados como enfermedades abortigénicas simultáneas.

En la (Tabla 6) podemos observar que la edad gestacional en que se produce los abortos en las diferentes enfermedades, poseen rangos similares, por lo que no se puede identificar con seguridad cual fue la causa del aborto. Solamente si se realizaría análisis de los fetos abortados. Dubey, (2003b) explica que la edad de gestación y el aborto por *Neospora caninum*, ha sido encontrado en un rango de tres meses hasta el final de la gestación, pero la mayor incidencia de abortos se da entre el quinto y sexto mes. Raramente se puede atribuir abortos antes de los tres meses a *Neospora caninum* debido a que

existen varios factores que intervienen en los abortos y es muy difícil obtener el material abortado para el diagnóstico o muchas veces éstos pasan desapercibidos.

Enfermedad	Edad Gestacional
Neosporosis	5 y 6 mes (Dubey, 2003)
Leptospirosis	6-9 mes (Gottstein, 2001)
Brucellosis	5-9 mes (Gottstein, 2001)
Diarrea Viral Bovina	1 1/2 y 4 mes (Grooms, 2006)
Rinotraqueitis Infecciosa Bovina	6-9 mes (Gottstein, 2001)

Tabla 6: Rangos de la edad gestacional, en la que se producen los abortos en diferentes enfermedades abortigénicas

Es indispensable recalcar, que puede aumentar la tasa de abortos no solo por Neosporosis, sino también por la persistencia de enfermedades abortigénicas simultáneamente. Hall *et al*, (2005) demostraron, en un estudio realizado en Australia el riesgo de aumentar los abortos es de un 37, 5% con infecciones concurrentes con *Neospora caninum* y DVB, comparando el riesgo de 25% por infección con *Neospora caninum* sola y 1,2% de DVB.

Es de suma relevancia mencionar, que ninguna de las haciendas investigadas fue declarada libre de brucelosis conforme al programa implementado por el SESA (Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria) en el período en el cual se desarrollo la investigación.

Con lo referente a la época del año en que se produjeron la mayor cantidad de abortos fue entre agosto y diciembre, donde existe mayor humedad y temperatura variada lo que favorece la esporulación y supervivencia de oocystos

de *Neospora caninum*. López-Gatius *et al*, (2005), demostraron en estudio realizado en España, que hay una relación significativa entre los abortos y las lluvias, ya que al aumentar el estrés, se reduce la inmunidad de la vaca, debido a la disminución de temperatura, disminución en la calidad del pasto y disminución en la higiene de los animales, favoreciendo así a infecciones latentes. Por lo que posiblemente este fue uno de los factores que influyó en el aumento de la tasa de abortos.

VI. CONCLUSIONES

Si bien el uso de la vacuna disminuyó la tasa de abortos, no fue en su totalidad, debido a que existen otros factores que intervienen en el aborto no asociados a la Neosporosis. Enfermedades abortígenas como: Brucelosis, Leptospirosis, Rinotraqueitis Infecciosa Bovina, Diarrea Viral Bovina, también problemas nutricionales y metabólicos, clima, etc.

La implementación de medidas de control varía en función de la situación seroepidemiológica y el medio ambiente que rodea cada hacienda, por lo que se dio una respuesta variable en las diferentes haciendas que entraron en el estudio.

Innes *et al* (2002), señalan que cuando la infección ocurre durante la preñez, es crítica, debido a que existe una inmunocompetencia entre el feto y el factor de inmunidad de la madre, lo que significa que es incompatible con la supervivencia del feto. Por lo tanto se podría evitar el aborto al utilizar la vacuna en animales sanos y así proteger la gestación, dado que la transmisión vertical es la principal vía de transmisión en el ganado bovino (Tres *et al*, 1999).

Butler, (1998), demostró que en vacas de alta producción de leche se usa dietas ricas en proteína, lo que produce un efecto negativo en la reproducción, debido a que altos niveles de proteína, exacerba los efectos negativos de la disminución de energía, como resultado se obtiene un deterioro del desarrollo embrionario, ya que su crecimiento y supervivencia dependen del medio uterino. Una dieta alta en proteína, aumenta el metabolismo de éstas alterando las secreciones uterinas, por aumento de urea, cambiando el PH y como consecuencia de estos eventos, disminuye la progesterona y aumentan los estrógenos y las prostaglandinas, comprometiendo el desarrollo del embrión y su

viabilidad. Coincidentemente varias de las haciendas que entraron en el estudio poseen un desbalance energético, por dietas ricas en proteínas.

