

Ésta es la segunda y última parte del exhaustivo estudio que hacen los autores de esta enfermedad a la que no se le ha dado la importancia que le corresponde

Neospora caninum

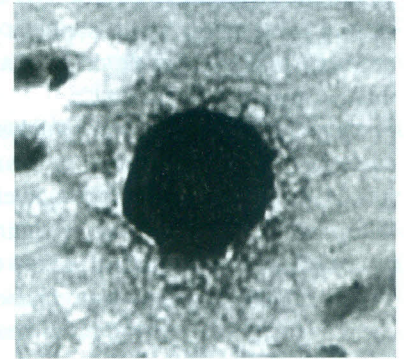
Parte II

Serrano-Martínez M. E.¹; Ortega-Mora L.M.²; Ferre Pérez I.³

SIGNOS CLÍNICOS

El aborto es la manifestación clínica más importante de la infección por *N. caninum* en el ganado bovino (Dubey y Lindsay, 1996). Puede producirse en cualquier época del año, presentándose de forma esporádica, epidémica o endémica. En algunos brotes, no menos del 33% de las vacas de leche abortan en pocos meses (Dijkstra *et al.*, 2001b; Jenkins *et al.*, 2000; McAllister *et al.*, 2000; Moen *et al.*, 1998; Schares *et al.*, 2002; Thilsted y Dubey, 1989; Thornton *et al.*, 1994; Wouda *et al.*, 1999; Yaeger *et al.*, 1994). Los estudios epidemiológicos indican que el aborto tiene lugar entre el tercer y noveno mes de gestación, siendo más frecuente en torno a los cinco o seis meses (Dubey, 1999c; Dubey *et al.*, 2007). Los fetos al morir pueden ser reabsorbidos, momificarse o presentar autólisis (Dubey, 2003b; Dubey *et al.*, 2007). Los fetos abortados no suelen presentar lesiones macroscópicas características y no hay retención de placenta. En determinadas circunstancias puede producirse la momificación del feto (hallazgo clínico característico en los brotes de aborto por neosporosis) que es abortado, o bien retenido hasta el final de la gestación (Pérez-Pérez *et al.*, 1999). La placenta suele ser eliminada con el feto abortado sin que exista retención (Dubey y Lindsay, 1996).

Una misma vaca puede abortar en más de una ocasión (Hemphill *et al.*, 1999), aunque este fenómeno sucede en menos del 5% de los casos (Anderson *et al.*, 1995; Wouda *et al.*, 1998). Las vacas que han abortado no muestran manifestaciones clínicas, las cuales sólo se han observado en terneros menores de dos meses de edad. Los terneros infectados por *N. caninum* pueden nacer con menos peso del esperado, ser incapaces de levantarse y presentar manifestaciones nerviosas (Dubey y Lindsay, 1996). Las extremidades (con más frecuencia las posteriores) pueden estar flexionadas o hiperextendidas y el examen neurológico



puede revelar ataxia, disminución del reflejo patelar y pérdida de la conciencia propioceptiva, paresia, asimetría ocular, exoftalmia o malformaciones congénitas como la hidrocefalia (Dubey, 1999c, 2003b). Sin embargo, debe destacarse que estos casos son muy infrecuentes y que la gran mayoría de los terneros infectados congénitamente mueren antes de la cuarta semana de vida o nacen clínicamente normales, pero persistentemente infectados.

PATOGENIA E INMUNIDAD

En el bovino no gestante e infectado experimentalmente por *N. caninum* no se desarrolla enfermedad clínica (Innes *et al.*, 2002). El parásito sería controlado mediante una respuesta inmunitaria de base celular (Bartley *et al.*, 2004; Innes *et al.*, 2000; Marks *et al.*, 1998).

Sin embargo, en bovinos gestantes y a mitad de la gestación la respuesta inmunitaria se modifica (según muestran pruebas *in vitro*), produciéndose una reducción de la proliferación celular frente a antígenos específicos de *N. caninum* y una disminución de la producción de IFN- γ (Innes *et al.*, 2001). Este hecho indica que durante la gestación se produciría la reactivación de los quistes tisulares de *N. caninum*. También se ha propuesto que la transmisión transplacentaria endógena podría ocurrir con más frecuencia en los hospedadores que fueron infectados *in utero* (Innes *et al.*, 2002, 2005; McAllister, 2001) y que la tasa de transmisión transplacentaria endógena podría descender con el incremento del número de gestaciones, lo que supone una eficacia parcial de la inmunidad adquirida.

