

## Seroprevalencia y estudio de factores asociados a la neosporosis canina en animales ingresados al Hospital Escuela, FCV-UBA, Argentina

Seroprevalence and study of factors associated with canine neosporosis in animals admitted in the School Hospital, FCV-UBA, Argentina

DAPRATO, B.<sup>1</sup>; SURANITI, A.<sup>2</sup>; LOIZA, Y.<sup>1</sup>; LÓPEZ, C.<sup>1</sup> Y SOMMERFELT, IE.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Salud Pública, <sup>2</sup>Hospital Escuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Chorroarín 280 (1427) Buenos Aires.

### RESUMEN

*Neospora caninum*, protozooario intracelular, es causa de signos nerviosos, gastrointestinales, respiratorios y desórdenes musculares en perros. A los fines de estimar la seroprevalencia de anticuerpos anti *N. caninum*, se analizaron los sueros de 238 caninos que ingresaron al Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Buenos Aires, en el período 2011 – 2012. Para ello se utilizó la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) ( $\geq 1:50$ ), resultando el 27,3% (95% IC= 21,9%- 33,7%) positivas a *N. caninum*. La mayor prevalencia se observó en caninos del grupo de 2 a 10 años. Se realizó además una encuesta epidemiológica para analizar posibles factores de riesgo. No se encontraron diferencias significativas entre el sexo, la raza o el hábito de permanecer o no exclusivamente dentro del ambiente doméstico. Se encontró asociación estadística de animales positivos con el hábito de caza ( $p < 0,05$ ). Los títulos de IFI de 1/100 y 1/200 fueron los de mayor frecuencia. La asociación entre animales seropositivos y el hábito de caza podría sugerir la importancia del rol de la transmisión horizontal. El presente trabajo sobre seroprevalencia de neosporosis es el primero que se realiza en caninos concurrentes al Hospital Escuela FCV-UBA.

Palabras clave: (*Neospora caninum*), (inmunofluorescencia indirecta), (caninos), (factores de riesgo).

## SUMMARY

Intracellular protozoan *Neospora caninum*, produces nervous, gastrointestinal and respiratory symptoms and muscular disorders in dogs. In order to estimate the seroprevalence of anti *N. caninum* antibodies, sera of 238 dogs admitted in the School Hospital at the Veterinary Science Faculty of Buenos Aires University, were analyzed in the 2011-2012 period. For this, the indirect immunofluorescence technique (IIF) ( $\geq 1:50$ ) was used, resulting in 27.3 % (95 % CI = 21.9% - 33.7%) positive for *N. caninum*. The highest prevalence was observed in dogs of group 2 to 10 years. An epidemiological survey was also carried out to analyze potential risk factors. No significant differences between sex, race or habit of staying or not exclusively indoor were found. Statistical association was found between positives and the habit of hunting ( $p < 0.05$ ). IIF titers of 1/100 and 1/200 were the most frequent. The association between seropositive animals and hunting habits may suggest the importance of the role of horizontal transmission. This paper seroprevalence of canine neosporosis is the first carried out in the School Hospital FCV -UBA.

Key words: (*Neospora caninum*), (Indirect Fluorescent Antibody Test), (dogs), (risk factors)

## INTRODUCCIÓN

*Neospora caninum* es un protozoario intracelular del Phylum *Apicomplexa*, morfológica, genética e inmunológicamente similar al parásito *Toxoplasma gondii*, pero con un comportamiento biológico diferente<sup>7,8</sup>. Presenta un ciclo biológico heteroxeno facultativo similar al de *T. gondii*, diferenciándose en que sus hospedadores definitivos son los caninos (domésticos y salvajes) en los que puede desarrollar tanto una fase intestinal liberadora de ooquistes al medio ambiente, como una extraintestinal<sup>1,11</sup>. Su hospedador intermediario principal es el ganado bovino (pudiéndose encontrar en otros rumiantes) donde es causa importante de abortos. Los hospedadores definitivos se infectan oralmente al consumir tejidos con quistes tisulares, ooquistes esporulados o transplacentariamente<sup>1,5</sup>. *N. caninum* no es una zoonosis, aunque se ha encontrado evidencia serológica en pacientes con trastornos neurológicos de etiología desconocida y pacientes HIV positivos<sup>13</sup>. En perros puede causar sintomatología nerviosa, gastrointestinal, respiratoria y desórdenes musculares similares a los causados por *T. gondii* con quien además puede llegar a co-infectar debiendo considerarse en el diagnóstico diferencial<sup>8,11</sup>. La neosporosis se presenta en caninos de diferentes edades, aunque

