

ACTUACIÓN DEL VETERINARIO ANTE UN PROBLEMA DE ABORTOS

Cebrián, L.M.*; Ferrer L.M.**; Espada M.* Barberán M.**

*Gabinete Técnico Veterinario S.L..Isla Conejera 50014 –Zaragoza. gtv@telefonica.net

**Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria- Zaragoza.

Resumen:

En esta ponencia se aborda la problemática de los abortos en ganado vacuno desde un punto de vista práctico, intentando hacer hincapié en los aspectos que interesan al veterinario clínico. En el primer apartado se explica de forma general como encarar un problema de abortos haciendo referencia a temas como: protocolos de actuación, recogida de muestras, técnicas laboratoriales.... En la segunda parte se describen las enfermedades consideradas en nuestro entorno como responsables, más frecuentes, de provocar abortos (brucelosis, clamidiasis, leptospirosis, rinotraqueitis infecciosa bovina, diarrea vírica bovina y neosporosis), fundamentalmente en los apartados referentes a etiología, transmisión, diagnóstico, tratamiento y control.

I. INTRODUCCIÓN Y ASPECTOS BÁSICOS

El aborto en ganado vacuno es un problema, la mayoría de las veces complejo, al que el clínico se enfrenta sabiendo de antemano que en no pocas ocasiones la causa que lo origina no podrá determinarse. Esta perspectiva de falta de éxito en el diagnóstico, no debe ser razón para el desánimo o la falta de atención a dichos problemas. La perseverancia, la sistemática de actuación y el seguimiento de la problemática en las explotaciones son claves para aumentar el porcentaje de abortos diagnosticados.

Problemas a la hora de realizar un diagnóstico:

- La forma habitual de actuación del clínico es muy resolutiva, está acostumbrado a actuar en el momento y resolver los problemas con éxito y con sus propios medios. En casos de abortos no basta el ojo clínico; hay que recoger muestras, enviarlas al laboratorio, esperar resultados, interpretarlos para poder instaurar medidas correctoras.
- Dificultad para la interpretación y valoración de los resultados del laboratorio. Tipo de prueba realizada, fiabilidad de la misma,...
- En muchos episodios de aborto es difícil valorar la efectividad de las medidas establecidas. En ocasiones el hecho de que se produzca un aborto o no, no sólo depende de la presencia del agente etiológico sino también de otros factores que pueden influir en la respuesta inmunitaria de la madre.
- Existen una gran variedad de agentes etiológicos, tanto infecciosos como no infecciosos, que pueden desencadenar aborto (virus, bacterias, parásitos, hongos, agentes alimenticios, tóxicos, físicos, etc.). Esto dificulta que los laboratorios puedan disponer de pruebas diagnósticas válidas para esta gran

cantidad de agentes. En cada momento y para cada proceso hay unos tipos de técnicas de elección; desgraciadamente no hay una técnica concreta que esté indicada para todos los procesos infecciosos.

- Puede haber agentes etiológicos todavía sin descubrir como fue el caso de *Neospora caninum*, años atrás.
- Pocos laboratorios incluyen el examen anatomopatológico del feto en su protocolo de diagnóstico, con lo que se pierde una información importante a la hora de orientar el diagnóstico.

Nosotros como clínicos podemos realizar un diagnóstico clínico presuntivo que será imprescindible para dirigir y rentabilizar las pruebas que vamos a solicitar al laboratorio, así como para el establecimiento de las medidas preventivas iniciales. Este diagnóstico estará basado en una anamnesis lo más completa posible, que sería plasmada por escrito y en la que deberían figurar datos como:

Fase de gestación de los animales abortados
Tipo de cubrición
Vacunaciones realizadas
Introducción de animales
Otros problemas reproductivos o patológicos de la explotación
Analíticas anteriores
Información sobre cambios significativos en el manejo o la alimentación
Antecedentes familiares y número de partos.
Datos epidemiológicos, incidencia y tipo de presentación: epidémica, endémica o esporádica.

Todos estos datos, junto con la exploración de la madre, el examen macroscópico del feto y el conocimiento de los agentes más frecuentes causantes de abortos en la zona y explotación nos permitirán elaborar un diagnóstico presuntivo que compartiremos con el laboratorio para definir el tipo de muestras a recoger y las técnicas que se van a emplear en el laboratorio. Los veterinarios clínicos podemos elaborar nuestro protocolo de actuación en caso de abortos, en el que se contemplará tipo y número de muestras a recoger, análisis y orden en el que se van a realizar éstos, a qué laboratorio remitimos cada tipo de muestra, etc. Disponer de un diagnóstico orientativo y un protocolo de actuación nos permite ahorrar dinero por el pago de análisis innecesarios que muchas veces solo sirven para confundirnos a la hora de emitir un diagnóstico.

A la hora de la recogida y el envío de muestras debemos tener en cuenta que algunas enfermedades causantes de aborto son zoonosis (brucelosis, leptospirosis, clamidiasis...), por lo que debemos guardar rigurosamente las medidas de autoprotección y de bioseguridad en el transporte. Es imprescindible invertir un poco de tiempo en realizar una correcta identificación y embalaje de las muestras.

El examen histológico nos permite descubrir lesiones en el feto y placenta muy importantes a la hora de valorar los efectos del agente etiológico. A pesar de que hay pocas lesiones patognomónicas, este tipo de análisis puede ser muy útil, y en ocasiones imprescindible para orientar el diagnóstico. Mediante el empleo de técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) se puede visualizar el agente causal relacionado con las lesiones. Las muestras de tejido remitidas no deberían tener un espesor mayor de 5 cm. para que se permita una correcta fijación con formol al 10% (en caso de necesidad esta fijación se podría realizar con alcohol). Es recomendable consultar con el laboratorio antes del envío de las muestras.

Los análisis microbiológicos se pueden realizar a partir de órganos o hisopos. Para la realización de este tipo de pruebas es conveniente que las muestras se envíen refrigeradas pero no congeladas. Lugares de elección de toma de muestras suelen ser el contenido abomasal y pulmón del feto, pues el líquido amniótico con el agente infeccioso puede pasar a esta localización en algunos procesos (brucelosis, chlamydia...). Los hisopos de placenta o vaginales son imprescindibles, especialmente cuando no encontramos el feto. Con estas muestras podemos realizar una tinción sencilla (Gram) o más específicas como la de Stamp (Brucella, Chlamydia) o tinciones con anticuerpos poli o monoclonales frente al agente que buscamos, marcados con un encima fluorescente, lo que se llama inmunofluorescencia directa (IFD), técnica empleada entre otras enfermedades en IBR, BVD y leptospirosis. El aislamiento del agente lo podemos intentar en medios de cultivo. Existen medios de cultivo recomendados para determinadas bacterias (Farrel para Brucella, etc.) y específicos para hongos. El cultivo celular no suele estar al alcance de la mayoría de los laboratorios y se emplea para el aislamiento de virus y protozoos. Las técnicas de PCR, que detectan material genético del microorganismo, son de desarrollo reciente y no hay muchos laboratorios que la empleen de manera rutinaria.

Las técnicas serológicas para la detección de anticuerpos más empleadas en el diagnóstico de abortos son ELISA, IFI (inmunofluorescencia indirecta) y FC (fijación del complemento). A la hora de valorar los resultados obtenidos por estas técnicas tenemos que tener en cuenta el punto de corte y el tipo de test empleado en el caso del ELISA y la dilución empleada en el caso de utilizar IFI o FC. La presencia de anticuerpos en una muestra no necesariamente significa que haya infección en ese momento ni que ésta tenga que ver con el aborto. En el caso del BVD los anticuerpos permanecen prácticamente durante toda la vida del animal aunque la infección solo dure unos días. El estudio de la seroconversión de muestras pareadas en el diagnóstico de abortos muchas veces es poco útil, pues ni en el momento del aborto ni posteriormente se desencadena un aumento de título, ya que este aumento se pudo producir con anterioridad, incluso puede darse el caso de que existan animales seronegativos en ese momento. En el caso de animales vacunados con vacunas no marcadas la serología es de poca utilidad. Muchas veces la prevalencia de una enfermedad es tan alta que una serología positiva nos aporta poca información. Podemos tener anticuerpos de origen calostroal que pueden llegar a durar de 3 a 6 meses. Los fetos empiezan a ser inmunocompetentes a partir de los 5 meses de gestación, por eso los resultados serológicos sólo son interesantes en fetos abortados al final de gestación.

II. PRINCIPALES ENFERMEDADES CAUSANTES DE ABORTOS

1. BRUCELOSIS

Tras más de 20 años de aplicación de campañas para la erradicación de esta enfermedad, cuando se produce un problema de abortos en un rebaño, todavía la brucelosis es, desafortunadamente, una de las etiologías relativamente frecuentes. Las consecuencias económicas y sanitarias (es una zoonosis) que acarrea un caso de brucelosis en una explotación y la conveniencia de un diagnóstico precoz para evitar la propagación de la enfermedad son razones suficientes para incluir a la brucelosis en los protocolos de diagnóstico.

1.1. ETIOLOGÍA

Brucella abortus (principal etiología en España) es una bacteria intracelular con un tropismo especial por el útero y la ubre de los animales púberes. Por otro lado, *B. melitensis* (la bacteria responsable de la brucelosis ovina y caprina), está aumentando su presencia como responsable de muchos brotes de aborto en ganado vacuno.

Tanto *B. abortus* como *B. melitensis* tienen varias biovariedades, cuya identificación puede ser muy útil para clarificar el origen de los brotes y hacer un seguimiento epidemiológico de los casos.

1.2. TRANSMISIÓN

La transmisión oral es la forma más habitual de contagio por ingestión de material contaminado con secreciones vaginales provenientes de abortos o de partos normales de vacas enfermas. Esta secreción puede ser muy importante y se puede mantener durante más de dos meses. La mucosa orofaríngea, respiratoria y conjuntival constituyen las vías de entrada más frecuentes en lo que respecta a la transmisión a los humanos.

La bacteria, al ser capaz de colonizar la ubre y los ganglios supramamarios, se excreta por la leche en un número muy elevado de casos (hasta el 80% de las vacas infectadas). En consecuencia, en explotaciones lecheras la transmisión durante el ordeño puede ser muy importante dificultando mucho el control de la enfermedad. Los terneros pueden contraer la enfermedad "in utero" o al mamar de sus madres enfermas, desarrollando una infección latente, muy peligrosa desde el punto de vista epidemiológico ya que estos animales no producen anticuerpos y pueden excretar la bacteria. La transmisión a través del semen es también posible.

La bacteria puede resistir varios meses en lugares fríos y húmedos pero es muy sensible a la luz solar y la desecación.

El microorganismo se multiplica en los ganglios linfáticos más cercanos al punto de entrada y posteriormente se distribuye vía sanguínea teniendo especial tropismo por los ganglios linfáticos mamarios y el útero grávido donde provoca inflamación y necrosis de la placenta que puede conducir a la muerte del feto. Otros lugares de localización frecuente son los testículos y las articulaciones.