Los mecanismos de acción patógena responsable de la muerte fetal no se conocen con exactitud, pero se han propuesto varias hipótesis. Después de la parasitemia, *N. caninum* es capaz de establecerse en la placenta materna y fetal (Macaldowie *et al.*, 2004; Maley *et al.*, 2003), pero para que se produzca el aborto deben interactuar varios factores que originen alteraciones fetales y placentarias. En primer lugar, el daño placentario ocasionado por el parásito puede poner en peligro directamente la supervivencia fetal o causar la liberación de prostaglandinas ma-

1. Laboratorio de Parasitología, Departamento de Salud Animal, Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado N°430, Urb. Ingeniería, 4314, Lima-Perú.
2. SALUVET, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, E-28040 Madrid, España.
3. SALUVET, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, E-28040 Madrid, España.

ternales que causan luteolisis y el aborto (Baetz *et al.*, 1981; Engeland *et al.*, 1996; Foley *et al.*, 1993). El daño fetal puede suceder por las alteraciones causadas por la multiplicación de *N. caninum* en el feto o por el insuficiente aporte de oxígeno y/o nutrientes como consecuencia del daño a la placenta. Además, puede ocurrir la expulsión del feto por la liberación de citoquinas maternas pro-inflamatorias en la placenta.

El período de gestación en el bovino es de 280 días y el sistema inmunológico fetal se desarrolla a medida que la gestación progresa, de modo que el ternero es competente inmunológicamente desde el nacimiento. Durante el primer trimestre de gestación el feto es particularmente vulnerable, puesto que el timo, bazo y ganglios linfáticos periféricos se encuentran en formación. Sin embargo, estos tejidos comienzan a reconocer y a responder frente a microorganismos durante el segundo tercio de la gestación (Osburn, 1988) y probablemente, los terneros que sobreviven a la infección en esta etapa nacen inmunotolerantes al parásito. Alrededor de los 100-150 días de gestación, el feto es capaz de desarrollar una respuesta inmunitaria (Buxton *et al.*, 2002; Nettleton y Entrican, 1995; Osburn, 1988) y después de los 150 días se hace cada vez más competente en el reconocimiento y respuesta frente a diversos patógenos (Buxton *et al.*, 2002; Osburn, 1988). Así, en el primer trimestre de gestación, el feto es excepcionalmente vulnerable a la infección por *N. caninum* y con poca probabilidad sobrevivirá. En el segundo tercio de gestación, el feto puede desarrollar una respuesta inmune frente a la infección por *N. caninum* (Almería *et al.*, 2003; Andrianarivo *et al.*, 2001; Bartley *et al.*, 2004; Innes *et al.*, 2005), que puede o no ser suficiente para salvarlo. En el tercer trimestre el feto es capaz de desarrollar una respuesta cada vez más competente frente al protozoo, permitiendo su supervivencia. Como en la mayoría de los casos, la transmisión intrauterina causa el nacimiento de terneros infectados y clínicamente normales, se supone que la transmisión ocurriría fundamentalmente en periodos tardíos de la gestación (Innes *et al.*, 2005). Estudios experimentales indican que el feto es más vulnerable a *N. caninum* antes del día 95 de gestación, mientras que aquellos fetos de vacas infectadas en días posteriores no se infectan o se infectan, pero nacen vivos (Macaldowie *et al.*, 2004; Trees *et al.*, 2002; Williams *et al.*, 2003). Por el contrario, Gondim *et al.* (2004a), utilizando ooquistes, indican que la tasa de infección transplacentaria se incrementa con la edad gestacional.

