

Descripción de un caso de aborto bovino asociado a infección por *Neospora* sp en México

Elizabeth Morales S.*
José Ramírez L.*
Francisco Trigo T.*
Froylán Ibarra V.**
Eduardo Puente C.***
Mario Santa Cruz†

Abstract

In the following report, a case of aborted bovine fetus associated to neosporosis is described. This case was submitted for examination to the Pathology Department in the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the National Autonomous University of Mexico in Mexico City. The case corresponded to a male, Holstein bovine fetus, with a 5 month gestation. Microscopically, non suppurative encephalitis with multiple foci of necrosis and gliosis were found. In addition, an oval protozoal tissue cyst of 21 × 22 mm was detected. Deparaffinized sections were examined immunohistochemically, and groups of extracellular tachyzoites were observed associated with the areas of gliosis. Discreet non suppurative hepatitis and myocarditis were found in this fetus as well. It is believed that this is the first case described in Mexico of bovine abortion related to characteristic lesions and the presence of protozoal structures related to *Neospora* sp. However, it is necessary to perform more extensive, conclusive anatomopathological and immunological studies to be able to determine the prevalence and significance of bovine abortion associated to neosporosis in Mexico.

Key words: BOVINE ABORTION, *NEOSPORA* SP, MEXICO.

Resumen

En el siguiente informe se describe un caso de aborto bovino asociado a neosporosis en México. El feto fue remitido para su estudio al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. El feto fue expulsado al quinto mes de gestación, siendo macho y de raza Holstein. En el estudio microscópico se encontró encefalitis no supurativa con múltiples

Recibido el 6 de diciembre de 1996 y aceptado el 27 de mayo de 1997.

* Departamento de Patología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

** Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510, México, D.F.

*** Pfizer, S. A. de C. V. Damas 120, Col. San José Insurgentes, 03900, México, D.F.

† Centro Agropecuario Industrial de Tizayuca, S. A. (CAITSA), Parque Industrial Tizayuca, Hidalgo, México.

focos de necrosis y gliosis, además de un quiste parasitario oval de pared gruesa de 21 × 22 mm. Varias secciones de tejido nervioso desparafinadas se examinaron para estudio inmunohistoquímico, utilizando anticuerpos anti *Neospora caninum* encontrándose grupos de taquizoitos extracelulares asociados a las áreas de gliosis. También se encontró miocarditis y hepatitis no supurativa discreta. Se cree que este es el primer caso descrito en México de aborto bovino asociado a lesiones características y a la presencia de estructuras parasitarias correspondientes a *Neospora* sp. Sin embargo, es necesario realizar más estudios anatomopatológicos e inmunológicos para poder determinar la prevalencia y la significancia de aborto bovino asociado a neosporosis en México.

Palabras clave: ABORTO BOVINO, *NEOSPORA* SP, MEXICO.

Neospora sp es un protozooario perteneciente al phylum Apicomplexa, estructuralmente similar a *Toxoplasma gondii*, pero diferente a éste ultraestructural y antigénicamente.^{1,2,3,4,5,6} Se ha encontrado afectando en forma natural en perros^{7,8,9}, bovinos,^{9,10,11,12,13} ovinos,¹⁴ caprinos¹⁵ y equinos.¹⁶ El parásito se halló por primera vez en perros en Noruega en 1984,⁷ aunque estudios retrospectivos demostraron que el parásito ha sido endémico por lo menos desde 1957.¹⁷ En 1988 se localizó en perros de Estados Unidos de América (EUA), en donde se aisló en cultivo de tejidos y se le denominó *Neospora caninum*.⁴ En perros jóvenes se asocia con parálisis severa y progresiva.^{8,9,18}

La primera asociación de aborto por un protozooario parecido a *Neospora caninum* en el ganado lechero se realizó en Nuevo México, EUA, en 1987,¹⁹ y en un neonato Shorthorn proveniente de Maryland, EUA.²⁰