1.3. CUADRO CLÍNICO

El aborto es el síntoma más llamativo, aunque tenemos que tener en cuenta que, dependiendo del estado inmunitario y de los antecedentes de vacunación, puede haber explotaciones con brucelosis en las que la tasa de abortos es muy pequeña. Los abortos se producen habitualmente a partir de los 6 meses de gestación con retención de placenta, metritis y un periodo de infertilidad posterior. Se pueden apreciar alteraciones macroscópicas en la placenta como necrosis, edema y un exudado pastoso de color amarillento. En toros infectados podemos encontrar epididimitis y disminución de la fertilidad.

1.4. DIAGNÓSTICO

En el estudio histológico de los abortos podemos encontrar una placentitis grave y bronconeumonía fetal.

El diagnóstico directo lo podemos realizar a partir de muestras como hisopos de placenta, abomaso y pulmón del feto o simplemente de escobillones vaginales

procedente de las vacas abortadas. En el 70-80% de las vacas con infección crónica podremos aislar el germen a partir de muestras de leche.

Una simple extensión teñida con Stamp nos puede dar un diagnóstico presuntivo que habrá que confirmar con un aislamiento en cultivos en medios no selectivos como el agar sangre o selectivos como el Farrell y Thayer- Martin modificado.

Para la realización de un diagnóstico indirecto disponemos de una batería amplia de diferentes tests serológicos: Rosa de Bengala y fijación del complemento, ELISA en suero y leche y Ring Test (leche). Todas ellas son pruebas oficiales y poseen una aceptable sensibilidad pero su especificidad es solo moderada. Las reacciones cruzadas con otras bacterias (principalmente *Yersinia enterocolitica* O:9), suponen un grave problema en la actualidad. Tan solo la prueba de gel difusión (lamentablemente no es una prueba considerada como oficial en la UE) y la prueba intradérmica con brucelina son capaces de diferenciar una brucelosis de una infección por *Y. enterocolitica* O:9.

1.5. CONTROL Y ERRADICACIÓN

Como consecuencia de las campañas oficiales de saneamiento se disminuyó la seroprevalencia de la enfermedad, pero en los últimos años se está viendo un estancamiento de esta progresión favorable y en algunas zonas se están sufriendo unas situaciones de aumento preocupante. El abandono prematuro de la vacuna B-19 en muchas regiones del país en las que todavía existía la enfermedad y en las que la vacunación de las terneras de reposición era un instrumento imprescindible para el control de la misma explicaría la re-emergencia de la brucelosis. Otras causas coadyuvantes de esta situación son la aplicación de programas rígidos en los que no se definen unidades epidemiológicas que pueden tener unos riesgos muy diferentes y en las que deberían realizarse actuaciones acordes con su situación particular, una falta de seguimiento y de repetición de sangrías- sacrificio en periodos muy cortos de tiempo ante la aparición de un brote, y quizás también, la existencia de posibles reservorios en fauna salvaje (en algunas circunstancias por su falta de control y dificultad de manejo los animales de lidia se podrían catalogar como tales). Por último el aislamiento de *B. melitensis* en muchos brotes indica el gran riesgo que representa la presencia del ganado ovino y caprino (ya que la prevalencia de brucelosis en estas especies es muy elevada).

Ante un caso de brucelosis el problema económico que pueden suponer los abortos es irrelevante comparado con las pérdidas derivadas de la inmovilización de animales y del proceso de erradicación.

En las unidades epidemiológicas consideradas de riesgo se debería instaurar la vacunación de las terneras de reposición. Esta vacunación debería realizarse con vacuna viva obtenida con la cepa B19 por vía conjuntival en animales de 3-6 meses de edad. La dosis a utilizar sería de 5×10^9 bacterias aplicadas en una sola gota. Como la presentación es en forma de liofilizado, una vez introducido el disolvente esperaremos de 5 a 10 minutos para dar tiempo a que las bacterias se hidraten correctamente. Como los viales vienen presentados para la aplicación subcutánea (10×10^{10} bacterias por dosis) tendremos que realizar los cálculos para ajustar la dosis con la cantidad de disolvente a utilizar.

En una explotación, ante un problema de brucelosis detectado en las campañas oficiales de saneamiento o diagnosticado en un aborto, la primera medida sería el sacrificio inmediato de todos los animales seropositivos y la desinfección de todas las dependencias, especialmente aquellas en las que se hayan producido los abortos.

Antes de la eliminación de los animales se deberían tomar muestras (leche, aborto, ganglios) para intentar el aislamiento e identificación del tipo de *Brucella* causante del problema. Posteriormente se instaurará un protocolo de sangría-sacrificio lo más intenso posible hasta conseguir dos resultados negativos en toda la explotación, situación que nos permitirá ir distanciando las sangrías. Sin embargo, cuando el brote es importante (más del 6-8% de animales infectados) el sacrificio parcial no da resultado y la única posibilidad razonable de acabar con el problema es el vaciado sanitario.

Debido al contagio que se produce en la sala de ordeño, en explotaciones lecheras, especialmente si son de gran tamaño, el control de un brote de brucelosis sólo por el sistema del sacrificio de los animales seropositivos es prácticamente imposible. La transmisión es más rápida que la eliminación. En estos casos, sólo el vaciado sanitario total o la vacunación son aplicables. La vacunación conjuntival con la cepa B19 de todos los animales de la explotación después del sacrificio de los animales seropositivos es el único sistema económicamente viable. La vacunación nos permite tener un “paraguas” inmunitario frente a la enfermedad. Al cabo de 5-6 meses se podría realizar una prueba de doble difusión en gel, única técnica que nos permite detectar los animales infectados con relativa especificidad, y proceder a su sacrificio. Posteriormente podemos repetir las pruebas dependiendo de los resultados obtenidos. A partir de los 10-12 meses después de la vacunación y habiendo obtenido ya resultados negativos en gel difusión, podríamos utilizar la fijación del complemento como técnica diagnóstica y tratar de obtener la calificación de indemne. Este tipo de vacunación estaría justificada también en ganaderías de vacas nodrizas ante un riesgo epidemiológico difícil de controlar como pueden ser situaciones de pastos comunales (en los que pueden convivir vacas, cabras, ovejas y animales salvajes) donde se han detectado casos de brucelosis y tanto el control de los animales como la realización de sangrías de todos los individuos puedan ser muy dificultosos. Tenemos que tener muy presente que, al ser ésta una enfermedad enmarcada en un programa oficial de erradicación, cualquier actuación que pudiéramos llevar a cabo debe tener siempre el visto bueno de las autoridades sanitarias competentes, como puede ser la autorización con carácter excepcional de la vacunación con B19.

Actualmente la Unión Europea ha autorizado con restricciones la utilización de la vacuna obtenida con la cepa *B. abortus* RB51. Esta cepa posee una superficie rugosa y no interfiere con los sistemas diagnósticos empleados en campañas. A la hora de aplicar esta vacuna tenemos que considerar que se han descrito casos de abortos tras su aplicación en vacas gestantes y que tiene la capacidad de excretarse en leche. Si al hecho de ser patógena para el hombre le sumamos que requiere pruebas serológicas especiales para su diagnóstico y además es resistente a la rifampicina, medicamento de elección para el tratamiento de la brucelosis humana, hay que tener muy en cuenta los riesgos que conlleva la manipulación de esta vacuna.

Por tratarse de vacunas vivas tenemos que tener en cuenta todas las medidas de seguridad a la hora de su aplicación y de la eliminación de los residuos resultantes de la vacunación.

2. LEPTOSPIROSIS

2.1. ETIOLOGÍA

La leptospirosis es una zoonosis causada por una espiroqueta. El género *Leptospira* tiene 10 especies diferentes y cada una de ellas varios serovares diferentes. Para nosotros los serovares de *L. interrogans* más importantes son *hardjo* y *pomona*.

2.2. TRANSMISIÓN

Los diferentes serovares tienen unas especies animales en las que son capaces de multiplicarse y que pueden actuar como reservorios de la enfermedad. Los roedores suelen ser reservorio de casi todos los serovares, de ahí la importancia de su control. El ganado vacuno parece ser que es el único reservorio de *L. hardjo*. *L. pomona* está adaptada tanto a especies domésticas como salvajes. La vía de eliminación más importante es la orina, a través de la cual se pueden excretar durante periodos de varias semanas (en caso de *L. hardjo* hasta 215 días). También los fetos abortados, sus placentas y las secreciones uterinas pueden ser fuentes de contaminación. Este microorganismo para sobrevivir en el medio ambiente necesita unas condiciones de humedad alta. En estas condiciones puede permanecer hasta 30 días. Las vías de penetración son las mucosas y la piel, la cual será más vulnerable si está reblandecida por el agua.

Se ha demostrado que el semen de los toros infectados con *L. pomona* puede estar contaminado por periodos de hasta un mes, pudiendo infectar a las vacas en el momento de la monta.

2.3. CUADRO CLÍNICO

Los síntomas clínicos pueden ser muy variables dependiendo del serovar implicado, de la edad del individuo, el tiempo que lleva implantado el proceso en la explotación etc. Los serovares productores de hemolisina (*pomona*, *grippotyphosa* e *icterohaemorrhagiae*) desencadenan la sintomatología más severa, caracterizada por anemia hemolítica, hemoglobinuria, ictericia, fiebre, abortos hasta en el 50 % de las vacas preñadas e incluso muerte.

En el caso de infecciones por *L. hardjo* la presentación suele tener una forma crónica en la que muchas veces el aborto con retención de secundinas es el único síntoma de la enfermedad. Este se produce entre 1 y 3 meses después de la infección. Los fetos abortados suelen ser de más de 4 meses y también pueden nacer terneros vivos pero muy débiles. La tasa de abortos no suele pasar del 10 %. En algunas ocasiones 7 días después de la penetración del agente en el animal puede aparecer, durante la fase aguda del proceso, un descenso de la producción lechera durante 4-6 semanas, los cuatro cuarterones estarán flácidos y el aspecto de la leche puede variar desde normal hasta amarillenta espesa y a veces puede estar teñida de rojo por la presencia de sangre.

La implicación de *L. hardjo* como culpable de problemas de infertilidad en una explotación no está todavía clara.

2.4. DIAGNÓSTICO

Las lesiones que podemos encontrar en los fetos son: ictericia cuando nos encontramos en la última fase de gestación, necrosis de los tubulares renales y nefritis intersticial.

Las leptospiras no se tiñen con los colorantes de anilina, lo que dificulta la utilización de los métodos microscópicos directos. Se puede intentar la observación en campo

oscuro de fluidos fetales y orina de vacas y la tinción de plata en cortes de hígado y riñón pero con pocas posibilidades de éxito.

El empleo de la inmunofluorescencia directa (IFD) sobre muestras de riñón o pulmón de los fetos es una prueba rápida y eficaz para conseguir un diagnóstico. Dependiendo si utilizamos anticuerpos monoclonales o policlonales la especificidad de la prueba puede variar.

La serología individual de una vaca abortada es difícil de interpretar pues la seroconversión se ha podido producir semanas o meses antes del aborto.

La microaglutinación-lisis (MAT) es la prueba serológica de referencia, pero es muy laboriosa y requiere tener cultivos vivos de diferentes serovares, por lo cual hay pocos laboratorios que puedan disponer de este método. Las infecciones por *L. pomona* nos dan unas titulaciones mucho mayores que las obtenidas por *L. hardjo*. Títulos positivos de 1/100 son indicativos de una exposición reciente a leptospira. En animales con sintomatología clínica de agalaxia en la fase aguda de la enfermedad podemos encontrar títulos 1/1000, pero como el aborto puede suceder semanas o meses después de la infección podemos obtener resultados negativos en una vaca abortada por leptospira. La obtención de títulos superiores a 1/10 en fluidos fetales nos demuestra que el feto ha sido infectado pero tenemos que tener en cuenta que hay fetos infectados que no presentan anticuerpos detectables.

