

Seroprevalencia de *Neospora caninum* en un Hato Lechero de Boyacá, Colombia

SEROPREVALENCE OF *Neospora caninum* IN A DAIRY HERD IN BOYACÁ, COLOMBIA

Martín Orlando Pulido-Medellín^{1,2}, Diego José García-Corredor¹,
Julio Cesar Vargas-Abella¹

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en un hato lechero del municipio de Toca, Colombia. Se tomaron 100 muestras de sangre de bovinos de 1 a 9 años de edad, seleccionados mediante un método aleatorio simple de corte transversal prospectivo. Las muestras de suero fueron procesadas mediante un kit comercial de ELISA indirecta. La seroprevalencia de anticuerpos anti-*N. caninum* fue de 64%. La asociación entre animales positivos con historia de abortos y número de partos fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$), en tanto que la asociación con la edad, estado reproductivo y repetición de celos no fue significativa.

Palabras clave: neosporosis, ELISA, aborto, prevalencia

ABSTRACT

The aim of the present study was to determine the presence of antibodies against *Neospora caninum* in a dairy herd in the municipality of Toca, Colombia. Blood samples (n=100) were collected from females between 1 and 9 years of age. The animals were selected through simple random method of prospective cross-cut. The serum samples were processed using a commercial indirect ELISA kit. The prevalence of antibodies anti-*N. caninum* was 64%. The association between positive animals with history of abortion

¹ Grupo de Investigación GIDIMEVETZ, Laboratorio de Parasitología Veterinaria, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Colombia

² E-mail: mopml@hotmail.com

Recibido: 1 de octubre de 2015

Aceptado para publicación: 6 de marzo de 2016

and parity was statistically significant ($p < 0.05$), while the association with age, reproductive status and repeat breeding was not significant.

Key words: neosporosis, ELISA, abortion, prevalence

INTRODUCCIÓN

La neosporosis bovina se perfila en Colombia y el mundo como una importante enfermedad reproductiva causante de elevadas pérdidas económicas y productivas (Dubey *et al.*, 2007; Kamali *et al.*, 2014), habiéndose estimado pérdidas superiores a 80 millones de dólares anuales en Argentina (Campero *et al.*, 2000; Lértora *et al.*, 2010).

Diversos estudios a nivel internacional han sido llevados a cabo para determinar los efectos negativos que implica la presencia de *N. caninum* en los hatos bovinos (Dubey y Schares, 2006; Escalona *et al.*, 2010; Nasir *et al.*, 2012, Weifeng *et al.*, 2015). En Colombia no se dispone de estimaciones reales acerca de las pérdidas económicas por *Neospora*, pero ya se han desarrollado mapas epidemiológicos regionales, encontrando frecuencias variables de acuerdo a la zona muestreada. Por ejemplo, en Montería se reportó la presencia de *N. caninum* en el 10.2% de las fincas analizadas (Oviedo *et al.*, 2007), en tanto que en la sabana de Bogotá, Nariño, y en algunas zonas cálidas se encontró 54.1% de seropositividad (Zambrano-Varón y Thurmond, 2009).

Si bien es cierto, el número de muestras analizadas en algunas regiones es bastante limitada, los datos obtenidos dan un estimado alarmante de la situación nacional con respecto a la neosporosis bovina. Por lo pronto, en Boyacá se han realizado algunas investigaciones (Andrade *et al.*, 2007; Pulido *et al.*, 2013) que ha permitido elaborar un mapa epidemiológico de la enfermedad para esta zona, el cual facilitará estudios relacionados

con la patogénesis y cálculos económicos de pérdidas atribuidas a este fenómeno.

Por esta razón se desarrolló el presente estudio con el fin de determinar la seroprevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* mediante la técnica de ELISA en bovinos de un hato lechero del municipio de Toca, Colombia, así como evaluar posibles variables que pueden estar asociadas con la neosporosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de Estudio

Esta investigación correspondió a un estudio descriptivo de corte transversal con muestreo aleatorio y distribución proporcional al tamaño de la muestra.

Localidad y Animales

El estudio se desarrolló en el municipio de Toca, departamento de Boyacá, Colombia. El municipio tiene un área de 165 km², se encuentra a una altitud de 2810 m, está conformado por una topografía variable entre valles y montañas y posee una temperatura media de 13 °C (Alcaldía Municipal de Toca, 2015).