En California, EUA, la neosporosis se menciona como la principal causa de aborto en ganado lechero.^{10,21,22} Desde 1985 *Neospora* sp se ha identificado en más de 600 fetos abortados provenientes de más de 250 hatos.²³ En un estudio realizado por Anderson *et al.*,¹⁰ con el propósito de estimar la tasa mínima de aborto atribuible a infección por *Neospora* sp, en hatos lecheros seleccionados de California, EUA, se encontró que en 26 hatos con 19 708 vacas, hubo 266 abortos en un periodo de 1 año, de los cuales 113 (42.5%) se asociaron a infección por *Neospora* sp como causa identificada.²³ La neosporosis bovina se ha reconocido también como la principal causa de aborto en países tales como Nueva Zelanda²⁴ y Holanda, diagnosticándose recientemente en este último, como causa de aborto entre el 16% y 21% de los fetos suministrados para diagnóstico;²⁵ además se ha asociado como causa de aborto en varios países del mundo tales como, Gran Bretaña,^{26,27} Bélgica,²⁸ Australia,²⁹ Japón,³⁰ Sudáfrica,³¹ Israel,³² Irlanda,³³ Suecia,³⁴ Canadá^{35,36,37} y Argentina.³⁸ El primer aislamiento del parásito en tejidos fetales de bovino fue realizado por Conrad *et al.*³⁹

El ciclo de vida y las fuentes de infección se desconocen. Los quistes con múltiples bradizoitos en sistema nervioso central y grupos de taquizoitos en diversos tejidos son las únicas fases que se han reconocido. La transmisión a través de la placenta es la única forma reconocida.^{40,41} En un estudio realizado por Paré *et al.*,⁴¹ se determinó seropositividad en 85 becerros de 278 (30.6%) en un hato y 68 becerros de 127 (53.5%) en otro hato, previo a la ingestión

de calostro, demostrando que la infección congénita no necesariamente tiene un efecto detrimental en la salud de los becerros, por lo que se considera que es la principal forma de mantenimiento de la enfermedad en los hatos.

La confirmación de casos clínicos compatibles con neosporosis bovina requiere un buen estudio anatomopatológico de los fetos, en el cual se encuentra una encefalomiелitis no supurativa, con focos de gliosis y necrosis, y en ocasiones quistes parasitarios, así como miocarditis y miositis no supurativa e inflamación y necrosis en diversos órganos.^{11,12,13,36} La técnica de inmunoperoxidasa se ha utilizado para confirmación y diferenciación del parásito con otros semejantes tales como *Toxoplasma gondii* y *Sarcocystis* sp.^{5,39}

El diagnóstico serológico en el ganado se había limitado a la inmunofluorescencia indirecta (IFA), siendo útil en la determinación de anticuerpos previos a la ingestión de calostro, así como para dar seguimiento al estado serológico de los hatos. Recientemente se ha reconocido que la técnica de ELISA es consistente, objetiva, rápida y precisa, siendo más sensible y específica que la IFA.⁴²

En México existe escasa información sobre esta enfermedad entre médicos veterinarios y productores pecuarios, por lo que no se han realizado estudios epidemiológicos en la población bovina. En un estudio patológico de aborto en bovinos Holstein realizado en la comarca lagunera, Tórréon, Coahuila, México, por Delgado *et al.*,⁴³ se en-

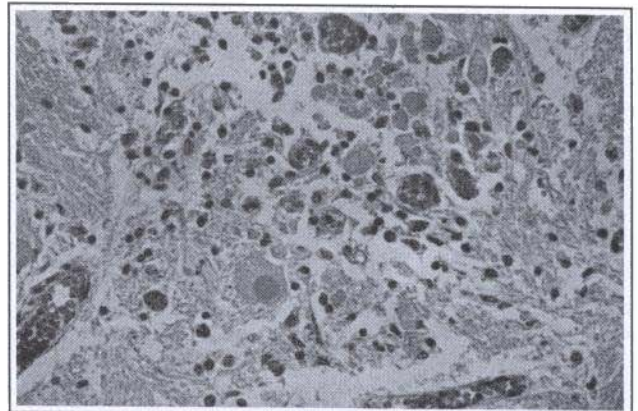


Figura 1. Microfotografía de cerebro en la que se aprecia necrosis focal severa y gliosis, 400 X H E.



Figura 2. Microfotografía de cerebro en donde se muestra un quiste parasitario con múltiples bradizoitos correspondiente a *Neospora* sp, cercano a un vaso sanguíneo, 1000 X H E.

contró de manera inesperada en un total de 30 fetos, que 22 (73.3%) de éstos presentaban miocarditis no supurativa como la lesión más evidente y asociada en 6 ocasiones a encefalitis no supurativa con focos de gliosis; en un caso se encontró un quiste parasitario intracelular compatible con infección por *Neospora* sp. En otro estudio anatomopatológico para investigar las causas de aborto en fetos de bovino provenientes de Tizayuca, Hidalgo, México, que duró un año, se encontró que de 55 fetos suministrados para diagnóstico, 20 (36.36%) presentaban lesiones compatibles con neosporosis (todavía no publicado).

