



ORIGINAL

Prevalencia sérica de *Neospora caninum* y factores de riesgo asociados a su transmisión en tambos de la provincia de Salta, Argentina

Walter Rodrigo Pereyra^{a,♦}, Víctor Humberto Suarez^{a,♦}, Nancy Cardoso^{b,c},
Ignacio Gual^d, Gabriela Marcela Martínez^e, Alejandra Victoria Capozzo^{b,c}
y Florencia Celeste Mansilla^{b,c,*}

^a Área de Investigación en Salud Animal-IIACS-CIAP, EEA INTA Salta, Cerrillos, Salta, Argentina

^b Instituto de Virología, CICVyA, INTA CNIA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

^c Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, IVIT, CONICET-INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

^d Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Balcarce, Buenos Aires, Argentina

^e EEA INTA Salta, Cerrillos, Salta, Argentina

Recibido el 25 de noviembre de 2019; aceptado el 1 de junio de 2020

PALABRAS CLAVE

Vacas lecheras;
Neospora caninum;
Cánido;
Seroprevalencia;
Noroeste argentino

Resumen El objetivo de este trabajo fue conocer la seroprevalencia de *Neospora caninum* en los bovinos de los tambos del Valle del Lerma (Salta, Argentina) y los factores de riesgo asociados a la transmisión de este parásito en esta región. Se tomaron muestras de suero de aproximadamente 40 vacas en cada tambo, que fueron analizadas por ELISA indirecto para detectar anticuerpos contra *N. caninum*. También se discriminó entre infecciones crónicas y agudas midiendo la avidéz de dichos anticuerpos. Todos los tambos presentaron al menos un bovino seropositivo y la media fue de $35,3 \pm 14,9\%$ de animales positivos. También se detectaron anticuerpos específicos en caninos presentes en 9 de los 16 tambos, con un valor de seropositividad del $71,7 \pm 19,9\%$. El 56,3% de los bovinos seropositivos cursaban infecciones agudas. Se halló una asociación negativa entre la seroprevalencia y el índice de avidéz de los anticuerpos específicos, lo que indica que la presencia de animales con infecciones agudas se asocia a mayor seroprevalencia. Los campos con pastoreo presentaron mayor cantidad de infecciones recientes. Estos resultados revelan por primera vez la importancia de este parásito en los tambos de la región y la necesidad de propiciar el desarrollo de programas de control considerando los distintos factores de riesgo que afectan la situación epidemiológica de la enfermedad.

© 2020 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mansilla.florencia@inta.gob.ar (F.C. Mansilla).

♦ Contribuyeron igualmente.

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.06.011>

0325-7541/© 2020 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Cómo citar este artículo: Pereyra WR, et al. Prevalencia sérica de *Neospora caninum* y factores de riesgo asociados a su transmisión en tambos de la provincia de Salta, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2020.06.011>

KEYWORDS

Dairy cattle;
Neospora caninum;
Canid;
Seroprevalence;
Argentinean
Northwest

Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* in dairy farms from the Province of Salta, Argentina

Abstract The objective of this work was to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* in cattle in Valle de Lerma, province of Salta, Argentina, and the risk factors associated with the disease. Serum samples were taken from 40 cows in each dairy herd, which were analyzed by indirect ELISA to detect antibodies against *N. caninum*. Chronic and acute infections were discriminated by measuring the avidity of these antibodies. All the herds exhibited at least one seropositive animal, the mean being $35.3 \pm 14.9\%$ of positive animals. Specific antibodies were also detected in dogs present in 9 of the herds, which showed a seropositivity value of $71.7\% \pm 19.9\%$. Among the seropositive animals, 56.3% showed acute infections. A negative association was found between seroprevalence and the avidity index of specific antibodies, indicating that the presence of animals with acute infections is associated with higher seroprevalence. Fields with grazing showed more recent infections. These results show for the first time the importance of this parasite in this particular region and the need to promote the development of control programs considering the different risk factors that affect the epidemiological situation of the disease.

© 2020 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

La neosporosis bovina es una enfermedad parasitaria producida por el protozoo apicomplejo *Neospora caninum*, ampliamente distribuido en regiones ganaderas de todo el mundo²⁰. Los cánidos se comportan como hospedadores definitivos^{7,13}, mientras que diversas especies de mamíferos pueden ser hospedadores intermediarios, entre ellos, los bovinos³. En estos animales, el signo clínico más importante es el aborto, aunque también pueden presentarse casos de muerte embrionaria o neonatal^{20,29}. Las fallas reproductivas debidas a neosporosis bovina están asociadas a grandes pérdidas económicas a nivel mundial, que han sido estimadas en alrededor de 1.300 millones de dólares por año, con mayor efecto sobre la industria lechera³¹.

La transmisión del parásito a los hospedadores intermediarios puede ocurrir horizontalmente, por la ingesta de ooquistes, o verticalmente durante la preñez, por vía transplacentaria. La transmisión vertical, a su vez, puede subclasificarse como endógena o exógena. La vía endógena es causada por la reactivación de quistes tisulares en un animal persistentemente infectado y se asocia a un patrón endémico de fallas reproductivas y al mantenimiento de la infección en el rodeo. La transmisión exógena, en cambio, tiene lugar luego de una infección horizontal primaria causada por la ingesta de ooquistes por un animal preñado y se asocia a un patrón epidémico de abortos²⁰.

Entre los principales factores de riesgo figuran el sistema de producción y manejo²¹ y las consecuencias directas de las propias infecciones^{9,32}.