La población de referencia fue de bovinos hembras de raza Holstein pertenecientes a una finca ganadera de la vereda «Raiba». La finca se especializa en la producción de leche en un sistema de explotación extensivo con un promedio de producción de 12.5 litros/vaca/día. Utiliza inseminación artificial y

presenta evidentes problemas reproductivos (bajo porcentaje de fertilidad y alta presencia de abortos). La finca tenía 134 bovinos donde fueron seleccionados el 75% ($n=100$), según tamaño de muestra para un 95% de confianza. Se registró la edad (1-9 años), número de partos y estado reproductivo, historia de abortos y tipo de celos de cada animal tomados del registro de manejo reproductivo de la finca. No hubo presencia de perros en la finca.

El diagnóstico de preñez empleado en la finca se realiza por ecografía cada 21 días en los animales que no muestran signos de celo posteriores a la inseminación.

Recolección y Procesamiento de Muestras

Se recolectaron muestras de sangre (7 ml) mediante venopunción coccígea en tubos al vacío (tipo Vacutainer) sin anticoagulante. Las muestras fueron transportadas bajo refrigeración en cavas de poliestireno expandido al laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia en un tiempo menor a dos horas.

En el laboratorio, las muestras fueron centrifugadas a 1500 rpm durante 10 minutos y el suero resultante fue transferido a un tubo de almacenamiento. Las muestras se procesaron bajo la técnica de ELISA indirecta (Camillo *et al.*, 2010; Sierra *et al.*, 2011) para la detección de anticuerpos contra *Neospora caninum*, utilizando un kit comercial (Ingezim Neospora®, Ingenasa, España). Para la determinación de muestras positivas y negativas se siguió el instructivo del kit.

Análisis de Resultados

Se consideraron las edades por meses equivalentes a cada año de edad para determinar el número de bovinos con anticuerpos anti-*N. caninum*. Se aplicó la técnica esta-

dística de Chi Cuadrado de bondad de ajuste con el programa Epi Info para determinar posible diferencia estadística entre las frecuencias de individuos infectados y no infectados con *N. caninum*. Asimismo, se empleó la prueba de comparación múltiple de proporciones utilizando el programa CompaProWin 2.0 para determinar posibles asociaciones de la seroprevalencia con las variables edad, número de partos, ocurrencia de celos (vacas con celos regulares, vacas repetidoras), estado reproductivo (preñada, vacía) e historia de abortos (sí, no).

RESULTADOS

Se encontró una prevalencia de 64%, donde la presencia de mayor número de vacas con el anticuerpo anti *N. caninum* fue significativa ($\chi^2=7.84$, $p=0.0051$). No hubo diferencia estadística por edades en la proporción de vacas con anticuerpos anti-*N. caninum* ($p=0.4289$) (Figura 1).

La presencia de *N. caninum* fue independiente del estado reproductivo de los animales ($p=0.8025$), observándose 33% de seropositividad (33/64) en hembras vacías y de 31% en el caso de hembras preñadas (31/64); asimismo, tampoco se observó diferencia estadística entre animales con celos regulares y aquellos con repetición de celos ($p=0.2113$) (Figura 2).

Se encontró una mayor y significativa frecuencia de animales seropositivos con historia de abortos (46%) que en aquellos sin registros de abortos (18%) ($p=0.0005$) (Figura 2).

Los animales con 3 o menos partos presentaron una menor proporción de seropositividad (44/73, 60.3%) que animales con más de 3 partos (20/27, 74.1%), siendo significativa esta diferencia ($p=0.0027$) (Figura 3).

