

VETERINARIA





ABORTO POR *Neospora caninum* EN REBAÑOS BOVINOS DE RAZA CARORA EN VENEZUELA

Nelitza Linarez Alvarez¹, Estluz Mata Silva² y Sonia Alméria de la Merced³

Recibido: 17 de mayo 2017
Evaluado: 30 de julio 2017
Aceptado: 10 de septiembre 2017

Resumen

Neospora caninum es un protozoo parásito intracelular considerado en la actualidad como una de las principales causas de aborto en vacuno, en sistemas de producción de leche y carne de todo el mundo. En Venezuela, se han realizado pocos estudios en los que se relacione la ocurrencia de aborto, seropositividad y la confirmación de infección por *Neospora caninum* en fetos abortados mediante técnicas de biología molecular. El objetivo del presente estudio fue evaluar la seropositividad frente a *Neospora caninum* en diferentes fincas de raza Carora en Venezuela y determinar su relación con la ocurrencia de abortos causados por este agente etiológico diagnosticado mediante estudios histológicos y moleculares en fetos abortados recolectados en las fincas. Los seis rebaños analizados presentaron algún animal con anticuerpos frente a *Neospora caninum*, con una positividad total del 28,1%. La evaluación de los fetos abortados mediante técnicas histológicas y PCR específica frente a *Neospora caninum*, permitió confirmar al parásito como causa de aborto en dichas fincas. Finalmente, los resultados confirman la importancia de la neosporosis en Venezuela, y los datos obtenidos fundamentan la inclusión de esta enfermedad en el diagnóstico de enfermedades que cursan con aborto en Venezuela, y la aplicación de medidas de control.

Palabras claves: aborto, bovino, fetos, *Neospora caninum*, seropositividad

¹Venezolana. Médico Veterinario, Magister en Bioquímica, Doctorado en Veterinaria y Ciencias Alimentarias. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Antonio Nariño, Colombia. nelinarez@uan.edu.ve

²Venezolana. Licenciatura en Biología Experimental y Doctorado en Ciencias Biológicas mención Biología Molecular. Fundación Instituto Internacional de Estudios Avanzados (IDEA) Venezuela. ekmata@gmail.com

³Española, Licenciada en Veterinaria. Doctorado en Parasitología Veterinaria y Postdoctorado en Inmunología Parasitaria. Departament de Sanitat i Anatomia Animal, Facultat de Veterinaria and Centro de Recerca en Sanitat Animal (CreSA), Universitat Autònoma de Barcelona, España.

ABORTION BY *Neospora caninum* IN BOVINE HERDS OF CARORA BREED IN VENEZUELA

Nelitza Linarez Alvarez¹ , Estluz Mata Silva² y Sonia Almería de la Merced³

Received: May 17, 2017
Evaluated: July 30, 2017
Accepted: September 10, 2017

Abstract

Neospora caninum is an intracellular protozoan parasite considered nowadays as one of the main causes of cattle abortion in systems of milk and meat production around the world. In Venezuela few studies have been made in which is related the occurrence of abortion, seropositivity and the confirmed infection by *Neospora caninum* in aborted fetus through molecular biology techniques. The goal of this study was to evaluate the seropositivity against *Neospora caninum* in different farms of Carora breed in Venezuela, and to determine its relation with the occurrence of abortions caused by this etiologic agent, diagnosed through molecular and histological studies of aborted fetuses in those farms. The six herds analyzed showed an animal with antibodies against *Neospora caninum* with a total positivity of 28.1%. The evaluation of aborted fetuses through histological techniques and specific PCR for *Neospora caninum* allowed confirming the parasite as cause of abortion in those farms. Finally, the results confirm the importance of neosporosis in Venezuela, and the data obtained sustains the inclusion of this disease in the diagnosis of diseases that occurs with abortion in Venezuela, and the application of control measures.

Keywords: *Neospora caninum*, Fetus, Bovines, abortion, seropositivity

ABORTO POR *Neospora Caninum* EM REBANHOS BOVINOS DE RAÇA CARORA EM VENEZUELA

Nelitza Linarez Alvarez¹, Estluz Mata Silva² y Sonia Almería de la Merced³

Recebido: 17 de maio de 2017
Avaliado: 30 de julho de 2017
Aceito: 10 de setembro de 2017