Distintos estudios han verificado que el estado serológico de los rodeos infectados con *N. caninum* es variable entre países y regiones del mismo país, y también entre sistemas productivos³². En América Latina, la neosporosis es considerada una enfermedad emergente en rodeos lecheros, con prevalencias variables^{9,22}.

Según relevamientos realizados en diferentes regiones de la Argentina, se conoce que la enfermedad está ampliamente distribuida tanto en rodeos de cría como en tambos^{8,10,19,23}. En la provincia de Salta, existe un único antecedente sobre un relevamiento efectuado en el Valle de Lerma en 2011, que arrojó una prevalencia del 31% para tambos (comunicación personal). No existe un análisis de seroprevalencia actualizado de esta zona.

La ganadería en el noroeste argentino (NOA) ha crecido, principalmente, debido a la expansión de monocultivos en el centro del país³⁰. Por esta razón, estudiar la epidemiología de las enfermedades reproductivas en esta zona podría redundar en un mayor crecimiento económico estratégico. Se ha reportado que los rodeos lecheros son más proclives a contraer infecciones por *N. caninum*^{23,27} y a tener las pérdidas económicas asociadas. Para profundizar al respecto, en este trabajo nos propusimos estimar la seroprevalencia de esta enfermedad en vacas de tambos ubicados en el Valle de Lerma, provincia de Salta, y caracterizar distintos factores de riesgo asociados, con el objetivo de establecer las medidas de control más adecuadas para esta región.

Materiales y métodos

Encuesta epidemiológica

Se analizaron en total 16 establecimientos (51,6% del total de tambos de la provincia) ubicados en el Valle de Lerma, Salta, durante el período 2016-2018. Se realizó una encuesta transversal mediante visita a cada establecimiento. Esta contempló preguntas sobre identificación, manejo productivo, datos sanitarios y presencia de cánidos domésticos o silvestres. La vacuna reproductiva utilizada en algunos de los tambos estudiados está incluida dentro de los planes de vacunación regionales y contiene antígenos del herpesvirus bovino (IBR) tipo 1 y tipo 5, del virus de la diarrea viral

bovina, de *Campylobacter* sp., *Histophilus* sp. y de diversos serovares de *Leptospira* sp.

Toma de muestra

El tamaño de la muestra se determinó mediante un programa de muestreo estadístico del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (proMESA 1.3, desarrollado por Emilio A León [Unidad de Epidemiología, CICVyA, INTA], Sergio J. Duffy [Unidad de Epidemiología, CICVyA, INTA], Bryan O'Leary [EpiCentre, Massey University, Nueva Zelanda] y Mark Stevenson [EpiCentre, Massey University, Nueva Zelanda]), considerando una prevalencia esperada de un 40% (estimada a partir de comunicaciones personales con profesionales de INTA), aceptando un error relativo del 20% y una tasa de homogeneidad baja. Se tomaron por cada tambo alrededor de 40 muestras sanguíneas de hembras adultas raza Holstein en ordeño, escogidas al azar. En 9 de los tambos fue posible, además, muestrear algunos de los perros ($n = 41$) que estaban en contacto con las vacas, ya sea en el campo o en los alrededores de las instalaciones de ordeño.

A los bovinos se les tomaron muestras de 5 ml de sangre sin anticoagulante por venopunción coccígea y a los cánidos domésticos se les tomaron 5 ml de muestra de sangre sin anticoagulante por venopunción yugular o de vena cefálica antebraquial. Dichas muestras fueron incubadas durante 30 min a 37°C y luego centrifugadas (3.000 rpm, 10 min). Se separó el suero en 2 alícuotas, que se conservaron a -20°C hasta su análisis.

Técnicas serológicas

La detección en suero de anticuerpos específicos inducidos por la infección se realizó mediante un ELISA indirecto desarrollado en nuestro laboratorio, siguiendo los lineamientos ya establecidos¹⁷. Brevemente, las placas fueron sensibilizadas (6 h, 4°C) con un extracto soluble de taquizoítos de *N. caninum* (cepa Nc1, 750 ng/pocillo), que fue obtenido siguiendo procedimientos ya reportados¹⁸. Luego de 3 lavados con solución de lavado (PBS-Tween 0,05%; 250 µl/pocillo), las placas fueron bloqueadas con 125 µl/pocillo de una solución de PBS-caseína al 0,5% (solución bloqueante) durante toda la noche a 4°C. Los sueros problema se diluyeron 1:120 en solución bloqueante y se incubaron durante 30 min a temperatura ambiente (50 µl/pocillo). Luego de 3 lavados, se adicionaron 50 µl/pocillo (dilución 1:5.000 en solución bloqueante) del anticuerpo conjugado (anti-IgG bovina conjugado a peroxidasa AffiniPure Goat Anti-Bovine IgG [H+L], número de catálogo 101-035-003, Jackson Immuno Research Laboratories Inc., PA, EE. UU.) y se incubó a temperatura ambiente durante 20 min. El sustrato (50 µl/pocillo; TMB One Solution, número de catálogo G7431, Promega Biosciences, CA, EE. UU.) fue agregado luego de unos lavados e incubado en oscuridad durante 10 min a temperatura ambiente. Finalmente, se adicionó la solución de frenado (H₂SO₄ 2N, 50 µl/pocillo) y las placas fueron leídas a 450 nm. Los resultados se calcularon normalizando los valores de densidad óptica (DO) respecto del control positivo (S/P [%]). Se utilizó como control positivo y negativo el suero de un animal infectado y de otro no infectado, respectivamente,

caracterizados previamente por inmunofluorescencia indirecta (IFI, estándar de oro) y por ELISA (ID Screen® *Neospora caninum* Competition, IDVet, Montpellier, Francia).