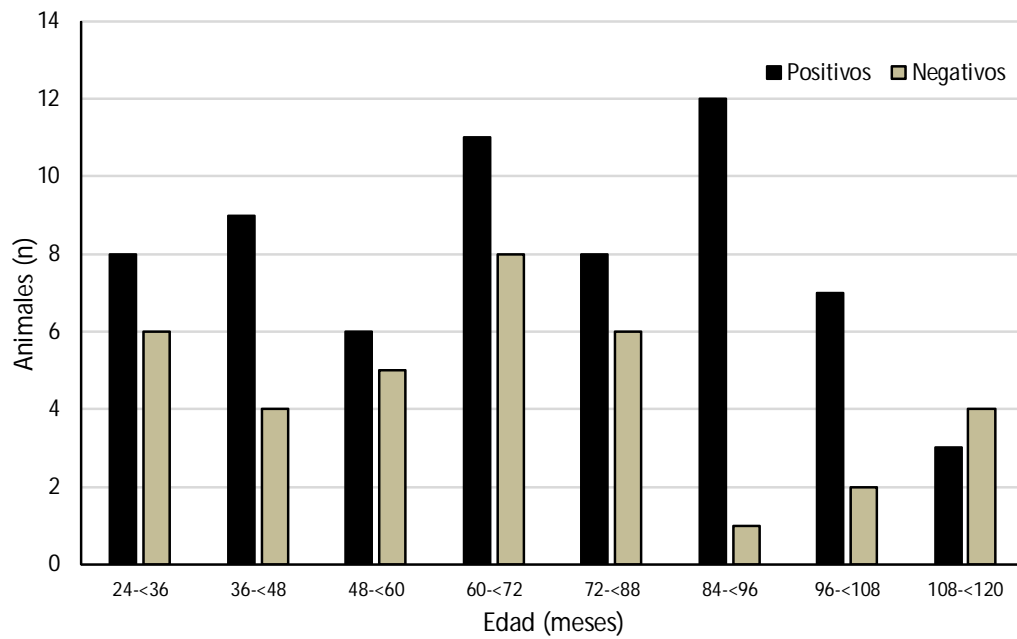


Figura 1. Frecuencia de bovinos con anticuerpos anti-*N. caninum* según edad

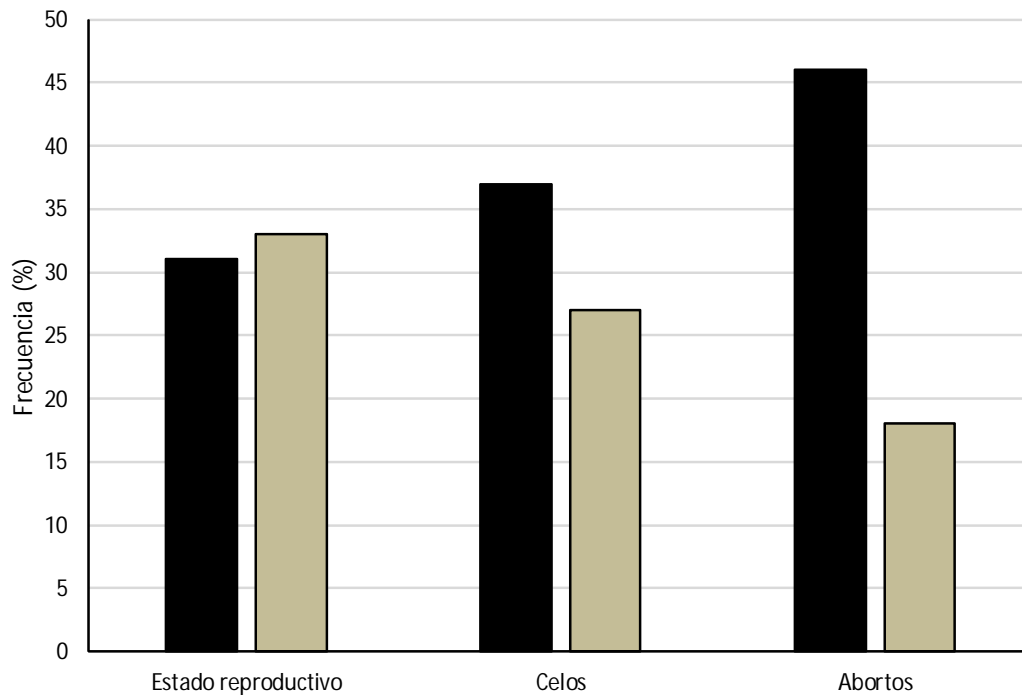


Figura 2. Prevalencia de bovinos con anticuerpos anti-*N. caninum*, según el estado reproductivo (preñada, vacía), manifestación de celos (regulares, vacas repetidoras) e historia de abortos (con y sin historia)