Resumo

Neospora caninum é um protozoó parasita intracelular conceituado na atualidade como uma das principais causas de aborto em vacuno em sistemas de produção de leite e carne de todo mundo. Em Venezuela, realizaram-se poucos estudos nos que se relacione a ocorrência de aborto, seropositividade e a confirmação de infecção por *Neospora caninum* em fetos abortados mediante técnicas de biologia molecular. O objetivo do presente estudo foi avaliar a seropositividade em frente a *Neospora caninum* em diferentes fincas de raça Carora em Venezuela e determinar sua relação com a ocorrência de abortos causados por este agente etiológico diagnosticado mediante estudos histológicos e moleculares em fetos abortados coletados em ditas fincas. Os seis rebanhos analisados apresentaram algum animal com anticuerpos em frente a *Neospora caninum*, com uma positividade total de 28,1%. A avaliação dos fetos abortados mediante técnicas histológicas e PCR específica em frente a *Neospora caninum*, permitiu confirmar ao parasita como causa de aborto em ditas fincas. Finalmente, os resultados confirmam a importância da neosporosis em Venezuela, e os dados obtidos fundamentam a inclusão desta doença no diagnóstico de doenças que cursam com aborto em Venezuela, e o aplicativo de medidas de controle.

Palavras-chave: aborto, gado, fetos, *Neospora caninum*, seropositividade

Introducción

Neospora caninum es un protozoo del tipo Apicomplexa responsable de la enfermedad denominada Neosporosis. El primer caso de infección por *N. caninum* se diagnosticó en 1984 en Noruega (Bjerkas y Presthus, 1989). En 1988, Dubey, Hattel, Lindsay y Topper en EEUU identifican un parásito similar y proponen su denominación como un nuevo género, *Neospora*; y como especie tipo *N. caninum*. En 1989 Thilsted y Dubey, indican la presencia de un protozoo en fetos de ganado lechero abortados en California que reaccionan frente a anticuerpos específicos a *N. caninum*.

El ciclo biológico de *N. caninum* es heteroxeno, intervienen dos tipos de hospedadores a fin de poder completar las fases sexual y asexual de su desarrollo. Como hospedadores definitivos, los cánidos eliminan ooquistes con las heces (Basso et al., 2001; McGarry, Stockton, Williams y Trees, 2003). Una vez expuestos al ambiente, estos ooquistes iniciarían su proceso de esporulación; sin embargo, no se conoce con exactitud la fase entero-epitelial de *N. caninum*. Además, se ha descrito la observación de formas esquizogónicas en cultivos de quistes tisulares (Dubey et al., 2004) y se ha confirmado que éstos se forman a partir de la ingestión de quistes tisulares conteniendo bradizoitos (Lindsay, Lenz, Blagburn y Brake, 1999).

La forma más frecuente de transmisión de *N. caninum* en la naturaleza es la transmisión vertical o endógena pero también se da la transmisión horizontal o postnatal (Trees y Williams, 2005). La vía vertical se reconoce como responsable de la perpetuación de la infección en el hato (Dubey y Schares, 2006; Dubey, Schares y Ortega-Mora, 2007) y permite que la infección se mantenga en el rebaño durante varias generaciones (Wouda, Brinkhof, Van Maanen, De Gee y Moen,

1998). En vacas infectadas de forma crónica, la transmisión al feto durante la gestación sucede como consecuencia del recrudecimiento de la infección latente, debido a la inmunosupresión generada por la gestación, la parasitemia consecuente permite que las formas infectantes del parásito invadan la placenta y diferentes tejidos fetales. En estos casos, generalmente la cría nace infectada pero clínicamente sana, aunque el aborto también puede presentarse. Por otro lado, la vía horizontal permite que la infección se mantenga indefinidamente en un rebaño (Anderson, Adrianarivo y Corand, 2000).

La infección por *N. caninum* en el ganado bovino no gestante es generalmente asintomática, mientras que en animales preñados tiene como signo clínico más relevante el aborto, tanto en el ganado bovino lechero como en el de carne (Dubey, 2005). Las consecuencias más importantes de la infección por *N. caninum* en el ganado bovino son el aborto y el nacimiento de terneros congénitamente infectados. En general, cuando la infección primaria ocurre en los primeros momentos de la gestación se produce la muerte del feto y la reabsorción del mismo. Si es en la fase media de la gestación puede provocar aborto o el nacimiento de terneros congénitamente infectados que pueden tener sintomatología aparente. En los momentos finales de la gestación, la infección provocará el nacimiento de terneros infectados sin sintomatología aparente (Buxton, Mc Allister y Dubey, 2002). Asimismo, una misma vaca puede abortar repetidas veces por neosporosis (Anderson et al., 1995; Pabón, López-Gatius, García-Ispuerto, Bech-Sábat, Nogareda y Almería, 2007), pudiendo ocurrir a partir del tercer mes de gestación, aunque suele observarse más frecuentemente entre los 5 y los 6 meses (Dubey, 1999).