Para determinar el punto de corte, se evaluaron muestras positivas ($n = 307$) y negativas ($n = 327$) (dilución final 1:120) cuyo status fue definido por IFI. Se construyó una curva ROC y se crearon 2 histogramas; su punto de intersección se consideró como el valor de corte. Se estableció una relación S/P del 40% como un umbral de corte apropiado, pero, dado que se observó cierta superposición entre ambas curvas, las muestras con valores de S/P entre el 30 y el 40% se consideraron dudosas y se procesaron nuevamente en una dilución final de 1:40. El valor de corte de esta prueba confirmatoria fue establecido en el 30% (datos no publicados).

Para determinar la avidéz de los anticuerpos, se agregó un paso de lavado de las muestras de suero con un agente caotrópico (urea 6 M en PBS), que despega anticuerpos débilmente unidos al antígeno antes de agregar el conjugado. Esta solución se incubó en la placa durante 20 min a temperatura ambiente (100 µl/pocillo). Luego, las placas fueron lavadas 3 veces con solución de lavado y se prosiguió con el protocolo, tal como se describió. El grado de disociación obtenido establece la fuerza de unión de los anticuerpos presentes en el suero al antígeno y se estima mediante el índice de avidéz (IA [%]), que se calcula como la relación entre el valor de la DO con el tratamiento con el agente caotrópico y el valor de la DO sin aplicar dicho tratamiento. Se consideran anticuerpos de alta avidéz aquellos que presentan IA superiores al 65%¹⁷.

Las muestras de los sueros provenientes de los perros fueron procesadas por IFI en un laboratorio privado (BioVet Lab, Rafaela, Santa Fe, Argentina).

Análisis estadístico

Se utilizó un análisis estadístico descriptivo. Se estimó la prevalencia aparente y real en función de la sensibilidad (0,925) y especificidad (0,968) de la prueba de ELISA utilizada, que había sido desarrollada y validada previamente en nuestro laboratorio mediante un análisis ROC¹⁷.

La correlación lineal (Pearson) y la regresión lineal simple se emplearon para establecer la relación entre seroprevalencia y porcentaje de infecciones crónicas. Se aplicaron un análisis de varianza y una prueba de Fisher para asociar la presencia de abortos con la seroprevalencia de *N. caninum* y con la proporción de infecciones crónicas y de infecciones agudas. En todos los casos, el intervalo de confianza (IC) utilizado fue del 95%.

Resultados

Sistemas productivos

Se realizaron encuestas en 16 tambos ubicados en diferentes puntos del Valle de Lerma, correspondientes a zonas altas sobre las cimas y las laderas de los cerros o en los valles con humedales. Se procesaron como mínimo 38 muestras de suero de vacas de cada tambo. Los tambos evaluados corresponden a la mitad de los tambos de la provincia (fig. 1).

El Valle de Lerma se encuentra ubicado entre los paralelos 24° 30' y 25° 37' de latitud sur y los meridianos 65° 22' y