los signos clínicos de la enfermedad se dan con mayor severidad en cachorros de tres o cuatro semanas de vida infectados congénitamente<sup>5</sup>. El diagnóstico de la enfermedad se realiza por medio de la técnica de IFI (Inmunofluorescencia Indirecta), siendo de referencia para la detección de anticuerpos<sup>15</sup>. Se ha demostrado que dicha prueba aplicada en diferentes hospedadores presenta limitada reactividad cruzada con otros parásitos coccidios y no coccidios, por este motivo, es frecuentemente utilizada<sup>11,15</sup>. El objetivo del presente trabajo fue determinar la seroprevalencia de *N. caninum* en una población de caninos seleccionados e identificar posibles factores de riesgo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los caninos del presente trabajo corresponden a los que concurren al Hospital Escuela FCV-UBA para su atención médica en diversos servicios durante 18 meses (2011-2012). A los animales bajo estudio se les extrajo sangre en el Hospital y se realizó una encuesta epidemiológica a sus propietarios. Los sueros fueron procesados mediante la técnica de IFI (laboratorio de Salud Pública, FCV-UBA), con antígeno de *N. caninum* (Inmunoparasitología FCV-UNLP) y de *T. gondii* (Departamento de Parasitología

ANLIS-Malbrán), conjugado anti IgG canino marcado con fluoresceína (Sigma<sup>®</sup>, Aldrich). Las muestras con fluorescencia periférica completa fueron consideradas positivas. Se utilizaron sueros controles positivos y negativos (provistos por el laboratorio de Inmunoparasitología FCV-UNLP). En la encuesta epidemiológica se recolectaron datos demográficos: raza (puros – mestizos), sexo (macho-hembra), edad ( $\leq 1$  año, 2-5 años, 6-10 años y  $\geq 11$  años) y de hábitos del animal: de caza (si/no) y confinamiento en el domicilio (total/parcial). Se elaboró una base de datos y las variables recolectadas fueron analizadas, aceptándose como significativo un  $p \leq 0,05$ . Para el análisis estadístico se utilizó el programa EPIINFO 3.5 (2009).

## RESULTADOS

Se analizaron un total de 238 sueros de caninos, resultando positivas a *N. caninum* el 27,3% (n=65), IC 95% = 21,9%- 33,7%. Los resultados del serodiagnóstico y de la encuesta epidemiológica se presentan en la Tabla N°1. No se encontró asociación estadística entre la raza, el sexo, la edad, el confinamiento y la serología positiva. Sólo el hábito de caza estuvo asociado estadísticamente.

El 37% (n= 24) de los caninos seropositivos demandó atención médica por presentar síndromes convulsivos, no encontrándose asociación estadística con la presencia de anticuerpos anti *N. caninum* ( $\chi^2=0,08$  p= 0,7794).

El 58,5% (n=38) de los animales positivos a *N. caninum* lo fueron también a *T. gondii* (IFI  $\geq 1/25$ ), encontrándose asociación estadística significativa ( $\chi^2=46,26$  p< 0,05). Se descartó que ser seropositivo a *T. gondii* sea un factor de confusión por medio de la estratificación (OR crudo 3,22 IC 1,53-6,73; OR ajustado 2,61 IC 1,11-6,12).

El porcentaje de títulos obtenidos para *N. caninum* fue: 1/50 = 19%, 1/100 = 30%, 1/200 = 23,8%, 1/400 = 6,4%, 1/800 = 6,4%, 1/1600= 4,7%, 1/3200= 3,1% y 1/6400= 6,3%. Los títulos serológicos según las categorías por edad se presentan en la Figura N°1.