A continuación se describe un caso de un feto abortado cuya causa se asoció a neosporosis y que fue remitido al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Nacional Autónoma de México, en el mes de octubre de 1996.

Feto macho de 5 meses de gestación, de la raza Holstein, cuya madre proviene de Estados Unidos de América y que actualmente habita en la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo, México. La vaca ha tenido 3 partos y no presenta manifestaciones clínicas. A la necropsia del feto solamente se encontró ascitis e hidrotórax. Muestras de encéfalo, miocardio, pulmón, hígado, riñón y bazo se fijaron en formalina al 10% y se procesaron por la técnica histológica de rutina.⁴⁴ En el estudio histopatológico se encontró lo siguiente: en el cerebro medio, cerebelo y médula oblongada, se apreciaron focos discretos de gliosis y necrosis distribuidos al azar (Figura 1), algunas áreas con infiltrado linfocitario perivascular, desmielinización discreta y junto a un vaso sanguíneo se encontró un quiste parasitario de forma oval y con pared gruesa de 21 x 22 mm, con abundantes bradizoitos en su interior (Figura 2). En miocardio se encontró miocarditis no supurativa multifocal discreta (Figura 3), y en el parénquima hepático, inflama-

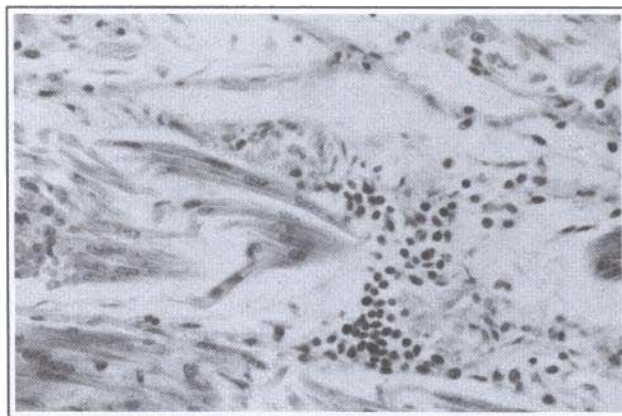


Figura 3. Microfotografía de miocardio en la que se muestra infiltración por células inflamatorias mononucleares y necrosis de fibras musculares, 400 X H E.

ción periportal no supurativa discreta. No se encontraron lesiones significativas en los demás órganos. Se realizaron cortes seriados de sistema nervioso central y se trabajaron con la técnica de inmunoperoxidasa,⁴⁵ utilizando el método complejo avidina biotina peroxidasa* y un suero hiperinmune anti *Neospora caninum* de origen caprino,** en donde se encontró positividad en taquizoitos asociados a las áreas de gliosis (Figura 4).

Se cree que este es de los primeros casos de aborto bovino descritos en México, asociado a lesiones características y a la presencia de estructuras parasitarias correspondientes a *Neospora* sp, comprobado por inmunoperoxidasa. Sin embargo, es necesario realizar estudios anatomopatológicos e inmunológicos más extensos para poder conocer la prevalencia y la significancia de aborto bovino asociado a neosporosis en México.

Cabe señalar que para establecer el diagnóstico de aborto asociado a neosporosis, es indispensable realizar un buen estudio anatomopatológico del feto, en donde se incluyan todos los órganos y en especial el sistema nervioso central.

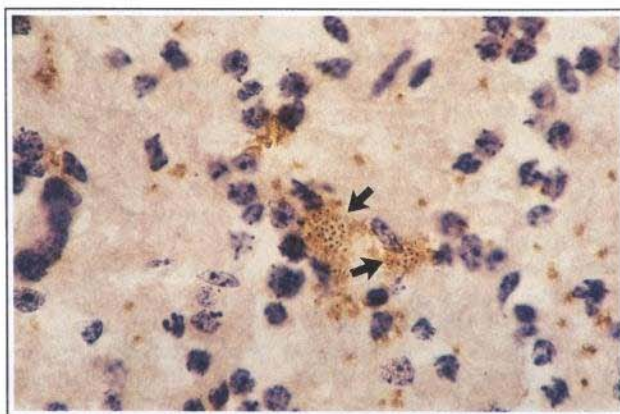


Figura 4. Microfotografía de cerebro en donde se aprecian grupos de taquizoitos de *Neospora* sp, asociados a un foco de gliosis (flechas), 1000 X, inmunoperoxidasa utilizando DAB como cromógeno.