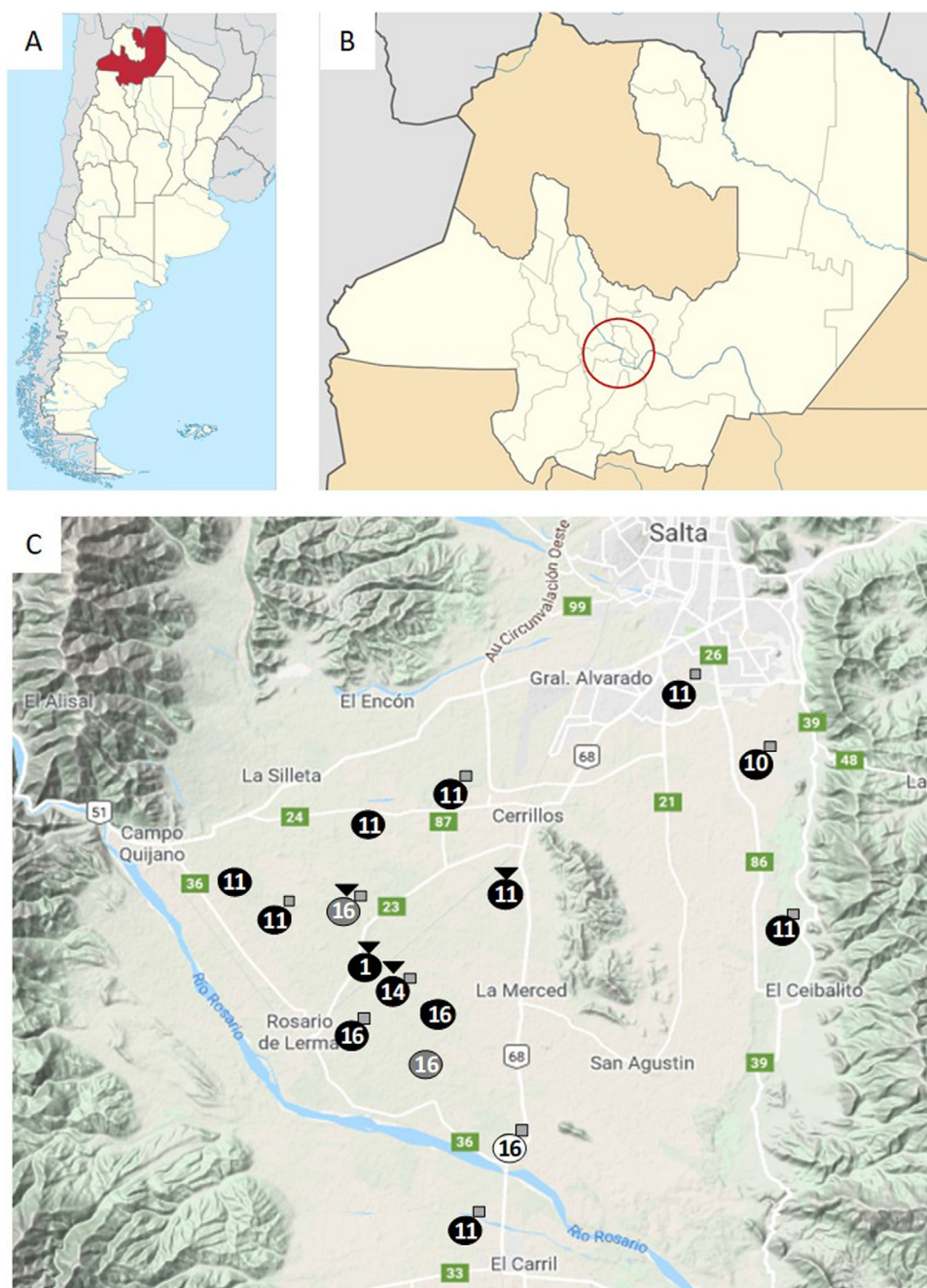


Figura 1 Ubicación geográfica de la Argentina (A) y la provincia de Salta (B); el círculo señala la ubicación del Valle de Lerma. Detalle del Valle de Lerma (C); los círculos señalan la ubicación de los tambos muestreados (enumerados del 1 al 16). El color del fondo del círculo denota el sistema productivo del establecimiento.

●: pastoreo a campo con suplementación (PcS); ●: *free stall*; ○: *dry lot*; □: tambos en donde fue posible muestrear cánidos; ? : tambos que comparten la misma acequia.

65° 40' de longitud oeste, lo que representa un área total de 17.000 km² de extensión, que alberga los departamentos de La Caldera, Capital, Rosario de Lerma, Cerrillos, Chicoana, La Viña y parte de General Güemes. La temperatura media es de aproximadamente 23 °C en verano y 15 °C en invierno. La distribución geográfica de los tambos que formaron parte de este trabajo se muestra en la figura 1C.

Los resultados de la encuesta realizada en los tambos se resumen en la tabla 1. La mayoría de los establecimientos

(13/16) tienen un manejo que complementa al pastoreo, con suplementación con maíz molido y silo más heno de alfalfa, soja, semilla de algodón y afrechillo de trigo. Dos establecimientos (2/16) tienen un sistema de *dry lot*, en donde los animales también son alimentados con pasturas naturales y suplemento, pero se encuentran en un área elevada con una pendiente que permite evacuar el agua en épocas de lluvia. El establecimiento restante tiene un sistema de *free stall*, con los animales confinados y un manejo más intensivo.

Tabla 1 Características de los tambos encuestados

Tambos	Tipo de manejo	N° de vacas en ordeño	Intervalo parto-parto (promedio)	Vacuna reproductiva	Porcentaje de abortos	Presencia de cánidos	Locación (MSNM)
1	PcS	260	470	Sí	2	No	1337
2	Free stall	264	458	No	7	No	1248
3	PcS	213	432	Sí	2	No	1430
4	PcS	320	454	Sí	8	Sí	1188
5	Dry lot	210	429	Sí	7	Sí	1202
6	Dry lot	330	438	Sí	5	Sí	1353
7	PcS	250	445	No	5	Sí	1142
8	PcS	60	451	Sí	3	Sí	1304
9	PcS	250	456	Sí	7	Sí	1382
10	PcS	230	490	Sí	10	Sí	1163
11	PcS	196	496	Sí	10	Sí	1185
12	PcS	195	440	Sí	4	Sí	1246
13	PcS	135	447	Sí	18	No	1266
14	PcS	89	477	Sí	25	Sí	1338
15	PcS	110	500	No	14	No	1306
16	PcS	241	455	Sí	19	No	1285

PcS: pastoreo con suplementación.

La mayoría de los tambos estudiados (13/16) utilizaban vacunas reproductivas, independientemente del sistema productivo. La presencia de perros se declaró en un 62,5% de los tambos y se registró también la visita nocturna frecuente de zorros (*Lycalopex culpaeus*) en los silos y las pasturas utilizadas por las vacas, aunque no se procesaron muestras de estos animales.

Serología en bovinos y caninos domésticos

Se obtuvieron muestras de 693 bovinos (459 vacas y 234 vaquillonas de 2-3 años) y 41 perros. El 100% de los tambos presentó al menos 2 bovinos con anticuerpos específicos para *N. caninum*, lo que evidencia la importante circulación de la enfermedad. Los datos de serología obtenidos para *N. caninum* en sueros bovinos y caninos se muestran en la tabla 2.

De un total de 693 muestras bovinas analizadas, 244 fueron positivas. Esto arroja una seroprevalencia aparente del 35,5% (IC = 0,32-0,39) y una seroprevalencia verdadera del 35,9% (IC = 0,32-0,40). La media estimada de la seroprevalencia intrarodeo fue del $35,3 \pm 14,9\%$ (límites: 5% al 62,5%). La distribución de la frecuencia de la seroprevalencia de *N. caninum* en los rodeos estudiados indica que el 43,7% de ellos tiene una prevalencia mayor del 40% (fig. 2).