En infecciones experimentales, las lesiones más intensas se observan normalmente en la placenta y el cerebro del feto (Andrianarivo *et al.*, 2000, 2001; Gondim *et al.*, 2004a; Macaldowie *et al.*, 2004). Se ha demostrado que cuando *N. caninum* invade el útero bovino grávido, se ocasionan lesiones focales y el parásito se multiplica tanto en el tejido maternal como fetal, observándose una respuesta inflamatoria no supurativa (Macaldowie *et al.*, 2004; Maley

et al., 2003). En vacas infectadas experimentalmente con taquizoítos a los 70 días de gestación las primeras lesiones se observaron 14 días más tarde (Macaldowie *et al.*, 2004). Se ha demostrado que las células inflamatorias de origen maternal son en gran parte células T CD4, CD8 y $\gamma\delta$; y mediante hibridización *in situ* se ha determinado que al menos las células del infiltrado son capaces de producir IFN- γ (Innes *et al.*, 2005; Maley *et al.*, 2003). Este hecho apoya la hipótesis de que, en algunos casos, la muerte fetal se debe fundamentalmente a la respuesta inmunitaria maternal inducida por el parásito y es, en menor medida, un resultado directo de su multiplicación (Innes *et al.*, 2005). En esta etapa temprana de la gestación no existe inflamación fetal. En vacas infectadas experimentalmente por vía endovenosa a los 70 días de gestación se perdieron todos los fetos a los 14 días y se observaron lesiones en sólo la mitad de las vacas inoculadas. A los 28 días después de la infección se observaron lesiones en los placentomas con la separación de los cotiledones fetales de la carúncula maternal (Macaldowie *et al.*, 2004).

Coincidiendo con el inicio de la infección placentaria, el parásito entra en el torrente circulatorio fetal e invade los tejidos, especialmente el SNC (Macaldowie *et al.*, 2004). *Neospora caninum* está al principio localizado en y alrededor de los vasos sanguíneos (Barr *et al.*, 1991a; Dubey *et al.*, 1992) y en el feto su multiplicación puede causar la destrucción del neuropilo, con poca o ninguna inflamación (Buxton *et al.*, 2002; Ogino *et al.*, 1992). En fetos capaces de responder al parásito, su multiplicación es más restringida y la necrosis es focal y está rodeada por un intenso infiltrado inflamatorio que contiene microglia, astrocitos y células de la serie linfóide monoclónica (Barr *et al.*, 1994a; Otter *et al.*, 1995; Schock *et al.*, 2000; Wouda *et al.*, 1997b). Estos focos pueden calcificarse más tarde (Boulton *et al.*, 1995; Gonzalez *et al.*, 1999). Los fetos abortados e infectados por *N. caninum* muestran tejidos (corazón, músculo esquelético, pulmón e hígado) con necrosis multifocal e infiltraciones mononucleares (Anderson *et al.*, 1991; Barr *et al.*, 1991a; Wouda *et al.*, 1997b). En algunos fetos, *N. caninum* puede causar lesiones inflamatorias y necrosis, con parásitos demostrables en diversos tejidos como el hígado y corazón, mientras que en el cerebro puede observarse leucomalacia focal. Por todo ello, *N. caninum* es un patógeno primario capaz de causar aborto por la inflamación y necrosis de la placenta maternal y fetal, del feto o una combinación de éstos.

En los terneros infectados congénitamente, las lesiones localizadas en los músculos y en el sistema nervioso serían las responsables de los síntomas neurológicos y neuromusculares observados ocasionalmente (Barr *et al.*, 1991b; Bryan *et al.*, 1994; Dubey y de Lathunda, 1993; Dubey *et al.*, 1990). La infección congénita subclínica es bastante frecuente, produciéndose el nacimiento de terneros clínicamente sanos, pero infectados *in utero* (Guy *et al.*, 2001). En estos animales asintomáticos, la infección

intrauterina de fetos inmunocompetentes ocasiona la producción de títulos elevados de anticuerpos específicos precalostrales, encontrándose que hasta un 95% de los terneros infectados congénitamente pueden nacer clínicamente normales, los cuales son seropositivos y proceden de madres también seropositivas; y que a su vez, pueden transmitir la infección a su descendencia (Quintanilla-Gozaol, 1999).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la neosporosis bovina se ha revisado recientemente (Dubey y Schares, 2006; Ortega-Mora *et al.*, 2006). La inexistencia de manifestaciones clínicas en los animales infectados crónicamente y el escaso número de parásitos en los fetos abortados, dificulta el diagnóstico en la neosporosis bovina (Jenkins *et al.*, 2002). Por ello, la confirmación de la infección requiere la recogida de datos clínicos y epidemiológicos en las explotaciones y de la asistencia de un laboratorio de diagnóstico veterinario.