El método ELISA es mucho más fácil y cómodo de utilizar, además los hay específicos para IgM e IgG y también para muestras de leche. Un resultado positivo de un ELISA específico para IgM nos indica que la infección es reciente.

Para realizar un diagnóstico de leptospirosis suele dar más información realizar un estudio serológico a nivel de explotación que análisis individuales de las vacas abortadas. Para conocer el estado de una explotación con respecto a la leptospirosis podríamos empezar por realizar pruebas de ELISA en leche. Si este análisis resulta positivo podemos analizar el 10% de los animales mediante microaglutinación-lisis. Si encontramos títulos elevados en los animales de todas las edades podemos pensar en una introducción reciente de la infección en un rebaño que hasta entonces era indemne, pero si son los animales de primer parto los que tienen los títulos altos mientras que las vacas de más de dos partos tienen títulos bajos posiblemente estemos ante una explotación con un problema endémico.

2.5. CONTROL

Como medidas higiénicas, se recomienda evitar los parques húmedos y los terrenos encharcados, así como la desinfección de las instalaciones y el control de los roedores.

Tanto ante un problema crónico de leptospirosis como ante un brote de abortos, la vacunación es la medida recomendada. Las vacunas existentes en el mercado son bacterinas multivalentes inactivadas con formol. La inmunidad que confieren estas vacunas es específicas del serovar, por eso es interesante la identificación de éste. Los títulos de anticuerpos que podemos detectar por microaglutinación después de la vacunación desaparecen en pocas semanas pero la protección puede permanecer hasta un año. El programa de vacunación empieza con las terneras entre cuatro y seis meses. Dependiendo de la gravedad del problema podemos aplicar una o dos vacunaciones anuales. Algunos autores recomiendan la vacunación para mejorar la fertilidad en las explotaciones con una infección crónica por *L. hardjo*.

El tratamiento con antibióticos para controlar los portadores renales puede ser interesante antes de la vacunación. Se han empleado dosis de 25 mg./Kg. de dihidroestreptomicina o estreptomicina, por vía parenteral en una sola dosis, que en el caso de *L. pomona* eliminaba el estado de portador renal, pero en el caso de *L. hardjo* no lograba este efecto. La erradicación de portador renal de *L. hardjo* se ha conseguido mediante la inyección de una o dos dosis (cada 24 horas) de 15 mg/Kg de amoxicilina.

El control serológico de los toros y la incorporación de antibióticos en las dosis seminales son medidas aconsejables para el control de esta enfermedad.

3. CLAMIDIASIS

3.1. ETIOLOGÍA

Chlamydophila abortus (antes *C. psittaci*) ha sido un microorganismo tradicionalmente asociado a abortos del ganado ovino. Muchos autores han puesto en duda la implicación de *C. abortus* como agente etiológico de abortos en ganado vacuno e incluso hoy en día disponemos de pocos estudios que aclaren la implicación de este microorganismo como causante de problemas reproductivos en vacuno. La interpretación de los resultados de los análisis en esta especie es más difícil que en ganado ovino.

Chlamydophila es un microorganismo que se encuentra habitualmente en el tracto digestivo de forma asintomática. Esta ubicuidad del germen es un problema a la hora de relacionar su presencia con la causa de los abortos. Para tratar de aclarar esta relación se hizo un estudio en la región de Parma en la que se comparaba la seroprevalencia frente a *Chlamydia* de los sueros provenientes de la sangría total de la campaña de saneamiento (24 % de animales seropositivos a la prueba de ELISA) con sueros pertenecientes a vacas abortadas obtenidos dentro de una semana después del aborto (45 % de animales positivos a la prueba de ELISA).

3.2. TRANSMISIÓN

Las vacas infectadas serán la principal fuente de infección y en el momento del parto o aborto eliminarán gran cantidad de microorganismos con la placenta, el feto y los fluidos fetales. La importancia del intercambio de infección entre vacuno y ovino no está clara pero se han provocado abortos en vacuno de forma experimental por la inoculación de agentes provenientes de ovinos y viceversa.

C. abortus puede actuar provocando alteraciones a nivel de la placenta (placentitis necrótica con vasculitis leucocitoclástica) o provocando una infección sistémica en el feto que conducirán al aborto.

Se ha aislado el microorganismo en semen y vagina, lo cual podría sugerir una posible transmisión venérea de la enfermedad.

3.3. CUADRO CLÍNICO

La vaca presenta aborto como único síntoma de la enfermedad. Los abortos por *Chlamydophila* se suelen producir a partir de seis meses de gestación pero también se han descrito casos en fetos de tres a cinco meses. Puede haber casos de fetos expulsados muertos a término o terneros nacidos vivos pero débiles que mueren en poco tiempo. La retención de placenta es frecuente.

Los fetos no suelen estar autolíticos sino que aparecen frescos y limpios.

En explotaciones muy grandes de EEUU e Israel se han descrito casos de presentación epizootica; en estos casos, cuando se introduce la infección, podemos encontrar tasas de aborto de hasta el 30 al 40 % en animales de todas las edades, quedando posteriormente prácticamente restringidos a novillas.

Se han aislado chlamydias en semen de toros con infertilidad y aquejados de atrofia testicular. La lesión que podemos encontrar en los toros afectados por esta enfermedad es una semino-vesiculitis.

3.4. DIAGNÓSTICO

Los fetos pueden estar anémicos y presentar hemorragias petequiales en piel y mucosa conjuntival y oral. Podemos encontrar un hígado aumentado de tamaño con una congestión generalizada y focos de necrosis; también en la placenta podemos encontrar focos necróticos.

Ha resultado muy difícil aislar el germen de fetos bovinos abortados. El proceso crónico de la enfermedad, junto con la reacción generalizada de defensa activa del feto, explicaría el reducido número de gérmenes encontrados en vacuno comparado con los que se encuentran en ovino donde la enfermedad cursa de una manera más aguda.

Podemos realizar una tinción de Stamp sobre extensiones de hisopos obtenidos de vagina de vaca abortada, placenta y abomaso del feto. La observación de gérmenes compatibles con Chlamydia nos puede dar un diagnóstico presuntivo. La realización de otras pruebas como Clearview, IFD, IHQ y PCR es necesaria para poder confirmar el diagnóstico.

Las pruebas serológicas, por su inespecificidad, son de poca utilidad, a no ser que tengamos una monitorización continua de la explotación o se asocien a otras pruebas de diagnóstico directo.

3.5. CONTROL

Ante un brote de abortos por chlamydias podemos emplear una terapia antibiótica con oxitetracilina L.A. en todos los animales gestantes de la explotación. Posteriormente podemos continuar con aplicaciones a los 3 y 7 meses de gestación de dos inyecciones separadas por un intervalo de 15 días.

Se han utilizado vacunas muertas con resultados contradictorios. Las pautas de vacunación han variado desde la aplicación en sábana hasta la aplicación en el momento de realizar el diagnóstico de gestación.

Se han realizado algunas pruebas con vacunas elaboradas con cepas mutantes termo sensibles obtenidas de ovino y registradas para esta especie. El futuro de estas vacunas es esperanzador si nos fijamos en su eficacia en ganado ovino. La adaptación a ganado vacuno nos permitiría vacunar la reposición a la edad de seis meses.

4. RINOTRAQUEITIS INFECCIOSA BOVINA (I.B.R.)

4.1. ETIOLOGÍA

El Herpesvirus bovino tipo 1 (BHV-1) es el agente causal de la rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR), de la vulvovaginitis pustular infecciosa (IPV) y la balanopostitis pustular infecciosa (IPB).

Es un virus antigénicamente estable y que es capaz de provocar infecciones latentes permanentes en los bovinos después de ser infectados.

Las cepas aisladas en Europa son en general poco virulentas, lo que explicaría que podamos tener rebaños seropositivos sin apenas sintomatología clínica.

4.2. TRANSMISIÓN

La reactivación de la infección latente de forma espontánea o favorecida por cualquier situación de estrés como pueden ser el parto, el transporte, la climatología adversa o la presencia de otros virus (BVD, PI3) posibilita que el virus se elimine con las secreciones respiratorias y genitales. Las vías de entrada del virus son la mucosa nasal, ocular, orofaríngea y genital. La difusión del virus una vez introducido en un rebaño es muy rápida.

El semen congelado proveniente de toros infectados puede ser un medio de transmisión de la enfermedad.

En las formas clínicas de IPV o IPB la transmisión se produce en el momento de la monta.

4.3. CUADRO CLÍNICO

Cuando la presentación clínica es en forma de IPV o IPB los animales manifiestan lesiones locales en la vagina y en el pene con enrojecimiento, edema, dolor y presencia de lesiones planas, grises y semitransparentes. Estas lesiones suelen aparecer a los tres días de la monta y podemos ver a las vacas con el rabo levantado y con secreciones purulentas consecuencia de infecciones bacterianas posteriores. Estas formas clínicas no suelen provocar abortos.

Los síntomas respiratorios y las lesiones en las vías altas (fiebre, rinitis, conjuntivitis, tos, secreción nasal y ocular, etc.) son las manifestaciones más típicas de la IBR aunque muchas veces puede cursar de forma subclínica. Se pueden producir abortos en cualquier periodo de gestación pero suelen ser más frecuentes en el último trimestre. Los abortos se pueden producir de 2 a 12 semanas después de la infección de la madre.

Cuando tenemos difusión sistémica del virus además de los abortos, podemos tener otros problemas reproductivos como son endometritis, muerte embrionaria temprana y destrucción del cuerpo lúteo.

Si el virus se trasmite a través del semen, bien por monta natural o inseminación artificial, se provoca endometritis e infertilidad subsiguiente.

4.4. DIAGNÓSTICO

En el estudio anatomopatológico se pueden observar lesiones focales necróticas características en hígado, bazo, páncreas y pulmón.

El estudio de la seroconversión en muestras pareadas puede ser interesante cuando estamos ante un proceso de enfermedad clínica o problemas de fertilidad en una explotación. Las pruebas de ELISA en leche pueden ser interesantes a nivel de rebaño

Los títulos serológicos de las vacas abortadas por IBR suelen ser altos, pero una serología positiva no es suficiente para confirmar la causa del aborto (los anticuerpos permanecen prácticamente de por vida en los animales que han sufrido una infección). Tenemos que tener en cuenta que no podemos distinguir los anticuerpos vacunales de los producidos a consecuencia de la infección a no ser que estemos utilizando vacunas marcadoras.

Se puede confirmar el diagnóstico mediante la técnica de inmunofluorescencia directa (IFD) o inmunohistoquímica realizada en riñón, hígado o pulmón.

4.5. CONTROL

Las medidas de bioseguridad son imprescindibles para mantener una explotación libre del virus. Cuando adquirimos animales tenemos que tener en cuenta además de que sean seronegativos y realizar cuarentena, la posibilidad de la existencia de animales con infección latente y que son seronegativos (son aquellos que se infectaron mientras les duraba la inmunidad pasiva adquirida con el calostro). Por esto procuraremos que los animales además de ser seronegativos provengan de explotaciones seronegativas.