## DISCUSIÓN

La infección por *N. caninum* puede variar ampliamente según la región geográfica<sup>12</sup>, e incluso dentro de una misma área. Las condiciones ambientales y las pautas culturales de la población humana que reside en zonas urbanas influyen en la población canina que convive con ellos, favoreciendo o dificultando la exposición a factores de riesgo, por lo que es necesario investigar en cada situación cuales son los factores que predominan y determinan una prevalencia en particular. Esta es la primera investigación sobre neosporosis canina que se realiza en la población que asiste al Hospital Escuela-FCV.

La seroprevalencia hallada (27,3%) fue mayor que la citada en estudios previos en diferentes países con poblaciones caninas de zonas urbanas utilizando la técnica de IFI: 3,1%- 10,7% Brasil<sup>12,9</sup>, 3,6% en Austria<sup>17</sup>, 2,6% República Checa<sup>16</sup>, 2,9% España<sup>6</sup>, aunque muy similar a un trabajo previo realizado en la ciudad de La Plata (26,2%)<sup>4</sup>. Mayores seroprevalencias se encontraron en caninos vagabundos o que residían en áreas semi-rurales o rurales: 28,3% en Brasil<sup>2</sup> y en 34,5% Rumania<sup>10</sup>.

Al analizar los datos referentes a la raza, sexo y presencia de anticuerpos anti *N. caninum* no se encontraron diferencias significativas, siendo los resultados similares a los mencionados por otros autores<sup>3,4,17</sup>.

Los animales del rango etario de 2-5 años y de 6-10 años tienen mayor prevalencia, en coincidencia con lo hallado por otros autores<sup>3</sup>. No se encontró asociación estadística entre edad y seropositividad, en concordancia con otros trabajos<sup>9,17</sup>, los cuales sugieren que la transmisión horizontal tiene un rol importante en la epidemiología de la enfermedad. Se observó mayor prevalencia en animales mayores de dos años y menores de diez, lo cual podría deberse a una mayor probabilidad de exposición al agente que a una transmisión transplacentaria, dada la menor prevalencia observada en los perros menores de un año de edad.

Los animales analizados en el presente trabajo pertenecen a un área altamente urbanizada,

alejada de zonas semi-rurales o rurales, con espacios verdes delimitados. Si bien se cita que perros que tienen acceso al exterior del domicilio tienen mayor riesgo de infectarse que aquellos confinados en el domicilio<sup>3</sup>, en presente trabajo no se encontró dicha asociación estadística. El estilo de vida de los caninos que residen en zonas urbanas, hace que el hábito de caza no sea el más frecuente. En el presente trabajo el 17% de los animales mantenían esa conducta, la que resultó asociada estadísticamente con la seropositividad. Se ha sugerido que dicho hábito es una vía de transmisión importante<sup>8</sup> por la ingestión de roedores y aves los cuales pueden jugar un rol considerable en la epidemiología de la neosporosis canina<sup>3</sup>.

Todos los caninos analizados en el presente trabajo demandaron atención médica por diversos motivos. No existió relación entre la presencia de síntomas neurológicos y la seropositividad, similar a lo mencionado por otros investigadores<sup>11,17</sup>.

Ante la sospecha de un caso de neosporosis es necesario realizar el diagnóstico diferencial con toxoplasmosis<sup>15</sup>. De los animales seropositivos para *N. caninum* del presente trabajo más de la mitad también lo fue para *T. gondii*, en concordancia con trabajos previos llevados a cabo en Brasil<sup>2</sup>, aunque mayores a los hallados por otros autores<sup>3,17</sup>. La presencia de animales seropositivos a ambos protozoos evidenciaría un grado de exposición a los dos parásitos, sugiriendo la posibilidad de compartir parte de la cadena epidemiológica. Debería descartarse la ocurrencia de reacciones cruzadas especialmente cuando se detectan bajos títulos para *N. caninum* y *T. gondii*, y utilizar técnicas más específicas como la PCR (reacción en cadena de la polimerasa)

Falta determinar cuál es el título diagnóstico para neosporosis clínica, habitualmente a partir de diluciones de 1/50 se consideran seropositivos<sup>15</sup>. En el presente trabajo los títulos de 1/100 y 1/200 fueron los más frecuentes, semejante a otros autores<sup>4,9,12,14</sup>. Los títulos

**Tabla 1.** Prevalencias de IgG anti *N. caninum* y su asociación con las variables epidemiológicas estudiadas en caninos atendidos en el Hospital Escuela. 2011-2012.

