

HISTOPATOLOGIA DE LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE OVEJAS SIN LANA *Ovis aries* POR *Neospora caninum*

*Teresa Oviedo, Rafael Goretti, Marlene Vargas, Joaquin Patarroyo.

Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Departamento de Medicina Animal. Universidad Federal de Viçosa, 36570-000, MG, Brasil. *Correspondencia: tere_oviedo@yahoo.com - 354 Montería, Colombia.

RESUMEN

Ovejas sin lana en diferentes estados reproductivos fueron inoculadas por vía intravenosa con taquizoítos de *N. caninum* muestra «NC-beef» con el fin de estudiar la patofisiología de la enfermedad en estos animales y verificar la posibilidad de ser usados como modelo experimental de neosporosis bovina. Se utilizaron cinco ovejas gestantes (una con 15 días, dos con 30 días, dos con 90 días), tres no gestantes y dos con 10 días posparto. Los animales eran serológicamente negativos para *N. caninum* y *T. gondii*. Dos ovejas gestantes, no inoculadas, fueron utilizadas como control negativo. Los corderos necropsiados, nacidos de ovejas inoculadas antes o durante la gestación presentaron alteraciones histopatológicas en diferentes tejidos, siendo las más severas observadas en el sistema nervioso central, caracterizadas por la presencia de formas quísticas del parásito asociadas con infiltrado inflamatorio predominantemente mononuclear, áreas de necrosis y en algunos casos presencia de calcificación. Los corderos nacidos de ovejas inoculadas 10 días después del parto no presentaron signos clínicos de la enfermedad ni anticuerpos contra el parásito y a la necropsia no presentaron lesiones en ninguno de los tejidos analizados. Un cordero nacido de oveja no inoculada no presentó alteraciones microscópicas en ninguno de los tejidos analizados.

Palabras claves: *Neospora caninum*, ovejas, inoculación, modelo experimental.

ABSTRACT

Sheep out of fleece, in different reproductive stages, were inoculated with *N. caninum* tachizoites strain «NC-beef» with the purpose of study the pathophysiology of the disease and the possibility of using them as an experimental model of bovine neosporosis. Inoculation by intravenous route was used. Five pregnant sheep (one with 15 days, two with 30 days, two with 90 days), three not pregnant and two with 10 days post partum were inoculated. By serology, the animals were negative for *N. caninum* and *T. gondii*. Two pregnant sheep, not inoculated, were used as negative controls. All lambs born from sheep inoculated before or during the gestation showed hystopathologic alterations in different tissues. The most severe were observed in the central nervous system. Inflammatory nonsuppurative processes with or without dystrophic mineralization were the most common lesions. Presence of tissue cysts was also observed. Clinical signs of the disease or antibodies against the parasite in the lambs born from sheep inoculated 10 days post partum weren't observed. In the necropsy of one lamb belonging to this group no pathologic sign was observed. None of the animals of the control group showed hystopathologic alterations.

Key words: *Neospora caninum*, sheeps, inoculation, experimental model.

INTRODUCCIÓN

La infección con *Neospora caninum* es considerada una enfermedad emergente que adquirió un alto impacto económico a nivel mundial al ser identificada como causa de trastornos reproductivos en bovinos entre ellos aborto, reabsorción embrionaria y nacimiento de animales débiles o muertos entre otros. Existen pocos reportes de infecciones naturales por *N. caninum* en ovejas, el primero de ellos ocurrió en un cordero nacido a término con sintomatología nerviosa (Dubey 1999). Sin embargo, experimentalmente se ha demostrado que esta especie es altamente susceptible a la infección por el parásito (Jolley et al. 1999; Buxton et al. 1998; Buxton et al. 1997; Dubey 1996; Mcallister 1996). Actualmente existen diversas técnicas de diagnóstico serológico, encaminadas a determinar la presencia de anticuerpos anti- *N. caninum*, pero el principal método diagnóstico es la observación microscópica de lesiones en los tejidos y el uso de pruebas inmunohistoquímicas. En el presente estudio, ovejas sin lana en diferentes estados reproductivos fueron infectadas con taquizoitos de *N. caninum* para verificar la presencia de alteraciones macroscópicas y microscópicas así como observar el efecto del parásito en las madres y en los corderos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron utilizadas 12 ovejas sin lana (*Ovis aries*), originadas de cruzamientos de las razas Santa Inés, Morada Nueva y Africana. Antes de la inoculación fue realizada serología de los animales para la detección de anticuerpos contra *N. caninum* y *Toxoplasma gondii* mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI). También fue realizado ultra-sonido con el fin de determinar gestación y período de la misma. Posteriormente se realizó inoculación intravenosa de taquizoitos de *N. caninum* de la cepa «NC-Beef». Las ovejas fueron identificadas por números (1-12) y los corderos con la letra «F» mas el número de la gestación y el número de la madre. Tres ovejas inoculadas fueron sacrificadas y necropsiadas después del parto así: La oveja 5 inoculada con 15 días de gestación, ovejas 4 y 11 inoculadas con 90 días de gestación y la número 6 no gestante. Igualmente, cuatro corderos fueron necropsiados: los corderos F₂7, cuya madre fue inoculada en una primera gestación y ocurrió reabsorción embrionaria, el F₁5, el F₁11 y el F₁4 el cual nació muerto. Un