La posibilidad de que todavía existan en el mercado dosis seminales producidas con anterioridad a las normativas que regulan el estatus serológico de los toros dedicados a inseminación artificial es un riesgo que tenemos que tener en cuenta.

La vacunación es un método eficaz para controlar la IBR pero tenemos que saber que las vacunas reducen la excreción de virus de los animales infectados y nos protegen de la enfermedad pero no de la infección. En los programas de erradicación se están utilizando en la actualidad vacunas marcadoras que nos posibilitan distinguir los anticuerpos vacunales de los anticuerpos producidos por el virus de campo.

Si utilizamos vacunas convencionales puede ser interesante contar con unos animales control, no vacunados, para poder testar la posible circulación del virus en la explotación.

5. DIARREA VÍRICA BOVINA (B.V.D.)

5.1. ETIOLOGÍA

El virus causante de la enfermedad llamada diarrea vírica bovina pertenece al género pestivirus con dos genotipos diferentes, VBVD-1 y VBVD-2 . Esta última forma es la causante de presentaciones clínicas muy graves que cursan con trombocitopenia descritas en América. En España los aislamientos más frecuentes son los pertenecientes al genotipo VBVD-1, subtipo B. Existen cepas con una virulencia y un tropismo diferente, de ahí la variedad de la sintomatología clínica. Las cepas no citopáticas son las que se aíslan con más frecuencia mientras que las citopáticas surgen por mutación de las primeras y provocan la aparición de la enfermedad de las mucosas.

5.2. TRANSMISIÓN

Los animales persistentemente infectados (PI) son el elemento clave en la transmisión de la enfermedad. Los animales PI son aquellos individuos que sufrieron la infección

intrauterina por una cepa no citopática entre los días 40-125 de su desarrollo fetal, es decir, cuando todavía no eran inmunocompetentes. Estos animales permanecen virémicos durante toda su vida y no desarrollan una respuesta inmunitaria frente al virus. Los animales PI eliminan virus constantemente con sus secreciones y excreciones orgánicas transmitiendo la infección por contacto o por vía aerógena en distancias cortas. Esta transmisión es muy eficaz y hace que en poco tiempo seroconviertan gran cantidad de animales que se mantendrán seropositivos durante toda su vida una vez infectados. La transmisión genital por transferencia de embriones, monta natural o por IA con semen contaminado también es posible, así como la vía percutánea por inyecciones y picaduras de insectos. Las vacas PI siempre parirán terneros PI.

Los animales inmunocompetentes con infección aguda excretan virus en cantidades muy pequeñas y en unos periodos de tiempo muy cortos. La viremia de estos animales sólo dura una semana.

En el ganado caprino y ovino podemos encontrar animales PI, que pueden actuar como reservorios de la enfermedad.

Ha habido casos en los últimos años de contaminación vírica de productos biológicos (vacunas, líquidos de lavado empleados en transferencia de embriones) que pueden transmitir la infección.

5.3. CUADRO CLÍNICO

El cuadro clínico en un animal inmunocompetente que se infecta por el VBVD-1 suele pasar desapercibido en la mayoría de los casos, si bien pueden manifestar algunos síntomas leves y poco específicos como hipertermia, reducción de la producción de leche y del consumo de alimentos, leucopenia, diarrea y signos respiratorios.

Si el animal está gestante y la virulencia del virus y el estado inmunitario de la madre han permitido que tengamos partículas virales libres en sangre se puede infectar el feto y dependiendo del periodo de gestación puede provocar diferentes problemas. Experimentalmente se han constatado fallos en la concepción. La probabilidad de muerte embrionaria va incrementándose conforme se alcanza el primer mes de gestación y las repeticiones de celo posteriores siempre serán con intervalos de más de 30 días post inseminación. Si la infección se produce entre los días 42 y 125, es decir desde que se implanta el embrión hasta que es inmunocompetente, podemos tener muerte fetal con momificación o aborto, pero si el feto sobrevive nacerá un animal PI. Los abortos se pueden producir de 9 a 90 días después de la infección. A partir del cuarto mes de gestación, en que se desarrolla el sistema inmunitario del feto, éste se va haciendo más resistente y la posibilidad de abortos es menor, de hecho las infecciones en el último trimestre rara vez provocan aborto, aunque sí nacimiento de animales infectados y débiles, si la infección se produce muy cerca del parto. En las infecciones por el VBVD es frecuente el nacimiento de animales con defectos congénitos, lo que parece ser debido al efecto teratógeno del virus sobre los fetos entre los días 100 y 150 de gestación. Entre los defectos más comunes se encuentran la hipoplasia cerebelar (los terneros tienen muchas dificultades para ponerse en pie) y alteraciones de los ojos (microftalmos, cataratas, opacidad de la córnea etc.).

Los animales PI son individuos que suelen manifestar un desarrollo menor y son más vulnerables a cualquier proceso patológico. Estos animales, cuando son infectados por una cepa citopática (originada generalmente por recombinación genética de la cepa no citopática que lo infectó) desarrollan la enfermedad de las mucosas. Este proceso se

suele manifestar en animales de 6 a 24 meses y termina con la muerte del animal después de haber sufrido fiebre, diarrea, y úlceras en mucosa digestiva, etc.

De todo esto podemos deducir que la secuencia de problemas clínicos en presencia del VBVD en una explotación sería la siguiente: primeramente ocurriría la infección con una presentación subclínica seguida de disminución de la fertilidad, muerte embrionaria y abortos; posteriormente nacimiento de terneros débiles y con defectos congénitos; mas tarde nacimiento de terneros PI y enfermedades perinatales en terneros, por último los PI desarrollaran enfermedad de las mucosas.

5.4. DIAGNÓSTICO

La observación de los síntomas clínicos nos puede ayudar a sospechar de la existencia de un problema de BVD, pero al ser los signos más claros los concernientes a enfermedad de las mucosas, los problemas de abortos los habremos tenido mucho tiempo antes. En el momento del aborto la mayoría de los animales serán seropositivos y se infectaron hace tiempo.

El diagnóstico del aborto debido a BVD es complicado porque aunque llegemos a demostrar la presencia del virus en el feto, no podemos asegurar que sea la causa del mismo debido a la variedad de virulencia de las cepas.

Para intentar realizar un diagnóstico directo sobre el feto enviaremos al laboratorio muestras de órganos linfoides (tiroides, bazo y timo), sangre o exudado de la cavidad pleural o peritoneal para realizar pruebas de aislamiento, PCR, IFD y ELISA antigénico.

Para la realización de un diagnóstico indirecto se emplean habitualmente técnicas de ELISA. Hoy en día existen pruebas de ELISA comerciales que nos permiten detectar anticuerpos frente a la NS3 (p80) que sólo se producen tras la infección o la aplicación de vacunas vivas pero no por la vacunación con vacunas muertas. La presencia de anticuerpos en exudados fetales es una prueba de que se ha producido infección fetal pero tenemos que tener en cuenta que solo se podrán detectar en abortos mayores de 6 meses. Un resultado serológico negativo de la madre descarta la implicación del VBVD en el aborto a no ser que la vaca sea un animal PI. La seroconversión de la vaca abortada se produce antes del aborto, por lo tanto el estudio de sueros pareados tiene poca utilidad. Un resultado serológico positivo de la madre tiene poco valor diagnóstico pues al durar los anticuerpos toda la vida no sabemos cuándo se produjo la infección. El estudio de los anticuerpos presentes en terneros recién nacidos antes de la toma del calostro y en terneras de más de 6 meses, una vez que han desaparecido los anticuerpos calostrales, es muy útil para saber si ha habido circulación del virus en los últimos tiempos en una explotación.

5.5. CONTROL

En una explotación en la que hemos tenido un aborto por causado por el VBVD tenemos que partir de la base de que muy probablemente tengamos algún animal PI en el rebaño, por lo tanto debemos identificar y eliminar estos animales sin olvidar que pueden existir en ese momento en la explotación vacas cuyos fetos sean PI que tendremos que identificar una vez que nazcan.

Una vez eliminados los PI tendremos que implantar unas medidas de bioseguridad para impedir la posible reintroducción del virus. Deberemos evitar el contacto y la compra de animales PI y, lo que sería aún más peligroso, vacas gestantes con fetos

PI. También los individuos con infección aguda y el contacto con ovejas suponen un riesgo.

La vigilancia serológica de los animales de 6-18 meses nos sirve para valorar la eficacia de las medidas aplicadas.

La vacunación es una herramienta eficaz para controlar los abortos, siempre y cuando desencadene una inmunidad humoral suficiente para impedir la presencia de partículas libres en sangre que infectarían al feto con la posibilidad de abortos, nacimiento de animales PI, etc.. Para conseguir esto pueden ser eficaces tanto algunas vacunas vivas como inactivadas, monovalentes o polivalentes pero siempre serán preferibles las homólogas a las heterólogas.

6. NEOSPOROSIS

6.1. ETIOLOGÍA

Neospora caninum es un protozoo parásito muy similar a *Toxoplasma gondii*, ambos pertenecientes a la familia Sarcocystidae. Este parásito se describió en Noruega por primera vez en 1984 como causante de problemas neurológicos y musculares en perros. Hasta 1989 no se relacionó con un brote de abortos en ganado vacuno sucedido en Nuevo Méjico. En España los primeros diagnósticos se realizaron en 1996 (Cebrián y col., González y col., Pumarola y col), tanto en vacuno como en perros. Hoy en día esta considerada como la principal causa de abortos tanto en España como otros países.

En 1998 (McAllister y cols.) se demostró que el perro podía actuar como hospedador definitivo al comprobarse experimentalmente que era capaz de eliminar ooquistes con las heces.

Los estadios del parásito identificados son taquizoítos de localización intracelular, bradizoítos que se encuentran dentro de quistes tisulares y ooquistes que son la forma sexuada del parásito.

6.2. CICLO BIOLÓGICO

El perro es capaz de albergar en su organismo las fases de reproducción sexual y asexual del parásito, siendo por tanto hospedador definitivo e intermediario del parásito. Se ha demostrado recientemente que el coyote puede actuar también como hospedador definitivo por lo tanto es probable que otros cánidos sean capaces de serlo.

La fase asexual tiene lugar en los bóvidos pero también en un amplio rango de hospedadores intermediarios. Los bóvidos y otros hospedadores intermediarios se infectan al ingerir alimentos contaminados con ooquistes, de los cuales se liberan los taquizoítos que se diseminan por el organismo infectando células del cerebro, médula espinal, nervios, músculo cardíaco y esquelético, hígado y, ocasionalmente pulmón y riñón.

Los taquizoítos se multiplican por endodiogenia, lisan la célula e invaden otras células. Durante su diseminación por las células orgánicas los taquizoítos pueden alcanzar la placenta y el feto, siendo éste el principal mecanismo de transmisión de la infección en el ganado vacuno. Este proceso se repite hasta que la respuesta inmune y posiblemente otros factores transforman el taquizoíto en bradizoíto, el cual se multiplica lentamente en el interior de quistes intracelulares.