El diagnóstico de neosporosis puede realizarse a través de técnicas que revelan la presencia del parásito, como las empleadas en histopatología, inmunohistoquímica y amplificación de genes (PCR), o técnicas que evidencian la presencia de anticuerpos; como la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFI), métodos inmunoenzimáticos (ELISA) y de seroaglutinación (Prueba de aglutinación directa para *Neospora* (NAT)). Actualmente el diagnóstico en bovinos adultos se basa en la detección de anticuerpos específicos frente a *N. caninum*. El examen del suero materno y fetal, y de tejido fetal, puede contribuir al diagnóstico (Dubey y Lindsay, 1996). Lo ideal es contar con el feto completo, pero si esto no es posible, se pueden examinar muestras de cerebro, corazón e hígado en busca de cambios histopatológicos, y fluidos fetales o suero sanguíneo para evaluación serológica (Dubey y Lindsay, 1996).

No existe ningún tratamiento o vacuna eficaz para prevenir la transmisión vertical, o el aborto asociado a la infección con *N. caninum* en el ganado. En bovinos no existe una estrategia de control general, aplicable a nivel mundial. Por lo que las medidas a tomar, dependerán de las diferencias regionales en la epidemiología de la enfermedad (Dubey et al., 2007). Es necesario conocer la prevalencia de seropositividad en el rebaño y el reconocimiento del ciclo de vida selvático del parásito (Gondim, 2006).

Las medidas de prevención de la neosporosis han de tener como objetivo evitar la infección fetal. Al no existir actualmente un método eficaz de control o eliminación, adquieren gran importancia las prácticas de manejo en los rebaños lecheros. En rebaños no infectados se debe prevenir el contacto con el parásito introduciendo sólo animales negativos y repitiendo el muestreo para evitar los falsos negativos. Paralelamente se debe evitar la

presencia de perros en las zonas de alimentación y evitar el acceso de perros con tejidos fetales. Además, se deben realizar análisis de todas las hembras que aborten, así como de los fetos abortados y la placenta (McAllister, 2016).

En Venezuela se han realizado algunos estudios de seropositividad que confirman la exposición al parásito en los rebaños bovinos en lo que parece la mayoría de los estados del país (Lista-Alves, Palomares-Naveda, García, Obando, Arrieta y Hoet, 2006, León et al., 2007; Linarez, Mendoza y Matheus, 2016.). Se necesitan estudios de laboratorio para detectar y confirmar su presencia en el ganado bovino, así como estudios epidemiológicos más completos para determinar la prevalencia de la infección por este protozooario en Venezuela. Adicionalmente se requieren estudios para evaluar el impacto real de esta enfermedad en los abortos bovinos. Ello implica el establecimiento de los criterios diagnósticos que permitan definir la existencia de infección fetal y el aborto asociado a *Neospora*, además de establecer el estatus serológico de la neosporosis en el rebaño. Así, en este estudio evaluamos la seropositividad frente a *N. caninum* en rebaños bovinos de la raza Carora, mediante el uso de diferentes alternativas diagnósticas, incluyendo la evidencia del ADN del protozooario en muestras de fetos abortados.

Materiales y métodos: en Venezuela, un alto porcentaje de los sistemas de producción de ganadería bovina no cuentan con un sistema de registros bien establecido. Sin embargo, la Asociación de Criadores de Ganado Carora (SAOCRICA), se ha dedicado a desarrollar un programa de mejoramiento genético para consolidar ejemplares de la Raza Carora en animales bien adaptados al clima tropical y con buena producción de

leche en las múltiples condiciones de manejo existentes en los países tropicales. Esta labor, ha incluido la implementación de sistemas de registros coordinados y uniformes, que obligatoriamente deben llevar todas las fincas inscritas en esta asociación. Esta condición fue uno de los parámetros seguidos para seleccionar las ganaderías a evaluar en nuestro estudio, además de que los animales manejados en estos sistemas de producción son de la raza Carora, que es considerada autóctona en nuestro país y Patrimonio Nacional de Venezuela.

Se incluyeron 470 vacas raza Carora y mestizas Carora, seleccionadas de forma aleatoria en 6 explotaciones lecheras de las regiones ganaderas seleccionadas, incluyendo la región Costera (Estado Falcón), Centroccidental (Estado Lara) y de los Llanos (Estado Portuguesa). En el momento del estudio las vacas tenían entre 2 y 6 años de edad (3,5 años en promedio), y fueron seleccionadas al azar en cada explotación. Las vacas se ordeñan 2 veces al día, y los becerros son apartados de su madre al momento del nacimiento. En lo que respecta a las prácticas reproductivas, se emplea la inseminación artificial, y sólo se usa monta natural en aquellos animales que no quedan preñados tras dos inseminaciones consecutivas. El semen es proporcionado por el Centro de Inseminación Artificial de la raza Carora (CIAC).