Al menos la mitad de los establecimientos en los que se tomaron muestras de sangre de perros presentaba anticuerpos específicos anti-*N. caninum*. El promedio de animales seropositivos fue de $71,7 \pm 19,9\%$. Si bien la presencia de perros infectados y la seroprevalencia intrarodeo no estuvieron asociadas de manera estadísticamente significativa, se detecta una tendencia que podría indicar una relación positiva entre ambas variables. Se necesitan más datos para confirmar esta asociación (fig. 3).

Mediante la aplicación del ELISA de avidéz se determinó que el 43,7% de los bovinos positivos presentaban infeccio-

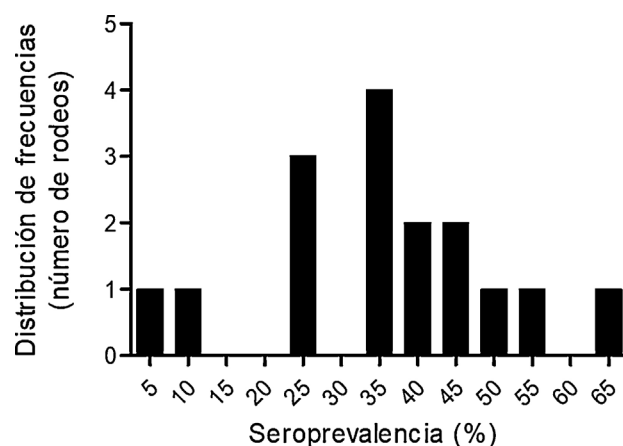


Figura 2 Análisis de frecuencias de la seroprevalencia de *N. caninum* en los rodeos.

nes crónicas (IA mayor del 65%) y, por lo tanto, más de la mitad de los animales estudiados cursaban una infección aguda (fig. 4A). También se encontró una asociación negativa ($r^2 = 0,33$; $p < 0,02$) entre la seroprevalencia y las infecciones crónicas determinadas según el IA de IgG. Se observa claramente que los establecimientos que poseen menor seroprevalencia son aquellos en los que la incidencia de infecciones crónicas es mayor que la de infecciones agudas (fig. 4B). Además, se observó una asociación positiva entre infecciones agudas y sistema productivo con pastoreo y suplementación (test de Fisher; $p = 0,0294$).

No se encontró asociación entre la seroprevalencia y la tasa de abortos anuales (fig. 5A). Sin embargo, se pudo observar una tendencia a una mayor tasa de abortos en aquellos tambos con mayores niveles de infecciones agudas con *N. caninum* (fig. 5B), mientras que el porcentaje de infecciones crónicas no guarda relación con la tasa de abortos (fig. 5C).

Tabla 2 Seroprevalencia de *N. caninum* y porcentaje de animales con infecciones crónicas

Tambo	Nº de muestras (bovinos)	Serología positiva en bovinos (%)	Infecciones crónicas en bovinos (%)	Nº cánidos domésticos	Cánidos seropositivos (%)
1	37	47	30	ND	ND
2	101	36	78	ND	ND
3	40	5	100	1	ND
4	39	41	56	4	50
5	38	23	88	4	50
6	40	40	62	6	83,33
7	39	35	43	10	80
8	39	25	70	3	66,67
9	40	32,5	0	ND	ND
10	40	52,5	42,9	ND	ND
11	40	45	38,9	3	100
12	40	47,5	31,6	6	ND
13	40	62,5	32	ND	ND
14	40	11,9	80	ND	ND
15	40	24,3	60	4	ND
16	40	35,8	64,3	ND	ND

Las infecciones crónicas corresponden a un IA > 65%.
ND: no determinado.

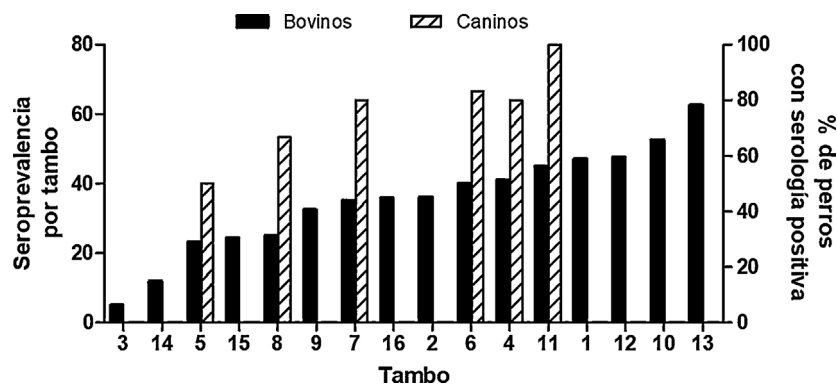


Figura 3 Asociación entre la seroprevalencia de *N. caninum* y el porcentaje de perros con serología positiva.

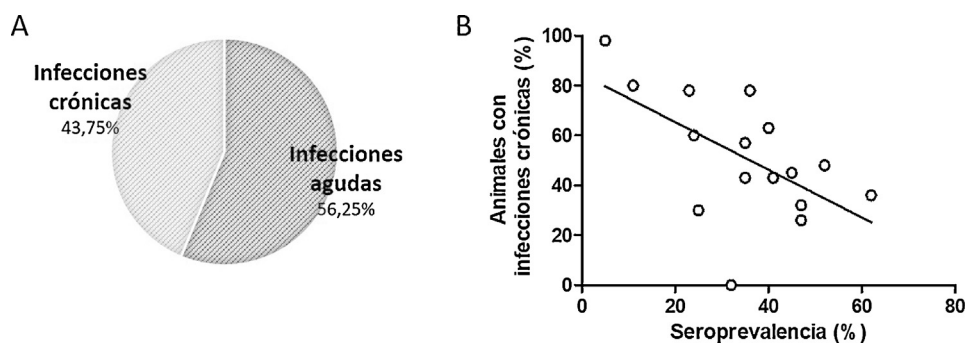


Figura 4 Porcentaje de animales con infecciones crónicas y agudas, determinado según la avidéz de los anticuerpos totales específicos (IA mayor o menor del 65%, respectivamente) (A). Asociación entre el porcentaje de infecciones crónicas intratambo y la seroprevalencia de *N. caninum* en los rodeos (B).