El perro se infecta al consumir tejidos que contienen quistes o taquizoítos libres. En su intestino tiene lugar la fase sexual dando lugar a la formación de ooquistes que se eliminan con las heces y esporulan en el medio ambiente antes de ser nuevamente infectantes.

6.3. TRANSMISIÓN

Las dos vías de transmisión fundamentales de *N. caninum* son la vía vertical de madre a hijos a través de la placenta y la vía horizontal por consumo de alimentos contaminados con ooquistes.

La transmisión congénita (vertical) de la neosporosis en el ganado bovino se considera la más importante y se conoce desde las primeras descripciones de la enfermedad, cuando se observó que además de provocar abortos, la infección intrauterina de un feto bovino podía ser subletal dando lugar al nacimiento de terneros vivos infectados que presentaban un cuadro clínico neurológico de mayor o menor gravedad, e incluso de terneros infectados clínicamente normales y viables, en los cuales la única evidencia de la infección era la detección de títulos elevados de anticuerpos precalostrales anti-*Neospora* y que son los responsables del mantenimiento de la infección en las explotaciones.

El grado de inmunidad que induce la infección natural en vacas parece ser insuficiente para prevenir la infección fetal en sucesivas gestaciones, aunque la gravedad del cuadro clínico desarrollado por el feto infectado parece depender de otros factores, especialmente de la edad fetal en el momento de la infección, del grado de desarrollo del sistema inmune del feto y de la gravedad y distribución de las lesiones en el SNC.

Se considera que los animales infectados continúan estándolo de por vida y que las vacas infectadas pueden experimentar abortos repetidos o intercalados con la gestación de terneros clínicamente normales pero infectados. No podemos saber con certeza si la transmisión congénita es la consecuencia de una nueva infección o de la reactivación de una infección materna latente, reacción que estaría modulada por múltiples factores tanto externos como inherentes a la madre y al feto.

En los primeros estudios que realizamos en el año 1996 encontramos, en cuatro explotaciones atendidas por nosotros, líneas familiares (abuela, hija y nieta) todas ellas seropositivas y con historial de abortos. En un estudio realizado al año siguiente en una explotación con 61 animales seropositivos (18,9%) pudimos comprobar que 16 madres y 3 abuelas eran también seropositivas.

La eficacia de la transmisión congénita es muy alta en explotaciones con historial de abortos por *Neospora caninum*, aunque las tasas de transmisión varían entre el 39% observado por Dyer y cols. (2000) y el 100% registrado por Anderson y cols. (1997).

Se ha conseguido transmitir la infección mediante la administración de leche a la que se habían añadido taquizoítos.

Durante bastantes años se sospechó de la existencia de la transmisión horizontal, bien mediante potenciales hospedadores definitivos, como perros, ratas o pájaros, que contaminarían con sus heces los piensos y otros componentes de la alimentación, o bien por contacto directo con material infectado procedente de los abortos. Esta sospecha estaba basada por una parte en la similitud de *Neospora caninum* con *Toxoplasma gondii*, pero también en la existencia de explotaciones indemnes en las que aparecieron animales seropositivos o brotes de abortos por *Neospora caninum* sin

que se hubieran adquirido nuevos animales. En otros estudios las tasas de seroprevalencia encontradas eran tan altas que difícilmente se podían haber logrado si únicamente existiera la transmisión vertical. La confirmación del perro como hospedador definitivo de *Neospora caninum* pone de manifiesto que la transmisión horizontal es posible e incluso se ha conseguido de forma experimental en terneros. Se han observado asociaciones significativas entre la presencia y número de perros y la prevalencia serológica y la casuística de abortos.

Aunque se ha demostrado la transmisión por ingestión de material infectado procedente de abortos, su incidencia debe ser escasa ya que se sabe que los taquizoítos no resisten la digestión ácida y son destruidos en el estómago.

A pesar que la seroprevalencia en toros dedicados a IA puede ser similar a la existente en vacas y se ha demostrado la presencia de *N. caninum* tanto en semen fresco como en congelado, empleando la técnica de PCR (Ortega y col 2004) , hacen falta más estudios para aclarar la transmisión por esta vía.

La importancia de la transmisión horizontal en una explotación se pone de manifiesto mediante el estudio serológico de animales pertenecientes a líneas familiares o en la comparación de las seroprevalencias obtenidas en los distintos grupos de edad. La observación de discrepancias serológicas madre-hija o la detección de una mayor proporción de animales seropositivos en el grupo mayor edad, serían un buen indicador de la existencia de una fuente de infección postnatal en la explotación. En un estudio realizado en nuestra zona de trabajo (provincia de Zaragoza) hemos observado una diferencia de seroprevalencia dependiendo de la edad tanto en explotaciones con antecedentes de abortos como en otras elegidas al azar, en las primeras se obtuvieron seroprevalencias del 23% en animales menores de 6 años y del 31% en las de más de 6 años, en las segundas la diferencia fue de 12% frente al 22%. En las explotaciones con historial de abortos teníamos un 11´89% de animales positivos cuyas madres eran seronegativas y en las explotaciones elegidas al azar era del 6´75%. Estos resultados nos dan idea de la importancia de la transmisión horizontal en nuestras granjas.

Si bien es cierto que experimentalmente se ha comprobado que *Neospora caninum* es capaz de inducir abortos sin necesidad de otras interacciones y que ante una infección natural los animales seropositivos tienen de dos a tres veces más riesgo de abortar que los seronegativos e, incluso, hasta 7,4 veces superior cuando son novillas infectadas congénitamente, es posible que la infección por *Neospora caninum* no sea la única causa que desencadene el aborto o el fallo reproductivo, y este hecho sugiere que otros factores pueden intervenir en la interrupción de la gestación.

La existencia de infecciones concomitantes con otros agentes inductores de aborto puede ser uno de los factores que condicionen las consecuencias de la infección por *Neospora caninum*. Diversos autores han descrito abortos en los que además de *Neospora caninum* se encontraban implicados otros microorganismos, como el virus BVD, el virus IBR, *Actinomyces pyogenes* o *Leptospira sp.* En estos casos, *Neospora caninum* puede comprometer la salud del feto y hacerlo más susceptible a la acción de otros agentes abortivos.

Además, no debe excluirse que determinados agentes inmunosupresores o factores hereditarios actúen sinérgicamente con *Neospora caninum*. La administración de ensilados de maíz o concentrados enmohecidos por haber sido conservados en malas condiciones de temperatura y humedad pueden favorecer el crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas, capaces de provocar inmunosupresión y de reactivar la enfermedad en animales previamente infectados por *Neospora caninum*.

6.4. PATOGENIA

La multiplicación activa de los taquizoítos en las células parasitadas ocasiona la destrucción de las mismas y da lugar a la aparición de focos de necrosis, que constituyen la principal manifestación lesional de la enfermedad. La destrucción celular induce una reacción inflamatoria no purulenta, constituida por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas alrededor de las zonas necróticas.

En estadios tempranos de la infección fetal en los bovinos, los taquizoítos están asociados a los endotelios vasculares y las lesiones están próximas a los capilares sanguíneos. La muerte fetal se produce entre los 74 y los 101 días post infección, aunque este periodo depende de la edad del feto en el momento de la infección.

La placentitis y las lesiones necróticas e inflamatorias observadas en el SNC y en el corazón de los fetos parecen ser las responsables de la muerte del feto (Cebrián y cols., 2000), aunque otros factores como cambios de manejo, infecciones concomitantes, alteraciones en el estado inmunitario, etc. podrían actuar como factores desencadenantes del aborto.

Tanto en animales adultos como en fetos inmunocompetentes y terneros, la infección provoca el desarrollo de una respuesta inmune humoral que es de gran ayuda para el diagnóstico de la enfermedad. La cinética de los anticuerpos en animales con infección natural demuestra que los títulos fluctúan con el paso del tiempo.

Los bóvidos adultos inoculados con taquizoítos por vía parenteral desarrollan una respuesta humoral detectable a los 7 días postinoculación, que alcanza el pico máximo aproximadamente a los 30 días, aunque esta respuesta no es suficiente para evitar la muerte fetal o la transmisión congénita de la enfermedad. En terneros infectados experimentalmente mediante la ingestión de ooquistes caninos, se ha detectado una respuesta humoral específica mediada por IgG1 e IgG2 a las dos y a las cuatro semanas de la infección respectivamente, mientras que la respuesta serológica de tipo IgM era detectada a las dos semanas de la infección, descendiendo posteriormente hasta los valores de la preinfección. Tras el aborto se observa un descenso rápido y progresivo de la tasa de anticuerpos hasta alcanzar niveles bajos. La tasa de anticuerpos asciende cuando el animal queda nuevamente gestante y se mantiene alta hasta el momento del parto.

6.5. CUADRO CLÍNICO

Las vacas adultas infectadas manifiestan como único signo clínico el aborto. Además se pueden producir partos prematuros y nacimiento de terneros infectados congénitamente con un cuadro clínico de gravedad variable o, lo que es más habitual, asintomáticos pero portadores de la enfermedad.

El aborto puede producirse tanto en novillas como en vacas y tanto en ganado vacuno lechero como cárnico, aunque la mayoría de los abortos registrados se han observado en vacas de aptitud láctea. El aborto se puede presentar de forma epidémica, endémica o esporádica. La forma epidémica se caracteriza por una explosión de abortos en un periodo breve de tiempo (Alfonso y cols., 2001) o bien por brotes repetidos en un periodo más dilatado, pero que en cualquier caso afectan a un elevado porcentaje de animales. En diversos estudios se ha sugerido que la forma epidémica estaría asociada a una infección postnatal consecutiva a la exposición a una fuente común de infección en un periodo breve de tiempo.

La presentación endémica, en ausencia de transmisión horizontal, dependerá exclusivamente de la eficacia de la transmisión congénita, en este caso tenemos explotaciones con un goteo más o menos continuado de abortos. La forma endémica puede ser confundida con la epidémica cuando los abortos se concentran en una época concreta al coincidir con la acción simultánea de factores coadyuvantes o dependientes de la madre que predispongan al aborto en los animales con infecciones crónicas. La forma esporádica es relativamente poco frecuente, y se observa en rebaños con una baja tasa de abortos.

El mayor porcentaje de abortos se produce entre los cuatro y los seis meses de gestación. En los diagnósticos realizados por nosotros en los últimos años la media de edad de 31 fetos abortados por *Neospora* fue de 5,29 meses.

Los fetos abortados suelen estar autolíticos, aunque algunos pueden estar frescos o claramente momificados (Barberán y cols., 1997).

Las vacas infectadas por *Neospora caninum* pueden experimentar abortos repetidos, bien de forma consecutiva o intercalados entre gestaciones normales.

En el momento del aborto las vacas no muestran sintomatología alguna, no se producen retenciones de placenta, y la fertilidad no se ve alterada tras la interrupción de la gestación.

Los terneros infectados congénitamente manifiestan un cuadro clínico de intensidad variable, probablemente influenciado por el grado de desarrollo del sistema inmune en el momento de la infección. La forma de presentación más frecuente es la subclínica, caracterizada por el nacimiento de terneros aparentemente normales y carentes de lesiones graves, que dan serología positiva antes de la ingestión de calostro. Algunos terneros infectados congénitamente pueden empezar a manifestar síntomas desde el nacimiento, o bien comenzar unos días después. El cuadro clínico desarrollado es de tipo neuromuscular y su intensidad varía entre ligera debilidad, incoordinación o dificultad para mantenerse en pie hasta parálisis completa. Algunos animales muestran ataxia progresiva, disminución de reflejos, extremidades en flexión o hiperextensión y exoftalmia.