Es orientativo recoger los datos sobre el historial reproductivo en el último año y, en la medida de lo posible, datos sobre las características de los abortos que se hayan producido (edad fetal y estado del mismo). Una información de especial interés es conocer el patrón de presentación de los abortos (endémico o epidémico) puesto que en el caso de que se confirme el diagnóstico de neosporosis, éste está relacionado con la forma de transmisión predominante en dicha explotación y, por tanto, con la elección de las medidas de control más adecuadas (Anderson *et al.*, 2000; Schares *et al.*, 2002).

Los datos clínicos y epidemiológicos pueden sugerir la infección por *N. caninum* o su participación en los abortos. Sin embargo, el diagnóstico final debe siempre confirmarse mediante el empleo de técnicas de diagnóstico laboratorial.

En el diagnóstico laboratorial de la neosporosis bovina se plantean dos problemas principales. Por un lado, el diagnóstico individual de la infección tanto *in vivo* como en los fetos abortados, lo cual requiere un conocimiento adecuado de toda la batería de herramientas diagnósticas disponibles, así como la elección de las más adecuadas en cada caso y su correcta interpretación. Por el otro, un abordaje global del diagnóstico (diagnóstico de rebaño) teniendo en cuenta las características epidemiológicas de la granja con el fin de conocer el grado de diseminación de la infección, la implicación de la misma en los abortos y, sobre todo, para la elección de las medidas de control más adecuadas.

Para el diagnóstico individual *in vivo*, el diagnóstico indirecto mediante la detección de anticuerpos específicos frente a *N. caninum* es la forma más adecuada y eficaz de detectar la infección, siendo la IFI y el ELISA las dos principales técnicas empleadas. Se debe tener en cuenta que los animales infectados crónicamente presentan fluctuaciones muy acusadas en los valores de anticuerpos a lo largo del tiempo. Así, se sabe que poco antes y poco des-

pués de un aborto, las vacas infectadas suelen presentar valores elevados de anticuerpos (Quintanilla-Gozaol *et al.*, 2000), mientras que en otros momentos de la vida del animal, sobre todo transcurrido un tiempo después del aborto, los valores de anticuerpos séricos pueden bajar considerablemente llegando incluso a ser indetectables, obteniéndose en estos casos un resultado falso negativo (Jenkins *et al.*, 2002).

Otra cuestión importante es la correcta clasificación de una muestra de suero como seropositiva o seronegativa. En este sentido, aunque un estudio interlaboratorial reciente mostró una concordancia elevada entre las técnicas serológicas empleadas con más frecuencia en Europa (von Blumröder *et al.*, 2004), en ocasiones se detectan discrepancias entre las principales técnicas ELISA en la correcta clasificación de sueros cercanos al punto de corte. En estos casos, se recomienda repetir el análisis a las pocas semanas o emplear una técnica serológica confirmatoria como el IB (Álvarez-García *et al.*, 2003; Bartels *et al.*, 2006). Diversos autores aconsejan el empleo de diferentes puntos de corte en función de la edad de los animales y el propósito del análisis (Álvarez-García *et al.*, 2003; Atkinson *et al.*, 2000).

Por último, cabe destacar la adaptación reciente de pruebas ELISA para su empleo en muestras individuales de leche, obteniéndose en general concordancias muy buenas con los resultados de muestras pareadas de suero analizadas también por ELISA (Björkman *et al.*, 1997; Salas-Calvo *et al.*, 2005; Schares *et al.*, 2004). Además, el empleo de muestras de leche presenta una serie de ventajas frente al empleo de muestras de suero, como son la recogida no invasiva de la muestra y un menor manejo de los animales.

En lo que respecta al diagnóstico individual en el feto abortado, primero se debe considerar que el aborto es el único síntoma observado en las vacas infectadas por *N. caninum* y los fetos pueden morir en el útero, ser reabsorbidos, momificarse o autolisarse (Anderson *et al.*, 2000; Dubey y Lindsay, 1996; Wouda *et al.*, 1998). Para un diagnóstico adecuado de la infección por *N. caninum* en el feto abortado, se recomienda el envío al laboratorio tanto del feto como de la placenta. Si esto no es posible, se deben enviar las muestras de cerebro, corazón e hígado fetales para el examen histológico y detección de ADN del parásito mediante PCR; y muestras de los fluidos fetales torácico o abdominal para la serología. La recogida y envío de las muestras debe realizarse lo más rápidamente posible después de la expulsión del feto para evitar la autólisis de los tejidos.