control negativo también fue sacrificado y necropsiado. Muestras de diferentes tejidos como: cerebro, corazón, pulmón, hígado, bazo, riñones, lengua, músculo diafragmático y músculo recto dorsal, fueron fijadas en formol al 10% neutro tamponado, procesadas y coloreadas con hematoxilina e eosina⁹. Cerebro, cerebelo, médula, placenta y músculo esquelético fueron analizadas mediante el método de Peroxidasa anti-peroxidasa (PAP)¹¹.

RESULTADOS

En ninguna de las muestras analizadas procedentes de las ovejas inoculadas, así como del cordero control negativo, fueron observadas alteraciones anatomopatológicas e histológicas. En el natimorto (F₁4) y en el cordero F₁11 se constató encefalitis multifocal no supurativa, con focos de necrosis central en la sustancia gris, ocasionalmente con calcificación distrófica rodeada por células inflamatorias de tipo mononuclear. En estos corderos era evidente la formación de manguitos perivasculares, de células mononucleares y microgliosis focales, vasculitis, proliferación de pericitos, hiperemia y hemorragia.

En el cordero F₁11 se observó además vacuolización y presencia de quiste tisular sin infiltrado inflamatorio en cerebro. No fueron verificadas lesiones en la médula ni en el cerebelo. En el corazón de este mismo animal se observó miocarditis focal no supurativa y focos de calcificación distrófica, además intensa hiperemia y escasos focos degenerativo – necróticos. En el músculo esquelético, lengua y diafragma se observó necrosis Zenker y miositis focal no supurativa. En el hígado se observó hepatitis multifocal y hepatitis portal no supurativa, predominantemente con células mononucleares dispersas por el parénquima y en las tríadas portales.

En el cordero F₂7 se constató meningoencefalitis no supurativa, con lesiones semejantes a las verificadas en el cordero natimorto, sin embargo los focos de necrosis eran escasos, en tanto que la gliosis era mas frecuente. En la médula se observaron focos de necrosis y gliosis en la sustancia gris. Las lesiones hepáticas y cardiacas fueron semejantes a las del natimorto así como la ausencia de lesiones cerebelares. En las muestras de músculo esquelético, diafragma y lengua, los focos de miositis no supurativa eran severos y más numerosos.

En el cerebro del cordero F₁₅ fue observado un quiste tisular. También se constató meningoencefalomielitis más severa que la del cordero F₂₇, principalmente en la médula. Endocarditis, epicarditis y focos de miocarditis linfocíticas también fueron observados. Un infiltrado mononuclear fue localizado alrededor de las fibras de Purkinje. En el hígado además de la hepatitis focal y de la hepatitis portal no supurativas, había también hemorragia. Placentitis, caracterizada por focos de necrosis y calcificación distrófica, fue observada en las placentas de las ovejas 4, 5, 7, 8 y 11. Además de las formas quísticas observadas en el cerebro de los corderos F₁₁ e F₁₅ marcadas positivamente por el método de PAP, también se confirmó la presencia de antígenos del parásito en las placentas de las ovejas 4, 5 y 1. Tres fetos momificados provenientes de la oveja 1, inoculada antes de la gestación, no fueron necrosiados debido a la intensa autólisis.

DISCUSIÓN

Se afirma que en ovejas es más frecuente hallar lesiones en la médula espinal (Dubey y Lindsay 1996). No obstante, en la presente investigación solamente en dos animales se observaron lesiones medulares, caracterizadas por focos de necrosis y gliosis. La ausencia de infiltrado inflamatorio alrededor de la forma quística tisular observada en el cerebro de dos corderos ha sido igualmente reportada (Dubey y Lindsay 1996).