6.6. DIAGNÓSTICO

Ciertos datos clínicos e epidemiológicos pueden ser interesantes a la hora de orientar el diagnóstico aunque siempre se tendrá que confirmar con pruebas de laboratorio.

Las muestras necesarias para confirmar el aborto por *Neospora caninum* son el feto completo y suero de la madre, aunque también es conveniente enviar fragmentos de la placenta que incluyan cotiledones y zonas intercotiledonarias. Si el feto es muy grande puede realizarse la necropsia y obtener al menos líquido torácico y cerebro.

El diagnóstico directo consiste en la identificación del agente mediante aislamiento (cultivo celular, inoculación en ratón) o, lo que es más frecuente, por detección de antígenos del parásito mediante IHQ o del ADN del mismo mediante PCR. El diagnóstico directo de la neosporosis se realiza sobre tejidos fetales, para lo cual es necesaria la obtención del cerebro, médula espinal y corazón, aunque es conveniente recoger muestras de otros órganos, especialmente de músculo esquelético, hígado, riñón y pulmón. Estas muestras pueden ser fijadas en formol si se va a confirmar el diagnóstico mediante IHQ, o congeladas si se va a confirmar mediante PCR.

La observación de lesiones típicas en cortes histológicos de cerebro y corazón teñidos con hematoxilina-eosina permite emitir únicamente un diagnóstico presuntivo, ya que las lesiones que origina *Neospora caninum* en cerebro son similares a las inducidas por otros protozoos inductores de abortos, y es necesario realizar un diagnóstico diferencial con *Toxoplasma gondii* y *Sarcocystis sp.*. El diagnóstico diferencial de las lesiones cardiacas incluye las infecciones por el virus BVD, y *Listeria sp.* agentes que también originan una miositis no purulenta.

Para poder confirmar el diagnóstico presuntivo emitido mediante la observación de cortes teñidos con H.E. es recomendable aplicar técnicas inmunohistoquímicas (IHQ), que mediante la utilización de un anticuerpo primario anti-*Neospora*, permiten detectar tanto taquizoítos como quistes tisulares en los cortes histológicos. En la última década la técnica IHQ más utilizada por su sencillez y repetibilidad es la basada en el complejo Avidina Biotina Peroxidasa (ABPC). La sensibilidad y especificidad de la IHQ como método de confirmación de la neosporosis ha suscitado numerosas polémicas por sus resultados contradictorios. En los abortos estudiados por nosotros hemos conseguido, con esta técnica, identificar *N. caninum* en 42 fetos. A pesar de que el cerebro es el órgano donde *N. caninum* se detecta con mayor frecuencia en IHQ, sólo se consiguió en 36, el resto se consiguió en otros órganos. Esto sugiere que la utilización del cerebro como muestra única para la confirmación del aborto puede dejar de confirmar algunos abortos por *Neospora*, disminuyendo así la sensibilidad de esta técnica. El empleo de esta técnica es recomendable incluso en fetos momificados y autolíticos, en los que no hemos observado lesiones, pero son sospechosos de estar infectados pues ellos o sus madres son seropositivos. Empleando este criterio nosotros hemos mejorado la eficacia diagnóstica en un 6,33%.

Las sensibilidades descritas por los diferentes autores oscilan entre valores cercanos al 50% (González y cols., 1999) y niveles próximos al 100% (Anderson y cols., 1991; Wouda y cols., 1997). En nuestros estudios hemos obtenido una sensibilidad del 80 %.

La identificación de taquizoítos o de quistes tisulares de *Neospora caninum* mediante IHQ en cerebro y otros órganos provistos de lesiones histológicas típicas permite emitir un diagnóstico definitivo de neosporosis, aunque este mismo diagnóstico puede emitirse en terneros infectados que nacen sin un cuadro clínico evidente. Por este motivo Thurmond y cols. (1999) sugieren que de esta forma sólo se confirmaría la infección congénita del feto, pero para confirmar a *Neospora caninum* como responsable del aborto sería necesario tener en cuenta otros factores como la gravedad y extensión de las lesiones y sobre todo excluir previamente otros agentes abortivos.

El aislamiento de *Neospora caninum* puede realizarse en medios de cultivo celular o mediante inoculación en animales de laboratorio, especialmente en ratón. En ambos casos puede confirmarse la infección; no obstante esta técnica de diagnóstico tiene poca utilidad práctica y únicamente se aplica de rutina en algunos laboratorios de investigación.

La reacción en cadena de la polimerasa. "Polymerase-chain reaction" (PCR) es una técnica rápida aunque requiere de un equipo muy especializado que no se utiliza de rutina en numerosos laboratorios de diagnóstico veterinario y tiene un mayor coste económico. Su sensibilidad es muy alta, ya que con algunos de los protocolos es capaz de amplificar cantidades mínimas de ADN, correspondientes a sólo unos pocos taquizoítos.

Para la detección de anticuerpos frente a *Neospora caninum* puede utilizarse el suero, la leche o el calostro de la vaca así como el suero, el líquido torácico y el líquido cefaloraquídeo (LCR) de los fetos y neonatos. Son diversas las técnicas capaces de detectar anticuerpos específicos, aunque las más empleadas son la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el ELISA.

Los resultados obtenidos del diagnóstico serológico deben ser convenientemente valorados tanto en la madre como en el feto. En la madre, la detección de anticuerpos específicos frente a *Neospora caninum* confirma la infección, pero no la etiología del aborto, ya que se pueden encontrar anticuerpos en vacas que abortan por otras causas, mientras que su ausencia prácticamente descartaría a *Neospora caninum* como responsable del aborto.

La detección de anticuerpos en suero o líquido torácico fetal confirma la infección fetal, ya que los anticuerpos maternos no atraviesan la membrana y por tanto serán la consecuencia del contacto del feto con el protozoo. La falta de detección de anticuerpos en los fetos no excluye la infección fetal, ya que por una parte el feto no es inmunocompetente hasta aproximadamente los 5 meses de gestación y por otra la muerte fetal puede haber sido lo suficientemente rápida, como para no haber dado tiempo a que se sinteticen anticuerpos. En este último supuesto la utilización de técnicas que detectan IgM en vez de IgG pueden mejorar los resultados (Buxton y cols., 1997).

La IFI fue la primera técnica serológica utilizada para el diagnóstico de la neosporosis bovina y sus resultados se han utilizado como patrón para la evaluación de diferentes tipos de ELISA.

El problema más importante que presenta esta técnica es la determinación del título a partir del cual los resultados serológicos se consideran indicativos de infección. En vacas abortadas, Paré y cols. (1995b) recomiendan utilizar 1/640 como punto de corte, mientras que otros autores obtienen mejores resultados al adoptar puntos de corte que varían desde 1/400 hasta 1/25. A pesar de que la detección de anticuerpos frente a *Neospora caninum* en una vaca que ha abortado confirma la infección, no confirma la etiología del aborto, a menos que el título de anticuerpos sea muy elevado. En este sentido, Trees y cols. (1994) y Buxton y cols. (1997) consideran que la presencia de títulos comprendidos entre 1/640 y 1/4096 sugiere la participación de *Neospora caninum* en el aborto, pero no permite un diagnóstico definitivo.

Los primeros estudios realizados en fetos recomendaban títulos de 1/80 (Barr y cols., 1995) o 1/64 (Buxton y cols., 1996; Buxton y cols., 1997), basándose en la concordancia con la histología o la IHQ, sin embargo Otter y cols. (1997), recomienda títulos de 1/50 y Wouda y cols. (1997) y Slotved y cols. (1999) consideran que la reducción del título hasta 1/20, no produciría una pérdida importante de especificidad.

En este sentido, González y cols. (1999) sugieren establecer el punto de corte indicativo de infección fetal en función de la edad gestacional, y proponen títulos de 1/16 para fetos menores de seis meses, 1/32 para fetos de seis a siete meses y medio y 1/64 para los fetos mayores de siete meses y medio. Adicionalmente, el empleo de conjugados anti IgM aumentaría las posibilidades de detección de la infección en los estadios tempranos.

La necesidad de realizar estudios epidemiológicos sobre un elevado número de animales, para obtener información sobre la prevalencia de la infección en los rebaños infectados, fue el factor detonante que impulsó el desarrollo de la técnica ELISA de

diagnóstico. El ELISA es una técnica sencilla, rápida, económica, de elevada repetibilidad y fácilmente automatizable.

El mayor problema que presenta esta técnica es que a pesar de que sus resultados son obtenidos mediante un lector de ELISA y por tanto totalmente objetivos, el punto de corte a partir del cual se considera indicativo de infección es totalmente subjetivo, de forma que no son raras las discrepancias en la detección de animales con títulos serológicos bajos o infectados crónicamente.

En brotes epidémicos de abortos, la comparación de los resultados obtenidos del estudio serológico de grupos de animales abortados y no abortados que se encuentren en etapas similares de la gestación, permite detectar asociación estadística entre el aborto y *Neospora caninum*, mientras que su ausencia descartaría a este agente como responsable del brote.

Por otra parte, el estudio serológico puede utilizarse para evaluar de forma retrospectiva la importancia de la transmisión congénita de la enfermedad en una determinada explotación. La concordancia de los resultados serológicos obtenidos de parejas familiares madre-hija confirma la existencia de un patrón endémico de diseminación de la infección por vía vertical. La falta de asociación indica que la infección ha tenido lugar después del nacimiento de la descendencia analizada, y confirmaría la transmisión horizontal.

Una nueva aplicación del ELISA desarrollado es su uso sobre muestras de leche .

6.7. CONTROL

A pesar de que existen fármacos efectivos *in vitro* frente a *Neospora caninum*, el tratamiento farmacológico del ganado bovino, orientado a evitar el aborto y la transmisión congénita de la enfermedad, no ha dado resultados suficientemente satisfactorios.

Hoar y cols. (1996) realizaron un tratamiento quimioproláctico de tres meses de duración con lasalocid en ganado de carne y Thurmond y Hietala (1997) administraron monensina a novillas seropositivas sin que en ambos casos el tratamiento consiguiera prevenir el aborto o la infección congénita. Lindsay (1997) demostró la eficacia del decoquinato invitro sobre los taquizoitos en cultivos celulares. C. Journel y cols. (2000 y 2001) realizaron pruebas de campo con dosis de 2 mg/Kg en periodos largos de tiempo que no consiguieron evitar todos los abortos ni la transmisión vertical del parásito aunque si alguna reducción de estos efectos. Extrapolando los conocimientos que tenemos sobre el mecanismo de actuación de este producto frente a otros parásitos podría ser interesante su empleo en lotes de novillas (no está permitida su utilización en animales cuya leche vaya al consumo humano) con riesgo de infección horizontal.

En cuanto a las investigaciones dirigidas a la obtención de una vacuna que sea capaz de prevenir la infección y la transmisión congénita, de momento los ensayos realizados en bóvidos, ha generado siempre un aumento de la respuesta inmune humoral y celular, pero no han asegurado la prevención de la infección fetal, tras la aplicación de vacunas muertas con distintos adyuvantes.