El diagnóstico debe comenzar con el examen macroscópico del feto, que puede aportarnos información sobre su edad y permitir la identificación de lesiones macroscópicas que, aunque poco frecuentes, pueden estar asociadas a la infección por *N. caninum*. Entre las lesiones observables, destaca la presencia de focos blanquecinos en

el músculo esquelético y corazón; y focos, desde pálidos a oscuros, en el cerebro (Anderson *et al.*, 2000; Dubey y Lindsay, 1996). El diagnóstico de la infección se debe completar mediante el examen histológico del cerebro, corazón e hígado y la detección del parásito mediante IHQ o por PCR, mucho más sensible. Recientemente, se realizó un estudio interlaboratorial para comparar los métodos de IHQ y PCR utilizados en diferentes laboratorios europeos en el diagnóstico de la infección por *N. caninum* en tejidos fetales bovinos (van Maanen *et al.*, 2004). Los resultados muestran una gran variación entre las técnicas de IHQ empleadas así como su baja sensibilidad. En cambio, existen menos variaciones entre las técnicas de PCR utilizadas, que muestran una elevada sensibilidad y especificidad. En cuanto a la serología fetal un resultado positivo mediante IFI, ELISA o IB confirmaría la infección del feto (Otter *et al.*, 1997; Söndgen *et al.*, 2001). Sin embargo, no puede tomarse como técnica exclusiva para el diagnóstico de la infección en el feto, ya que diversos factores tales como un fallo en la inmunocompetencia del feto o la autólisis y consiguiente degradación de las inmunoglobulinas, pueden producir falsos negativos (Wouda *et al.*, 1997a). Además, la serología fetal sólo es útil en fetos abortados a partir del quinto mes de gestación, fecha a partir de la cual son inmunocompetentes.

En segundo lugar, el diagnóstico de rebaño se debe realizar una vez demostrada la presencia de *N. caninum* en la explotación, por tanto, es conveniente realizar un estudio seroepidemiológico para conocer la implicación del parásito en los abortos (Hall *et al.*, 2005; Sager *et al.*, 2001; Thurmond y Hietala, 1995). Para ello, se debe calcular la razón de seropositividad en vacas abortadas y no abortadas. En las explotaciones en las que *N. caninum* es agente causal de los abortos, la razón de seropositividad en las vacas abortadas será significativamente mayor que en las vacas no abortadas. Una vez confirmada la implicación de *N. caninum* en la producción de abortos y en vista a la elección de las medidas de control más adecuadas, resulta importante conocer el patrón de abortos, así como la forma de transmisión predominante de la infección en la explotación. Para ello, los tres métodos principales que se emplean, son la determinación de la OR (índice que compara la seropositividad en vacas abortadas y no abortadas), la asociación entre la serología precalostral y maternal y la determinación de la avidéz de los anticuerpos mediante ELISA. En general un patrón de aborto endémico con una transmisión predominantemente vertical estará asociado a una OR cercana a 2, que supone una asociación positiva entre la serología de las madres y su descendencia; y una avidéz alta de los anticuerpos en la mayoría de los animales infectados de la explotación. Sin embargo, un patrón de aborto epidémico con una transmisión predominantemente horizontal estará asociado a una OR significativamente superior a 2, que supone una ausencia de asociación entre la serología de las madres y su descen-

dencia; y una avidéz predominantemente baja de los anticuerpos (Aguado-Martínez *et al.*, 2005; Dijkstra *et al.*, 2002, 2003; Schares *et al.*, 2002; Thurmond y Hietala, 1995).

Por último, cabe señalar que recientemente se han desarrollado pruebas ELISA para su empleo en muestras de tanque de leche. Estos estudios han revelado que estas técnicas son solamente útiles en explotaciones con prevalencias serológicas intra-rebaño superiores al 10-15% (Bartels *et al.*, 2005), por lo que este tipo de muestra no sería adecuado para descartar la infección en un rebaño, aunque sí como herramienta de seguimiento serológico en los programas de control de la neosporosis (Varcasia *et al.*, 2006).