Variables estudiadas		n	Positivos (%)	P- valor
Raza	Mestizo	107	28,0	p=0,8201
	Puro	131	26,7	
Sexo	Hembra	108	44,6	p= 0,8273
	Macho	129	55,4	
Edad	≤ 1 año	66	20,3	P= 0,4054
	2 - 5 años	68	29,7	
	6 - 10 años	58	29,7	
	Más de 11 años	46	20,3	
Hábito de caza	Si	50,0	50,0	p= 0,0014
	No	196	24,0	
Confinamiento parcial		187	26,2	p= 0,4267
Confinamiento total		51	31,4	

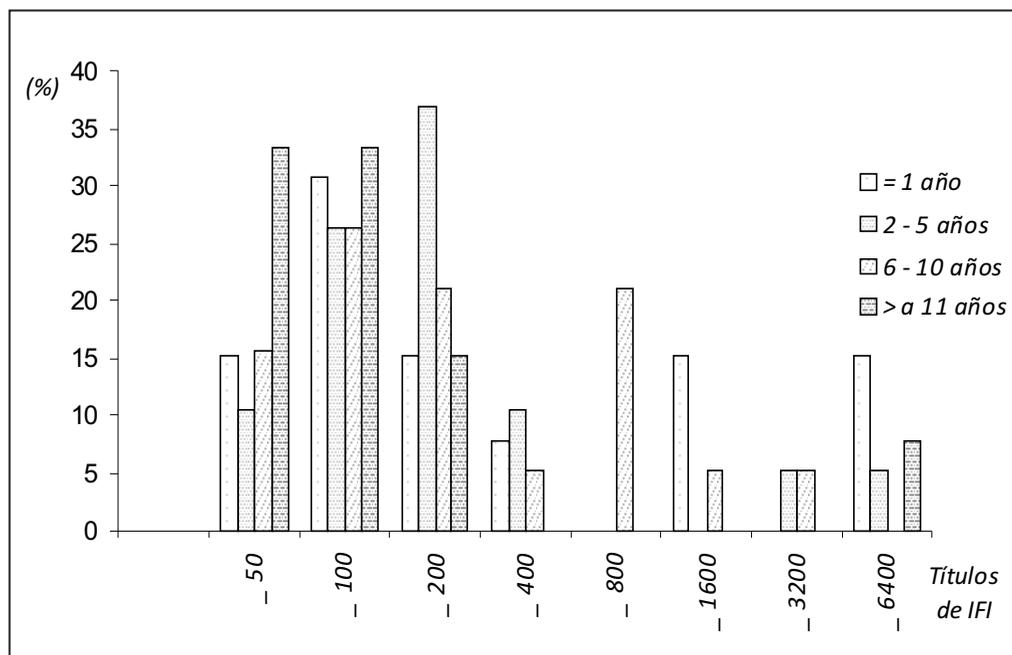


Figura 1. Porcentaje de títulos de IFAT obtenidos según grupos etarios.

de 1/800 no son frecuentes en perros sanos, sin embargo se ha encontrado el parásito en perros sintomáticos que tenían títulos bajos (1/50), sugiriendo que no existe relación entre el título y la presencia de signos neurológicos<sup>11</sup>. De los animales identificados como positivos, el 20% (n=13) presentaron títulos  $\geq 1/800$ . El mayor título de IFI obtenido fue 1/6400 en 4 caninos: siendo 2 de ellos menores de un año sin síndromes convulsivos, uno de 3 años y uno de 11 años con sintomatología nerviosa, evidenciando la no relación entre el título obtenido y la presentación de cuadros neurológicos.

## CONCLUSIONES

Esta es la primera comunicación sobre neosporosis realizada en caninos que demandaron atención médica al Hospital Escuela FCV-UBA. En este trabajo el 27,3% de los caninos fueron seropositivos a *N. caninum*, sugiriendo contacto previo con el parásito. La población en estudio residía en una zona urbana con estilos de vida y hábitos alimentarios particulares que los hace en principio, estar menos expuestos al protozoo.