Puesto que no existen vacunas ni tratamientos eficaces para la enfermedad, el control y la prevención de la infección se basan en evitar tanto la transmisión vertical como la horizontal.

Si la prevalencia es baja, se recomienda instaurar un sistema de control drástico basado en el diagnóstico y posterior sacrificio de todos los animales seropositivos. Si la prevalencia es alta, deberá instaurarse un sistema de eliminación gradual de seropositivos, comenzando por los que han tenido abortos repetidos o descendencia seropositiva, los de mayor edad y los de menor valor. Simultáneamente el ganadero debe evitar dejar para reposición las hijas de vacas seropositivas para lo cual es conveniente que sobre esos animales seropositivos que no puedan ser rápidamente eliminados se realice un cruce industrial (Cebrián y cols., 2000). Si se adquieren nuevos animales para reposición hay que asegurarse que sean seronegativos.

Si en la explotación se utiliza la transferencia de embriones, tanto la vaca receptora como la donante deben ser seronegativas. En rebaños con alta prevalencia el factor limitante suele ser la disponibilidad de animales seronegativos en el mercado.

Aunque por el momento no se conocen demasiados detalles respecto a la frecuencia y tiempo de eliminación de ooquistes en condiciones naturales por los perros infectados, y muy poco sobre su resistencia en el medio ambiente, se recomienda la instauración de diferentes medidas higiénico-sanitarias básicas que eviten o minimicen la transmisión postnatal de la infección de los perros a los bóvidos.

Para ello se recomienda reducir el número de perros existentes en las explotaciones y sobre todo impedir su acceso a los lugares de almacenaje del alimento. Se debe evitar también el acceso a la explotación de otros carnívoros, potenciales hospedadores definitivos, y controlar las poblaciones de posibles hospedadores intermediarios capaces de transmitir la infección a los perros.

Además es imprescindible eliminar con rapidez y desinfectar todo el material procedente de los partos y abortos (fetos, placentas, fluidos fetales, etc.), así como neonatos muertos, para impedir que tanto los perros y otros carnívoros, como otros hospedadores intermediarios tengan acceso a este material potencialmente infeccioso.

Aunque se ha demostrado la transmisión experimental vía calostro no conocemos si esta es posible en condiciones naturales. De confirmarse este supuesto en condiciones de campo se debería encalostrear a los terneros con una mezcla de calostros de animales no infectados. Aunque se ha comprobado la presencia de *N. caninum* en semen no se ha podido demostrar su transmisión por monta natural o I.A.

Finalmente la adopción de prácticas de manejo general que favorezcan un nivel sanitario elevado, se traducirán en una menor incidencia de otras infecciones y situaciones de estrés e inmunosupresión que reducirán las posibilidades de recrudescimiento de la infección en animales infectados crónicamente.

ENFERMEDAD	ETIOLOGÍA	TRANSMISIÓN	MUESTRAS	TÉCNICAS	CONTROL
BRUCELOSIS	<i>B. abortus</i> <i>B. melitensis</i>	Oral, ordeño I.A. intrauterina Infección latente	Hisopo vaginal placenta, abomaso Leche Suero materno	Tinción STAMP Aislamiento FARREL RING TEST, ELISA Aislamiento FARREL R. Bengala, F.C, ELISA	Sangría- sacrificio Vacunación B19 vía conjuntival
LEPTOSPIROSIS	<i>L. hardjo</i> (R. bovino) <i>L. pomona</i> (R. animales domésticos y salvajes)	Eliminación por orina y abortos. Penetran por piel. Monta natural.	Riñón, pulmón Leche tanque Suero 10% animales explotación	IFD ELISA Microaglutinación-lisis	Control de roedores y humedad. Vacunación. Diestreptomycin a. Espiramicina.
CLAMIDIASIS	<i>Chlamydomytila abortus</i>	Por abortos y fluidos del parto. Transmisión venérea.	Hisopo vaginal, placenta y abomaso	Tinción STAMP CLEARVIEW, IFD, PCR	Oxitetraciclina Vacunas muertas? Vacunas vivas?
I.B.R.	Herpes Virus Bovino tipo 1	Reactivación infección latente. Por contacto a través de las mucosas, semen y monta.	Riñón, hígado, pulmón Suero materno	IFD, IHQ ELISA	Medidas de bioseguridad y vacunación.
B.V.D	Pestivirus	Contacto, monta, I.A. con animales P.I.. Ovino, caprino. Iatrogénico.	Tiroides, bazo, timo, sangre y exudados fetales. Exudado fetal, suero materno, muestreo de animales jóvenes y terneros sin encalostrar.	IFD, ELISA antigénico, PCR. ELISA (p80)	Eliminación de animales P.I. Vacunación Vigilancia serológica
NEOSPOROSIS	<i>N. caninum</i>	Horizontal (carnívoros) Vertical (madres a hijos)	Cerebro, Corazón, músculo esquelético Suero madre y feto	Histología (HE), IHQ ELISA, IFI	Eliminación de sero+, reposición únicamente de sero-. Evitar contaminación por carnívoros.

III. AGRADECIMIENTOS

Al bar IRUDI de Munguia (Vizcaya) por la inspiración aportada a la revisión de este documento.

IV. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

Aduriz, G.; Atxaerandio, R.; Moreno, B. (2004): Interpretación de resultados laboratoriales en algunas enfermedades del ganado bovino. IX Congreso Internacional de Medicina Bovina A.N.E.M.B.E. Libro de ponencias pp: 197-206.

Alfonso, J., Barberán, M., Cebrián, L.M., Duque, C., Falceto, M.V. (2001): Lesiones histopatológicas y distribución del agente en fetos bovinos abortados por *Neospora* spp. VII Congreso Internacional de Medicina Bovina. A.N.E.M.B.E., Junio 2001. Libro de ponencias pp: 257-259.

Alfonso, J., Barberán, M., Duque, C., Cebrián, L.M. (2003): Variación de los parámetros reproductivos y productivos debido a la infección por *Neospora caninum* en una explotación de ganado vacuno lechero. El boletín de Anembe, 43: 28-30.

Álvarez, M.. BVD (Diarrea Vírica Bovina). Editorial: Laboratorios Intervet S.A..

Álvarez, M.; Arias, P.; González, B. (2001): Avances recientes en epidemiología y control de las infecciones por pestivirus y herpesvirus en bovino. Seminario de reproducción, VII Congreso Internacional de Medicina Bovina (A.N.E.M.B.E). Oviedo 2001.

Álvarez, M.; Prieto, J. M.; Valdazo, B. (2003): Rinotraqueítis infecciosa bovina, IBR. Mundo Ganadero, Octubre 2003, pp 53-57.

Anderson, M.L., Reynolds, J.P., Rowe, J.D., Sverlow, K.W., Packham, A.E., Barr, B.C., Conrad, P.A. (1997): Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. J Am Vet Med Assoc, 210: 1169-1172.

Anderson, M.L. (2000): Procedimientos de diagnóstico del aborto en ganado vacuno. Producción animal 156: 12-32.

Andrianarivo, A.G., Rowe, J.D., Barr, B.C., Anderson, M.L., Packham, A.E., Sverlow, K.W., Choromanski, L., Loui, C., Grace, A., Conrad, P.A. (2000): A PLYGEN-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./i.m. experimental tachyzoite challenge. Int J Parasitol, 30 (9): 985-990.

Andrianarivo, A.G., Barr, B.C., Anderson, M.L., Rowe, J.D., Packham, A.E., Sverlow, K.W., Conrad, P.A. (2001): Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora caninum*. Parasitol Res, 87(10): 817-825.

Atxaerandio, R. (2001): Epidemiología y diagnóstico de la leptospirosis y la neosporosis en explotaciones de bovino lechero de la Comunidad Autónoma del País Vasco. Tesis doctoral, Universidad de Zaragoza, España.

Barberán, M., Cebrián, L., Gil, J. (1997): Identificación de *Neospora* spp. en dos brotes de aborto de ganado bovino en Aragón. ITEA, 18: 621-623.

Barberán, M., Cebrián, L.M., Ferrer, L.M., Esteban, I. (1998): Aplicación de la histopatología, inmunohistoquímica e inmunofluorescencia indirecta al diagnóstico de los abortos por *Neospora* en bóvidos. Proc. del V Congreso Internacional de Medicina Bovina, Sitges (Barcelona), Pp: 203-204.

Barr, B.C., Anderson, M.L., Dubey, J.P., Conrad, P.A. (1991a): *Neospora* like protozoal infections associated with bovine abortions. Vet Pathol, 28: 110-116.

Barr, B.C., Anderson, M.L., Sverlow, K.W., Conrad, P.A. (1995): Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. Vet Rec, 137: 611-613.

Barr, B.C., Bjerkås, I., Buxton, D., Conrad, P.A., Dubey, J.P., Ellis, J.T., Jenkins, M.C., Johnston, S.A., Lindsay, D.S., Sibley, L.D., Trees, A.J., Wouda, W. (1997): neosporosis. Report of the International *Neospora* Workshop. Compend Contin Educ Pract Vet, 19: 120-127.

Björkman, C., Näslund, K., Stenlund, S., Maley, S.W., Buxton, D., Uggla, A. (1999): An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. J Vet Diagn Invest, 11: 41-44.

Björkman, C., Alenius, S., Manuelson, U., Uggla, A. (2000): *Neospora caninum* and bovine virus diarrhoea virus infections in Swedish dairy cows in relation to abortion. Vet J, 159: 201-206.

Blasco, J. M. (2004): ¿Es posible la erradicación de la Brucelosis bovina en España?. IX Congreso Internacional de Medicina Bovina. Libro de ponencias, pp 217-224.

Cavirani, S.; Cabassi, C.S.; Donofrio, G.; De Iaco, B.; Taddei, S.; Flammini, C.F. (2.001): Association between Chlamydia psittaci seropositivity and abortion in Italian dairy cows. Preventive Veterinary Medicine 50 (2.001) 145-151.

Neospora caninum infection in breeder bulls: seroprevalence and comparison of serological methods used for diagnosis. Veterinary Parasitology 124 (2.004), 19-24

Caetano-da-Silva, A., Ferre, Collantes-Fernández, E., Navarro, V. I., Aduriz, G., I., Ugarte-Garagalza, C., Ortega-Mora L. M. (2004): occasional detection *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls. Theriogenology 62 (2004) 1329-1336.

Cebrián L .M., Ferrer L. M., Gil J., Varela E. (1996): Serología de *Neospora* en explotaciones de ganado vacuno de la provincia de Zaragoza. Buiatria Española, volumen extra 1996, pp 173 y 174.

Cebrián, L .M., Barberán, M., Ramos, J., Senent, J. (1998): Detección de animales infectados por *Neospora* mediante inmunofluorescencia indirecta y su aplicación al control de la enfermedad. Libro de ponencias V Congreso Internacional de Medicina Bovina A.N.E.M.B.E., Sitges, 29 Abril-3 Mayo, pp: 201-202.

Cebrián, L. M., Senent, J.V., Blasco, J.M., Barberán, M. (1999): Detección de animales infectados por *Neospora caninum* mediante inmunofluorescencia indirecta y su aplicación al control de la enfermedad. Producción animal, 148: 46-50.