Se tomaron muestras de sangre de la vena coccígea al total de los animales estudiados. Las muestras de sangre se centrifugaron y el suero obtenido fue almacenado a -20°C hasta su posterior análisis. Para la detección de la IgG anti *N. caninum* en suero se empleó la técnica comercial de ELISA indirecto: Herdcheck® de laboratorios IDEXX S. A. (EE. UU). Esta técnica utiliza como antígeno un extracto soluble

de taquizoitos que se encuentra adherido a las placas de titulación mediante métodos convencionales. Para el caso de los sueros caninos, el conjugado anti-IgG de bovino fue reemplazado por conjugado anti-IgG de perro. Los sueros de los perros se analizaron en dilución 1:100, tras una doble dilución a partir de una dilución inicial de 1:20. Los sueros provenientes de los bovinos se analizaron en dilución 1:100. Como conjugado se utilizó un anticuerpo monoclonal conjugado con peroxidasa. En cada analítica se utilizaron por duplicado los controles negativos (CN) y positivos (CP) incluidos en el test para validarlo. En ambos casos se siguieron las recomendaciones del fabricante empleándose los reactivos y sueros testigo suministrados por la casa comercial. La reacción colorimétrica en cada pocillo se midió utilizando un lector de ELISA a una longitud de onda de 650 nm.

Se recolectaron los fetos abortados durante un año en los sistemas de producción incluidos en el estudio (hasta un total de 4 fetos, 1 proveniente del estado Portuguesa, 2 del estado Lara y 2 del estado Falcón), todos con edades comprendidas entre los 3 y 6 meses. Se tomaron muestras de corazón, cerebro e hígado de los fetos abortados para estudio histopatológico convencional con hematoxilina-eosina y para su análisis por PCR. Para el aislamiento del ADN se empleó el kit Wizard Genomic DNA Purification®, según las indicaciones de la casa comercial. Para el diagnóstico de *N. caninum* basado en la técnica de PCR se seleccionó la región genómica específica Nc5 como la secuencia objetivo de la amplificación de DNA (Kaufmann et al., 1996; Yamage, Fletchner y Gottstein, 1996). Los iniciadores que se utilizaron fueron Np21-plus y Np6-plus (Liddell, Jenkis y Dubey, 1999). La reacción de PCR se realizó con el Kit PCR Master Mix® de Promega siguiendo la metodología sugerida por la casa comercial. La

amplificación se realizó en un aparato de PCR (DNA termal cycler automatic, Perkin-Elmer, California, USA). El producto amplificado en la PCR se analizó por electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % en una cámara de electroforesis (CBS Scientific), con un marcador de peso molecular cuyo rango fue de 1517 pares de bases a 100 pares de bases (100 bp DNA Ladder. BioLabs). La banda de ADN correspondiente a 337 pares de bases, fue secuenciada en el Servicio de secuenciación de la Universidad Autónoma de Barcelona. Para ello previa limpieza de los reactivos de la PCR se procedió a una reacción usando como iniciador el Np9 (5'-GTTGCTCTGCTGACGTGTCGTTG 3') interno a la secuencia del gen Nc5 usada en la PCR inicial, de acuerdo con los descrito por McInnes et al., (2006). Las secuencias de las cepas encontradas se examinaron usando el programa Chromas Pro 1 (Larkin, Morris, Li, Nock y Stein, 2007) y se compararon con otras secuencias parciales de diferentes especies depositadas en Genbank usando el programa BLAST: Basic Local Alignment Search Tool. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

En el análisis estadístico los datos se evaluaron mediante el programa estadístico SPSS 19. El Chi cuadrado indicó diferencias significativas entre grupos, y se empleó la prueba de ANOVA para la comparación múltiple.

Resultados: En el análisis serológico se observó un total de 132 animales seropositivos al parásito, lo cual representó una seopositividad del 28,1 % de la población evaluada. Todos los rebaños estudiados presentaron animales seropositivos frente a *N. caninum*, aunque mostraron importantes variaciones en los valores de seroprevalencia de anticuerpos contra *N. caninum* que oscilaron entre un 11,4% a un 39,1% (Tabla 1).

El análisis estadístico de estos datos mostró diferencias significativas relacionadas con la seroprevalencia de anticuerpos frente *N. caninum* en las distintas fincas (P<0.001). Mediante análisis de varianza (ANOVA) se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las fincas 1, que presentó la mayor seroprevalencia, con respecto a la finca 2 que mostró la menor seroprevalencia. El resto de fincas no mostraron diferencias significativas respecto a las anteriores.