La patogenicidad de *N. caninum* fue mayor en el cordero F₁₅, probablemente como consecuencia de la inmadurez de su sistema inmunológico (Anderson et al. 2000; Buxton et al. 1997), lo cual se ve reflejado por la diseminación y severidad de las lesiones observadas. En las lesiones del sistema nervioso central (SNC) de este animal predominaban los focos de gliosis. Algunos autores afirman que la gliosis es más frecuente en fetos bovinos abortados en el tercer trimestre⁵, sugiriéndose que ovejas infectadas antes de la gestación podrían desarrollar

una respuesta inmune eficiente y aun la inmunodepresión causada por la gestación no promovería la infección precoz del feto, dando importancia a la época de infección. Los hallazgos histopatológicos están de acuerdo con lo reportado en varias especies animales infectadas natural o experimentalmente (Anderson et al. 2000; Buxton et al. 2001; Dubey y Lindsay 1996).

Las lesiones en cerebro fueron mas frecuentes en la corteza, la mayoría de las veces próximas a los ventrículos y raramente fueron observadas en el límite entre la sustancia blanca y la gris sugiriéndose una posible vía de infección a través del líquido cefalorraquídeo. No se observaron lesiones en el cerebelo, así mismo otros autores reportan lesiones cerebelares moderadas en el 6% de los fetos (Prophet et al. 1992). La presencia de lesiones severas en varios tejidos diferentes al SNC, contraría las descripciones de la literatura (Prophet et al. 1992). Las lesiones de placenta son semejantes a aquellas inducidas experimentalmente en ovejas (Buxton et al. 1997; Buxton et al. 1998; Buxton et al. 2001; Dubey y Lindsay 1996; Prophet et al. 1992).

La presencia de formas quísticas en cerebro de corderos que nacieron aparentemente normales fue anteriormente observada (Jolley et al. 1999). La infección experimental con *N. caninum* de ovejas sin lana durante y antes de la gestación produce alteraciones histopatológicas en el feto, principalmente en el SNC, además de reabsorciones embrionarias, nacimiento de corderos muertos y corderos aparentemente normales, aunque congénitamente infectados. Por las lesiones observadas en los corderos nacidos de ovejas inoculadas se puede concluir que el sistema nervioso central es el tejido mas comprometido en casos de neosporosis y muchos de los signos reportados en animales nacidos vivos se deben al alto grado de lesión de los mismos. Igualmente se infiere que las ovejas sin lana pueden ser utilizadas como modelo experimental de neosporosis bovina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Anderson ML, Andrianarivo, AG, Conrad P.A. *Animal Reproduction Science*, 2000; 60: 417-431.
2. Buxton D, Maley SW, Thomson KM, Trees AJ, Innes E.A. *Journal of Comparative Pathology*, 1997; 117: 1 - 16.
3. Buxton D, Maley SW, Wright S, Thomson KM, Rae AG, Innes E.A. *Journal of Comparative Pathology*, 1998; 118: 267 - 279.
4. Buxton D, Wright S, Maley SW, Rae AG, Lundén A, Innes E.A. *Parasite Immunology*, 2001; 23: 85 - 91.
5. Dubey J.P. And Lindsay D.S. *Veterinary Parasitology*, 1996; 67: 1 - 59.
6. Dubey J.P. *Veterinary Parasitology*, 1999;84, p.349 - 367.
7. Dubey JP, Hartley WJ, Lindsay D.S. And Topper M.J. *Journal of Parasitology*, 1990;76, 127 - 130.
8. Jolley WR, Mcallister MM, Mcguire AM, Wills R.A. *Veterinary Parasitology*, 1999; 82, 251 - 257.
9. Luna L.G. *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Intitute of Pathology*. 3a ed. Washington D.C. McGraw - Hill. 1968, 1 - 37.
10. Mcallister MM, Mcguire AM, Jolley WR, Lindsay DS, Trees AJ, Stobart R.H. *Veterinary Pathology*, 1996; 33, 647 - 655.
11. Prophet EB, Mills B, Arrington JB, E Sobin L.H. *Laboratory Methods in Histotechnology Armed Forces Institute of Pathology*. Washington. 1992, 274.