Como la Neosporosis es una enfermedad de alto impacto económico, la premisa principal en el control de los abortos, es reducir las pérdidas económicas que estos representan al ganadero. Implementado la vacunación como una medida profiláctica para la reducción de los abortos. Y disminuir así, los costos directos que incluyen, la pérdida del feto dependiendo de la edad y el valor genético de este y costos indirectos como visitas del veterinario, gastos asociados en establecer tratamientos, reducción en la producción de leche (Dubey *et al*, 2007e).

Para una mejor descripción del problema en cuanto a las pérdidas en la producción de leche, podemos referirnos a un ejemplo: en la Sierra ecuatoriana el promedio de producción de leche es 6.000 litros por lactancia (Asociación Holstein); multiplicados por \$ 0.36 del costo del litro, nos da un total de pérdida de \$2150 por el aborto.

Un plan de prevención general, que pueda controlar la variable enfermedad, y que influya en la reducción de los abortos, no supera los \$12 vaca/año, comparado con la pérdida que representa un aborto.

Por lo tanto, la vacuna puede disminuir significativamente la tasa de abortos, si se controlan otros factores, dependiendo de la hacienda y de una adecuada utilización de esta.

VII. RECOMENDACIONES

La principal recomendación es intentar controlar otras agentes que influyen en el incremento de la tasa de abortos, y así obtener un mejor efecto de la vacuna. Y por lo tanto reducir las pérdidas económicas que representa esta enfermedad al ganadero.

Las principales recomendaciones para el ganadero y lo ideal sería tener un plan de desecho de animales seropositivos, también establecer sistemas de cuarentenas al introducir animales de reposición al hato, aunque en nuestro medio es muy difícil implementar este tipo de control, ya que el costo de un animal de descarte es muy bajo.

Es indispensable tener un adecuado manejo de la vaca abortada, aislándola del hato.

Para disminuir en mayor cantidad el número de abortos, sería de gran ayuda tener controlados problemas nutricionales y metabólicos.

Una recomendación significativa es, intentar romper con el ciclo biológico del parásito; restringiendo el empleo de caninos al máximo, impedir el ingreso a lugares destinados al depósito de alimento y pasturas, para impedir la difusión de las heces al medio ambiente y también impedir que los caninos ingresen a las maternidades para evitar que los éstos tomen contacto con el material abortado.

Las recomendaciones para el veterinario de campo, sería de suma importancia que la vacunación este a cargo y bajo la supervisión de un profesional. También facilitar la educación sanitaria para el personal que trabaja en las haciendas y ganaderos, asesorándoles sobre el adecuado uso de la vacuna y las medidas de control que se puede tomar, para impedir la proliferación de este parasito.

Impulsar a que los fetos y material abortado sean llevados a un laboratorio para su respectivo análisis.

Recomendaciones para las autoridades sanitarias: poner mayor regulación y exigencias, para que las haciendas cumplan con los planes de vacunaciones obligatorios, para poder ir erradicando enfermedades que causan tanto impacto económico a los ganaderos, y difundir información a la población acerca de enfermedades posiblemente zoonóticas y su prevención.

Para futuras investigaciones sería de gran ayuda tener datos sobre la eficacia de la vacuna, tener análisis de fetos abortados e intentar controlar otras enfermedades abortigénicas, como es el caso de brucelosis.