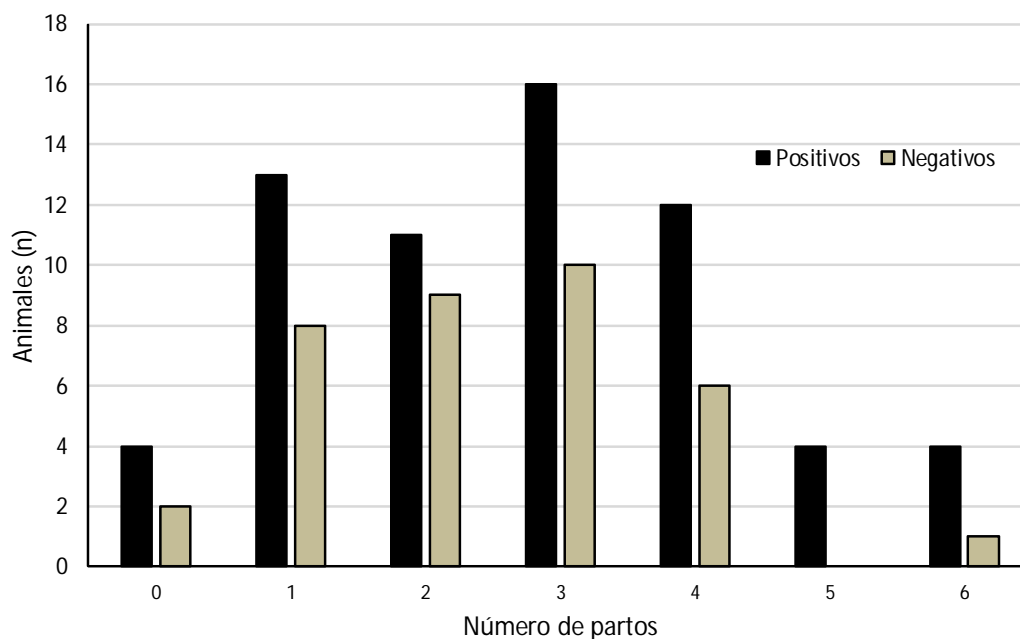


Figura 3. Frecuencia de vacas y novillas con anticuerpos anti-*N. caninum* según número de parto

DISCUSIÓN

El 64% de prevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* indica que estos animales fueron expuestos al parásito en algún momento de la etapa pre o postnatal (Mello *et al.*, 2008; Escalona *et al.*, 2010). La alta prevalencia de *N. caninum* encontrada en bovinos de producción extensiva sugiere la presencia de factores que contribuyen a la transmisibilidad o persistencia del parásito en los bovinos susceptibles (Obando *et al.*, 2010; Jianhua *et al.*, 2014; Chunmei *et al.*, 2015).

En Colombia se conocen pocos estudios acerca de la presencia de *N. caninum* en hatos lecheros. Entre estos, López *et al.* (2007), Oviedo *et al.* (2007) Cedeño y Benavides (2013) encontraron prevalencias de 34.6, 10.2 y 76.9%, respectivamente; mientras que en otros países se han reportado prevalencias que van desde 2.7 a 44% (Ghalmi *et al.*, 2012; Sanhueza *et al.*, 2013; Salant *et al.*, 2015).

Uno de factores que pueden influir la diseminación de la enfermedad se encuentra la infección transplacentaria a las crías, donde el mantenimiento de vacas positivas con enfermedad postnatal perpetúa la presencia del parásito en los hatos, convirtiendo fincas enteras en seropositivas a *N. caninum* (Sbruzzi *et al.*, 2012; Goodswen *et al.*, 2013).

La importancia de la prevalencia encontrada en este estudio radica en el hecho de que a mayor seropositividad de animales en el hato mayor serán los niveles de transmisión vertical, tal como se demuestra en un estudio hecho en Brasil, donde se describió un alto grado de correlación entre la tasa de transmisión vertical y la prevalencia de animales seropositivos (Camillo *et al.*, 2010).