* Dako Corporation. Carpinteria, CA, USA.

**Veterinary Medical Research and Development, Inc., Pullman, WA, EUA.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer sinceramente al Dr. Alfonso López Mayagoitia del Colegio de Veterinaria del Atlántico, de la Universidad de la Isla del Príncipe Eduardo, Canadá, por su valiosa colaboración y consejos para el desarrollo de este trabajo, así como a las técnicas en anatomía patológica, Guadalupe Juárez Jiménez y Carmen Zamora Muñoz, del Departamento de Patología y del Consejo de Investigación Científica, respectivamente, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, por su amable participación en el desarrollo de las técnicas histológica e inmunohistoquímica.

Referencias

- Barr BC, Conrad PA, Dubey JP, Anderson ML. *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. *J Vet Diagn Invest* 1991;3:39-46.
- Bjerkas Y, Presthus J. Immuno-histochemical and ultrastructural characteristics of cyst-forming sporozoan associated with encephalomyelitis and myositis in dogs. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1988;96:445-454.
- Cole RA, Lindsay DS, Dubey JP, Toivio-Kinnucan MA, Blagburn BL. Characterization of murine monoclonal antibody generated against *Neospora caninum* tachyzoites by use of Western Blot analysis and immunoelectron microscopy. *Am J Vet Res* 1994;55:1717-1723.
- Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1988;192:1269-1285.
- Lindsay DS, Dubey JP. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am J Vet Res* 1989;50:1981-1983.
- Lindsay DS, Speer CA, Toivio-Kinnucan MA. Use of infected culture cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *Am J Vet Res* 1993;54:103-106.
- Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenk* 1984;70:271-274.
- Dubey JP. *Neospora caninum*: A look at a new *Toxoplasma*-like parasite of dogs and other animals. *Comp Small Anim* 1990;12:653-663.
- Dubey JP. A review of *Neospora caninum* and *Neospora*-like infections in animals. *J Protozool Res* 1992;2:40-52.
- Anderson ML, Blanchard PC, Barr BC, Dubey JP, Hoffman RL, Conrad PA. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J Am Med Vet Assoc* 1991;198:241-244.
- Barr BC, Anderson ML, Blanchard PC. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infection. *Vet Pathol* 1990;27:354-361.
- Barr BC, Anderson ML, Dubey JP and Conrad PA. *Neospora*-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Vet Pathol* 1991;28:110-116.
- Dubey JP, Hartley WJ, Lindsay DS. Congenital *Neospora caninum* infections in a calf with spinal cord anomaly. *J Am Vet Med Assoc* 1990;197:1043-1044.
- Dubey JP, Lindsay DS. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J Vet Diagn Invest* 1990;2:230-233.
- Dubey JP, Morales JA, Villalobos P, Lindsay DS, Blagburn BL, Tooper MJ. Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. *J Am Vet Med Assoc* 1996;208:263-265.
- Dubey JP, Porterfield ML. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. *J Parasitol* 1990;76:732-734.
- Dubey JP, Koestner A, Piper RC. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1990;19:857-860.
- Ruehlmann D, Podell M, Oglesbee M, Dubey JP. Canine neosporosis: a case report and literature review. *J Am Anim Hosp Assoc* 1995;31:174-182.
- Thilsted JP, Dubey JP. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J Vet Diagn Invest* 1989;1:205-209.
- Dubey JP, Miller S, Lindsay DS, Topper MJ. *Neospora caninum* associated myocarditis and encephalitis in an aborted calf. *J Vet Diagn Invest* 1990;2:66-69.
- Anderson ML, Barr BC, Conrad PA, Thurmond M, Picanso J, Dubey JP. Bovine protozoal abortions in California. *Bov Pract* 1991;2:102-104.
- Nietfeld JC, Dubey JP, Anderson ML. *Neospora*-like protozoan infection as a cause of abortion in dairy cattle. *J Vet Diagn Invest* 1992;4:223-226.
- Anderson ML, Palmer ChW, Thurmond MC, Picanso JP, Blanchard PT, Breitmeyer RE, et al. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J Am Med Vet Assoc* 1995;207:1206-1210.
- Thornton RN, Thompson EJ, Dubey JP. *Neospora* abortion in New Zealand cattle. *N Z Vet J* 1991;39:129-133.
- Wouda W, Moen AR, De Gee AL, Knapen FV. Laboratory and field experiences with bovine *Neospora* abortion in Dutch dairy herds. Proceedings of the 41st Annual Meeting of the American Association of Veterinary Parasitologists; 1996 July 20-23; Louisville, Kentucky. Louisville, Kentucky: American Association of Veterinary Parasitologists, 1996:21.
- Otter A, Griffiths IB, Jeffrey M. Bovine *Neospora caninum* abortion in the U.K. *Vet Rec* 1993;133:375.
- Trees AJ, Guy F, Low JC, Roberts L, Buxton D, Dubey JP. Serological evidence implicating *Neospora* species as a cause of abortion in British cattle. *Vet Rec* 1994;134:405-407.
- Poncelet L, Bejerkas I, Charlier G, Coignoul F, Losson B, Balligand M. Confirmation de la présence de *Neospora caninum* en Belgique. *Ann Med Vet* 1990;134:501-503.
- Obendorf D, Mason R. *Neospora caninum* infection detected in a bovine aborted foetus. *Austr Soc Vet Pathol Rep* 1990;28:36-37.
- Ogino H, Watanabe E, Watanabe S. Neosporosis in the aborted fetus and newborn calf. *J Comp Pathol* 1992;107:231-237.
- Jardine JE, Last RD. *Neospora caninum* in aborted twin calves. *J South Afr Vet Assoc* 1993;64:101.
- Harmelin A, Perl A, Nyska A, Yakobson B, Shpigel N, Orgad U, Dubey JP. Neosporosis associated bovine abortion in Israel. *Vet Rec* 1995;136:80.
- Collery PM. *Neospora* abortion in cattle in Ireland. *Vet Rec* 1995;136:595.
- Holmdahl OJM, Bjorkman C, Uggla A. A case of *Neospora* associated bovine abortion in Sweden. *Acta Vet Scand* 1995;36:279-281.
- Blidfell R, Davidson J, Dubey JP. *Neospora* induced protozoal bovine abortion in Prince Edward Island. *Can Vet J* 1994;35:122.
- Bryan LA, Gajadhar AA, Dubey JP, Haines DM. Bovine neonatal encephalomyelitis associated with a *Neospora* sp protozoan. *Can Vet J* 1994;35:111-113.
- McIntosh WD, Haines MD. *Neospora* infection in an aborted fetus in British Columbia. *Can Vet J* 1994;35:114-115.
- Venturini L, Di Lorenzo C, Venturini C, Romero J. Anticuerpos