La asociación observada entre el hábito de caza y la seropositividad sugeriría que la ingestión de animales parasitados (aves y roedores) cumple un rol importante en la transmisión de la enfermedad.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el aporte financiero de la Universidad de Buenos Aires, subsidio UBACYT 20020100100387 (2011-2014)

## BIBLIOGRAFÍA

1. Acha, P.; Szyfres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3° Ed. Organización Panamericana de la Salud. Washington DC, USA. 2003
2. Aguiar Figueredo, L.; Dantas-Torres, F.; Bento de Faria, E *et al* Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Vet Parasitol* 2008; 157: 9–13.
3. Azebedo, S.S.; Batista, C.S.A.; Vasconcellos, S.A. *et al* Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Res Vet Sci* 2005, 79:51-56.

4. Basso, W.; Venturini, L.; Venturini, M. C. *et al* Prevalence of *Neospora caninum* Infection in Dogs from Beef-Cattle Farms, Dairy Farms, and From Urban Areas of Argentina. *J. Parasitol.*, 2001, 87(4): 906–907.
5. Basso, W.; Venturini, M.C.; Bacigalupe, D.; *et al* Confirmed Clinical *Neospora caninum* infection in a Boxer puppy from Argentina. *Vet Parasitol* 2005; 131: 299–303.
6. Collantes-Fernández, E.; Gómez-Bautista, M.; Miro, G.; *et al* Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* infection in different dog populations in Spain. *Vet Parasitol* 2008, 152: 148–151.
7. Dubey, J.P. Lindsay, D.S. A Review of *Neospora caninum* and Neosporosis” *Vet Parasitol* 1996; 67:1-59.
8. Dubey J. P.; Schares G. Neosporosis in animals the last five years. *Vet Parasitol* 2011, 180:90-108.
9. Fernandes, B.C.T.M.; Gennari, S.M.; Souza, S.L.P.; Carvalho, J.M.; Oliveira, W.G.; Cury, M.C. Prevalence of anti- *Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of de city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Vet Parasitol* 2004, 123: 33-40.
10. Gavrea, R.; Mircean, V.; Pastiu, A. ; Cozma, V. Epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs from Romania *Vet Parasitol* 2012; 188: 382– 385.
11. Ghalmi, F.; China, B.; Kaidi, R.; Losson, B. First epidemiological study on exposure to *Neospora caninum* in different canine populations in the Algiers district (Algeria). *Parasitol Int* 2009; 58:444-450.
12. Guimarães, A.; Rocha, M.; Oliveira, T.; Rosado, I.; Moraes, L.; Santos, R. Fatores associados à soropositividade para *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Leishmania* em cães atendidos em nove clínicas veterinárias do município de Lavras, MG. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 2009, 18, supl. 1: 49-53.
13. Lobato, J.; Silva, D.; Mineo, T.; *et al* Detection of Immunoglobulin G Antibodies to *Neospora caninum* in Humans: High Seropositivity Rates in Patients Who Are Infected by Human Immunodeficiency Virus or Have Neurological Disorders”. *Clin Vaccine Immunol*, 2006, Vol. 13, No.1: 84–89.
14. Płoneczka, K.; Mazurkiewicz, M. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs in south-western Poland. *Vet Parasitol*, 2008, 153 : 168–171.
15. Silva, D.A.O.; Lobato, J.; Mineo, T.W.P.; Mineo, J.R.. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infections in dogs: Optimization of cut of titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol*, 2007, 143:234-244.
16. Vaclavek, P.; Sedlak, K.; Hurkova, L.; Vodrazka, P.; Sebesta, R.; Koudela, B. Serological survey of *Neospora caninum* in dogs in the Czech Republic and a long-term study of dynamics of antibodies. *Vet. Parasitol.* 2007, 143 : 35–41.
17. Wanha, K.; Edelhofer, R.; Gabler-Eduardo, C.; Prosl, H. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. *Vet Parasitol*, 2005, 128: 189-193.