Tabla 1: Seroprevalencia de anticuerpos frente a *N. caninum* en vacunos de las distintas fincas evaluadas

Anticuerpos frente a <i>N. caninum</i>	FINCA						Total
	1 ^a	2 ^b	3 ^{ab}	4 ^{ab}	5 ^{ab}	6 ^{ab}	
Ausencia	56 (60,9%)	78 (87,8%)	21 (75,0%)	52 (62,7%)	22 (62,9%)	109 (75,7%)	338
Presencia	36 (39,1%)	10 (11,4%)	7 (25,0%)	31 (37,3%)	13 (37,1%)	35 (24,3%)	132
Total	92	88	28	83	35	144	470

Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas en el análisis de ANOVA.

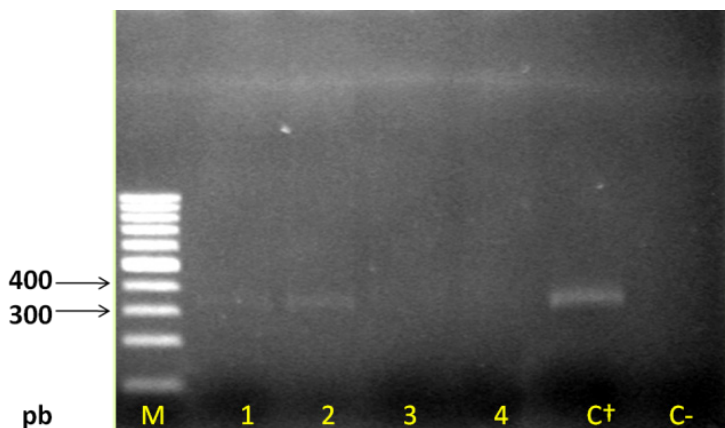
Fuente: elaboración propia

Se evaluaron 4 fetos, de los cuales dos resultaron positivos al análisis por PCR, uno proveniente del estado Falcón (Feto 1) y otro del estado Portuguesa (Feto 2). El ADN del parásito fue evidenciado en las muestras de corazón donde se evidenciaron bandas de 337 pares de bases, que se corresponden perfectamente con la banda del protozooario (Fig. 1, carriles 1 y 2). Sin embargo, las muestras de cerebro y de hígado no mostraron el ADN del protozooario. Además, se secuenciaron los productos de la PCR de los dos fetos 1 y 2, y la secuencia obtenida mostró una alta homología entre el 96-98%, con las

secuencias parciales pertenecientes al gen analizado en la PCR (Nc5) en Genbank, confirmando que en algunas de las fincas, los abortos podrían estar relacionados a la presencia de *N. caninum*. Por otro lado, las madres de estos dos fetos, mostraron altos títulos de anticuerpos frente a *N. caninum* en la prueba de ELISA; 1,54 y 3,37 respectivamente.

El examen histopatológico en 2 de los fetos evaluados (fetos 1 y 2) mostró edema, degeneración vacuolar de los miocardiocitos, y exudado inflamatorio linfoplasmocitario en el corazón. En el cerebro se observaron formaciones quísticas, gliosis y pequeños focos de leucomalacia, y en el cerebelo se evidenció edema, leucomalacia multifocal, formaciones quísticas y exudado celular inflamatorio mononuclear en las meninges. Sin embargo, no se detectaron los parásitos mediante la tinción hematoxilina-eosina en ninguno de los fetos evaluados.

Figura 1: Análisis por PCR de presencia de DNA de *N. caninum* en el corazón de fetos abortados en Venezuela. M, marcador de peso molecular. 1, muestra del feto 1 (estado Portuguesa). 2, muestra del feto 2 (estado Falcón). 3, muestra del feto 3 (estado Falcón). 4 muestra del feto 4 (estado Lara). C+, Control positivo 5 (estado Lara). C-, Control negativo



Fuente: elaboración propia

Discusión: el diagnóstico serológico se realizó mediante la técnica de ELISA, usando el ELISA IDEXX que ha sido ampliamente utilizado en estudios previos a éste (Schares et al., 1999 y 2004; Wouda et al., 1998; Von Blumröder et al., 2004; Bartels, van Maanen, van der Meulen, Dijkstra y Wouda, 2005) para el diagnóstico específico de abortos y obtención de información sobre la infección, con posibilidad de identificar los animales seropositivos y la vía de transmisión de la infección en los rebaños vacunos (Paré, Thurmond y Hietala, 1997). Todos los rebaños analizados presentaron algún animal con anticuerpos frente a *N. caninum*, lo que evidenció la gran diseminación de la infección por *N. caninum*. La prevalencia total del estudio fue del 28,1% con tasas de prevalencia que variaron entre fincas.