Cebrián, L.M., Barberán, M., Ferrer, L.M. (2000): Neosporosis y aborto en el ganado vacuno. Producción animal, 161: 15-26.

Cebrián, L. M. (2003): Estudio de la prevalencia de *Neospora caninum* en el ganado vacuno de la provincia de Zaragoza y aplicación de métodos de control. Tesis doctoral Universidad de Zaragoza, España.

Collell, J.; Cebrián, L. M. : Reproducción en vacuno lechero. Cuadernos de Campo Ivomec.

Conraths, F., Bauer, C., Becker, W. (1996): Detection of antibodies to *Neospora caninum* from Hessian farms with abortions and fecundity problems. Dtsch tierärztl Wschr, 103: 221-224.

Dannatt, L., Guy, F., Trees, A. (1995): Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. Vet Rec, 137: 566-567.

Davison, H.C., Otter, A., Trees, A.J. (1999d): Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. Int J Parasitol, 29: 1683-1689.

Davison, H.C., Guy, C.S., McGarry, J.W., Guy, F., Williams, D.J.L., Kelly, D.F., Trees, A.J. (2001): Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. Res Vet Sci, 70: 163-168.

De Marez, T., Liddell, S., Dubey, J.P., Jenkins, M.C., Gasbarre, L. (1999): Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. Int J Parasitol, 29 (10): 1647-1657.

Dubey, J.P., Carpenter, J.L., Speer, C.A., Topeer, M.J., Uggla, A. (1988): Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J Am Vet Med Assoc, 192: 1269-1285.

Dubey, J.P., Lindsay, D.S. (1996): A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Veterinary Parasitology, 67: 1-59.

Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Adams, D.S., Gay, J.M., Baszler, T.V., Blagburn, B.L., Thulliez, P. (1996a): Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. Am J Vet Res, 57: 329-336.

Eperon, S., Fuchs, N., Sonda, S., Hemphill, A., Gottstein, B. (1998): Vaccination of mice with recombinant proteins against *Neospora caninum*. Proc. del Annual Workshop EU COST820, Toledo, Pp: 27.

Esnal de la Presa, A. (2004): Recogida correcta de muestras para diagnóstico de abortos en ganado ovino y caprino. Libro de ponencias Symposium ovin internacional 2004. San Sebastián.

Espí, A. (2000): Leptospirosis bovina. Seminario de reproducción. Especial "control reproductivo". Santiago de Compostela, Junio 2000.

Ferre, I., Aduriz, G., Álvarez-García, G., del-Pozo, I., Atxaerandio R., Regidor-Cerrillo, Collantes-Fernandez, E.; Urtado A.; J., Ugarte-Garagalza, C., Ortega-Mora L. M.

(2004): Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. Theriogenology

Fondevila, D., Añor, S., Pumarola, M., Dubey, J.P. (1998): *Neospora caninum* identification in an aborted bovine fetus in Spain. Vet Parasitol, 77: 187-189.

González, L., Achaerandio, R., Buxton, D., Cuervo, L., Marco, J., Aduriz, G. (1996): Identificación de *Neospora* spp. en casos de aborto en ganado bovino. Proc VIII. Reunión SEAPV, p: 59.

González, L., Buxton, D., Achaerandio, R., Maley, S.W., Marco, J., Cuervo, L., Aduriz, G. (1999): Bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. Vet Rec, 144: 145-150.

Janssen, D., Choromanski, L. (2001): Titer response in cows vaccinated with a *Neospora caninum* vaccine. The AABP proceedings, 34: 181-182.

Gottstein, B., Eperon, S., Dai, W.J., Cannas, A., Hemphill, A., Greif, G. (2001): Efficacy of toltrazuril and ponazuril against experimental *Neospora caninum* infection in mice. Parasitol Res, 87(1): 43-48.

Gunning, R.F., Gumbrell, R.C., Jeffrey, M. (1994): *Neospora* infection and congenital ataxia in calves. Vet Rec, 134: 558. Hemphill, A., Gottstein, B., Kaufmann, H. (1996): Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. Parasitology, 112: 183-197.

Janssen, D., Choromanski, L. (2001): Titer response in cows vaccinated with a *Neospora caninum* vaccine. The AABP proceedings, 34: 181-182.

Janssen, D., Choromanski, L. (2001): Titer response in cows vaccinated with a *Neospora caninum* vaccine. The AABP proceedings, 34: 181-182.

Journel, C.; Chatagnon, G.; Martin, D.; Richard, A. ; Tainturier, D.(2001) : Prevención de abortos e infecciones fetales causadas por *Neospora caninum* en vaquillas. Ensayos de tratamiento durante la gestación con decoquinato a una posología de 2 mg/kg/día. INRA- 8 Recontres Recherche Ruminants – Paris les 5 et 6 décembre 2001.

Lindsay, D.S., Dubey, J.P. (1989a): Evaluation of anti-coccidial drugs` inhibition of *Neospora caninum* development in cell cultures. J Parasitol, 75(6): 990-992.

Lindsay, D.S., Dubey, J.P. (1989b): Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. Am J Vet Res, 50: 1981-1983.

Lindsay, D.S., Dubey, J.P. (1990): Effects of sulfadiazine and amprolium on *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. J Parasitol., 76: 177-179.

Lindsay, D.S., Butler, J.M., Blagburn, B.L. (1997): Efficacy of decoquinato against *Neospora caninum* tachyzoites in cell cultures. Vet Parasitol, 68: 35-40.

Mainar Jaime, R.C., Berzal, B., Hietala, S., Thurmond, M. (1999): Prevalencia frente a *Neospora caninum* en el ganado vacuno lechero de la región centro-costá asturiana. Producción Animal, XIV (140): 24-26.

McAllister, M.M., Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Jolley, W.R., Wills, R.A., McGuire, A.M. (1998): Dogs are the definitive host of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, 28: 1473-1478

McAllister, M., Wallace, D. (1999): Reduzca el riesgo de abortos por *Neospora* en su hato. *Hoard's Dairyman* en español Pp: 501-503.

Miller, R.B. (1995): Patología de la reproducción en el ganado vacuno. Informe técnico Nº 65. Servicio de Publicaciones del Gobierno Vasco.

Moen, A.R., Wouda, W., de Gee, A.L.W. (1996): Clinical and serological observations of bovine *Neospora* abortion in three dutch dairy herds. *Proc. del XIX World Buiatrics Congress, Edimburgo (Escocia)*, vol 2: 198-202.

Morales, E., Trigo, F.J., Ibarra, F., Puente, E., Santacruz, M. (2001): Neosporosis in Mexican dairy herds: lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. *J Comp Pathol*, 125 (1): 58-63.

Ortega, L.M., Alonso, M., Álvarez, G., Collantes, E., Corpa, J.M., Frisuelos, C., Gómez-Bautista, M., Martín, L., Miró, G., Pereira-Bueno, J., Pérez, V., Quintanilla-Gozaolo, A., del Río-González, L. (1999): Patología de la reproducción de etiología parasitaria II: Neosporosis. *Bovis*, nº 88.

Ortega, L. M., Caetano-da-Silva, A., Ferre, I., Aduriz, G., Álvarez-García, G., del-Pozo, Collantes-Fernandez, E. I., Regidor-Cerrillo, J., Ugarte-Garagalza, C., Aduriz, G. (2004): Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. *Veterinary Parasitology* 117 (2003) 301-308.

Otter, A., Jeffrey, M., Scholes, S.F.E., Helmick, B., Wilesmith, J.W., Trees, A.J. (1997): Comparison of histology with maternal and fetal serology for the diagnosis of abortion due to bovine neosporosis. *Vet Rec*, 141: 487-489.

Paré, J., Thurmond, M.C., Hietala, S.K. (1997): *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. *J Parasitol*, 83: 82-87.

Pereira-Bueno, J.M., Quintanilla-Gozaolo, A., Seijas-Carballedo, A., Costas, E., Ortega-Mora, L.M. (2000): Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: pattern of transmission and age-related antibody fluctuations. En: Hemphill, A. y Gottstein, B. (Eds). *A European perspective on Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, 30: 906-909.

Pereira-Bueno, J., Quintanilla-Gozaolo, A., Pérez-Pérez, V., Espi-Felgueroso, A., Álvarez-García, G., Collantes-Fernández, E., Ortega-Mora, L.M. (2003): Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. *Vet Parasitol* 111: 143-152.

Prescott, J.F.; Baggot, J.D.; Walker, R.D.: *Terapéutica Antimicrobiana en Medicina Veterinaria*.

Pumarola, M., Añor, S., Ramis, A.J., Borrás, D., Gorraiz, J., Dubey, J.P. (1996): *Neospora caninum* infection in a Napolitan mastiff dog from Spain. *Vet Parasitol*, 64: 315-317.

Quintanilla-Gozaolo, A., Pereira-Bueno, J., Seijas-carballedo, A., De la Fuente, R., Ortega-Mora, L.M. (1996): Seroprevalencia de anticuerpos frente a *Neospora* sp. en un

rebaño bovino con antecedentes de aborto. Libro de Ponencias IV Congreso Internacional de Medicina Bovina A.N.E.M.B.E., Gijón, 2-6 Octubre, p: 107.

Quintanilla-Gozalo, A., Pereira-Bueno, J., Pérez-Pérez, V., Ortega-Mora, L.M. (1997): *Neospora caninum* infection in dairy herds in NW Spain. Proc. VIIIth Internat Coccidiosis Conf and EU COST 820 Annual Workshop, Oxford, UK 1-5 September, pp78-79.

Quintanilla-Gozalo, A., Pereira-Bueno, J., Tabarés, E., Innes, E.A., Gonzalez-Paniello, R., Ortega-Mora, L.M. (1999): Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. International Journal for Parasitology, 29 (8): 1202-1208.

Roberts, S. J. (1.984) : Obstetricia Veterinaria y Patología de la Reproducción (Teriogenologia). Editorial Hemisferio Sur.

Rodolakis, A. (1.987): Vaccination contre la Chlamydie abortive bovine avec un mutant thermosensible de *Chlamydia psiyaci*. Ann Rech Vet 1.987 18 : 439-442.

Rodolakis, A. (2004): Clamidiasis abortiva de los pequeños rumiantes. II Congreos Intervet pequeños rumiantes. Chiclana de la Frontera (Cadiz) Octubre 2.004.

Thurmond, M.C., Hietala, S.K., Blanchard, P.C. (1997): Herd-based diagnosis of *Neospora caninum* induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. J Vet Diag Int, 9: 44-49.

Ugla, A., Stenlund, S., Holmdahl, O.J.M., Jakubek, E.B., Thebo, P., Kindahl, H., Björkman, C. (1998): Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. Int J Parasitol, 28: 1467-1472.

Wehrend , A.; Failing, K.; Hauser, B.; Jäger, C.; Bostedt, H.: Produccion, reproducive, and metabolic factors associated with chlamydial seropositivity and reproductive tract antigens in dairy herds with fertility disorders. Theriogenology 63 (2.005) 923-930.

Wouda, W. (1998): *Neospora* abortion in cattle, aspects of diagnosis and epidemiology. Tesis doctoral, University of Utrech, The Netherlands.

Wright, S., Gortazar, C., Fernández de Luco, D., Buxton, D. (1998): Seroepidemiology of *Neospora* antibody responses in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Spain. Proc. del Annual Workshop EU COST 820, Toledo, Pp: 66.