Bibliografía:

1. Anderson M.L, Andrianarivo A.G, Conrad P.A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*. 2000; 60-61: 471-431
2. Andrianarivo A.G, Rowe J.D, Barr B.C, Anderson M.L, Packhan A.E, Sverlow K.W, Choromanski L, Loui C, Gace A, Conrad P.A. A POLYGEN-adyuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v / i.m. experimental tachyzoitos challenge. *International Journal Parasitology*. 2000a; 30: 985-990.
3. Andrianarivo A.G, Anderson M.L Rowe J.D, Garner I.A, Reynolds J.P, Choromanski L, Conrad P.A. Immune responses during pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and without immunization. *Parasitology Reviews*. 2005b; 96: 24-31..
4. Barling, K.S, McNeill J.W, Thompson J.A. Association of serologic status for *Neospora caninum* whit post weaning weight gain and carcass measurements in beef calves. *JAVMA* 2000; 217: 1356-1360
5. Barr B, Rowe J.D, Sverlow K.W, BonDurant R.H, Ardans A.A, Oliver M.N, Conrad P.A. Experimental reproduction of bovine foetal Neospora infection and death with a bovine Neospora isolate. *Journal Veterinary Diagnosis Investigation*. 1994;6: 207-215.
6. Bjerkas I. Mohn S.F. Presthus J. Unidentified cyst-forming sporozoo causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenk* 1984; 70: 271-274.
7. Butler R.W, Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in diary cattle. Symposium: Optimizing protein nutrition for reproduction and lactation. Department of Animal Science Cornell University, 1998; 81: 2533-2539.
8. Campero C.M. Pérdidas provocadas por *Neospora caninum* en bovinos. 11° Encuentro de Veterinarios Endoparasitólogos Rioplatenses. Tandil-Argentina. Organizado por FAO, AAPAVET y UNCPBA, 2002: 1-4.
9. Canada N, Meireles C.S, Ferreira P, Correira J. M, Rocha A. Artificial insemination of cows with semen in Vitro contaminated with *Neospora caninum* tachyzoites failed to induce Neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 2006; 139: 109-114.
10. Cebrián L.M, Barberán M, Ferrer L.M. <http://www.vet-uy.com>. 01/12/05.

11. Conrad P.A, Barr B,C, Sverlow K.W, Anderson M, Daft B, Kinde H, Dubey J. P, Munson L, Ardans A. In vitro isolation and characterization of *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. *Parasitology* 1993; 106: 239-249.
12. Corbellini L.G, Smith D.R, Pescador C.A, Schmitz M, Correa A, Steffen D.J, Driemeir D. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted foetus in Southern Brazil. *Veterinary Journal*. 2006; 172: 114-120
13. Dijkstra T, Eysker M, Schares G, Conraths F, Wounda W, Barkema H. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *International Journal Parasitology*. 2001;31: 747-752.
14. Dubey J.P. Recent advances in *Neospora* and Neosporosis. *Veterinary Parasitology*, 1999a; 84: 349-367.
15. Dubey J.P. Review of *Neospora caninum* and Neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*. 2003b; 41: 1-16.
16. Dubey J.P, Buxton D, Wounda W. Pathogenesis of bovine Neosporosis. *Journal of comparative Pathology*, 2006c; 134: 267-289.
17. Dubey J.P ,Schares G. Diagnosis of bovine Neosporosis. *Veterinary Parasitology*. 2006d; 140:1-34
18. Dubey J.P, Schares G, Ortega Mora L.M. Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*. 2007e; 323-367.
19. Gay J.M. Neosporosis in dairy cattle: An update from an epidemiological perspective. *Theriogenology*. 2006; 66: 629-632.
20. Gondim L, McAlliste M, Pitt W, Zemlicka D. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive host of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*. 2004; 34: 159-161.
21. Gottstein B. *Neospora caninum* causa de abortos en bovinos. Jornadas de reproducción bovina. Córdoba-Argentina. 2001
22. Grooms L.D, Reproductive losses caused by bovine viral diarrhoea virus and leptospirosis. *Theriogenology*. 2006; 66: 624-628.