CONTROL

El control de la neosporosis bovina se ha revisado recientemente (Dubey *et al.*, 2007). En las explotaciones libres de *N. caninum* se puede prevenir la introducción de la infección mediante medidas básicas de bioseguridad (Haddad *et al.*, 2005), mientras que en las explotaciones infectadas los programas de control deben basarse en la disminución de la transmisión vertical (reduciendo el número de animales seropositivos) y/o reduciendo el riesgo de la transmisión horizontal (principalmente mediante el control de la población de hospedadores definitivos ya que constituyen una fuente de contaminación de ooquistes) (Conraths y Ortega-Mora, 2005; Haddad *et al.*, 2005; Hall *et al.*, 2005; Larson *et al.*, 2004; Reichel y Ellis, 2002). Las medidas de control están fundamentalmente encaminadas a mejorar la bioseguridad de la granja, introducción de nuevas alternativas en el manejo reproductivo de la explotación, eliminación del efectivo seropositivo, quimioprofilaxis e inmunoprofilaxis (Conraths y Ortega Mora, 2005; Conraths *et al.*, 2007; Haddad *et al.*, 2005; Hall *et al.*, 2005; Larson *et al.*, 2004; Reichel y Ellis, 2002).

BIOSEGURIDAD

Se recomiendan aquellas medidas que eviten la entrada de animales infectados en las explotaciones libres de neosporosis o infectadas y aquellas que eviten o disminuyan las posibilidades de la transmisión vertical y horizontal en explotaciones con presencia de ganado infectado. La cuarentena es una de las herramientas más útiles en las explotaciones no infectadas o explotaciones con excelente eficacia reproductiva. Esta medida es particularmente importante en explotaciones cerradas y libres de *N. caninum*.

El control de perros y otros potenciales hospedadores definitivos en las explotaciones también se ha propuesto como un mecanismo para reducir la transmisión de *N. caninum* al ganado. La presencia de perros en las granjas debería evitarse o, al menos, evitar su acceso a las zonas de alojamiento del ganado, el granero y las áreas de almacenaje de forraje mediante cercado. También debería considerarse el papel de los perros silvestres y otros cánidos como hospedadores definitivos (Gondim *et al.*, 2004c;

Rosypal y Lindsay, 2005). Los perros jóvenes eliminan más oocistos después de la infección que los perros más viejos (Gondim *et al.*, 2005). La presencia de hembras gestantes o con cachorros también debería evitarse en las áreas mencionadas. El riesgo de infección para los hospedadores definitivos puede disminuir si los fetos abortados, membranas fetales y otros tejidos de hospedadores intermedios potencialmente infectados son eliminados adecuadamente. Como medida preventiva se deberían eliminar órganos y tejidos de animales de caza (ciervos y otros) y evitar su ingestión por perros y carnívoros silvestres.

Además deberían ponerse en práctica medidas para prevenir la contaminación del agua por las heces de los hospedadores definitivos, ya que se ha demostrado que la existencia de fuentes de agua (estanques, pozos o abastecimientos de agua pública) son un factor de riesgo en la infección por *N. caninum* del ganado (Ould-Amrouche *et al.*, 1999) y la transmisión hídrica ha sido demostrada en *T. gondii* (de Moura *et al.*, 2006).

El control de roedores debería practicarse regularmente ya que éstos podrían ser reservorios de *N. caninum*. Además, deben evitarse factores que podrían originar la recrudescencia de la enfermedad en el ganado infectado congénitamente, como alimentar con pienso mohoso que pudiera contener micotoxinas.

MANEJO REPRODUCTIVO

Se han propuesto algunas medidas de manejo reproductivo para reducir las posibilidades y el impacto económico de la transmisión transplacentaria endógena en explotaciones bovinas infectadas. La transferencia de embriones de madres infectadas a receptoras no infectadas puede prevenir la transmisión transplacentaria endógena de *N. caninum* (Baillargeon *et al.*, 2001). Por ello la transferencia de embriones podría utilizarse para recuperar terneros genéticamente valiosos, pero procedentes de madres infectadas por *N. caninum*.

Los resultados de un estudio realizado en España en dos granjas de alta producción lechera y con prevalencias serológicas de aproximadamente 28%, demostraron que la utilización de semen de toros de carne podría reducir el riesgo de aborto (Lopez-Gatius *et al.*, 2005).