- anti *Neospora* sp., en vacas que abortan. Vet Arg 1995;12:167-170.
39. Conrad PA, Barr BC, Serlow KW. *In vitro* isolation and characterization of *Neospora* sp from aborted bovine fetuses. Parasitology 1993;106:239-249.
 40. Björkman C, Johansson O, Stenlund S, Holmdahl OJM, Uggla A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. J Am Vet Med Ass 1996;208:1441-1444.
 41. Paré J, Thurmond MC, Hietala SK. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. Can J Vet Res 1996;60:133-139.
 42. Paré J, Hietala SK, Thurmond MC. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp infection in cattle. J Vet Diagn Invest 1995;7:352-359.
 43. Delgado GR, Quintero CJ, De Luna AA. Estudio patológico, microbiológico y serológico del aborto en bovinos Holstein de la Comarca Lagunera. Memorias del XIX Congreso Nacional de Buiatría; 1995 agosto 24-26; Torreón, Coahuila, México. México (DF): Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Bovinos, AC, 1995:74-78.
 44. Valero EG, Morales AF. Histopatología. En: Valero EG, editor. Diagnóstico veterinario. 2ª ed. México, DF: Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios, AC, 1997:51-62.
 45. Haines MD, Chelack JB. Technical considerations for developing enzyme immunohistochemical staining procedures on formalin-fixed paraffin-embedded tissues for diagnostic pathology. J Vet Diagn Invest 1991;3:101-112.