Un aspecto importante en este estudio fue la presencia del parásito, tanto en vacas gestantes como vacías. Esto podría deberse a que la mayoría de vacas infectadas tienen gestaciones normales; sin embargo, las vacas positivas tienen mayor probabilidad de

abortar que aquellas negativas, especialmente si se infectan en el primer tercio de la gestación (Chunmei *et al.*, 2015). Es posible que esta variable no posea relación directa con la presencia del parásito pero si tiene relación con el principal evento reportado en vacas infectadas que es el aborto (Obando *et al.*, 2010; Kamali *et al.*, 2014).

Se determinó la presencia de anticuerpos anti-*N. caninum* en vacas con 0 a 6 partos; sin embargo, se evidenció una menor presentación de anticuerpos en hembras con historial de tres o menos partos (44/73). Estos resultados se deben posiblemente a que los animales son infectados desde temprana edad y los títulos de anticuerpos contra *N. caninum* se mantienen elevados por años (Ghalmi *et al.*, 2012; Jianhua *et al.*, 2015). Además de esto, una exposición reciente al parásito se puede evidenciar en una seroconversión y aumento de anticuerpos, pero no necesariamente en un aumento de la tasa de abortos. Esto apoya la hipótesis de que además de la infección existen otros factores que pueden influir en el riesgo de aborto como bacterias (*Leptospira* sp, *Campylobacter* sp) y enfermedades virales (IBR, DVB) (O' Doherty *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

- La seroprevalencia de anticuerpos anti-*N. caninum* fue de 64% en un hato lechero del municipio de Toca, Colombia).
- La asociación entre animales positivos con la historia de abortos y el número de partos fue estadísticamente significativo ($p < 0.05$), en tanto que la asociación con la edad, estado reproductivo y repetición de celos no fue significativa.

LITERATURA CITADA

1. **Alcaldía Municipal de Toca. Información geográfica del municipio de Toca. 2015.** [Internet]. Disponible en: http://www.toca-boyaca.gov.co/informacion_general.shtml#geografia
2. **Andrade R, Pulido M, Caycedo A, López J. 2007.** Análisis prospectivo de la seropositividad de *Neospora caninum* en ejemplares bovinos de raza Holstein de una finca lechera en Toca, Boyacá (Colombia). *Rev Col Cienc Pec*: 20(4): 557.
3. **Camillo G, Cadore G, Cezar AS, Toscan G. 2010.** Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de leite do sudoeste do estado do Paraná. *Arq Bras Med Vet Zootec* 62: 1511-1513. doi: 10.1590/S0102-09352010000600033
4. **Campero CM, Cipolla AL, Odeón AC, Odriozola E, Moore DP, Ronchi J. 2000.** Causales del aborto y mortalidad neonatal en bovinos de la provincia de Buenos Aires, Argentina. XXI Congreso Mundial de Buiatría, Punta del Este, Uruguay.
5. **Cedeño D, Benavides B. 2013.** Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in dairy cattle herds in the municipality of Pasto, Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 18: 3311-3316.
6. **Chunmei Jin, Longzheng Yu, Yinan Wang, Shiyue Hu, Shoufa Zhang. 2015.** Evaluation of *Neospora caninum* truncated dense granule protein 2 for serodiagnosis by enzyme-linked immunosorbent assay in dogs. *Exp Parasitol* 157: 88-91. doi: 10.1016/j.exppara.2015.07.003
7. **Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. 2007.** Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev* 20: 323-367. doi: 10.1128/CMR.00031-06
8. **Dubey JP, Schares G. 2006.** Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet Parasitol* 140: 1-34. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.03.035
9. **Escalona J, García F, Mosquera O, Vargas F, Corro A. 2010.** Factores de riesgo asociados a la prevalencia de neosporosis bovina en el municipio Bolívar del estado Yaracuy, Venezuela. *Zootecnia Trop* 28: 201-212.