ELIMINACIÓN DEL EFECTIVO SEROPOSITIVO

Las vacas infectadas por *N. caninum* pueden ser consideradas como un reservorio del parásito ya que pueden transmitirlo a su progenie. Por tanto la eliminación de las vacas seropositivas es una opción de control eficaz, aunque no siempre posible económicamente. En este apartado puede incluirse las opciones siguientes: eliminación de madres seropositivas o madres seropositivas que abortan, inseminación de la progenie de madres seropositivas con semen de toros de carne y exclusión de la progenie procedente de las madres seropositivas para cría. Todas estas opciones han sido aplicadas con éxito (Hall *et al.*, 2005). Además, los modelos de simulación han confirmado la

utilidad de estas estrategias en el ganado infectado endémicamente (Larson *et al.*, 2004). Estas medidas deben considerarse en explotaciones donde la infección predominante sea la transmisión transplacentaria endógena. Las madres para el desvieje o las madres excluidas de la cría deben sustituirse por animales seronegativos. Antes de adoptar esta estrategia deben de analizarse los factores de riesgo de la infección, como la ruta principal de transmisión, presencia de perros, presencia de otros reservorios domésticos o silvestres, etc. (Haddad *et al.*, 2005). También debería realizarse un análisis de coste-beneficio para cada granja antes de elegir cualquiera de las opciones mencionadas.

QUIMIOPROFILAXIS

El tratamiento farmacológico frente a la neosporosis bovina no es económicamente rentable ya que sólo podría utilizarse como medida preventiva. Para ello, debería administrarse durante largos periodos de tiempo, lo que probablemente produciría residuos en carne y leche inaceptables o prolongados periodos de supresión (Reichel y Ellis, 2002). Sin embargo, el conocimiento de la interacción parásito-hospedador durante la gestación podría revelar los períodos estratégicos para la aplicación de tratamientos de corta duración. Estas estrategias de tratamiento podrían aplicarse en rebaños con transmisión transplacentaria predominantemente exógena o endógena. Actualmente, no existe ninguna quimioterapia segura y eficaz para la neosporosis bovina. Sin embargo, se han realizado estudios sobre el efecto del toltrazuril y ponazuril sobre taquizoítos de *N. caninum* *in vitro* (Darius *et al.*, 2004) e *in vivo* (Haerdi *et al.*, 2006; Kritzner *et al.*, 2002) en terneros. En los terneros infectados experimentalmente tratados con ponazuril, el parásito no se detectó en el cerebro y otros órganos (Kritzner *et al.*, 2002). En ratones infectados experimentalmente se demostró que el tratamiento con toltrazuril podría ser capaz de evitar la transmisión transplacentaria de la infección (Gottstein *et al.*, 2005).

INMUNOPROFILAXIS

Las vacunas disponibles actualmente para el control de enfermedades causadas por protozoos en el ganado bovino están basadas en organismos vivos atenuados. La dificultad que se afronta en el diseño de una vacuna frente a *N. caninum* es que la propia respuesta inmune de la madre puede ser perjudicial para el feto. Además, se desconocen todavía la importancia relativa de las diferentes rutas de transmisión responsables del aborto (la reactivación de la infección crónica o la reinfección en una población libre del parásito) y los planteamientos tradicionales de vacunación pueden no ser los apropiados; aunque varios estudios experimentales han demostrado que es posible inducir inmunidad protectora, al menos parcialmente, tanto en el modelo bovino como en el murino (Williams y Trees, 2006). Las investigaciones llevadas a cabo para la elaboración de una vacuna frente a *N. caninum* han incluido la evaluación de vacunas muertas, vivas o de subunida-

des, casi siempre en modelo murino y con resultados variables. En este sentido, Liddell *et al.* (1999) vacunaron ratonas BALB/c con extracto completo de taquizoítos mezclado con el adyuvante ImmuMZXSR™ (Zonagen Inc., TX, USA) antes de la cubrición, obteniendo una protección muy eficaz (100%) frente a la transmisión vertical. Sin embargo, no existen resultados sobre su eficacia en el ganado bovino. Los resultados anteriores contrastan con los obtenidos por Baszler *et al.* (2000), cuya vacuna, preparada con antígeno soluble y adyuvante completo de Freund, exacerbó la sintomatología nerviosa y originó una respuesta inmune inadecuada. Andrianarivo *et al.* (1999) vacunaron bovinos con taquizoítos muertos emulsionados con cuatro adyuvantes diferentes (Havlogen, Polygen, Montanide ISA 773 y una mezcla de Havlogen y Bay R-1005) detectando una respuesta inmune de base celular débil con el adyuvante Polygen, aunque cuando lo inocularon a reproductoras gestantes no evitó la infección fetal (Andrianarivo *et al.*, 2000). Lundén *et al.* (2002) inmunizaron ratones BALB/c con una dosis baja de taquizoítos, antígenos incluidos en "iscoms", extracto soluble de taquizoítos mezclado con Quil A o con PBS, observando menos lesiones en el cerebro en los grupos inmunizados con "iscoms" o Quil A.