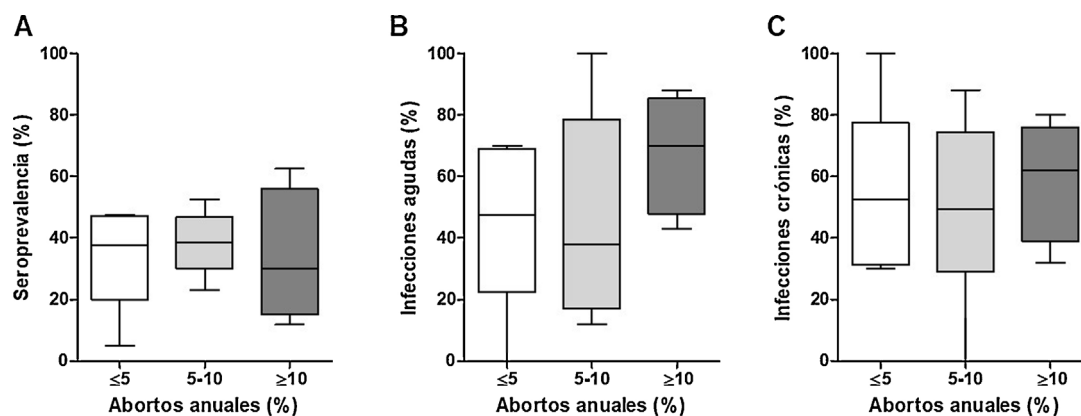


Figura 5 Asociación entre abortos anuales y seroprevalencia de *N. caninum* (A), infecciones agudas (B) e crónicas (C).

Discusión

En este estudio hemos caracterizado, por primera vez, la seroprevalencia de *N. caninum* en la cuenca lechera del Valle de Lerma, situado en la provincia de Salta (Argentina), y hemos analizado diferentes factores de riesgo para su transmisión en esta región, incluyendo aspectos geográficos, de manejo productivo y ecológicos.

Detectamos animales seropositivos en la totalidad de los tambos muestreados, con una seroprevalencia alta a nivel rodeo (valor promedio del 35,3% y un valor máximo del 62,5%), sin diferencias entre las prevalencias aparentes y las reales debido a la alta sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA utilizada. Estos valores remarcan la importancia que tiene *N. caninum* en la sanidad de estos establecimientos.

En la región central de Argentina, estudios previos hallaron también una elevada circulación de *N. caninum*, con casi la totalidad de los rodeos lecheros muestreados positivos, aunque con prevalencias menores^{10,23}. Resulta importante destacar que el 43,7% de los tambos presentaron seroprevalencias superiores al 40%, con anticuerpos predominantemente de baja avidéz, lo que denota la gran dispersión de la enfermedad con carácter epidémico en esta región. Esto remarca la importancia de establecer programas de manejo y control, considerando el escaso número de animales seronegativos presentes para reemplazos y los costos de las vaquillonas a incorporar.

La tasa de transmisión vertical en animales con infecciones crónicas ya fue estudiada por nuestro grupo de trabajo en animales de esta misma cuenca lechera²⁸. En ese trabajo previo, pudimos observar que la mayoría de los bovinos con infecciones crónicas no abortaba y que la transmisión se relacionaba con un perfil particular de respuesta inmunitaria. Dado que la presencia de anticuerpos puede generar protección (se ha visto que vacas multiparas infectadas no abortan^{26,34}), la presencia de una alta tasa de infecciones crónicas podría explicar, al menos parcialmente, la falta de correlación entre seroprevalencia y abortos en algunos casos.

No encontramos asociaciones estadísticamente significativas entre la seroprevalencia de *N. caninum* en los rodeos y los datos productivos de estos, probablemente debido a que

el manejo productivo y reproductivo es similar en la mayoría de los tambos.

Varios trabajos han propuesto al manejo intensivo como un factor de riesgo clave para explicar la mayor prevalencia de *N. caninum* que se suele observar en los tambos comparados con los rodeos de cría, lo cual se adjudicó a una mayor exposición posnatal a ooquistes que contaminan el agua y el alimento del ganado^{5,27,33}. Otros estudios, por el contrario, han identificado la transmisión vertical endógena como factor de riesgo en tambos con sistemas intensivos^{1,2,11}. En la cuenca del río Salado (principal área de cría de ganado de Argentina), los sistemas extensivos no estarían asociados a la transmisión horizontal del parásito⁶, aunque se reportó un tambo en la provincia de Buenos Aires con seroprevalencia muy alta (80,9%) y en donde la frecuencia estimada de transmisión horizontal superaba a la de transmisión vertical (el 51 y el 37,1%, respectivamente)²⁴.

En este sentido, nuestros resultados muestran que el tambo con sistema intensivo (*free stall*) posee una mayor cantidad de infecciones crónicas, lo que sugiere la menor circulación de ooquistes. Lo mismo observamos en los campos con sistema de *dry lot*, en donde el escurrimiento del agua de lluvia y riego, favorecido por la pendiente de estas zonas, podría limitar el contacto de los quistes con el alimento. Estos datos sugieren que tanto el sistema de manejo (intensivo o extensivo) como las condiciones topográficas (altura, pendiente) y otras particularidades (acequias de agua de lluvia compartidas entre distintos tambos) deberían ser consideradas en futuros estudios que abarquen mayor número de tambos de similares características, ubicados en esta misma región o en otras.