El resultado general supera los valores de seropositividad encontrados en estudios previos realizados en Venezuela, donde se reportó una prevalencia de infección con *N. caninum* de 20,7% en el estado Falcón (Fernández, 2004), 11,3% reportado por Lista-Alves et al., 2006, 13% en el estado Guárico y 17% en el sur del estado Aragua (León et al., 2007), o 17,1% en el estado Yaracuy (Escalona, García y Mosquera, 2010). Por otro lado, es inferior al 44% de prevalencia encontrada por Obando, Bracamonte, Montoya y Cárdenas (2010), en un rebaño con abortos endémicos. De igual forma, los resultados obtenidos son similares a los valores reportados en diversos países del mundo (Jensen et al., 1999; Moore et al., 2002; Sartor, García, Vianna, Pituco y Sartor, 2005; Corbellini et al., 2006).

El ciclo de vida de los protozoarios tiene una estrecha relación con el medio ambiente, principalmente con la temperatura, la humedad relativa, la humedad del suelo, la precipitación pluvial, el tipo de pastura, y la radiación solar (Schares et al., 2004; López-Gatius,

Santolaria, Yániz, Garbayo y Almería, 2005). Romero, Breda, Vargas B, Dolz G, Frankena, en el 2005, sugieren que la seroprevalencia del parásito en el rebaño y entre rebaños, podría verse favorecida por la supervivencia de los ooquistes del parásito y por su diseminación en los distintos períodos climáticos del año. En este sentido, se ha mencionado que la incidencia de temperaturas ambientales elevadas podría representar un factor predisponente para la infección por este protozoario (Wouda, Bartels y Moen, 1999).

Estudios epidemiológicos realizados en dos regiones diferentes de Brasil, detectaron que los animales ubicados en la región con mayor humedad relativa, presentaban más riesgo de exposición (Corbellini et al., 2006). De igual modo, en Francia se mostró que, aunque los abortos asociados a *Neospora* se presentan durante todo el año, mostrando un pico en el verano (Pitel et al., 2001). Un mayor riesgo en la época de temperaturas elevadas sugiere una esporulación más rápida en estas condiciones, lo cual puede incrementar la oportunidad de infección de los bovinos, si el alimento, los pastos o el agua de bebida contaminados son ingeridos (Schares et al., 2004). Por otro lado, estudios realizados en Alemania (Schares et al., 2003) e Italia indicaron relación entre la temperatura y los períodos de lluvias con la presencia de abortos por *N. caninum* (Bartels et al., 2006). En nuestro caso, las regiones incluidas en el estudio poseen un clima muy cálido durante todo el año, en el cual la radiación solar intensa y las altas temperaturas que se presentan durante el todo el día, lo que muy posiblemente han favorecido la infección por el protozoario en el rebaño bovino y por tanto la seropositividad.

El aborto es el principal síntoma clínico asociado a la infección por *N. caninum* en ganado vacuno lechero,

aunque no está claro cómo y el por qué ocurre. Se conoce con mayor exactitud cuando ocurren la mayoría de abortos, y este conocimiento es clave para entender la patogenia y poder acercarnos más a las causas del aborto, su prevención y control. Por otro lado, El estudio de los fetos, sirvió para confirmar los estudios serológicos realizados, como se ha evidenciado en estudios similares (Yao et al., 2009; Ghalmi, China, Kaidi y Losson, 2011). Tendrías que decir algo como: En base a los resultados de detección de *N. caninum* por PCR en los fetos abortados y los hallazgos histopatológicos observados en dichos fetos provenientes de madres serológicamente positivas a frente al protozoario, se puede decir que muy probablemente la causa de aborto en dichas vacas fue *N. caninum*.

Conclusión: los resultados ponen de manifiesto la importancia de la neosporosis en las regiones ganaderas de Venezuela y que en casos de aborto debe ser incluida en los protocolos de diagnóstico. Por otro lado, la infección por *N. caninum* es considerada una de las principales causas de fallos reproductivos en bovinos a nivel mundial (Dubey, 2003), por lo que se hace indispensable establecer planes de prevención y control para este protozoario en los sistemas de producción bovina de Venezuela.

Referencias bibliográficas:

- Anderson M., Andrianarivo A., Conrad P. (2000). “Neosporosis in cattle”. *Animal Reproductive Science*. 60-61:417-31.
- Anderson M., Palmer C., Thurmond M., Picanso J., Blanchard P., Breitmeyer R., Layton A, McAllister M., Daft B., Kinde H. (1995). “Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in