23. Guy C.S, Williams D.J, Kelly D. F, McGarry J.W, Bjorkman C, Smith R.F, Trees A.J. *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *The Veterinary Record*. 2001;149; 443-449.
24. Hall C.A, Reichel M.P, Ellis J.T. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. *Veterinary Parasitology*. 2005; 128: 231-241.
25. Hemphill A, Fuchs N, Sonda S, Hehl A. The antigenic composition of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*. 1999; 29: 1175-1188.
26. Hernandez J, Risco C, Donovan A. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *Journal American Veterinary Association*, 2001; 219: 632-635.
27. Innes E.A, Stephen E, Wright, Maley S, Rae A, Schock A, Kirvar E, Bartley P, Hamilton C, Carey I.M, Buxton D. Protection against vertical transmission in bovine Neosporosis. *International Journal for Parasitology*. 2001a; 31: 1523-1534.
28. Innes E. A, Andrianarivo G.A, Björkman C, Williams D.J.L, Conrad P.A. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitology*. 2002b; 18: 497-504.
29. Innes E.A, Wright S, Bartley P, Maley S, Macaldowie C, Redondo E, Buxton D. The host-parasite relationship in bovine Neosporosis. *Veterinary Immunol. Immunophatol*. 2005c; 108: 29-36.
30. Intervet
http://www.intervet.com.ec/productos/bovilis_neoguard/020_informaci_n_del_producto.asp, 01/12/07.
31. Jenkins M, Bazsler T, Bjorkman C, Sharves G Williams D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum* associated bovine abortion. *International Journal for Parasitology*, 2002; 32: 631-636.
32. Lopez-Gatius F, Garbayo J.M, Santolaria J, Yanis L, Lopez Bejar M, Norgareda C y Almeria S. Relationship between rainfall and *Neospora caninum*- associated abortion in two dairy herds in a dry environment. *Journal Veterinary Medicine*. 2005; B52:147-152.
33. Lozada E. Determinación de la Presencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en hatos lecheros de la sierra centro norte del Ecuador, por prueba inmunoenzimática. Tesis de grado. Quito-Ecuador: Universidad Central del Ecuador. 2004.

34. Lunden A. et al. Cellular immune responses in cattle experimentally infected with *Neospora caninum*. *Parasitology Immunology*. 1998; 20: 519-526.
35. Moore D.P. Odeón A.C, Campero C.M. Sugerencias de saneamiento y manejo para limitar la Neosporosis. *Boletín Veterinario* 2000;16: 43-45.
36. Muñoz B, Romero JJ, Heder C, Control de la Neosporosis en el ganado con Bovilis Neoguard: Experiencia de Campo. Congreso internacional de reproducción bovina, Bogotá-Colombia, 2004: 111-117.
37. Nishikawa Y, Mikami T, Nagasawa H. Vaccine development *Neospora caninum* infection. *Journal Veterinary Medicine Science*. 2002; 64: 1-5.
38. Purtle L, Hallstrom J, Maxwell J, Umbaugh J. Abortos reducidos después de la administración a Ganado para producción de carne de la vacuna inactivada de *Neospora caninum*. *Actas Neospora 2001: Un simposio de todos los aspectos de la Neosporosis bovina* p35, Instituto de investigación Moredum, Edimburgo.
39. Radostis O, Gay C, Blood D, Hinchclif K. Tratado de enfermedades de Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. España. 2002, Mc Graw-hill-Interamericana; 2: 1035-1552
40. Reichel M.P, Ellis J.T. If control of *Neospora caninum* is technically feasible does it make economic sense? *Veterinary Parasitology*. 2006
41. Rivera H. Etiología Infecciosa del aborto bovino. *Rev. Inv. Vet. Perú*. 2001; 1: 95-99.
42. Thurmond, M.C. Hietala. Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first lactation dairy cows. *Journal American Veterinary Medicine Association* 1997a; 210: 672.
43. Thurmond, M.C.; S. K. Hietala. *Neospora caninum* infection and abortion in cattle. *American Journal Veterinary Res* 1999b; 58: 1381-1385.
44. Trees A. J, Davison H.C, Innes E: A, Wastling J: M. Towards evaluating the economic impact of bovine Neosporosis. *International Journal for Parasitology*. 1999; 20: 1195-1200.
45. Valenzuela P. Monografías Electrónicas de Patología Veterinaria. 2005; 2:17-33.

46. Wonda W, Moen A.R, Schukken Y.H. Abortion risk in progeny of cows after *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*. 1998a; 49: 1311-1316.
47. Wonda, W.; T. Dijkstra; A.M. Kramer; C.J. Bartels. The role of the dog in the epidemiology of Neosporosis in cattle. *Tijdschr. Diergeneesk.* 2000b; 125: 614-618.