En ensayos de vacunación en ratones se han empleado taquizoítos vivos procedentes de aislados pocos virulentos (Atkinson *et al.*, 1999) o mutantes sensibles a la temperatura (Lindsay *et al.*, 1999b) con el objetivo de estimular una respuesta inmune protectora frente a una infección letal por *N. caninum*. Se han obtenido resultados prometedores, aunque con el problema añadido de originar animales infectados persistentemente. En este sentido, la vacuna viva desarrollada frente a la toxoplasmosis de los pequeños rumiantes, Toxovax™, resultó ser ineficaz cuando se empleó en ovejas gestantes y desafiadas con una dosis letal de taquizoítos de *N. caninum*. En la actualidad, las

investigaciones se dirigen hacia el diseño de vacunas empleando diversos antígenos recombinantes. Se ha utilizado con éxito un vector herpesvirus para expresar NcSRS2, una proteína de la superficie del taquizoíto, e inmunizar a perros (Nishikawa *et al.*, 2000), observándose una remisión de la infección. También se ha utilizado el virus "vacuna" para clonar los antígenos NcSRS2 y NcSAG1 previniendo con éxito la transmisión vertical en ratonas (Nishikawa *et al.*, 2001). Recientemente, se ha identificado y clonado las dos primeras proteínas de expresión en bradizoítos, el gen SAG-4 (Fernández-García *et al.*, 2006) de expresión temprana y BSR-4 (Risco-Castillo *et al.*, 2007) de expresión tardía. Aunque todavía es difícil pronosticar su eficacia vacunal.

Actualmente, la única vacuna frente a *N. caninum* se encuentra registrada en los Estados Unidos de Norteamérica. Es una vacuna inactivada (NeoGuard™) que parece no conferir un alto grado de protección en vacas gestantes frente al aborto (Andrianarivo *et al.*, 2000). Recientemente, una inoculación de taquizoítos vivos del aislado Nc-Nowra antes de la gestación indujo una protección completa frente al aborto y la transmisión cuando las vacas vacunadas fueron desafiadas el día 70 de gestación (Williams *et al.*, 2007). Estos resultados confirman estudios precedentes en modelo murino, en los cuales la infección con vacuna viva antes de la gestación protegió contra el desafío durante la misma (Liddell *et al.*, 1999; Miller *et al.*, 2005). Ninguna vacuna ha mostrado todavía protección frente a la transmisión transplacentaria endógena. La inmunización con taquizoítos inactivados de *N. caninum* y adyuvante POLYGEN no fue capaz de prevenir la transmisión vertical en novillas infectadas naturalmente (Andrianarivo *et al.*, 2005). Es importante destacar que la vacuna disponible actualmente no permite la discriminación serológica del ganado vacunado del infectado (Dubey *et al.*, 2006). (MV)

I Curso de Manejo y Sanidad de Cuyes

Con fecha 30 y 31 de mayo, se llevó a cabo este primer curso integral sobre crianza de cuyes, organizado por el Colegio Médico Veterinario Departamental de Lima.

Las charlas, dictadas en el auditorio principal del Senasa, estuvieron a cargo de profesionales especialistas en el tema, como los médicos veterinarios Denise Chauca, Ronald Jiménez, Siever Morales, Guillermo Leguía, Llelca Vega, Juan Effio, Marcos Lévano y la Ing. Lilia Chauca.

El curso abarcó aspectos de sanidad, bioseguridad, exportación, mejoramiento, entre otros y tuvo una duración de dos días, concluyendo satisfactoriamente, con proyección a un segundo curso en el corto plazo.



Los conferencistas Siever Morales Cauti y Ronald Jimenez acompañados de Lilian Chea, Rosa Gutiérrez y Roberto Alvitres, decana y miembros de la junta directiva del CMV Departamental de Lima