Las características climáticas también podrían comportarse como un factor de riesgo asociado al aborto, aunque hay pocos datos al respecto. Se ha observado que un incremento en el nivel de precipitaciones en ambientes secos puede comprometer el éxito de la gestación en vacas infectadas con *N. caninum*¹⁶.

La transmisión horizontal no ha sido tradicionalmente considerada como la más importante debido a su menor asociación con abortos en comparación con la transmisión vertical^{4,12,14,20}, aunque se ha establecido que también puede contribuir al mantenimiento de una alta seroprevalencia en rebaños infectados endémicamente^{1,27}.

En los tambos en los que se pudieron tomar muestras de perros, se encontró al menos un animal seropositivo, lo que evidencia una posible fuente de contagio importante. Todos los tambos reportaron la presencia de zorros y comadrejas; en muchos casos, se observó incluso la presencia de madrigueras y perros en los depósitos donde se almacena el alimento. Esto sugiere que la presencia de los perros en los rodeos bovinos constituye un factor de riesgo para este tipo de transmisión, tal como se ha informado previamente^{1,15,25}.

En este sentido, nuestros resultados remarcan la importancia que tiene individualizar los distintos factores de riesgo y diferenciar infecciones horizontales de verticales, y, a su vez, determinar si estas son endógenas o exógenas, para caracterizar la situación epidemiológica de una región en particular. Estos datos, sin duda, serán esenciales para la confección de un plan de manejo tendiente al control de esta enfermedad.

Conclusiones

Este trabajo demuestra por primera vez la circulación de *N. caninum* en la cuenca lechera del Valle de Lerma, en la provincia de Salta. Existe una alta prevalencia de neosporosis de carácter epidémico en los tambos de esta región, con un 100% de rodeos positivos y una prevalencia promedio intrarodeo del 35%. Se encontró una asociación positiva entre la seroprevalencia y la presencia de infecciones agudas en animales adultos, lo que sugiere que el principal mecanismo de dispersión de la enfermedad en esta región es la transmisión horizontal. La presencia de perros infectados, la ubicación geográfica y el libre pastoreo serían los principales factores de riesgo con efecto sobre este tipo de transmisión.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún tipo de conflicto de interés con personas u organizaciones que pudieran sesgar su trabajo.

Financiación

Este trabajo se realizó con fondos provenientes del programa de Salud Animal de INTA (PNSA1115053).

Agradecimientos

Los autores agradecen al personal de los establecimientos donde se realizó el estudio, incluyendo tamberos y veterinarios, por su colaboración con el manejo de los animales.

Bibliografía

1. Bartels CJM, Huinink I, Beiboer ML, van Schaik G, Wouda W, Dijkstra T, Stegeman A. Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds. *Vet Parasitol.* 2007;148:83–92 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17640807>.
2. Bergeron N, Fecteau G, Paré J, Martineau R, Villeneuve A. Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Québec. *Can Vet J.* 2000;41:464–9 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10857030>.
3. Björkman C, Johansson O, Stenlund S, Holmdahl OJM, Uggla A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 1996;208:1441–4 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8635995>.
4. Davison HC, Otter A, Trees AJ. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. *Int J Parasitol.* 1999;29:1683–9 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10608455>.
5. Dijkstra T, Eysker M, Schares G, Conraths FJ, Wouda W, Barkema HW. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int J Parasitol.* 2001;31:747–52 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11403764>.
6. Dillon JH, Fernandez DB, Cacace P. Caracterización sanitario-productiva de los establecimientos ganaderos de la Cuenca del Salado. En: XXIII Congreso Argentino de Producción Animal. Argentina: Corrientes; 2000. p. 5–7.
7. Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am Vet Med Assoc.* 1988;193:1259–63 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3144521>.
8. Echaide I, Valentini B, Baszler T. Detección de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos de la cuenca lechera de Santa Fe y Córdoba. XII Reunión Científico Técnica AAVLD, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina, 1998.
9. Fávero JF, da Silva AS, Campigotto G, Machado G, Daniel de Barros L, Garcia JL, Vogel FF, Mendes RE, Stefani LM. Risk factors for *Neospora caninum* infection in dairy cattle and their possible cause-effect relation for disease. *Microb Pathog.* 2017;110:202–7 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28666842>.
10. Fort M, Edelsten M, Maley S, Innes E. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* in beef and dairy cattle in La Pampa, Argentina. *Acta Parasitol.* 2015;60:275–82 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26203996>.
11. Frössling J, Uggla A, Björkman C. Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. *Vet Parasitol.* 2005;128:209–18 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15740858>.
12. Gibney EH, Kipar A, Rosbottom A, Guy CS, Smith RF, Hetzel U, Trees AJ, Williams DJL. The extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *Neospora caninum* infection in early and late gestation correlates with foetal death. *Int J Parasitol.* 2008;38:579–88 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18021783>.
13. Gondim LFP, McAllister MM, Mateus-Pinilla NE, Pitt WC, Mech LD, Nelson ME. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *J Parasitol.* 2004;90:1361–5 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15715229>.
14. Hall CA, Reichel MP, Ellis JT. *Neospora* abortions in dairy cattle: Diagnosis, mode of transmission and control. *Vet Parasitol.* 2005;128:231–41 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15740860>.
15. King JS, Jenkins DJ, Ellis JT, Fleming P, Windsor PA, Šlapeta J. Implications of wild dog ecology on the sylvatic domestic life cycle of *Neospora caninum* in Australia. *Vet J.* 2011;188:24–33 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20400345>.
16. López-Gatius F, García-Ispuerto I, Santolaria P, Yániz JL, López-Béjar M, Nogareda C, Almería S. Relationship between rainfall and *Neospora caninum*-associated abortion in two dairy herds in a dry environment. *J Vet Med B Infect Dis*