- California". *Journal of American Veterinary Medicine Association*. 207(9):1206-10.
- Bartels C., Arnaiz-Seco J., Ruiz-Santa-Quitera A., Björkman C., Frössling J., von Blumröder D., Conraths F., Schares G., van Maanen C., Wouda W., Ortega-Mora L. (2006). "Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden". *Veterinary Parasitology*. 137(1-2):17-27.
- Bartels C., van Maanen C., van der Meulen A., Dijkstra T., Wouda W. (2005). "Evaluation of three enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Neospora caninum* in bulk milk". *Veterinarian Parasitology*. 131(3-4):235-46.
- Basso W., Venturini L., Venturini M., Hill D., Kwok O., Shen S., Dubey J. (2001). "First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog". *Journal of Parasitology*. 87(3):612-8.
- Bjerkås I. y Presthus J. (1989). "The neuropathology in toxoplasmosis-like infection caused by a newly recognized cyst-forming sporozoon in dogs". *APMISH*.
- BLAST. (2011). "Basic Local Alignment Search Tool. A tool for comparing an amino acid or nucleotide sequence to an entire sequence library, identifying regions of high sequence similarity". <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
- Buxton D., McAllister M., Dubey J. (2002). "The comparative pathogenesis of neosporosis". *Trends of Parasitology*. 18(12):546-52.
- Corbellini L., Pescador C., Frantz F., Wunder E., Steffen D., Smith D., Driemeier D. (2006). "Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil". *Veterinary Journal*. 172(1):114-20.
- Dubey J., Hattel A., Lindsay D. y Topper M. (1988). "Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission". *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 193(10):1259-63.
- Dubey J. y Lindsay S. (1996). "A review of *Neospora caninum* and neosporosis". *Veterinary Parasitology*. 67(1-2):1-59.
- Dubey J. (1999). "Neosporosis the first decade of research." *International Journal for Parasitology*, 29(10):1485-1488.
- Dubey J. (2003). "Neosporosis in cattle". *Journal of Parasitology*. 89:S42- S56.
- Dubey J. (2005). "Neosporosis in cattle". *Veterinary Clinical of North America: Food Animal Practice*. 21(2):473-83.
- Dubey J., Sreekumar C., Knickman E., Miska K., Vianna M., Kwok O., Hill D., Jenkins M., Lindsay D., Greene C. (2004). "Biologic, morphologic, and molecular characterisation of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs". *International Journal of Parasitology*. 34(10):1157-67
- Dubey J. y Schares G. (2006). "Diagnosis of bovine neosporosis". *Veterinary Parasitology*. 140(1-2):1-34.

- Dubey J., Schares G., Ortega-Mora L. (2007). "Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*". *Clinical Microbiology Review*. 20(2):323-67.
- 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 Tropical*. 28(2): 201-212.
- Fernández J. (2004). "Seropositividad de la Neosporosis bovina en fincas ganaderas de la región de Tucacas, estado Falcón" (tesis de maestría). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Maracay, Estado Aragua, Venezuela.
- Ghalmi F., China B., Kaidi R., Losson B. (2011). "*Neospora caninum* is associated with abortion in Algerian cattle". *Journal Parasitology*. 97(6):1121-1124.
- Gondim L. (2006). "*Neospora caninum* in wildlife". *Trends in Parasitology*. 22(6):247-52.
- Jensen A., Björkman C., Kjeldsen A., Wedderkopp A., Willadsen C., Uggla A., Lind P. (1999). "Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds". *Preventive Veterinary Medicine*. 40(3-4):151-163.
- Kaufmann H., Yamage M., Roditi I., Dobbelaere D., Dubey J., Holmdahl O., Trees A., Gottstein B. (1996). "Discrimination of *Neospora caninum* from *Toxoplasma gondii* and other apicomplexan parasites by hybridization and PCR". *Molecular and Cellular Probes*. 10(4):289-297.
- Larkin E., Morris N., Li Y., Nock N., Stein C. (2007). "Comparison of affected sibling-pair linkage methods to identify gene x gene interaction in GAW15 simulated data". *BMC Proceedings*. 1 Suppl 1:S66.
- León E., Guillén A., Aragort W., García F., Morales G., Pino L., Sandoval E. y Balestrini C. (2007). "Limitaciones parasitológicas en rebaños doble propósito del municipio San José de Guaribe (Estado Guárico) y sur del Estado Aragua". Espinoza y Domínguez (Eds.). *I Simposio Tecnologías Apropriadadas para la Ganadería de los Llanos de Venezuela, Capítulo III*. 177-194.
- Liddell S., Jenkins M., Dubey J. (1999). "A competitive PCR assay for quantitative detection of *N. caninum*". *International Journal for Parasitology*. 29(10):1583-1588.
- Linarez N., Álvarez G., Mendoza C., Matheus, N. (2016). "Presencia de anticuerpos séricos contra *Neospora caninum* en un rebaño bovino del estado Lara-Venezuela". *Revista del Colegio de Médicos Veterinarios del Estado Lara*. 11(1):24-30.
- Lindsay D., Lenz S., Blagburn B., Brake D. (1999). "Characterization of temperature-sensitive strains of *Neospora caninum* in mice". *Journal of Parasitology*. 85(1):64-67.
- Lista-Alves D., Palomares-Naveda R., Garcia F., Obando C., Arrieta D., Hoet A. (2006). "Serological evidence of *Neospora caninum*