10. **Ghalmi F, China, B, Ghalmi A, Hammitouche D, Losson B. 2012.** Study of the risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in Algerian cattle populations. *Res Vet Sci* 93: 655-661. doi: 10.1016/j.rvsc.2011.12.015
11. **Goodswen S, Kennedy P, Ellis J. 2013.** A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: from the past to the present. *Infect Genet Evol* 13: 133-150. doi: 10.1016/j.meegid.2012.08.012
12. **Jianhua Li, Pengfei Hea, Yanhui Yua, Ling Dua, Pengtao Gong, Guocai Zhang, Xichen Zhang. 2014.** Detection of *Neospora caninum*-DNA in feces collected from dogs in Shenyang (China) and ITS1 phylogenetic analysis. *Vet Parasitol* 205: 361-364. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.06.036
13. **Kamali A, Seifi HA, Movassaghi AR, Razmi GR, Naseri Z. 2014.** Histopathological and molecular study of *Neospora caninum* infection in bovine aborted fetuses. *Asian Pac J Trop Biomed* 4: 990-994. doi: 10.12980/APJTB.4.201414B378
14. **Lértora JD, Mohr-Betania N, Mosqueda MG, Sánchez-Negrette M. 2010.** Detección de *Neospora caninum* en fetos bovinos abortados espontáneamente en el nordeste Argentino. *In Vet* 12: 173-182.
15. **López G, Restrepo B, Restrepo M, Lotero M, Murillo V, Chica A, Cano J, Giraldo J. 2007.** Estudio para evidenciar la presencia de *Neospora caninum* en bovinos de la hacienda San Pedro en el municipio de Fredonia. *Rev MVZ CES* 2(1): 7-20.
16. **Mello R, Andreotti R, Barros J, Tomich R, Mello A, Campolim A, Pellegrin A. 2008.** Levantamento epidemiológico de *Neospora caninum* em bovinos de assentamentos rurais em Corumbá, MS. *Rev Bras Parasitol Vet* 17 (Supl 1): 311-316.
17. **Nasir A, Lanyon S, Schares G, Anderson M, Reichel M. 2012.** Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in South Australian beef and dairy cattle. *Vet Parasitol* 186: 480- 485. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.11.032
18. **Obando C, Bracamonte M, Montoya A, Cadena V. 2010.** *Neospora caninum* en un rebaño lechero y su asociación con el aborto. *Rev Cient FCV-LUZ* 20: 235-239.
19. **O' Doherty E, Sayers R, O' Grady L, Shalloo L. 2015.** Effect of exposure to *Neospora caninum*, *Salmonella*, and *Leptospira interrogans* serovar Hardjo on the economic performance of Irish dairy herds. *J Dairy Sci* 98: 2789-2800. doi: 10.3168/jds.2014-8168
20. **Oviedo TS, Betancur CH, Mestra AP, González MT, Reza LG, Calonge KG. 2007.** Estudio serológico sobre neosporosis en bovinos con problemas reproductivos en Montería, Córdoba, Colombia. *Rev MVZ Córdoba* 12: 929-933.
21. **Pulido Medellín MO, Díaz Anaya AM, Garcia DJ, Andrade Becerra RJ. 2013.** Determinación de anticuerpos anti *Neospora caninum* en vacas de la provincia de Sugamuxi, Colombia. *Rev Mex Cienc Pec* 4: 501-506.
22. **Salant H, Mazuz ML, Savitsky I, Nasereddin A, Blinder E, Baneth G. 2015.** *Neospora caninum* in cows from Israel. *Vet Parasitol* 212: 375-378. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.08.019
23. **Sanhueza JM, Heuer C, West D. 2013.** Contribution of *Leptospira*, *Neospora caninum* and bovine viral diarrhoea virus to fetal loss of beef cattle in New Zealand. *Prev Vet Med* 112: 90-98. doi: 10.1016/j.prevetmed.2013.07.009
24. **Sbruzzi JM, Amaku M, Urias-dos-Santos AJ, Gennari SM. 2012.** A longitudinal study of *Neospora caninum*

- infection on three dairy farms in Brazil. *Vet Parasitol* 187: 553-557. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.01.019
25. **Sierra R, Medina-Esparza C, Ramos Parra L, García-Vázquez Z, Cruz-Vázquez C. 2011.** Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de anticuerpos a *Neospora caninum* en ganado lechero de Aguascalientes, México. *Rev Mex Cienc Pec* 2(1): 15-24.
26. **Weifeng Qian, Hui Wang, Dan Shan, Bo Li, Jing Liu, Qun Liu. 2015.** Activity of several kinds of drugs against *Neospora caninum*. *Parasitol Int* 64: 597-602. doi: 10.1016/j.parint. 2015. 08.002
27. **Zambrano-Varón J, Thurmond M. 2009.** Aproximación epidemiológica para medir y entender el aborto bovino. *Rev Med Vet Zoot* 56: 309-326.