- Vet Public Health. 2005;52:147–52 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15876229>.
17. Mansilla FC, Gual I, Pereyra WR, Cardoso NP, Turco CS, Capozzo AV. Development and validation of a novel ELISA for the detection of *Neospora caninum* antibodies in bovine sera. J Vet Sci Ani Husb. 2019;6:204–10 [On-line]: <https://austinpublishinggroup.com/veterinary-science-research/fulltext/avsah-v6-id1057.pdf>
 18. Mansilla FC, Franco-Mahecha OL, Laviora MA, Moore DP, Giraldez AN, Iglesias ME, Wilda M, Capozzo AV. The immune enhancement of a novel soy lecithin/ β -glucans based adjuvant on native *Neospora caninum* tachyzoite extract vaccine in mice. Vaccine. 2012;30:1124–31 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22178728>.
 19. Marin RE, Luciani M, Odeon A, Brihuega R, Späth E. Relevamiento seroepidemiológico de enfermedades que afectan a la producción en bovinos de la provincia de Jujuy. Rev Vet Argentina. 2011;28:1–7 [On-line]. Disponible en: <https://www.veterinariargentina.com/revista/2011/08/relevamiento-seroepidemiologico-de-enfermedades-que-afectan-la-reproduccion-en-bovinos-de-la-provincia-de-jujuy/>.
 20. Marugan-Hernandez V. *Neospora caninum* and bovine neosporosis: Current vaccine research. J Comp Pathol. 2017;157:193–200 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28942304>.
 21. McAllister MM. Diagnosis and control of bovine neosporosis. Clin North Am Food Anim Pract. 2016;32:443–63 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27161392>.
 22. Moore DP. Neosporosis in South America. Vet Parasitol. 2005;127:87–97 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15631900>.
 23. Moore DP, Campero CM, Odeón AC, Posso MA, Cano D, Leunda MR, Basso W, Venturini MC, Späth E. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. Vet Parasitol. 2002;107:303–16 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12163242>.
 24. Moré G, Bacigalupe D, Basso W, Rambeaud M, Beltrame F, Ramirez B, Venturini MC, Venturini L. Frequency of horizontal and vertical transmission for *Sarcocystis cruzi* and *Neospora caninum* in dairy cattle. Vet Parasitol. 2009;160:51–4 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19070964>.
 25. Nazir MM, Maqbool A, Akhtar M, Ayaz M, Ahmad AN, Ashraf K, Ali A, Alam MA, Ali MA, Khalid AR, Lindsay DS. *Neospora caninum* prevalence in dogs raised under different living conditions. Vet Parasitol. 2014;204:364–8 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24957000>.
 26. Nazir MM, Maqbool A, Khan MS, Sajjid A, Lindsay DS. Effects of age and breed on the prevalence of *Neospora caninum* in commercial dairy cattle from Pakistan. J Parasitol. 2013;99:368–70 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22924907>.
 27. Paré J, Fecteau G, Fortin M, Marsolais G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. J Am Vet Med Assoc. 1998;213:1595–8 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9838960>.
 28. Pereyra R, Mansilla FC, Petersen MI, Suarez V, Capozzo AV. Evidence of reduced vertical transmission of *Neospora caninum* associated with higher IgG1 than IgG2 serum levels and presence of IFN- γ in non-aborting chronically infected cattle under natural condition. Vet Immunol Immunopathol. 2019;208:53–7 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30712792>.
 29. Pessoa GA, Martini AP, Trentin JM, Dalcin VC, Leonardi CEP, Vogel FSF, de Sá Filho MF, Rubin MIB, Silva CAM. Impact of spontaneous *Neospora caninum* infection on pregnancy loss and subsequent pregnancy in grazing lactating dairy cows. Theriogenology. 2016;85:519–27 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26542136>.
 30. Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC). Censo Nacional Agropecuario. 2018. [On-line]. Disponible en: <https://cna2018.indec.gob.ar/>.
 31. Reichel MP, Alejandra Ayanegui-Alcérreca M, Gondim LFP, Ellis JT. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle —the billion dollar question. Int J Parasitol. 2013;43:133–42 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23246675>.
 32. Ribeiro CM, Soares IR, Mendes RG, de Santis Bastos PA, Katagiri S, Zavilenski RB, de Abreu HFP, Afreixo V. Meta-analysis of the prevalence and risk factors associated with bovine neosporosis. Trop Anim Health Prod. 2019;51:1783–800 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31228088>.
 33. Sager H, Hüsey D, Kuffer A, Schreve F, Gottstein B. First documentation of a neospora-induced “abortion storm” (exogenous transplacental transmission of neospora caninum) in a Swiss dairy farm. Schweiz Arch Tierheilkd. 2005;147:113–20 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15801622>.
 34. Serrano-Martínez ME, Cisterna CAB, Romero RCE, Huacho MAQ, Bermabé AM, Albornoz LAL. Evaluation of abortions spontaneously induced by *Neospora caninum* and risk factors in dairy cattle from Lima. Peru. Rev Bras Parasitol Vet. 2019;28:215–20 [On-line]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31215607>.