- in dual-purpose cattle herds in Venezuela”. *Veterinary Parasitology*. 136(3-4):347-349.
- López-Gatius F., Santolaria P., Yániz J., Garbayo J., Almería S. (2005). “The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in *N. caninum*-seropositive dairy cows”. *Journal of Veterinary Medicine*. 52:88-92.
- McAllister M. (2016). “Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis”. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 32(2):443-63.
- McGarry J., Stockton C., Williams D., Trees A. (2003). “Protracted shedding of oocysts of *Neospora caninum* by a naturally infected foxhound”. *Journal of Parasitology*. 89(3):628-630.
- McInnes L., Ryan U., O’Handley R., Sager H., Forshaw D., Palmer D. (2006). “Diagnostic significance of *Neospora caninum* DNA detected by PCR in cattle serum”. *Veterinary Parasitology*. 142(3-4):207-13.
- Moore D., Campero C., Odeón A., Posso M., Cano D, Leunda M., Basso W., Venturini M., Späth E. (2002). “Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina”. *Veterinary Parasitology*. 107(4):303-316.
- Obando C., Bracamonte M., Montoya A. y Cadenas V. (2010). “*Neospora caninum* en un rebaño lechero y su asociación con el aborto”. *Revista Científica FCV-LUZ*. 20(3):235-239.
- Pabón M., López-Gatius F., García-Ispuerto I., Bech-Sàbat G., Noguera C., Almería S. (2007). “Chronic *Neospora caninum* infection and repeat abortion in dairy cows: a 3-year study”. *Veterinary Parasitology*. 147(1-2):40-46.
- Paré J., Thurmond M., Hietala S. (1997). “*Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion”. *Journal Parasitology*. 83(1): 82-87.
- Pitel P., Pronost S., Chatagnon G., Tainturier D., Fortier G., Ballet J. (2001). “Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs”. *Veterinarian Parasitology*. 102(4):269-277.
- Romero J., Breda S., Vargas B., Dolz G., Frankena K. (2005). “Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica”. *Theriogenology*. 64(9):1928-39.
- Sartor I., A. Garcia, L., Vianna, E., Pituco V., Sartor R. (2005). “Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP”. *Arquivo-s Do Instituto Biologico*. 72(4):13-418.
- Schares G., Rauser M., Zimmer K., Peters M., Wurm R., Dubey J., De Graaf D., Edelhofer R., Mertens C., Hess G., Conraths F. (1999). “Serological differences in *Neospora caninum* associated epidemic and endemic abortions”. *Journal of Parasitology*. 85(4):688-694.
- Schares G., Bärwald A., Staubach C., Ziller M., Klöss D., Wurm R., Rauser M., Labohm R., Dräger K., Fasen W., Hess R., Conraths

- F. (2003). "Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by Logistic regression". *International Journal for Parasitology*. 33(14):1631-40.
- Schares G., Bärwald A., Staubach C., Wurm R., Rauser M., Conraths F., Schroeder C. (2004). "Adaptation of a commercial ELISA for the detection of antibodies against *Neospora caninum* in bovine milk". *Veterinary Parasitology*. 120(1-2):55-63.
- Thilsted J., Dubey J. (1989). "Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle". *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1(3):205-9.
- Trees A. y Williams D. (2005). "Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*". *Trends in Parasitology*. 21(12):558-61.
- Von Blumröder D., Schares G., Norton R., Williams D., Esteban-Redondo I., Wright S., Björkman C., Frössling J., Risco-Castillo V., Fernández-García A., Ortega-Mora L., Sager H., Hemphill A., Van Maanen C., Wouda W., Conraths F. (2004). "Comparison and standardisation of serological methods for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in bovines". *Veterinary Parasitology*. 120(1-2):11-22.
- Wouda W., Bartels C., Moen A. (1999). "Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997)". *Theriogenology*. 52(2):233-45.
- Wouda W., Brinkhof J., Van Maanen C., De Gee A., Moen A. (1998). "Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: A comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays". *Clinical Diagnostic Laboratory of Immunology*. 5(5):711-6.
- Yamaga M., Flechtner O., Gottstein B. (1996). "*Neospora caninum*: specific oligonucleotide primers for the detection of brain "cyst" DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR)". *Journal of Parasitology*. 82(2):272-279
- Yao L., Yang N., Liu Q., Wang M., Zhang W., Qian W., Hu Y., Ding J. (2009). "Detection of *Neospora caninum* in aborted bovine fetuses and dam blood samples by nested PCR and ELISA and seroprevalence in Beijing and Tianjin, China". *Parasitology*. 136(11):1251-1256.